

学校编码: 10384

分类号_____ 密级_____

学号: 20520081151641

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

金属纳米粒子增强室温磷光及其应用研究

Studies on Metal-Enhanced Room Temperature

Phosphorescence and its Application

杨 燕

指导教师姓名: 朱亚先 教授

专 业 名 称: 无 机 化 学

论文提交日期: 2011 年 月

论文答辩时间: 2011 年 月

学位授予日期: 2011 年 月

答辩委员会主席: _____ 教授

评 阅 人: _____ 教授

_____ 教授

2011 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目录

目录.....	I
摘要.....	I
Abstract.....	III
第一章 绪论	1
1.1 引言	1
1.2 磷光研究进展	1
1.2.1 磷光发光机理.....	1
1.2.2 低温磷光.....	2
1.2.3 重原子诱导室温磷光.....	2
1.2.4 固体基质室温磷光.....	3
1.3 室温磷光的应用研究进展	4
1.3.1 无机离子及小分子检测.....	4
1.3.2 光学领域应用.....	7
1.3.3 免疫分析与生物传感器.....	8
1.3.4 食品和药物检测.....	9
1.4 金属纳米粒子增强荧光的研究进展	10
1.4.1 局域场增强理论.....	10
1.4.2 荧光分子与金属表面之间的能量转移.....	11
1.4.3 荧光分子辐射跃迁速率增加.....	11
1.5 金属纳米粒子增强室温磷光的研究进展	11
1.6 课题的提出和研究内容	13
1.6.1 课题的提出.....	13
1.6.2 研究内容.....	14
参考文献.....	14
第二章 AuNPs 增强 5(6)-FAM 和 DIF 室温磷光的研究	28
2.1 引言	28

2.2 实验部分	29
2.2.1 仪器与试剂.....	29
2.2.2 实验方法及步骤.....	30
2.2.3 实验条件的选择.....	31
2.3 结果与讨论	36
2.3.1 AuNPs 增强 5(6)-FAM-RTP 和 DIF-RTP	36
2.3.2 AuNPs 对 5(6)-FAM 和 DIF 吸收的影响	39
2.3.3 AuNPs 对 5(6)-FAM 和 DIF 寿命的影响	40
2.3.4 AuNPs 的自旋轨道效应研究	43
2.3.5 AuNPs 在滤纸表面增强 5(6)-FAM-RTP 和 DIF-RTP 机理	44
2.4 本章小结	45
参考文献.....	45
第三章 滤纸基质-AuNPs 增强 DIF 室温磷光法检测铅离子	48
3.1 引言	48
3.2 实验部分	48
3.2.1 仪器与试剂.....	48
3.2.2 实验方法及步骤.....	49
3.2.3 实验条件的选择.....	50
3.3 结果与讨论	52
3.3.1 分析方法的建立.....	52
3.3.2 方法的特性分析.....	55
3.3.3 机理探讨.....	57
3.4 本章小结	58
参考文献.....	58
第四章 滤纸基质-Ag@SiO₂ 增强 FITC 室温磷光法检测赖氨酸	61
4.1 引言	61
4.2 实验部分	61
4.2.1 仪器与试剂.....	61

4.2.2 实验方法及步骤.....	62
4.2.3 实验条件的选择.....	64
4.3 结果与讨论	69
4.3.1 分析方法的建立.....	69
4.3.2 方法的分析特性.....	72
4.3.3 实际样品分析.....	75
4.3.4 机理探讨.....	75
4.4 本章小结	76
参考文献.....	76
第五章 总结与展望	79
5.1 研究成果及结论	79
5.2 存在的不足	80
5.3 研究展望	80
硕士学习期间发表和交流的论文.....	82
期刊论文.....	82
会议论文.....	82
致谢.....	83

Contents

Abstract in Chinese	I
Abstract in English.....	III
Chapter 1 Preface.....	1
1.1 Introduction.....	1
1.2 Research progress of phosphorescence.....	1
1.2.1 Mechanism of phosphorescence	1
1.2.2 Low temperature phosphorescence.....	2
1.2.3 Heavy atom induced RTP	2
1.2.4 Solid substrate RTP.....	3
1.3 Progress in research of RTP	4
1.3.1 Detection of inorganic ions and small molecules	4
1.3.2 Application in optical field.....	7
1.3.3 Immunoassays and biosensors	8
1.3.4 Food and medicine inspection	9
1.4 Progress in research of fluorescence.....	10
1.4.1 Theory of local field enhancement	10
1.4.2 Energy transfer between fluorescent molecular and metal surface	11
1.4.3 Increased rate of fluorescent molecular radiation transition.....	11
1.5 Progress in research of metallic nanoparticles.....	11
1.6 Proposals of dissertation and research contents.....	13
1.6.1 Proposals of subject	13
1.6.2 Research contents.....	14
References.....	14
Chapter 2 Study on AuNPs enhancing RTP of 5(6)-FAM and DIF	28
2.1 Introduction.....	28
2.2 Experimentals	29

2.2.1 Instruments and reagents.....	29
2.2.2 Methods.....	30
2.2.3 Optimization of experimental conditons.....	31
2.3 Results and discussion	36
2.3.1 Effects of AuNPs on RTP of 5(6)-FAM and DIF P	36
2.3.2 Effects of AuNPs on absorption of 5(6)-FAM and DIF	39
2.3.3 Effects of AuNPs on decay times of 5(6)-FAM and DIF	40
2.3.4 Spin-orbit coupling effect of AuNPs.....	43
2.3.5 Mechanism of AuNPs enhancing RTP of 5(6)-FAM and DIF on the filter paper	44
2.4 Summary	45
References.....	45
Chapter 3 Determination of Pb ²⁺ based on AuNPs enhanced DIF-RTP on the filter paper substrate.....	48
3.1 Introduction.....	48
3.2 Experimentals	48
3.2.1 Instruments and reagents.....	48
3.2.2 Methods.....	49
3.2.3 Optimization of experimental conditons.....	50
3.3 Results and discussion	52
3.3.1 Establishment of analysis method.....	52
3.3.2 Characteristics of analysis methods	55
3.3.3 Discussion on the mechanism.....	57
3.4 Summary	58
References.....	58
Chapter 4 Determination of lysine by Ag@SiO ₂ enhanced FITC-RTP on the filter paper.....	61
4.1 Introduction.....	61

4.2 Experimentals	61
4.2.1 Instruments and reagents.....	61
4.2.2 Methods.....	62
4.2.3 Optimization of experimental conditons.....	64
4.3 Results and discussion	69
4.3.1 Establishment of analysis method.....	69
4.3.2 Characteristics of analysis methods	72
4.3.3 Analysis of actual samples	75
4.3.4 Discussion on the mechanism.....	75
4.4 Summary	76
References.....	76
Chapter 5 Conclusion and perspectives	79
5.1 Conclusion	79
5.2 Shortages.....	80
5.3 Perspectives.....	80
Publications.....	82
Acknowledgements.....	82

摘要

本文针对金属纳米粒子增强室温磷光 (room temperature phosphorescence, RTP) 体系中的金属纳米粒子和发光分子这两个主要研究对象, 选取铅离子和赖氨酸作为目标物质, 开展金属纳米粒子增强 RTP 的应用工作。主要内容和结果如下:

第一部分 绪论, 比较系统的综述了 RTP 信号增强和 RTP 应用的研究进展。着重介绍了金属增强荧光和磷光的研究进展。最后在上述讨论的基础上提出了本论文的设想及研究内容。

第二部分是通过合成纳米金粒子 (AuNPs), 并将其应用于增强5(6)-羧基荧光素 (5(6)-carboxyfluorescein, 5(6)-FAM) RTP以及二碘荧光素 (diiodofluorescein, DIF) RTP的研究。结果表明, AuNPs可使5(6)-FAM-RTP和DIF-RTP显著增强。随着AuNPs加入量的增加, 5(6)-FAM-RTP和DIF-RTP增强幅度先增加后减小, 最大增强分别为1.8和3.3倍, DIF更适合用于后续应用。通过考察AuNPs存在时5(6)-FAM和DIF的紫外吸收、寿命和轨道自旋耦合, 证明AuNPs对5(6)-FAM-RTP和DIF-RTP的增强作用主要源于体系局域场增强和三线态的辐射跃迁速率的提高。

第三部分是在第二部分实验结果的基础上, 选择 RTP 增强效果较好的 DIF 作为研究对象, 考察固体基质中微量铅离子 (Pb^{2+}) 对 AuNPs-DIF 体系 RTP 的影响。结果发现在低浓度范围内, Pb^{2+} 浓度与 DIF 金属增强 RTP 强度下降程度 ($\Delta I_p/I_{p0}$) 成线性关系, 据此建立了一种检测痕量 Pb^{2+} 的方法。并验证了 Pb^{2+} 通过使 AuNPs 发生聚集, 增大其粒径, 而减小 AuNPs 增强 DIF-RTP 信号强度。该方法测定 Pb^{2+} 的检测范围为 $0.470\text{-}22.1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 检出限为 $6.10 \text{ pmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 人工合成样加标回收率为 $89.4\% \text{-}115.4\%$, 相对标准偏差为 3.70% ($n=9$)。实验研究几种常见的金属离子对 Pb^{2+} 测定准确度的影响。结果除 Fe^{3+} 、 Ag^+ 外大部分金属离子对本体系的干扰较小。

第四部分是在本课题组已有的实验基础上, 制备了二氧化硅包裹的纳米银粒子 (Ag@SiO_2), 并将其用于增强异硫氰酸荧光素酯 (fluorescein isothiocyanate isomer I, FITC) RTP。通过考察固体基质中赖氨酸的存在对 Ag@SiO_2 -FITC 体

系 RTP 的影响,证明了赖氨酸与 FITC 的相互作用可以使 Ag@SiO₂ 与 FITC 间的距离增大,影响 Ag@SiO₂ 增强 FITC-RTP, 据此建立了一种简便、快捷检测赖氨酸的新方法。该方法测定赖氨酸的检测范围为 1.50-90.5 μmol·L⁻¹, 检出限为 0.270 μmol·L⁻¹, 回收率为 97.0-108.0 %, 相对标准偏差为 2.10 % (n=9)。实验考察了几种常见的金属离子和几种氨基酸对赖氨酸测定准确度的影响。结果表明所选金属离子和氨基酸对本体系的干扰较小。本方法用于实际市售赖氨酸颗粒和赖氨酸磷酸氢钙片中赖氨酸含量的检测, 结果满意。

关键词: AuNPs; Ag@SiO₂ 核壳; 金属增强室温磷光; 应用研究

Abstract

The article was take metallic nanoparticles and luminescence molecules which in the system of metal enhanced room temperature phosphorescence (RTP) as the research object, choose the lead ion and L-lysine as the target material and develop the application of metallic nanoparticels enhanced RTP. The main contents and results are as follows:

The first part is the prolegomenon. It's the review of the research progress of enhance RTP and application of RTP. This part emphatically introduces the research progress of application of metal enhanced fluorescence and phosphorescence. Finally, this part puts forward assumption and contents based on above discussion.

The second part is synthesis of Au nanoparticles (AuNPs) and applied it to the study of enhanced 5(6)-FAM and DIF- RTP. The results showed that AuNPs can significantly enhanced 5(6)-carboxyfluorescein (5(6)-FAM) RTP and diiodofluorescein (DIF) RTP. With the increase in the addition amount of AuNPs, the enhancement extent of 5(6)-FAM-RTP and DIF-RTP was firstly increases and then decreases, the maximum enhancement were 1.8 and 3.3 times, respectively. Therefore, DIF was more suitable for subsequent applications. AuNPs enhance 5(6)-FAM-RTP and DIF-RTP was mainly because of local field enhancement and radiative transition rate improvement.

The third part is choose DIF as research object to study the effect of trace lead ions (Pb^{2+}) on AuNPs-DIF-RTP which based on experiment results of the second part. The results showed that in the low concentration range, a linear relationship between the concentration of Pb^{2+} and the decreasing degree of DIF-RTP ($\Delta I_p/I_{p0}$). Based on this phenomenon, a novel method for determination of Pb^{2+} had hereby been developed. The experiment also proved Pb^{2+} decrease DIF-RTP by aggregation of AuNPs. The response is linearly proportional to the concentration of Pb^{2+} in the range 0.470-22.1 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, the detection limit for lysine was 6.10 $\text{pmol}\cdot\text{L}^{-1}$, the recovery rate were in range of 89.4 %-115.4 %, the relative standard deviation was less than

3.70 %. The experiment also study on the influence of several common metal ions on determination accuracy, the results showed that most of metal ions has little interference in the system except Fe^{3+} and Ag^+ ions.

The fourth part was prepared silica coated silver nanoparticles (Ag@SiO_2) and applied to enhance fluorescein isothiocyanate isomer I (FITC) RTP which based on former experiment. Through investigate the influence of Ag@SiO_2 on FITC-RTP in the solid substrate, the experiment proved that the interaction between L-lysine and FITC can make the distance increases between Ag@SiO_2 and FITC, so the effect of Ag@SiO_2 enhances FITC-RTP was affected. Based on this phenomenon, a simple and rapid method for determination of lysine had hereby been developed. The response is linearly proportional to the concentration of lysine in the range 1.50-90.5 $\mu\text{mol/L}$, the detection limit for lysine was 0.270 $\mu\text{mol/L}$, the recovery rate were in range of 97.0-108.0 %, the relative standard deviation was less than 2.10 %. The experiment also study on the influence of several common metal ions and amino acids on determination accuracy, the results showed that metal ions and amino acids has little interference in the system. A satisfactory result was obtained when the established method has been applied to determine lysine in Compound lysine hydrochloride and zinc gluconate granules and Lysine hydrochloride and calcium hydrogen phosphate tablets.

Key words: AuNPs; Ag@SiO_2 core-shell; metal enhanced RTP; Application.

第一章 绪论

1.1 引言

早在19世纪末，人们就发现了磷光现象。Wiedemann于1888年首次报道了固态溶液的有机染料磷光发射现象。直到1958年，Hutchison等才用实验方法证明了磷光的起因^[1]。Paynter课题组^[2]于1974年建立了具有分析意义的固体基质室温磷光法（solid substance room temperature phosphorescence, SS-RTP），从此，RTP作为一种新的分析技术正式诞生。近十几年来，先后建立了胶束增稳室温磷光法^[3-4]，敏化/猝灭室温磷光法^[5-6]，环糊精诱导室温磷光法^[7]，胶态纳/微晶室温磷光法^[8-9]，衍生室温磷光法^[10]，微乳状液增稳室温磷光法^[11]，无保护流体室温磷光法^[12-13]等。

RTP法因具备分析信噪比高、选择性好、操作简便快速、耗资少等优点，近年来被广泛应用在生物、环境科学、医学临床、法检、卫生和能源等领域。例如环境中农药残余^[14-15]、痕量重金属^[16-17]、多环芳烃、氮杂环类等污染物的检测^[18-19]，药物分析^[20-21]等。随着RTP技术的发展，其不但为探索生物分子之间的相互作用提供有用信息，更成为一种检测金属离子、生物小分子、蛋白质、核酸等的有效手段^[22-23]。

1.2 磷光研究进展

1.2.1 磷光发光机理

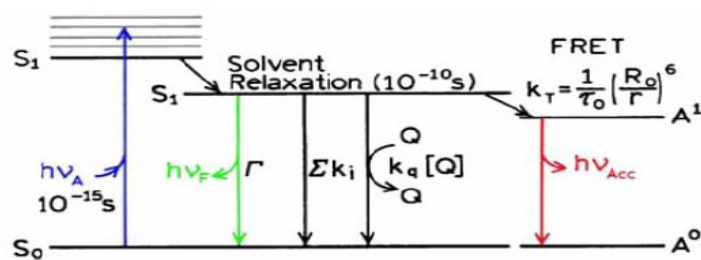


图 1.1 光致发光过程的 Jablonski 能级图^[24]

Fig.1.1 Jablonski energy level diagram of photoluminescence process^[24]

磷光是受激分子由激发三线态跃迁到基态而产生的光辐射现象（如图 1.1 所示）。因此，磷光的产生主要涉及到三个主要过程：（1）处于基态（ S_0 ）的物质分子吸收光子后跃迁到单线激发态（singlet excited state, $S_1, S_2 \cdots S_n$ ），期间处于激发态的分子可能通过辐射跃迁（荧光）和非辐射跃迁等分子内的去活化过程丧失多余能量而返回基态；（2）受激分子的电子在激发态发生自旋反转，当它所处单重态的较低振动能级与激发三重态的较高能级重叠时，就会发生系间窜跃，到达激发三重态，经过振动弛豫达到最低振动能级；（3）三线态电子通过辐射跃迁回到基态同时发射磷光，处于激发态的分子可能通过非辐射跃迁等分子内的去活化过程丧失多余能量而返回基态。

磷光一般寿命比较长（约 10^{-4} - 10^1 s），因而，它的激发态非辐射跃迁过程更加活跃，许多溶剂分子或者分子氧等的作用都可使磷光发生猝灭，因此其信号强度较低，其应用也受到限制。根据磷光产生的过程，主要可通过降低非辐射跃迁和增加系间窜跃的几率来提高磷光信号强度。提高磷光信号强度可通过低温磷光、重原子诱导室温磷光和固体基质室温磷光等来实现。

1.2.2 低温磷光

将磷光试样冷却到液氮温度（77K）下，形成低温刚性玻璃体以观察磷光，即低温磷光（low temperature phosphorescence, LTP）。LTP 于 1957 年开始用于定量分析^[25]，展示出灵敏度高、线性范围宽、检测限低、选择性较好、光谱精细结构丰富等特点。但由于需要深冷设备，操作复杂，溶剂的选择也受到了限制，一定程度上限制了 LTP 的应用。近年来，RTP 以其优良的特性引起了广泛的关注。

1.2.3 重原子诱导室温磷光

磷光测定体系中（待测分子内或加入含有重原子的试剂）有原子序数较大的原子存在时，由于重原子的高核电荷引起或增强了溶质分子的自旋轨道耦合作用，从而增大了 $S_0 \rightarrow T_1$ 吸收跃迁和 $S_1 \rightarrow T_1$ 体系间窜跃的几率，有利于磷光的产生和增大磷光的量子产率，这种作用称为重原子效应（heavy atom effect, HAE）。HAE 一般使荧光猝灭，磷光寿命缩短，因此 HAE 是增强磷光信号的重要手段。

HAE 可以分为内重原子效应(internal heavy atom effect)和外重原子效应(external heavy atom effect)。重原子如属于激发态分子的组成元素时,称为内重原子效应;若属于激发态分子以外的分子时则称为外重原子效应。这种效应的产生与重原子对自旋轨道偶合作用的增强有关。

目前 HAE-RTP 研究中使用的无机重原子盐几乎覆盖了周期表中所有金属和非金属元素。较为有效和常用的重原子包括氯, 溴, 碘, 碱金属, 碱土金属, Ag、Pb、Tl、Hg、Cd、Zn、La 等。重原子化合物应该溶解于水, 因此金属重原子盐化合物除碱金属和碱土金属外基本上都是硝酸盐和乙酸盐。另外, Ag 和 Tl 的表面活性剂盐: 十二烷基硫酸银 (AgDs)、十二烷基硫酸铊 (TIDS) 也可用作重原子。然而, 在流体 RTP 中常用的重原子化合物, 如氯、溴和碘取代的烷烃等化合物在室温下大多是液态, 目前还未见在 HAE-RTP 中的应用。

1.2.4 固体基质室温磷光

将含有磷光物质的溶液滴加到特定的固体表面上, 在一定温度下干燥去除水分后, 室温下光激发能够观察到较强的磷光信号。根据这一磷光物质在固体表面的光致发光现象建立起来的分析方法叫做固体基质室温磷光法 (SS-RTP) [22]。

固体基质是承载待测组分材料。理想的固体基质可以使待测组分充分刚性化, 以消除各种猝灭及非辐射失活过程, 同时基质本身不引入发光背景。在 SS-RTP 中, 将磷光体滴加到固体表面上后, 发光分子在基质内扩散或渗透, 将其带向基质内部, 待基质干燥后, 发光分子部分渗入到基质中, 部分在溶剂蒸发过程中又回到基质表面, 与原来滞留在表面的发光分子一起形成表面层。因此发光分子在基质 (如滤纸) 中往往呈梯度分布。RTP 的发射主要来自表面的发光分子 [26], 而基质内部的分子由于前滤或后滤效应磷光发射较弱 [27-28]。磷光分子与基质之间的相互作用决定着磷光体刚性化程度, 在较大程度上限制了磷光分子的碰撞失活以及磷光发射强度。围绕磷光分子如何与基质相互作用而实现刚性化, 人们还提出了表面吸附、氢键作用、基质隔离、基质填塞、微晶包埋、弱色散等机理 [29]。

常用的基质材料主要有滤纸、薄层板、固体盐粉末、糖玻璃体、反相色谱填料、活性炭和淀粉等, 其中滤纸是使用最广泛、较为理想的基质之一。滤纸作为

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库