

不同粒径金纳米微粒对荧光素钠的猝灭效应研究

郭艳丽, 阎宏涛, 裴若会

西北大学化学系, 陕西 西安 710069

摘要 采用柠檬酸盐合成法制备了不同粒径的金纳米微粒, 用吸收光谱和透射电镜对金纳米微粒进行了表征。研究了不同粒径金纳米微粒与荧光素钠分子的相互作用。发现金纳米微粒对荧光素钠具有荧光猝灭效应, 并且其荧光猝灭程度与金纳米微粒的粒径大小有关。随着金纳米微粒粒径的减小, 荧光猝灭程度增大。探讨了金纳米微粒对荧光素钠荧光猝灭的机理, 表明该荧光猝灭为动态猝灭。

关键词 金纳米微粒; 荧光素钠; 荧光猝灭; 猝灭机理

中图分类号: O657.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2008)02-0380-04

引言

金纳米微粒具有的独特稳定性、小尺寸效应、量子效应和表面效应等特点, 使其在许多领域表现出潜在的理论和应用价值^[1-5]。

金纳米微粒应用于荧光光谱分析研究已有报道。Thanh 等^[6]采用聚合电解质层吸附在金纳米微粒表面制备了荧光纳米传感器; Aslan 等^[7]对金纳米微粒表面进行了修饰, 获得了具有荧光特性的功能化金纳米微粒, 应用于生物传感方面的研究。金纳米微粒对荧光激发态的猝灭也有研究报道。Ray 等^[8]以金纳米微粒对标记的寡核苷酸探针的猝灭效应, 进行了单链 DNA 杂交的研究; Huang 等^[9]曾报道了硫醇修饰的金纳米微粒对三联吡啶钌分子的荧光猝灭作用; Fan 等^[10]发现金纳米微粒对共轭聚合物的荧光具有高效的猝灭作用。然而, 不同粒径的金纳米微粒与荧光物质的相互作用及其影响鲜有报道。

荧光素及其衍生物是最为广泛使用的一种荧光探针, 本文以荧光素钠作为探针, 研究了金纳米微粒对荧光素钠荧光猝灭的机理以及金纳米微粒粒径对荧光素钠分子猝灭效应的影响。结果表明该猝灭过程为动态猝灭过程。实验发现金纳米微粒对荧光素钠分子荧光猝灭程度与其粒径有关。随着金纳米微粒粒径的减小, 活性比表面积增加, 荧光猝灭程度亦随之增大。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

UV-1700 紫外-可见分光光度计 (Shimadzu 公司, 日本); RF-1501 荧光分光光度计 (Shimadzu 公司, 日本); JEM-3010 透射电子显微镜 (电子株式会社, 日本); DF-101S 恒温加热磁力搅拌水浴锅; Orion 868 型台面式 pH/ISE 测试仪。

氯金酸 ($\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 国药集团化学试剂有限公司) 溶液, 0.2%; 柠檬酸钠 (西安化学试剂厂) 溶液, 1%; 荧光素钠 (天津市化学试剂一厂) 溶液, $1\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲溶液 (pH 6.6), 浓度为 $0.1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

实验中所用试剂均为分析纯, 水为亚沸水。

1.2 金纳米微粒的制备

金纳米微粒的制备参照文献^[11]。准确移取 5 mL 0.2% 的 HAuCl_4 溶液于 150 mL 锥形瓶中, 加水至总体积约为 95 mL。沸水浴加热 30 min 后, 在强力搅拌条件下迅速准确加入一定量的 1% 柠檬酸钠溶液 (控制柠檬酸钠的加入量, 以获得不同粒径的金纳米微粒), 继续置于沸水浴中加热搅拌 10 min, 再在室温下搅拌 10 min, 自然冷却后, 将反应生成的金纳米微粒溶液定容到 100 mL 容量瓶中。

1.3 实验方法

将金纳米微粒溶液滴于镀炭膜的铜网上, 制备含有金纳米颗粒的 TEM 样品, 用透射电子显微镜对金纳米微粒形貌和粒径进行表征。

于 10 mL 具塞比色管中, 分别依次加入 1 mL $1\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 荧光素钠溶液, 0.5 mL 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲溶液, 一

收稿日期: 2006-10-08, 修订日期: 2007-01-09

基金项目: 陕西省自然科学基金项目 (2003B09) 资助

作者简介: 郭艳丽, 女, 1972 年生, 西北大学化学系讲师 e-mail: guoyl@nwu.edu.cn

定量的不同粒径的金纳米微粒，定容后，采用紫外-可见分光光度计和荧光分光光度计分别测定紫外可见吸收光谱和荧光光谱。

2 结果与讨论

2.1 金纳米微粒的表征结果

透射电镜图谱显示所制备的不同粒径的金纳米微粒形状呈球形，在溶液中分散均匀，其粒径大小见表 1。

Table 1 Characteristics of gold nanoparticles

No. of gold nanoparticles	Added amount of 1 % sodium citrate/ mL	Average diameter/ nm	$\lambda_{\max}$
A	5	12	519
B	2	21	524
C	1	30	533

吸收光谱结果表明不同粒径金纳米微粒在 400 ~ 600 nm 处有一宽带吸收(见图 1)，为金纳米微粒典型的等离子体共振吸收带，并且随着金纳米微粒粒径的增大，最大吸收峰红移，这与文献[12]报道结果一致。

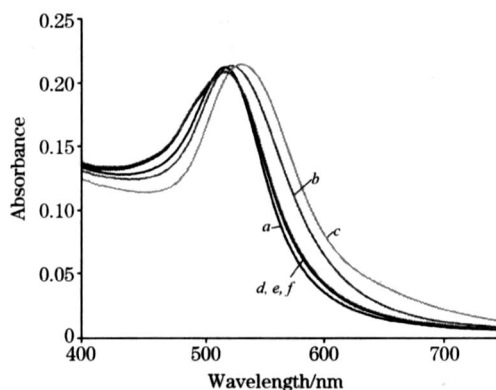


Fig 1 UV-visible spectra

a: 12 nm Au nanoparticles; b: 21 nm Au nanoparticles; c: 30 nm Au nanoparticles; d: a + fluorescein sodium; e: b + fluorescein sodium; f: c + fluorescein sodium

Concentration: Fluorescein sodium, $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; C_{Au} : $59 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

实验中于不同粒径的金纳米微粒溶液中加入荧光素钠，其吸收光谱如图 1 所示。由图 1 曲线 d ~ f 可见加入荧光素钠后，金纳米微粒的等离子体共振吸收强度有所减弱，最大吸收峰蓝移，并且这种减弱和蓝移现象随着不同粒径的金纳米微粒加入后，均呈现相同结果。这是由于荧光素钠分子在金纳米微粒表面的吸附作用，从而改变了金纳米微粒的表面特性，导致金纳米微粒的等离子体共振吸收峰的强度改变和位置移动^[13]。

2.2 金纳米微粒的荧光猝灭效应

实验进行了不同粒径金纳米微粒对荧光素钠荧光的影响研究，为了避免金纳米微粒的瑞利散射峰对荧光素钠荧光的

影响，实验选择 λ_{ex} 为 455 nm。图 2 曲线 a ~ d 分别为加入一定量的不同粒径的金纳米微粒和未加入金纳米微粒时荧光素钠的荧光发射光谱。结果表明荧光素钠的荧光光谱 λ_{em} 位于 508 nm 处，加入一定量的不同粒径的金纳米微粒溶液后(金的含量相同)，荧光素钠的荧光发射峰的形状虽无明显变化，但因金纳米微粒的猝灭效应，荧光发射峰的强度均有不同程度降低，并且这种猝灭效应随着金纳米微粒的粒径减小而增大。

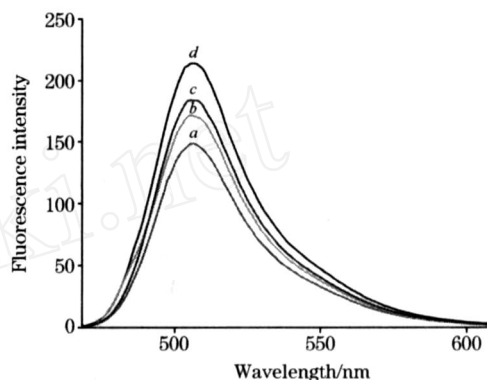


Fig 2 Emission spectra of free fluorescein sodium ($0.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) (d) and mixtures between fluorescein sodium ($0.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) and 12 nm (a), 21 nm (b), 30 nm (c) gold nanoparticles ($29 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), respectively

另外，在荧光素钠溶液中加入同一粒径的不同浓度金纳米微粒溶液，随着金的浓度增加，荧光素钠的发射峰的形状没有明显的变化，而发射峰的强度在不断降低。表明金纳米微粒对荧光素钠的猝灭效应随着金纳米微粒溶液的浓度的增大而增大。

对于动态猝灭和静态猝灭，Stern-Volmer 方程为

$$F_0/F = 1 + (K_s + K_D)[C_Q] + K_s K_D [C_Q]^2 \quad (1)$$

式(1)中 Q 为猝灭剂， K_s 和 K_D 分别为动态猝灭常数和静态猝灭常数，忽略式(1)右边的二次项，则方程变为

$$F_0/F = 1 + K_Q [C_Q] \quad (2)$$

其中 $K_Q = (K_s + K_D)$ 。方程(2)表明猝灭剂与 F_0/F 之间存在线性关系。

将不同浓度的三种不同粒径的金纳米微粒(12, 21, 30 nm)加入荧光素钠溶液进行荧光光谱测定，以 F_0/F 对 Au () 浓度做图，可以得到 3 条直线(图 3a ~ c)。说明不同粒径的金纳米微粒对荧光素钠的猝灭符合 Stern-Volmer 方程。将有关数据代入 Stern-Volmer 方程，求得的 A, B, C 三种不同粒径的金纳米微粒对荧光素钠荧光猝灭常数分别为： 1.5×10^4 , 6.8×10^3 和 $5.0 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。结果表明随着金纳米微粒粒径的增大，荧光猝灭常数变小。

2.3 荧光猝灭的粒径效应

三种粒径金纳米微粒对于荧光素钠产生的荧光猝灭效应，与金纳米微粒的浓度有直接关系。实验中制备的金纳米微粒，不同粒径的金纳米微粒溶液中金纳米微粒的浓度是相同的。因此金纳米微粒的粒径越小，溶液中所包含的金纳米微粒的数量就越多，金纳米微粒的浓度就越大。随着纳米微粒尺度的

减小, 纳米微粒比表面积急剧变大, 处于表面的原子数越来越多, 表面原子与总原子数之比迅速增加^[14]。

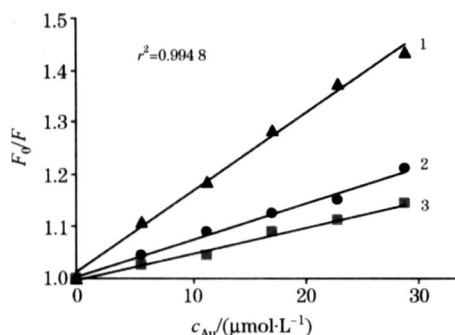


Fig 3 Stern-Volmer plot of F_0/F for $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ fluorescein sodium aqueous solution vs concentration of gold nanoparticles with different sizes

1: 12 nm; 2: 21 nm; 3: 30 nm gold nanoparticles

当金纳米微粒加入到荧光素钠溶液后, 荧光素钠分子在金纳米微粒表面和溶液达到热力学平衡, 荧光素钠分子被吸附到金纳米微粒表面。这种吸附行为与金纳米微粒的结构和组成、荧光素钠溶液的性质等密切相关。一定实验条件下, 吸附量的大小仅只与金纳米微粒的粒径有关。金纳米微粒粒径的减小, 则金纳米微粒的比表面积增大, 其表面所吸附的荧光素钠分子的数量增多。而在金纳米微粒与被吸附分子之间存在着能量转移, 使得荧光分子的无辐射弛豫增大。因此, 小粒径的金纳米微粒对荧光素钠的猝灭效应就更为显著。

2.4 猝灭机理

实验制备的金纳米微粒溶液是一种带负电的疏水性胶体^[11]。中性水溶液中, 荧光素钠分子以阴离子型的形式存在, 分子上的基团 COO^- 与负电性的金纳米微粒之间存在着较强的库仑斥力, 另外由于金纳米微粒具有较高的比表面能且具有疏水性, 荧光素钠分子可通过物理吸附作用(如分子

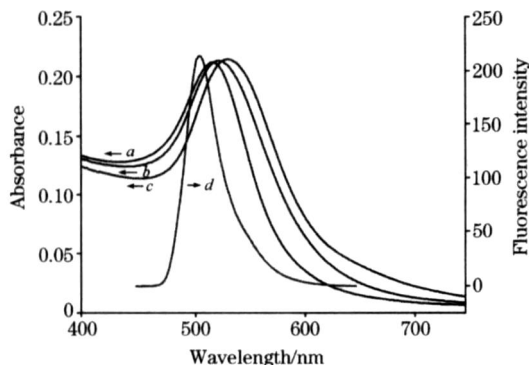


Fig 4 Overlap between the emission of fluorescein sodium ($0.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, d) and the absorbance of gold nanoparticles ($59 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) of 12 nm (a), 21 nm (b) and 30 nm (c)

间力等) 吸附在金纳米微粒表面。这两种作用力的作用结果使得吸附作用较弱, 荧光分子到金纳米微粒表面距离相对变大。由于纳米粒子的局域场效应随荧光分子离开粒子的距离迅速减小^[15], 故在光激发下, 金纳米微粒的局域场对于荧光素钠分子的荧光光谱强度影响较弱。

金纳米微粒具有连续的电子能态, 一定条件下能与荧光分子之间产生能量转移^[9], 能量转移的几率与荧光物质的发射光谱与金纳米微粒的吸收光谱两者重叠程度有关。图 4 为荧光素钠的发射光谱和 3 种不同粒径金纳米微粒溶液的吸收光谱。从图中可见, 金纳米微粒溶液的吸收光谱与荧光素钠的发射光谱有着很大的重叠, 使得能量转移可以有效进行。金纳米微粒与被吸附荧光分子之间的能量转移提供了激发态分子的能量衰减通道, 使分子的无辐射弛豫增大。并且这种无辐射能量转移效应大于局域场增强效应, 因此产生荧光猝灭效应。

荧光猝灭包括动态猝灭和静态猝灭。发生静态猝灭时吸收光谱发生变化, 而发生动态猝灭时吸收光谱不发生变化, 并且静态猝灭荧光强度随温度的升高而增强, 即静态猝灭常数随温度的升高而减小, 而动态猝灭常数随温度的升高而增大。

如上所述, 荧光素钠分子仅是吸附在金纳米微粒表面, 形成基态复合物的可能性不大, 因此, 推测金纳米微粒对荧光素钠分子的荧光猝灭可能是动态猝灭, 而并非是形成了基态复合物的静态猝灭。

为进一步证明其猝灭机理, 实验分别测定了不同温度 (25, 35, 45) 下金纳米微粒 (12 nm) — 荧光素钠体系在 λ_{em} 为 508 nm 处的荧光强度, 以 F_0/F 对金浓度作图, 可以得到三条直线。结果表明: 随着温度升高, 猝灭曲线的斜率增大, 即荧光猝灭常数增大 (见表 2), 因此金纳米微粒对荧光素钠分子的荧光猝灭为动态猝灭。

Table 2 Quenching constants (K_Q) at different temperature

T/	Stern-Volmer equation	Quenching constants $K_Q/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$	Correlation coefficient
25	$y = 0.0150x + 1.012$	1.50×10^4	0.9948
35	$y = 0.0171x + 1.019$	1.71×10^4	0.9923
45	$y = 0.0194x + 1.012$	1.94×10^4	0.9967

Fluorescein sodium: $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

3 结 论

进行了不同粒径金纳米微粒对荧光素钠荧光猝灭的研究。发现金纳米微粒对荧光素钠的猝灭程度与金纳米微粒的粒径有关, 随着金纳米微粒粒径的减小, 荧光猝灭程度增大, 其原因与小粒径的金纳米微粒具有大的活性比表面积有关。讨论了金纳米微粒对荧光素钠荧光猝灭的机理, 表明该荧光猝灭为动态猝灭。

参 考 文 献

- [1] Saunders A E, Sigman M B Jr, Korgel B A. J. Phys. Chem. B, 2004, 108: 193.
- [2] Galletto P, Brevet P F, Girault H H, et al. J. Phys. Chem. B, 1999, 103: 8706.
- [3] Sayd B, Prashant V K, Surat H. J. Phys. Chem. B, 2005, 109: 716.
- [4] SHEN Li-ming, YAO Jian-lin, GU Ren-ao(沈理明, 姚建林, 顾仁敖). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(12): 1998.
- [5] Jin R, Wu G, Li Z, et al. J. Am. Chem. Soc., 2003, 125: 1643.
- [6] Thanh N T K, Rosenzweig Z. Abstracts of Papers, 225th ACS National Meeting, March 23, 2003(2003). Publisher: American Chemical Society, Washington, D C.
- [7] Aslan K, Perez-Luna V H. Journal of Fluorescence, 2004, 14: 401.
- [8] Ray P C, Fortner A, Griffin J, et al. Chemical Physics Letters, 2005, 414: 259.
- [9] Huang T, Murray R W. Langmuir, 2002, 18: 7077.
- [10] Fan C H, Wang S, Bazan G C. Abstracts of Papers, 225th ACS National Meeting, New Orleans, LA, United States, March 23, 2003(2003), COLL-289 Publisher: American Chemical Society, Washington, D C.
- [11] Frens G. Nature Physical Science, 1973, 241: 20.
- [12] Hayat M A. Colloidal Gold: Principles, Methods and Applications, San Diego, CA: Academic Press, 1991.
- [13] Mulvancy P, Linnert T, Henglein A. J Phys. Chem., 1991, 95: 7843.
- [14] ZHU Jian-jun, LIN Xi-ping, DU You-wei(朱建军, 林西平, 都有为). Natural Magazine(自然杂志), 1999, 21: 315.
- [15] Weitz D A, Garoff S, Gersten J I. J. Chem. Phys., 1983, 78: 5324.

Quenching Effect of Gold Nanoparticles for Fluorescein Sodium

GUO Yan-li, YAN Hong-tao, PEI Ruo-hui

Department of Chemistry, Northwest University, Xi'an 710069, China

Abstract The spectroscopic characteristic of interaction of fluorescein sodium and gold nanoparticles with different sizes was investigated via UV-Vis and fluorescence spectrophotometry. It was shown that fluorescein sodium adsorbed respectively onto the different sized gold nanoparticle surface suffers different extent of quenching of their fluorescence. The quenching efficiency is different for different sized gold nanoparticles. It was found that smaller gold nanoparticles are more efficient quenchers due to their larger surface areas. The quenching mechanism was discussed. It was a dynamic quenching.

Keywords Gold nanoparticles; Fluorescein sodium; Fluorescence quenching; Quenching mechanism

(Received Oct. 8, 2006; accepted Jan. 9, 2007)