

纳米银与表面吸附荧光素的荧光性能的影响

王悦辉, 周 济*, 王 婷

清华大学材料科学与工程系, 新型陶瓷与精细工艺国家重点实验室, 北京 100084

摘 要 研究了纳米银粒子对表面吸附荧光素 (fluorescein, FI) 的荧光性能的影响。FI 溶液中加入纳米银粒子, FI 分子包覆在纳米银粒子表面形成 FI_n-Ag 复合物使纳米银相互桥连形成类似网络的结构, 且 FI 分子吸收峰随着纳米银浓度的增加发生红移。纳米银通过产生的强局域场将能量传输给 FI 发光中心, 实现了 FI 的荧光增强, 荧光增强效率随着纳米银浓度的增加具有最大值。较大粒径的纳米银使 FI 获得最大荧光增强效率所需浓度较低且最大荧光增强效率值较高。研究结果表明, 纳米银与 FI 间的能量传输主要由 FI 分子附近局域电磁场增强和分子到金属表面无辐射跃迁能量转移过程所决定并与纳米银的浓度、尺寸密切相关。

关键词 纳米银; 荧光素; 表面等离子共振; 强局域场; 能量传输

中图分类号: O484 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2007)08-1555-05

引 言

具有金属性的纳米结构材料(如金属纳米微粒、纳米线等)可以收集激发光能量, 再通过光波与等离子激元共振产生的强局域场将能量传输给发光体, 将可望使发光体的激发效率和辐射跃迁几率大幅度提高, 荧光增强^[1-3]。金属纳米结构材料与发光体间的能量传输作用通常称为“天线效应 (Antenna effect)”^[4]。就金属性纳米结构与发光体构成的系统中的能量传递等方面的研究, 迄今为止已开展了大量的工作, 已经在生物分子检测等方面取得了重要突破^[5-7], 并被应用于生物芯片等领域。目前, 作为开发下一代生物和化学传感器技术而成为人们研究的热点。纳米银粒子具有良好的电子传输特性, 其纳米系统在非共振频率下对可见光有较好的透射性, 是进行天线效应的首选材料。采用银岛膜、银溶胶及银纳米结构阵列与发光体进行能量传输的研究已多有报道^[8-10]。

咕吨类染料荧光素 (fluorescein, FI) 具有较高的发射效率、高荧光量子产率而被广泛应用于 DNA 杂化、生物分子检测等方面, 其分子结构如图 1 所示。然而这类荧光素 Förster 距离较小, 易自身浓度猝灭, 在以往荧光检测过程中往往控制在较低浓度范围内使用, 因荧光强度弱而给检测带来困难。在 FI 体系中引入金属性纳米结构, 则可以利用纳米结构产生的强局域场使其荧光增强^[11, 12]。Malicka 等^[12]以

FI 为荧光探针在银岛膜上进行荧光素标记 DNA 研究, 发现 FI 荧光强度提高了 7 倍。

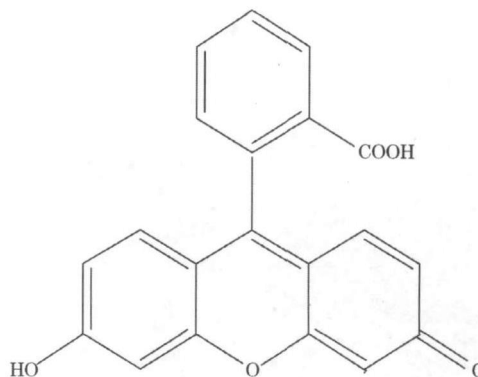


Fig 1 Structure of fluorescein

由于金属纳米结构的能量传输性质决定于光辐射与纳米结构产生的局域电磁场状态, 而后者则与纳米材料的显微结构(几何状态、界面结构、介电环境、与受体的结合状态等)关系甚大^[13, 14]。另外, 金属纳米结构的引入同时可能引入某种新的发光猝灭机制, 因此迄今为止尚无法从理论上预言纳米结构对各种发光受体的作用效果。本文研究了纳米银对 FI 的荧光性能的影响, 并探讨了纳米银与 FI 间的能量传输机制。

收稿日期: 2006-05-26, 修订日期: 2006-08-28

基金项目: 国家“863”计划(2003AA32G030), 国家“973”计划(2002CB61306, 2001CB6104), 国家基金杰出青年基金项目(50425204)和国家自然科学基金项目(50272032)资助

作者简介: 王悦辉, 女, 1974 年生, 清华大学材料科学与工程系博士研究生 *通讯联系人 e-mail: zhouji@mail.tsinghua.edu.cn

1 实验方法

实验中所用的硝酸银、柠檬酸三钠、硼氢化钠、FI 均为分析纯试剂, 溶剂为二次去离子水。典型的纳米银制备如下: 称取 $1.5 \times 10^{-5} \text{ mol AgNO}_3$ 和 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的柠檬酸三钠溶解在 40 mL 水溶液中, 剧烈搅拌 1.5 min 后, 用注射器量取在冷却的去离子水中已溶解的 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaBH_4 1.2 mL, 缓慢注入到上述溶液中, 剧烈搅拌 2 min, 停止保持备用, 溶液为桔黄色。通过控制反应工艺参数实现对纳米银尺寸的控制, 获得平均粒径分别为 4.5 和 12 nm 的纳米银。

纳米银粒子大小和形貌采用 JEOL JEM-200CX 透射电镜观察。吸收光谱采用 UV-500 PC 型紫外-可见分光光度计

测定。荧光光谱采用 VARIAN Cary-Eclipse 型荧光分光光度计测定。试样制备采用银溶胶与染料均匀混合, 加二次去离子水稀释, 保持混合溶液中 FI 的浓度恒定为 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。图 2 为纳米银的吸收光谱及透射电镜照片。

2 实验结果与讨论

2.1 吸收光谱

图 3 为 FI 溶液中加入不同浓度的银溶胶 ($d = 4.5 \text{ nm}$) 后的吸收光谱和 FI 分子与纳米银颗粒相互作用的 TEM 图。FI 溶液中加入银溶胶后其特征吸收峰 (475 nm) 发生红移。当银溶胶浓度为 $42 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 峰位红移 11 nm。此后, 随着银溶胶浓度继续增加, 该吸收峰位保持不变。银溶胶的吸收峰位 (395 nm) 并不随其浓度的变化而变化, 但是其强度则不断增加。采用粒径为 12 nm 的银溶胶与 FI 溶液混合, 其吸收光谱也具有类似的特征。FI 分子在水溶液中以阴离子型分子的形式存在, 其基团 COO^- 与纳米银粒子间存在较强相互作用。相互作用的结果在纳米银表面形成了 $\text{FI}_n\text{-Ag}$ 复合物, 图 4 为 FI 与纳米银相互作用的示意图。同时, 纳米银表面等离子体在外场的激发下产生的强局域场也会对其表面及附近的 FI 分子产生作用。表面局域场的物理作用及表面分子间的

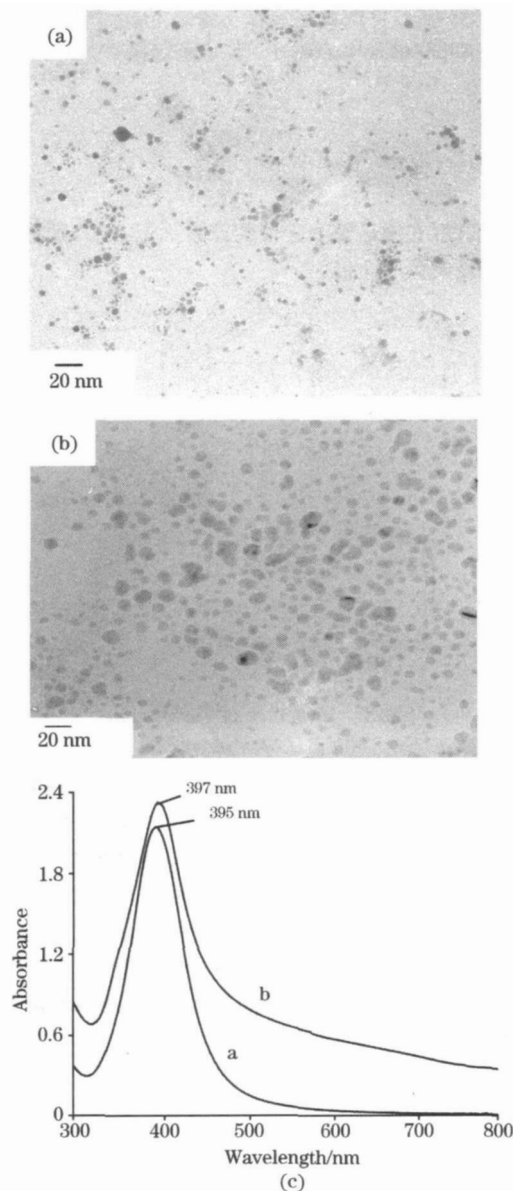


Fig 2 TEM images of silver nanoparticles

(a): $d = 4.5 \text{ nm}$; (b): $d = 12 \text{ nm}$,
(c): Optical absorption spectra of (a), (b)

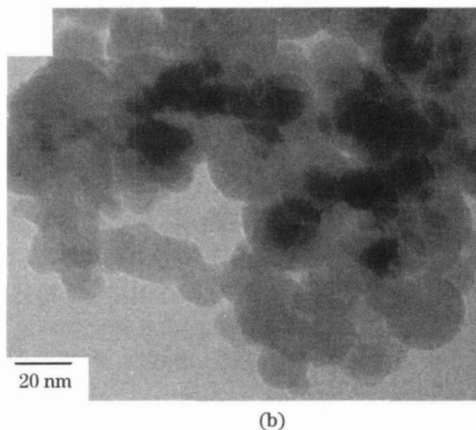
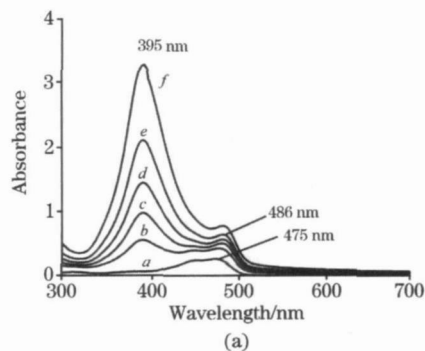


Fig 3 (a) Absorption spectra of the solution of FI containing different silver colloid ($d = 4.5 \text{ nm}$); (b) TEM image of the FI solution containing $60 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ silver colloid

Concentrations ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$): a: 0; b: 12;
c: 30; d: 42; e: 60; f: 90

化学作用是 FI 的共振吸收产生红移的主要原因^[7, 12]。值得注意的是, 吸收光谱中并没有发现纳米银团聚体的特征吸收峰(纳米银团聚后, 一般在 500 ~ 700 nm 内出现一个明显的吸收峰^[15])。TEM 观察也未发现团聚体, 但是发现纳米银粒

子被 FI 包覆形成近似球形的粒子并相互桥连形成类似网络的结构, 能够观察到明显的粒子边界。被染料包覆的银粒子尺寸仍为纳米量级, 包覆粒子的尺寸平均约为 15 ~ 30 nm, 如图 3(b) 所示。

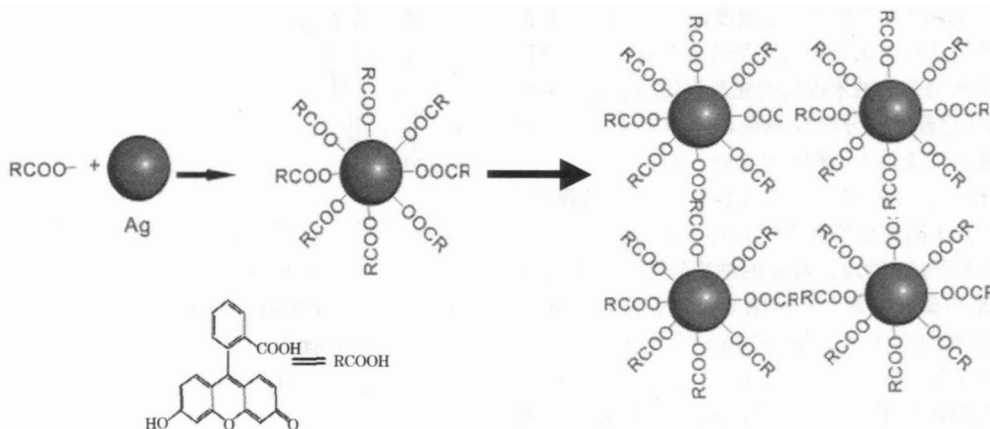


Fig 4 The FI capped on silver nanoparticles

2.2 发射光谱

图 5 为 FI 溶液中加入不同浓度的银溶胶 ($d = 4.5 \text{ nm}$) 溶液的发射光谱(激发波长为 489 nm)。从图中可见, FI 荧光强度随着银溶胶的加入量的增加而逐渐增强。当银溶胶浓度为 $42 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 荧光强度达到最大值。此后, 随着银溶胶

浓度的继续增加, 荧光强度开始逐渐下降。从图 5 可见, 与纯 FI 水溶液的荧光光谱相比, 加入纳米银的 FI 溶液的荧光光谱没有本质的改变, 说明 $\text{FI}_n\text{-Ag}$ 复合物的形成并没有破坏 FI 分子内的荧光团。

由纳米结构和发光体构成的系统中, 从宏观上看, 纳米结构可收集激发光能量再通过光波与等离子体共振产生的强局域场将能量传输给发光中心, 将可望使其跃迁的激发效率和辐射跃迁几率大幅度提高^[9, 16]。从微观上看, 由于具有导电性的纳米系统的引入, 将在其界面附近改变发光体原有的“自由空间”条件(无自由电荷、无感生电流), 进而使光波的入射场增强, 这将同时增加发光中心的激发强度和辐射跃迁几率, 总体效果是增加了系统中光子的态密度, 使发光中心的量子产率大幅度提高^[3, 16]。由于金属纳米结构的能量传输性质决定于光辐射与天线作用产生的局域电磁场状态, 而后者受多种因素影响, 如纳米结构的几何状态、界面结构、介电环境、纳米材料与发光体间的距离和结合状态等, 因此纳米结构引入的同时也可能引入某种发光猝灭机制, 如碰撞猝灭, 静电猝灭等^[17-19], 使发光中心的无辐射跃迁能量转移增加, 荧光猝灭。金属纳米结构对发光体荧光作用往往就是荧光增强和荧光猝灭相互竞争的结果, 这主要由发光体分子附近局域电磁场增强和分子到金属表面无辐射跃迁能量转移过程所决定^[13, 16]。

在本实验条件下, 低浓度 ($\leq 42 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 纳米银引入使 FI 荧光增强, 分析认为主要与下列 3 个因素有关^[7, 12, 16]: (1) FI 包覆在纳米银粒子表面使 FI 中的荧光团与纳米银表面的距离接近至有效能量传输距离; (2) 纳米银粒子通过 FI 相互桥连使其产生的局域场相互叠加, 局域场增强; (3) $\text{FI}_n\text{-Ag}$ 复合物的生成使光吸收增强。在上述因素共同作用下纳米银将所收集的激发光能量通过强局域场传输给 FI 分子远远超过无辐射跃迁能量转移过程, 使荧光增强效应大于猝灭效应, 因此其荧光增强。当纳米银的浓度超过 $42 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 大量的纳米银粒子的存在, 一方面会使纳米粒子表面等离子

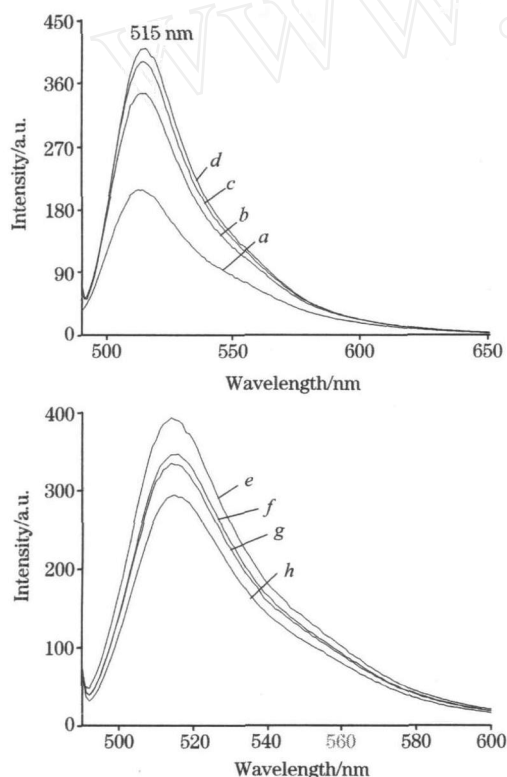


Fig 5 Emission spectra of the solution of FI containing different silver Concentrations ($d = 4.5 \text{ nm}$)

concentrations ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$): a: 0; b: 12; c: 30; d: 42; e: 60; f: 90; g: 102; h: 150; $\lambda_{\text{ex}} = 489 \text{ nm}$

激元共振受到抑止,局域场下降^[16];另一方面是碰撞猝灭效应等加强^[18]。总的结果就是荧光强度增加的幅度降低。有趣的是,当纳米银浓度达到 $150 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 后,再继续增加纳米银浓度,Fl 荧光强度几乎不再下降,并且此时 Fl 荧光强度依然较相同浓度的纯 Fl 溶液的荧光强度高。说明在本实验的纳米银 - 荧光素系统中纳米银始终是荧光增强剂。这与我们采用另外的工艺制备的纳米银与荧光素构成的系统的结果不完全一致(另文已经详细分析),从而说明纳米结构与发光体间的能量传输性质受纳米结构的性质影响甚大。

纳米粒子的大小对发光体的荧光性能有较大的影响, Lukomska 等^[11]在不同粒径的银溶胶沉积的玻璃基板上进行荧光素标记 DNA 研究,发现大粒径的纳米银更有利于荧光增强。Nabika 等^[17]研究发现大粒径纳米银可在较低浓度下使 Eu(dmic) 荧光得到较大的增强。Huang 等^[18]研究发现大粒径的纳米金几乎使 $[\text{Ru}(\text{bpy})]^{2+}$ 的荧光完全猝灭。我们也把采用相同工艺制备的平均粒径为 12 nm 的银溶胶加入到 Fl 溶液中,比较两种不同粒径的纳米粒子对 Fl 荧光强度的影响。图 6 给出了两种不同粒径的纳米银加入到 Fl 溶液中相对荧光增强效率与纳米银浓度的关系,其中,荧光增强效率是指含有纳米银的 Fl 溶液的荧光强度与纯 Fl 溶液的荧光强度之比。从图中可见,大粒径的纳米银获得最大荧光增强效率所需浓度较低且最大荧光增强效率值也较高。分析认为这与小粒径的纳米银自身对激发光吸收消耗较强,产生的局域场强较低有关。

3 结 论

荧光素 Fl 溶液中加入纳米银粒子,Fl 分子包覆在纳米

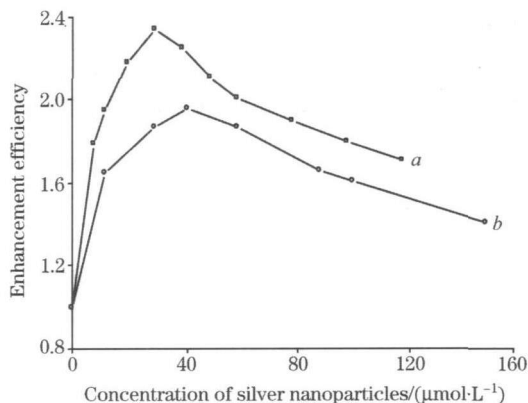


Fig 6 Dependence of relative fluorescence enhancement efficiency on silver nanoparticle concentration

a: $d = 12 \text{ nm}$; b: $d = 4.5 \text{ nm}$

银粒子表面形成 $\text{Fl}_n\text{-Ag}$ 复合物使纳米银相互桥连形成类似网络的结构,且 Fl 吸收峰随着纳米银浓度的增加发生红移。纳米银通过产生的强局域场将能量传输给 Fl 发光中心,实现了 Fl 的荧光增强,荧光增强效率随着纳米银浓度的增加具有最大值。较大粒径的纳米银使 Fl 获得最大荧光增强效率所需浓度较低且最大荧光增强效率值较高。研究结果表明,纳米银与 Fl 间的能量传输主要由 Fl 分子附近局域电磁场增强和分子到金属表面无辐射跃迁能量转移过程所决定并与纳米银的浓度、尺寸密切相关。

参 考 文 献

- [1] Gryczynski I, Malicka J, Holder E, et al. Chem. Phys. 2003, 372: 409.
- [2] Parfenov A, Gryczynski I, Malicka J, et al. J. Phys. Chem. B, 2003, 107: 8829.
- [3] Zhang J, Malicka J, Gryczynski I, et al. Anal. Biochem. , 2004, 330: 81.
- [4] Louis C S, Roux G, Ledoux L, et al. Adv. Mater. , 2004, 16: 2163.
- [5] Lakowicz J R, Ku ? ba J, Shen Y, et al. J. Fluorescence, 2003, 13: 69.
- [6] Malicka J, Gryczynski I, Fang J, et al. Anal. Biochem. , 2003, 315: 160.
- [7] Zhang J, Lakowicz et al. J. Phys. Chem. B, 2005, 109: 8701.
- [8] KE Wei-zhong, WU Jian-zhong(柯惟中, 吴斌中). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(5): 551.
- [9] ZHOU Hai-hui, WU De-yin, HU Jian-qiang, et al(周海辉, 吴德印, 胡建强, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(7): 1068.
- [10] Lobmaier C H, Hawa G, Gotzinger M, et al. J. Mol. Recognit. , 2001, 14: 215.
- [11] Lukomska J, Malicka J, Gryczynski I, et al. Biopolymers, 2005, 77: 31.
- [12] Zhang J, Malicka J, Gryczynski I, et al. J. Phys. Chem. B, 2005, 109: 7643.
- [13] Lakowicz J R. Anal. Biochem. , 2005, 337: 171.
- [14] Noginov M A, Williams S N, Gavrienko V I, et al. J. Opt. A: Pure Appl. Opt. , 2005, 7: S219.
- [15] Sun Y, Yin Y, Mayers B T, et al. Chem. Mater. , 2002, 14: 4736.
- [16] Geddes C D, Lakowicz J R. J. Fluorescence, 2002, 12: 121.
- [17] Nabika H, Deki S. J. Phys. Chem. B, 2003, 107: 9161.
- [18] Huang T, Murry W. Langmuir, 2002, 18: 7077.
- [19] GUO Li-jun, ZHANG Xing-tang, DU Zuliang, et al(郭立俊, 张兴堂, 杜祖亮, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2001, 21(1): 16.

Effects of Silver Nanoparticles on Fluorescent Properties of Fluorescein

WANG Yue-hui, ZHOU Ji*, WANG Ting

State Key Lab of New Ceramics and Fine Processing, Department of Materials Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract The effects of silver nanoparticles on the fluorescent properties of the fluorescein in aqueous solution were investigated in the present paper. The fluorescein-coated silver nanoparticles form Fl_n-Ag complexes, leading to a net-like structure among silver nanoparticles. The fluorescent intensity of the fluorescein was enhanced due to the energy transfer from silver nanoparticles to fluorescein owing to the local field enhancement brought by the surface plasmon resonance of silver nanoparticles. Furthermore, with the increase in silver nanoparticle concentrations the fluorescence enhancement efficiency has a maximum. The larger-size silver nanoparticles have a maximum enhancement efficiency in the lower concentration region. The energy transfer between the fluorescein and silver nanoparticles depends on the local field enhancement around the fluorescein, the nonradiative energy transfer, the silver nanoparticles concentration and size.

Keywords Silver nanoparticles; Fluorescein; Surface plasmon resonance; Local field enhancement; Energy transfer

(Received May 26, 2006; accepted Aug. 28, 2006)

* Corresponding author