

文章编号: 1000-7032(2008)02-0371-05

SiO₂ 包覆铕(III)配合物的荧光纳米粒子合成与性质

周丽荣¹, 周立群^{*}, 余国锋², 唐子威¹, 王 芬¹

(1 湖北大学 有机功能分子合成与应用教育部重点实验室, 湖北 武汉 430062

2 孝感学院 化学系, 湖北 孝感 432100)

摘要: 以前驱物 pAB-DTPAA-APTEOS、正硅酸乙酯 (TEOS) 和三氯化铕 (EuCl₃) 等为原料, 采用油包水 (W/O) 的反相乳液法, 在正硅酸乙酯 (TEOS) 和 3-氨丙基三乙氧基硅烷 (APTEOS) 的共同水解下, 制备出新型的 SiO₂ 包覆铕配合物荧光纳米粒子 Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO₂。运用 TEM、R、UV-Vis 荧光光谱等技术对荧光纳米粒子进行了表征。TEM 结果表明: 包覆体呈球形, 分散均匀, 平均粒径为 40 nm。纳米粒子与配体、前驱物的紫外吸收谱相比较, 峰位发生了一定的红移, 表明通过反相乳液法得到的固体粉末与 EuCl₃ 反应后, 已经生成配合物 Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO₂。红外光谱研究表明, 在 801 cm⁻¹ 出现 ν_{Si-C} 的伸缩振动峰, 471 cm⁻¹ 处出现 ν_{Eu-O} 的伸缩振动峰。由此证实 Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO₂ 配合物的存在。荧光光谱分析表明, 纳米粒子 Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO₂ 表现出较好的荧光性能, 位于 592, 615, 689 nm 的发射峰分别归属于 Eu³⁺ 离子的 ⁵D₀ → ⁷F₁、⁵D₀ → ⁷F₂ 和 ⁵D₀ → ⁷F₄ 跃迁, 其中最强峰 615 nm 属于 Eu³⁺ 的特征跃迁发射。作为一种新型的荧光试剂, 该纳米粒子具有粒径小, 亲水性强, 荧光强度大, 且表面的氨基能方便地与生物分子偶联, 故可作为优良的时间分辨荧光标记物用于各种高灵敏生物检测技术中。

关键词: SiO₂; 铕配合物; 微乳液; 荧光纳米粒子; 包覆

中图分类号: O482.31; O614.33

PACC: 3250E; 7855

文献标识码: A

1 引 言

荧光纳米粒子在生物检测和生物技术中的实际应用, 已经愈来愈受到研究人员的普遍关注。荧光纳米材料因有独特的荧光特性使其较好地作为生物检测中的荧光探针^[1,2]。由于半导体荧光纳米粒子(量子点)作为荧光探针时水溶性差、易凝结和闪烁等^[3], 一些胶乳荧光纳米粒子, 如聚苯乙烯纳米粒子^[4-6], 在水介质中因其疏水性而容易凝聚, 且在表面修饰和标记过程中不易从溶剂中分离等缺点^[7], 这些因素使它们的应用受到限制。最近, SiO₂ 包覆铕配合物的荧光纳米粒子成为一种新型的荧光探针^[8-10], 该材料具有更高的耐久性和强荧光性, 能较好地用于生物分析。

由于硅荧光探针具有高亲水性, 且容易在制备、表面修饰和标记过程中分离^[7], 所以近年来应用广泛。许多硅基纳米材料已经被人们所制

备, 包括 Au/SiO₂、Ag/SiO₂、MnFe₂O₄/SiO₂ 纳米粒子^[11] 和稀土配合物/SiO₂ 等。其中被 SiO₂ 包覆的稀土配合物由于能有效地消除背景荧光^[12-14], 因而作为荧光探针在高灵敏荧光免疫技术、DNA 杂交及荧光成相显微镜中有着显著的用途。如 Yuan 等^[15] 已制备出 SiO₂ 包覆铕(III)苯甲基四胺配合物荧光纳米粒子, 其性能独特、稳定、灵敏、体积小 (< 50 nm), 具有高亲水性和生物兼容性等优点, 且硅胶的外部保护使纳米粒子中铕(III)配合物对光的耐受性得到很大提高。

通过查阅相关文献, 有 SiO₂ 掺杂的合成配合物的报道^[16], 但关于 Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO₂ 荧光纳米粒子的合成至今尚未见报道。本文采用反相乳液法以二乙三胺五乙酸酐 (DTPAA) 和对氨基苯甲酸 (pAB) 等为原料, 合成出前驱物 pAB-DTPAA-APTEOS, 运用前驱物与 TEOS 的共同水解, 获得硅基纳米材料。利用氨基多羧酸对 Eu³⁺

收稿日期: 2007-07-19 修订日期: 2007-12-28

基金项目: 湖北省自然科学基金 (2005BA059); 有机功能分子合成与应用教育部重点实验室基金 (2045011) 资助项目

作者简介: 周丽荣 (1982-), 女, 湖北潜江人, 硕士研究生, 主要从事稀土发光材料的研究。

E-mail: zhli0127@yahoo.com.cn

*: 通讯联系人; E-mail: zlc@hubu.edu.cn

的稳定配位作用,避免了 Eu^{3+} 的泄漏,因而荧光性质稳定,作为荧光探针,应用前景广阔。

2 实 验

2.1 试剂与仪器

二乙三胺五乙酸酐 (DTPAA)按文献 [17]制备。3-氨丙基三乙氧基硅烷 (APTEOS)和四乙氧基硅烷 (TEOS)分别为 Acros 公司和 Aldrich 公司产品。其他试剂三氯化铈 (EuCl_3)、对氨基苯甲酸 (pAB)、二甲亚砜、丙酮、Triton X-100、正己醇、环己烷、氨水 (25%) 均为分析纯。

TEM 形貌分析: 采用美国 FEI 公司 Tecnai G20 (200 kV) 透射电子显微镜, 测试粒子的形貌和平均粒径, 铜网 (200 目)。红外光谱采用 PE 公司 Spectrum One 型傅立叶变换红外分光光度计上测得, KBr 压片, 范围在 $4000 \sim 450 \text{ cm}^{-1}$ 。紫外-可见吸收光谱在美国 PE 公司 Lambda-17 型紫外-可见分光光度计上测得, 1 cm 石英比色皿。荧光分析: 采用 HITACHI F-4500 光谱仪, 测试纳米粒子的激发光谱和发射光谱。

2.2 实验步骤

2.2.1 前驱物的制备

将 0.6820 g (5 mmol) 对氨基苯甲酸 (pAB), 溶解于 10 mL 二甲亚砜中, 再加入 1.7850 g (5 mmol) 二乙三胺五乙酸酐 (DTPAA), 搅拌反应 12 h 后, 溶液变澄清, 最后加入 1.2 mL (5 mmol) 3-氨丙基三乙氧基硅烷 (APTEOS), 充分反应后得到前驱物 pAB-DTPAA-APTEOS。

2.2.2 荧光纳米粒子的合成

用油包水 (W/O) 的反相微乳液法制备荧光纳米粒子。向一锥形瓶中加入 2.3800 g Triton X-100、 1.8800 g 正乙醇、 7.2500 g 环己烷、 3.0 mL pAB-DTPAA-APTEOS 及 1.1 mL 水、 1.0 mL TEOS, 搅拌 10 min 后形成微乳液 (1)。向另一锥形瓶中加入 2.3800 g Triton X-100、 1.8800 g 正己醇、 7.2500 g 环己烷、 1.5 mL 氨水 (25%), 搅拌形成微乳液 (2)。随后将微乳液 (1) 和 (2) 混合, 室温下充分搅拌反应 24 h , 加入丙酮, 振荡, 以 $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min , 再用水和乙醇充分洗涤沉淀数次, 干燥得固体粉末。

取适量固体粉末浸泡在 $\text{pH} = 5$ 的 EuCl_3 溶液中, 超声振荡, 浸泡 4 h 后洗涤, 干燥, 得到产物荧光纳米粒子, 对其性能进行相关分析表征。

3 结果与讨论

3.1 透射电镜分析

产物的透射电镜 (TEM) 照片如图 1 所示。颗粒呈球形, 分散均匀, 平均粒径为 40 nm , 可见产物为纳米粒子。对产物做 X 射线粉末衍射 (XRD) 分析, 发现无衍射峰, 说明纳米粒子属于非晶态。

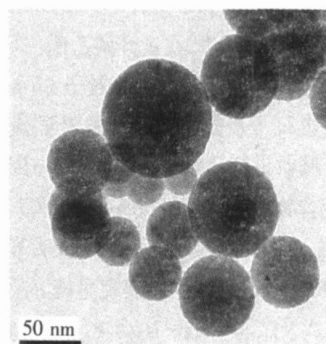


图 1 荧光纳米粒子 $\text{Eu-pAB-DTPAA-AP-SO}_2$ 的 TEM 图
Fig 1 TEM of fluorescent nanoparticles $\text{Eu-pAB-DTPAA-AP-SO}_2$

3.2 红外图谱分析

pAB-DTPAA-APTEOS 前驱物的红外光谱在 1704 cm^{-1} 处显示出强的 $\nu_{\text{C=O}}$ ($-\text{COOH}$) 伸缩振动峰。当生成荧光纳米粒子后, IR 光谱见图 2 所示, $-\text{COOH}$ 吸收峰消失, 出现了 $-\text{COO}^-$ 的反对称和对称伸缩振动吸收峰, 分别是 $\nu_{\text{as,COO}} = 1603 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{s,COO}} = 1391 \text{ cm}^{-1}$ 。此外, 产物在 3065 cm^{-1} 的宽包峰可归属于配位水以及吸附水 O-H 的伸缩振动。 $\nu_{\text{O-H}}$ 峰和水的 $\nu_{\text{O-H}}$ 峰分别重叠在 1603 cm^{-1} 处。在 1076 cm^{-1} 处出现 $\nu_{\text{Si-O}}$ 的伸缩振动, 同时在 801 cm^{-1} 出现 $\nu_{\text{Si-C}}$ 的伸缩振动, 471 cm^{-1} 处归属于 $\nu_{\text{Eu-O}}$ 的伸缩振动峰。由此证

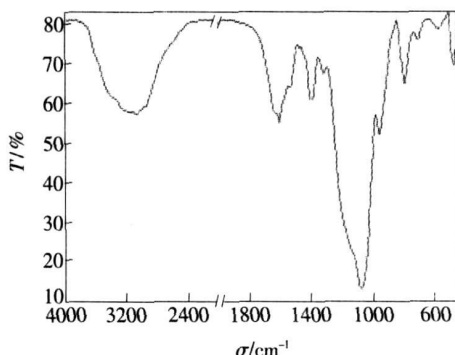


图 2 $\text{Eu-pAB-DTPAA-AP-SO}_2$ 的红外光谱
Fig 2 IR spectra of $\text{Eu-pAB-DTPAA-AP-SO}_2$

实 Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO₂ 配合物已经形成。

3.3 紫外吸收光谱分析

pAB-DTPAA (a), pAB-DTPAA-APTEOS 前驱物 (b), Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO₂ (c) 的紫外吸收光谱见图 3。

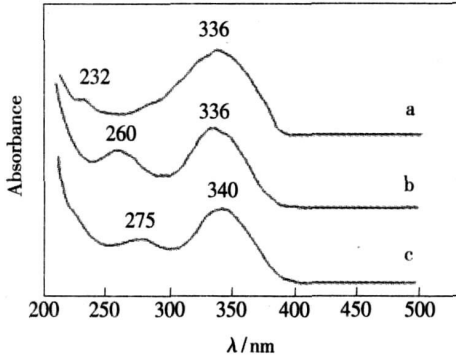


图 3 pAB-DTPAA (a); pAB-DTPAA-APTEOS 前驱物 (b); Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO₂ (c) 的紫外吸收光谱
 Fig 3 UV absorption spectra of pAB-DTPAA (a); pAB-DTPAA-APTEOS precursor (b); Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO₂ (c).

图中显示, a, b, c 三种物质均含有芳香族化合物 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁的 E₂ 和 B 带。其中 pAB-DTPAA (a) 吸收带出现在 232, 336 nm, 而在 pAB-DTPAA-APTEOS (b) 中, 由于 APTEOS 的结合, 共轭程度加大, 使 E₂ 带从 232 nm 红移至 260 nm, 代表芳香族化合物的特征吸收 B 带没有改变。在 Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO₂ (c) 中, 由于 Eu³⁺ 的配位, 使整个分子共轭效应进一步增强, 与前驱物吸收峰相比, 表现出 E₂ 和 B 带均发生一定程度的红移, 其中 E₂ 带从 260 nm 红移至 275 nm, B 带从 336 nm 红移至 340 nm。可见, 通过反相微乳液法得到的固体粉末与 EuCl₃ 反应后, 已经生成配合物 Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO₂。

3.4 荧光光谱分析

图 4 为纳米粒子荧光的激发和发射光谱。先监测 615 nm 的发射光测量产物的激发光谱 (见实线部分), 再以最佳的激发波长 260 nm 激发, 测得纳米粒子的发射光谱 (见虚线部分)。

激发光谱结果显示: 在 260 nm 处出现较强的

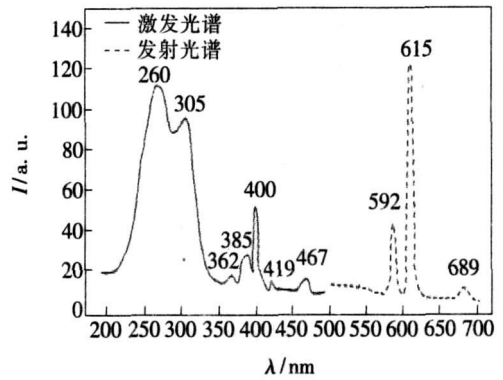


图 4 Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO₂ 的荧光激发和发射光谱
 Fig 4 Fluorescent excitation and emission spectra of Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO₂.

吸收峰可归结为 (Eu³⁺-O₂⁻) 电荷转移态 (CT) 的吸收, 即一个电子从氧离子转移到铕离子上形成的组合态的吸收。305 nm 附近的吸收峰可归属于配体的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁, 而位于 362, 385, 400, 419, 467 nm 的峰分别对应于 Eu³⁺ 离子的 $^7F_0 \rightarrow ^5D_4$, $^7F_0 \rightarrow ^5L_7$, $^7F_0 \rightarrow ^5L_6$, $^7F_0 \rightarrow ^5D_3$ 和 $^7F_0 \rightarrow ^5D_2$ 吸收跃迁。

在发射峰光谱中, 位于 592, 615, 689 nm 的峰分别归属于 Eu³⁺ 离子的 $^5D_0 \rightarrow ^7F_3$, $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ 和 $^5D_0 \rightarrow ^7F_4$ 特征跃迁。其中 $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ 为磁偶极跃迁, 发出橙色的荧光; $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ 为电偶极跃迁, 发出红色的荧光; 最强发射峰 615 nm 属于 Eu³⁺ 的特征红色荧光。由于前驱物 pAB-DTPAA-APTEOS 的最低三重态能级较好地与 Eu³⁺ 的激发态能级相匹配, 使纳米粒子能产生较好的荧光效果。

4 结 论

运用反相微乳液法制备出 SiO₂ 包覆 Eu³⁺ 配合物的荧光纳米粒子。通过 R、UV-Vis 光谱证实纳米粒子已经生成。TEM 和荧光光谱显示, 粒子呈球形, 分散均匀, 平均粒径为 40 nm, 并发出较强的铕配合物的红色特征荧光。因荧光纳米粒子表面直接引入了氨基, 使表面修饰更便捷, 作为新型的荧光试剂, 可用于各种高灵敏生物检测技术中。

参 考 文 献:

[1] Tang Awei, Teng Feng, Gao Yin, *et al*. Synthesis and luminescent properties of Core/shell/shell structural CdSe/CdS/ZnS nanocrystals [J]. *Chin. J. Lum. (发光学报)*, 2006, 27(2): 234-238 (in Chinese).

- [2] Chao Kefu, Zhang Youlin, Kong Xiangqi, *et al*. A study on fluorescence spectroscopy of immobilizing FITC labeled antibody between fiber optic surface and biomolecule [J]. *Chin. J. Luminescence* (发光学报), 2007, **28**(6): 940-944 (in Chinese).
- [3] Patocký F, Gill R, Weizmann Y, *et al*. Lighting-up the dynamics of telomeres and DNA replication by CdSe-ZnS quantum dots [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**(46): 13918-13919.
- [4] Hama H, Soukka T, Lonnberg S, *et al*. Zeptomole detection sensitivity of prostate-specific antigen in a rapid microtitre plate assay using time-resolved fluorescence [J]. *Luminescence*, 2000, **15**(6): 351-355.
- [5] Vaisanen V, Hama H, Lilja H, *et al*. Time-resolved fluorescence imaging for quantitative histochemistry using lanthanide chelates in nanoparticles and conjugated to monoclonal antibodies [J]. *Luminescence*, 2000, **15**(6): 389-397.
- [6] Hama H, Soukka T, Lovgren T. Europium nanoparticles and time-resolved fluorescence for ultrasensitive detection of prostate-specific antigen [J]. *Clin. Chem.*, 2001, **47**(3): 561-568.
- [7] Santra S, Zhang P, Wang K, *et al*. Conjugation of biomolecules with luminescence-doped silica nanoparticles for photostable biomarkers [J]. *Anal. Chem.*, 2001, **73**(20): 4988-4993.
- [8] Santra S, Wang K, Tapeç R, *et al*. Development of novel dye-doped silica nanoparticles for biomarker application [J]. *J. Biomed. Opt.*, 2001, **6**(2): 160-166.
- [9] Hilliard L R, Zhao X, Tan W. Immobilization of oligonucleotides onto silica nanoparticles for DNA hybridization studies [J]. *Anal. Chem.*, 2002, **74**(1): 51-56.
- [10] Qhobosheane M, Santra S, Zhang P, *et al*. Biochemically functionalized silica nanoparticles [J]. *Analyst*, 2001, **126**(8): 1274-1278.
- [11] Santra S, Tapeç R, Theodoropoulou N, *et al*. Synthesis and characterization of silica-coated iron oxide nanoparticles in micelles: the effect of nonionic surfactants [J]. *Langmuir*, 2001, **17**(10): 2900-2906.
- [12] Soini E, Lovgren T. Time-resolved fluorescence of lanthanide probes and applications in biotechnology [Review]. *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, 1987, **18**: 105-154.
- [13] Gudgin D, Ickson E, Alfred Pollak, Dianandis E P. Ultrasensitive bioanalytical assays using time-resolved fluorescence detection [J]. *Pharmacol. Ther.*, 1995, **66**(2): 207-235.
- [14] Dianandis E P. Immunoassay with time-resolved fluorescence spectroscopy: principles and applications [J]. *Clin. Biochem.*, 1988, **21**(3): 139-150.
- [15] Yuan J L, Wang G L, Majima K, *et al*. Synthesis of a terbium fluorescent chelate and its application to time-resolved fluorimetric immunoassay [J]. *Anal. Chem.*, 2001, **73**(8): 1869-1876.
- [16] Ning Q Y, Meng J X, Wang H M. Preparation of novel terbium (III) chelate-doped fluorescent silica nanoparticles [J]. *J. the Chinese Rare Earth Society* (中国稀土学报), 2006, **3**(24): 289-292 (in Chinese).
- [17] Wang X M, Kong W, Xu H. Preparation of EDTA Anhydride and DTPA Anhydride [M]. Zhengzhou Henan Chemical Industry, 1999, 14-15 (in Chinese).

Preparation and Properties of SiO₂ Coating Europium (III) Complex Fluorescent Nanoparticles

ZHOU Lirong¹, ZHOU Lirun¹, YU Guo-feng², TANG Ziwei¹, WANG Fen¹

(1. Ministry-of-Education Key Laboratory for the Synthesis and Application of Organic Functional Molecules

Hubei University, Wuhan 430062, China;

2. Department of Chemistry, Xiaogan College, Xiaogan 432100, China)

Abstract The incorporation of rare earth complex into inorganic hybrid host materials has been extensively explored in recent studies, especially focused on SiO₂-based materials, and the obtained materials were found to show high improvements for their thermal, mechanical properties and chemical stability. Furthermore, the ma-

materials are nanometer-sized luminescent and become a research attractions as luminescence probes in various types of biological detection

In this paper, the fluorescent nanoparticles were prepared with pAB-DTPAA-APTEOS precursor, TEOS and EuCl_3 as raw materials by means of water-in-oil (W/O) microemulsion through controlling copolymerization of tetraethyl orthosilicate (TEOS) and 3-aminopropyl-triethoxysilane (APTEOS). Fluorescent nanoparticles were characterized with TEM, UV-vis, IR and fluorescence techniques. It can be seen from the TEM image of the phosphor that the fluorescent nanoparticles are spherical and better particle dispersity, with average particle size of 40 nm. The IR spectra of $\text{Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO}_2$ has two regions, which correspond to Si-C stretching (801 cm^{-1}) and Eu-O stretching (471 cm^{-1}), this confirms the existence of complex $\text{Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO}_2$. In the UV-vis spectra, compared to the absorption spectrum of pAB-DTPAA, a red shift of the first peak (from 232 nm to 260 nm) was found in the spectrum of the precursor (pAB-DTPAA-AP-TEOS), no change was observed for the major at 336 nm, which indicates the information of pAB-DTPAA-AP-TEOS. Furthermore, after EuCl_3 was added to the solution of pAB-DTPAA-APTEOS, the red shift phenomena of the absorption peaks were observed. These changes indicate that complex $\text{Eu-pAB-DTPAA-AP-SiO}_2$ was formed in the pAB-DTPAA-APTEOS- EuCl_3 solution. The excitation and emission spectra of the nanoparticles indicate that the excitation peak wavelength is at 260 nm and the emission peak wavelength is at 615 nm. When the nanoparticles were excited by 260 nm, only the emission lines of $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_j$ ($J=1\sim 4$) of Eu^{3+} were observed, with the hypersensitive $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ transition as the most prominently single radiation peak without splitting.

As a new analytical reagent, the fluorescent nanoparticles combine the advantages of lumiphore-doped silica nanoparticle probe and lanthanide latex fluorescence probe including smaller size (about 40 nm), high hydrophilicity and biocompatibility. Furthermore, the amino groups directly introduced to the nanoparticles surface by using APTEOS in the preparation made the surface modification and bioconjugation of the nanoparticles easier. The particles are potential of good biocompatibility and can be expected as efficient biological labels.

Key words SiO_2 ; europium complex; microemulsion; fluorescent nanoparticles; coating