

量子点复合纳米胶体的制备及 pH 传感^①

王颖辰¹, 桑 幼², 黄承志¹

1. 西南大学 药学院, 重庆 400715; 2. 西南大学 化学化工学院, 重庆 400715

摘要: 将聚乙烯醇(PVA)作为分子骨架, 与 CdTe 量子点和聚丙烯酸(PAA)作用形成复合纳米胶体, 证明通过水相合成法可以很好地改善量子点的水溶性并避免了油相合成得到的量子点在配体交换过程中发生的荧光降低问题. 研究发现, 当 pH 值发生变化时, 由于 PAA 质子化程度不同而导致分子伸展程度产生差异, 使得量子点在 PVA 骨架分子中的空间位置发生了相对移动从而引起荧光性质的变化, 以此建立了一种新的 pH 传感器.

关键词: 量子点; 聚丙烯酸; 聚乙烯醇; pH 传感

中图分类号: O657.92

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2016)11-0129-06

与传统的荧光染料相比, 量子点具有较好的抗光漂白性质以及更宽的激发范围等优点^[1-3], 因而在生物成像、生物传感和医疗诊断领域具有很好的发展前景. 但传统的量子点合成方法需要在油相中进行, 在应用中需要将其表面的疏水性官能团替换为亲水性官能团才能使量子点进入水相中^[4]. 在这个相转移过程中, 量子点的荧光发射通常会发生变化、特别是荧光强度降低问题极大阻碍了量子点的应用. 本文将聚乙烯醇(PVA)作为分子骨架提出比文献[5-7]更加简单的水相合成法, 成功制得了水溶性量子点并且避免了由于配体交换导致的荧光强度降低问题.

pH 值是生命现象中一个十分重要的指标, pH 值测定一直是分析化学、临床检验和生物医学的热点问题. 目前有多种方法用于 pH 值的检测, 如色度法^[8]、紫外吸收分光光度法^[9]、荧光法^[10-11]及电泳^[12]等. 但是这些方法有各自的优缺点. 本研究通过简单的实验步骤, 将水溶性的量子点与聚丙烯酸和聚乙烯醇反应制备了对 pH 敏感的水凝胶.

由于聚丙烯酸上存在丰富的羧基, 使其成为了一种 pH 敏感物质(图 1). 当 pH 值发生变化时, 聚丙烯酸分子的质子化程度会发生变化, 因其分子的伸展程度不同, 在 pH 值小于 4 时分子发生团聚, 在 pH 值大于 7 时分子发生伸展^[13], 此时量子点在聚乙烯醇骨架分子中发生相对位移, 相当于量子点发生了浓度变化从而引起了荧光信号的改变, 由此成为了一种新的纳米器件用于 pH 传感.

1 器材与实验

1.1 实验仪器

测定吸收光谱及强度使用 UV-3010 紫外可见分光光度计(日立公司, 日本); F-4500 型荧光分光光度

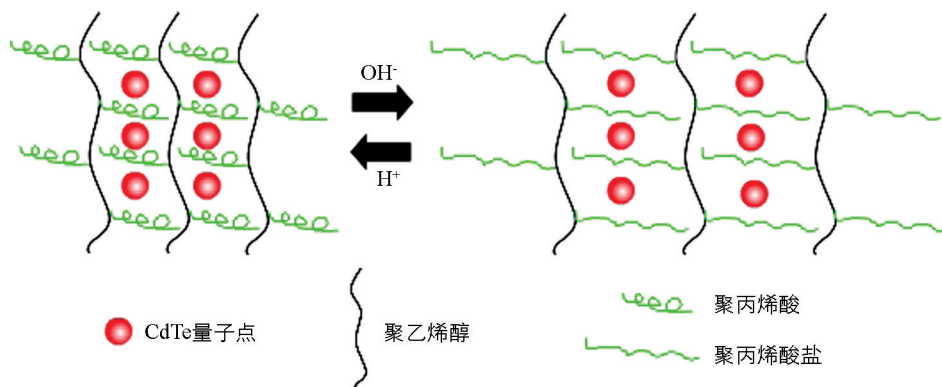
① 收稿日期: 2015-12-03

基金项目: 国家自然科学基金.

作者简介: 王颖辰(1988-), 重庆人, 男, 硕士研究生, 主要从事药物分析方向的研究.

通信作者: 黄承志, 教授.

计(日立公司, 日本), 用于测定荧光发射光谱和强度; QL-9011 型漩涡混合器(江苏林其贝尔仪器制造有限公司, 海门市); PHS-3C 型酸度计(成都方舟科技开发公司), 用来调节酸度.



1.2 试剂

铁粉(重庆化学试剂总厂, 重庆); NaOH(重庆化学试剂总厂, 重庆); $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 晶体(重庆化学试剂总厂, 重庆); NaBH_4 固体(天津市环威精细化工有限工司, 天津); 巯基乙酸(重庆化学试剂总厂, 重庆)等实验中所用试剂均为分析纯, 超纯水(18.2 MΩ, 重庆利迪现代水技术设备有限公司, 重庆).

1.3 实验方法

1.3.1 CdTe 量子点的合成

制备 CdTe 量子点共有 3 个步骤. 首先将 2 mL 1 mol/L NaOH 溶液稀释至 50 mL, 通入 N_2 至饱和除去溶解氧, 然后称取 0.5 g 碲粉及 813.5 g 硼氢化钠加入其中, 在 50 °C 下搅拌 1.5 h, 过滤; 接下来取 250 mL 煮沸过的超纯水, 加入 1.5 g $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 再取适量巯基乙酸调节 pH 值至 9.87, 充 N_2 至饱和除去溶解氧; 最后将第一步的滤液与第二步 N_2 保护的 Cd^{2+} -SR 溶液在 96 °C 条件下混合下并反应 3 h. 即得到橙红色 CdTe 量子点溶液.

1.3.2 pH 敏感的 CdTe 量子点/聚丙烯酸/聚乙烯醇水凝胶(CdTe/PAA/PVA Gels)制备

量取 300 μL CdTe 量子点溶液, 再加入 40 μL 7.5% 的 PAA 溶液并混匀, 然后往其中加入 5% 的 PVA 溶液 200 μL , 混匀后静置, 得到 pH 敏感的 CdTe/PAA/PVA 胶体.

2 结果与讨论

2.1 CdTe 量子点的吸收光谱及荧光光谱

通过文献报道的方法^[5-7]合成的水溶性 CdTe 量子点在 300~450 nm 范围内均有吸收(图 2), 能够在较宽的范围内得到较强的荧光, 当激发光为 400 nm 时, 最大发射峰位于 586 nm 处. 最终得到澄清透明的 CdTe 胶体为橙红色.

2.2 光谱分析

用缓冲溶液调节制备好的 CdTe/PAA/PVA 水凝胶至不同 pH 值, 发现该胶体在 pH 值为 4.1~13.0 的范围内有响应, pH 值越高荧光强度越低, 线性方程为: $I_F = 2\,432.1 - 132.0\text{pH}$ (图 3). 这与胶体中的聚丙烯酸分子(PAA)的羧基质子化($\text{pK}_a \approx 4$)情况有关. PAA 将在 $\text{pH} < 4$ 时发生团聚, 水凝胶中的 CdTe 量子点同时聚团沉积, 溶液中的荧光强度迅速降低; 而在 pH 值范围为 $4.1 \leq \text{pH} \leq 13.0$, PAA 分子只会部分质子化且随着 pH 值增大, 质子化程度越来越低, 所以分子越松散. 在该 pH 值范围内, PAA 分子随着酸性

增强结合得越紧密但同时不发生团聚, 由于 PVA 分子的骨架作用, 水凝胶在偏酸性时只会部分缩聚, 相当于量子点浓度在一定体积内增大, 产生聚集荧光增强的作用^[14-15], 于是荧光升高; 相反, 随着 pH 值升高, PAA 分子越伸展, 水凝胶就会越松散, 量子点间距离增大, 如同一定体积内量子点浓度减小, 即体系在 pH 值升高时荧光降低。

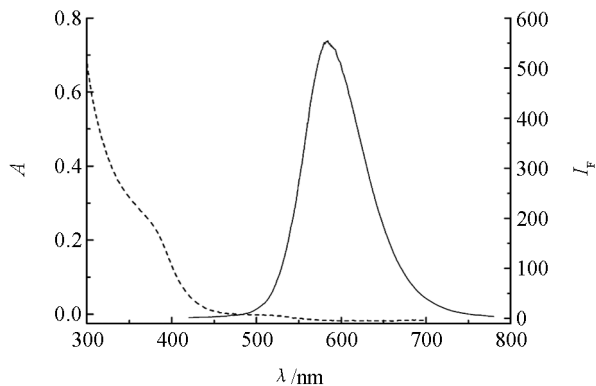
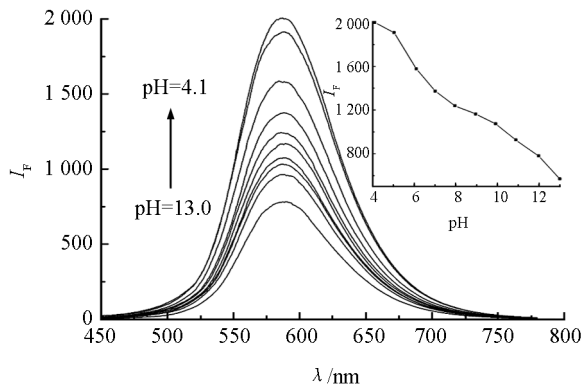


图 2 合成 CdTe 量子点的紫外吸收光谱(虚线)及
荧光光谱(实线, $\lambda_{\text{ex}}=400.0\text{ nm}$)



插图为荧光强度随 pH 改变时的变化情况 ($\lambda_{\text{ex}}=400.0\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=587.6\text{ nm}$).

图 3 胶体在不同 pH 值时的荧光光谱($\lambda_{\text{ex}}=400.0\text{ nm}$)

使用 BR 缓冲调节体系的酸度以验证这种作用. 首先取 $300\text{ }\mu\text{L}$ CdTe 量子点溶液, $40\text{ }\mu\text{L}$ 7.5% 的 PAA 溶液及 $200\text{ }\mu\text{L}$ 5% 的 PVA 溶液并混合, 再加入 $460\text{ }\mu\text{L}$ 煮沸过的超纯水补充体积至 1 mL 然后漩涡混匀, 由于 PAA 使得溶液呈酸性, 使荧光很高; 加入 $200\text{ }\mu\text{L}$ pH 值为 11.98 的 BR 缓冲溶液并混匀, 体系荧光下降; 然后加入 pH 值为 1.98 的 BR 缓冲溶液中和, 体系荧光有所恢复. 重复上述步骤后, 发现体系的 pH 值升高后荧光会下降, 若 pH 降低, 荧光又会恢复. 在实验中由于缓冲溶液的加入使体系内 CdTe 量子点浓度降低, 从而使体系整体荧光降低(图 4). 由此可知文中关于荧光信号随 pH 变化趋势的推测与实验相符。

温度对该水溶性胶体系同样有比较强的影响, 荧光随温度升高而增强. 线性方程为: $I_F=1\ 639.2+16.6T$ (图 5). 这是因为凝胶受到温度影响后, 其会发生非连续的体积收缩, 即所谓的体积相转变. 这是由于聚丙烯酸单位中含有的羧基在温度较低时存在氢键作用, 使整个高分子链相互缠绕呈展开状态, 与其在偏碱性时的情况类似, 此时 CdTe 量子点在水凝胶内浓度增大并呈现荧光聚集增强的现象^[14-15]. 所以体系的荧光强度随温度升高而增大。

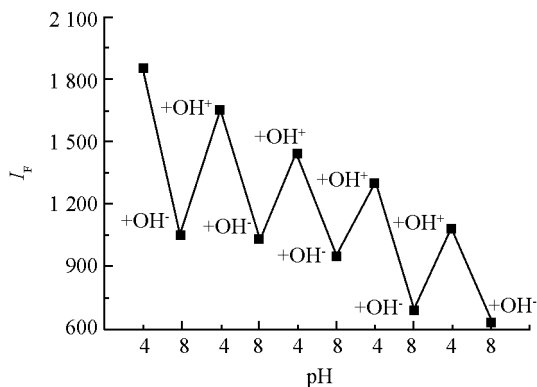
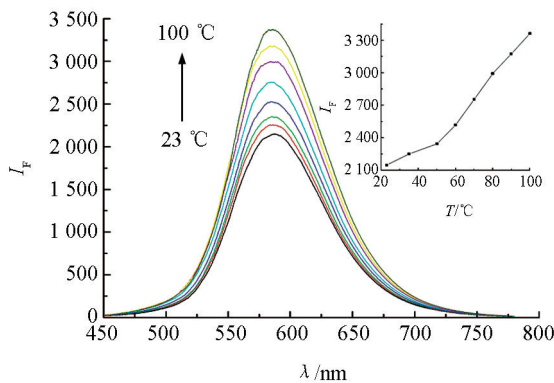


图 4 pH 诱导的 CdTe/PAA/PVA 水凝胶荧光变化循环
变化($\lambda_{\text{ex}}=400.0\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=587.6\text{ nm}$)



插图为温度变化时荧光强度的变化情况 ($\lambda_{\text{ex}}=400.0\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=587.6\text{ nm}$).

图 5 不同温度时胶体的荧光光谱($\lambda_{\text{ex}}=400.0\text{ nm}$)

2.3 实验条件的优化

2.3.1 PAA 用量优化(PAA 用量对量子点荧光的影响)

取 300 μL CdTe 量子点溶液共 7 份, 然后依次加入 0, 20, 40, 80, 120, 160, 200 μL 7.5% 的 PAA 溶液, 再均补充煮沸过的超纯水至体积为 1 mL, 混合均匀后测激发光为 400 nm 时的荧光. PAA 的用量能够影响体系的初始荧光, 溶液的 pH 随着 PAA 量的增加而逐渐变小, 此时体系的荧光增强, 当 PAA 最终体积分数为 0.3% 时荧光强度达到最大值. 但如果 PAA 的量继续增大, 又会造成体系的荧光降低, 所以以 40 μL 7.5% 的 PAA 溶液进行实验(图 6).

2.3.2 PVA 用量的选择

取 300 μL CdTe 量子点并加入 40 μL 7.5% 的 PAA 混合共 3 份, 再依次加入不同体积的 5% 的 PVA 溶液, 然后补充 460 μL 煮沸过的超纯水使终体积为 1 mL. 测体系荧光后发现 PVA 的量对 CdTe-PAA 体系的荧光没有影响. 再选取最终体积分数分别为 0.5%, 1%, 2% 的 PVA 再检测 pH 值, 发现三者灵敏度相同, 均能对 4.1~13.0 范围的 pH 值产生响应, 但是 2% 时线性较差(可能是由于 PVA 的量较大时粘度过高, 取样造成误差). 最终选择了操作方便且能得到满意结果的 PVA 最终体积分数——1%.

2.3.3 盐效应的影响

取 300 μL CdTe 量子点溶液并加入 40 μL 7.5% 的 PAA 溶液混合, 再加入 200 μL 5% 的 PVA 溶液漩涡混匀后再加入不同浓度的 NaCl 溶液, 然后补充超纯水至终体积达到 1 mL 并检测其荧光, 发现当 NaCl 浓度较大时对体系的荧光有影响(图 7). 然而实验中所使用的缓冲溶液的盐效应均没有超过 32 mmol/L NaCl 的离子强度, 因此盐效应对体系中荧光强度的影响较小.

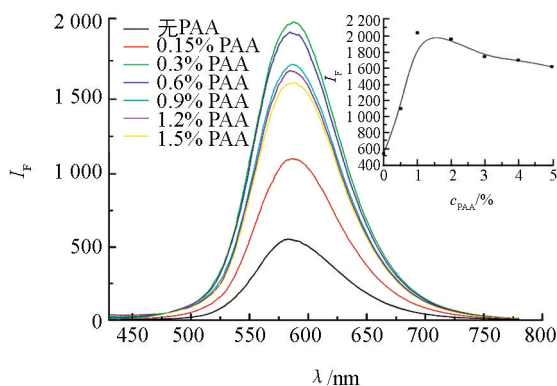


图 6 PAA 用量对量子点荧光的影响

($\lambda_{\text{ex}} = 400.0 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 587.6 \text{ nm}$)

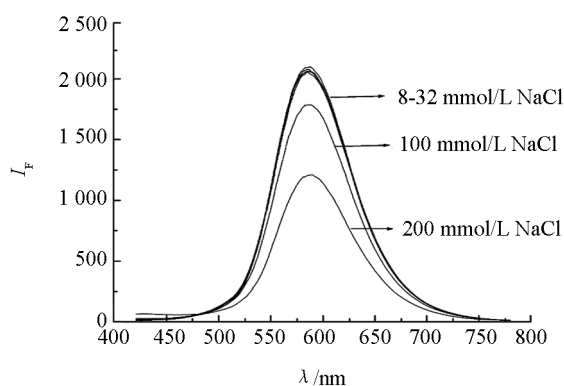


图 7 盐效应对胶体荧光的影响

($\lambda_{\text{ex}} = 400.0 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 587.6 \text{ nm}$)

2.3.4 对照实验

此外, 以单独的量子点溶液、量子点/PAA 混合液和量子点/PVA 混合液做对照检测 pH 值, 发现这 3 组溶液均没有类似 CdTe/PAA/PVA 胶体的性质, 对 pH 值的响应能力较差(图 8). 这说明量子点、聚乙烯醇及聚丙烯酸的共同作用使混合胶体对 pH 值有响应, 同时也验证了本研究所推论的以聚乙烯醇作为骨架分子, 由聚丙烯酸的伸缩卷曲引起了 CdTe/PAA/PVA 胶体的荧光变化.

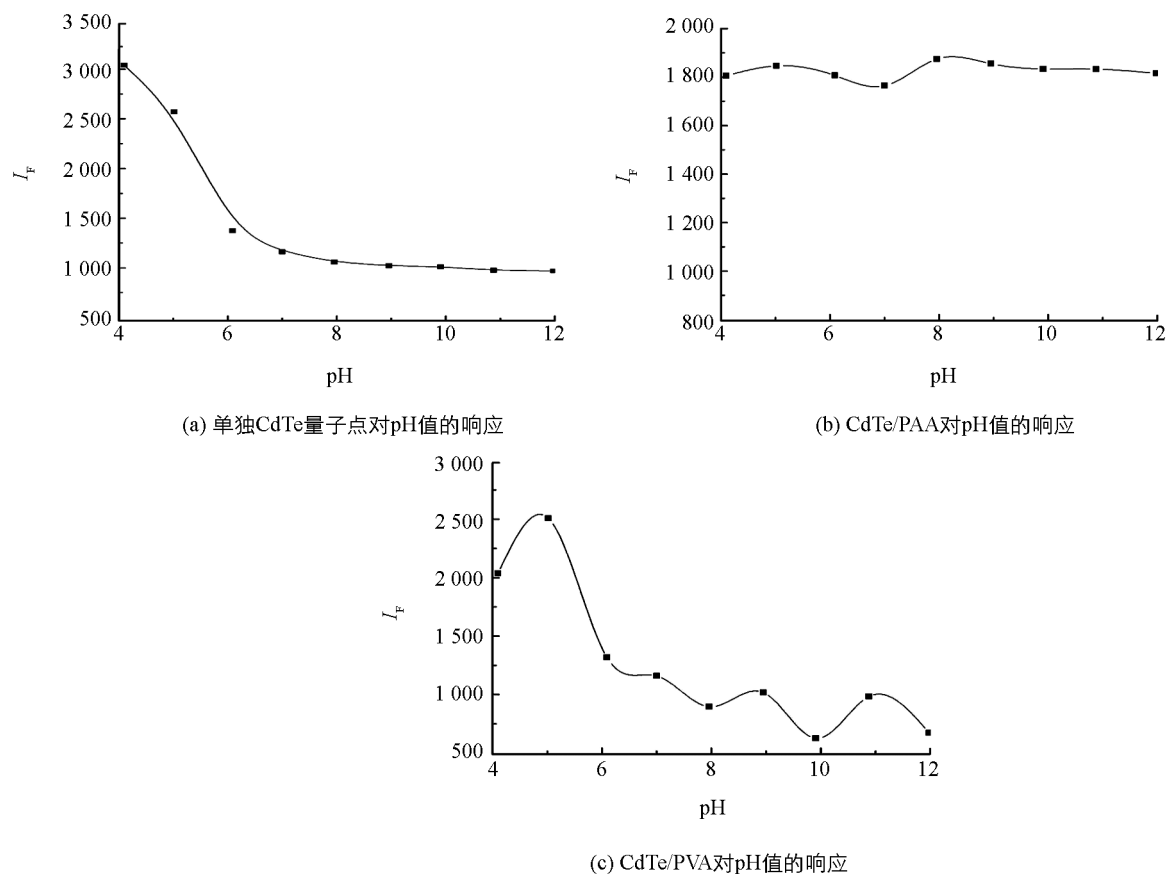


图 8 3 组溶液对 pH 值的响应能力

3 结 论

本文采用水相合成方法, 合成了一种水溶性量子点, 通过将量子点制成水凝胶的方式实现对 pH 的传感, 经济实惠且方便快捷. 这为将来量子点在生物分析中的应用提供了一种新的思路和方法.

参考文献:

- [1] BRUCHEZ M JR, MORONNE M, GIN P, et al. Semiconductor Nanocrystals as Fluorescent Biological Labels [J]. Science, 1998, 281(5385): 2013–2016.
- [2] CHAN W C, HBSP W, et al. Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection [J]. Science, 1998, 281(5385): 2016–2018.
- [3] MICHALET X, PINAUD F F, BENTOLILA L A, et al. Quantum Dots for Live Cells, in Vivo Imaging, and Diagnostics [J]. Science, 2005, 307(5709): 538–544.
- [4] HEZINGER A F E, TEßMAR J, GÖPFERICH A. Polymer Coating of Quantum Dots-A Powerful Tool Toward Diagnostics and Sensorics [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2008, 68(1): 138–152.
- [5] LOZINSKI T, WIERZCHOWSKI K L. Inactivation and Destruction by KMnO_4 of *Escherichia coli* RNA Polymerase Open Transcription Complex; Recommendations for Footprinting Experiments [J]. Anal Biochem, 2003, 320(2): 239–251.
- [6] 闫 炜, 张爱梅, 梅艳丽, 等. 水溶性 CdTe 量子点的合成及其用于荧光猝灭法测定肌红蛋白 [J]. 分析试验室, 2008, 27(12): 1–5.
- [7] BAO H B, GONG Y J, LI Z, et al. Enhancement Effect of Illumination on the Photoluminescence of Water-Soluble CdTe Nanocrystals; Toward Highly Fluorescent CdTe/CdS Core-Shell Structure [J]. Chem Mater, 2004, 16(20): 2013–2018.

- 3853—3859.
- [8] CHEN Y, MAO C. pH-Induced Reversible Expansion/Contraction of Gold Nanoparticle Aggregates [J]. *Small*, 2008, 4(12): 2191—2194.
- [9] WANG E J, CHOW K F, WANG W Q, et al. Optical Sensing of HCl with Phenol Red Doped Sol-Gels [J]. *Anal Chim Acta*, 2005, 534(2): 301—306.
- [10] LIU H, ZHOU Y, YANG Y, et al. Photo-pH Dually Modulated Fluorescence Switch Based on DNA Spatial Nanodevice [J]. *J Phys Chem B*, 2008, 112(22): 6893—6896.
- [11] LIU Y S, SUN Y H, VERNIER P T, et al. pH-Sensitive Photoluminescence of CdSe/ZnSe/ZnS Quantum Dots in Human Ovarian Cancer Cells [J]. *J Phys Chem C*, 2007, 111(7): 2872—2878.
- [12] NDOBO-EPOY J P, LESNIEWSKA E, GUICQUERO J P. Nano-pH Sensor for the Study of Reactive Materials [J]. *Anal Chem*, 2007, 79(19): 7560—7564.
- [13] 张洪利, 郭 艳, 李树斌, 等. 聚(丙烯酸)-co-(α -甲基丙烯酸)水凝胶的 pH 敏感性研究 [J]. *化学与生物工程*, 2004: 28—30.
- [14] WANG M, ZHANG D Q, ZHANG G X, et al. Fluorescence Turn-on Detection of DNA and Label-Free Fluorescence Nuclease Assay Based on the Aggregation-Induced Emission of Silole [J]. *Anal Chem*, 2008, 80(16): 6443—6448.
- [15] NAYAK S, LYON L A. Soft Nanotechnology with Soft Nanoparticles [J]. *Angew Chem Int Edit*, 2005, 44(47): 7686—7708.

Preparation of Composite Quantum Dots and Nano Colloid and pH Sensing

WANG Ying-chen¹, SANG You², HUANG Cheng-zhi¹

1. School of Chemistry and Chemical Engineering Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. School of Pharmaceutical Sciences Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Quantum dots are an excellent fluorescent reagent. Through the water phase synthesis method can greatly improve the water-soluble of quantum dots and avoid the reduction of fluorescence which occurred during the ligand exchange process. Along with the pH change, the protonation extent as well as the stretching degree of PAA molecules varies, resulting in the movement of the relative spatial location of QDs in the framework of hydrogels. In another word, the concentration of QDs changes in a certain space, which would induce the change of fluorescence intensity. Thereby we established a new type of nanodevice for pH sensing.

Key words: quantum dots; polyacrylic acid; polyvinyl alcohol; pH sensor

责任编辑 潘春燕

