

化学

等离子体增强纳米金刚石荧光特性

翟陈婷 唐 军 郭 浩 赵苗苗 张 伟 刘 俊*

(中北大学仪器科学与动态测试教育部重点实验室, 电子测试技术重点实验室, 太原 030051)

摘 要 金刚石纳米颗粒(Nanodiamonds)具有大的比表面积、发光稳定、无毒性、固态量子比特等特性的惰性纳米材料,因此被广泛应用于生物医学、生物传感、生物成像、材料科学、核磁共振等领域。利用等离子体共振技术,结合纳米胶体金材料实现金刚石纳米颗粒的荧光增强,得到的 Raman 和荧光增强因子分别达到 29.08 和 28.26,为进一步研究金刚石纳米颗粒作为生物荧光探针提供研究基础。

关键词 金刚石纳米颗粒 等离子共振 荧光探针

中图分类号 O613.7; **文献标志码** A

荧光标记对生物医学、生物传感、材料科学等方面^[1-3]都是非常有效的检测手段。罗丹明、荧光素、吖啶、菁等传统的有机荧光染料分子易发生团聚(微米级)不易进入细胞。荧光素类^[4]标记物易与同类物种间发生能量转移,随着标记量增大荧光信号反而降低,导致自猝灭。有些染料对激发光要求苛刻^[5],需要特定波段波长的激发光,发光过程造成发光谱变宽,不同特征峰重叠,光稳定性下降。有些荧光染料易降解,对生物细胞有损伤。而金刚石既发荧光又无光致漂白^[6]现象,高生物相容性且无毒、大比表面积,更易于与抗体结合形成荧光标记物进行靶向标记,被广泛的应用到 DNA 无损检测以及免疫分析中。

卡普顿大学 Mkandawire 教授将绿色荧光金刚石纳米颗粒与免疫细胞复合物结合,实现利用不同染色剂进入活细胞进行标记^[7]。剑桥大学研究人员将纳米金刚石附在蛋白质上,利用纳米金刚石结构自组形成环形结构量子,成为观察和了解细胞的完美工具^[8]。然而,现有的金刚石荧光检测不足以满足全部检测需求,需要通过提高荧光强度,进一步扩大其应用范围。

K. H. Drexhage 教授最先发现表面增强荧光(Surface Enhanced Fluorescence)现象进行了理论推导和实验验证工作^[9]。染料分子在电磁场增强和

化学增强的共同作用下,总的增强因子在 $10^3 \sim 10^{14}$ 范围内,分子在间隙中形成“热点”,对其表面增强拉曼散射(surface enhanced raman scattering)及荧光光谱,所探测的分子浓度为 10^{-7} mol/L,有望用于生物单分子检测^[10]。Das 和 Puri 教授对处于金属粒子表面附近的荧光分子荧光增强效果进行理论预测^[11]。大连理工大学的曹瞰等,利用金属能带理论对金属表面的光致发光光谱进行了研究^[12]。中南大学李宏建教授小组对顶三角形状的纳米天线阵列提高荧光分子距离进行仿真^[13],使荧光得到增强,与之相比等离子体共振技术更加高效、简便、快捷。

利用等离子体共振技术增强金刚石纳米颗粒的荧光强度,将金刚石纳米颗粒与性能稳定的胶体金结合,得到分布于胶体金附近的金刚石荧光发射强度相比于自由态荧光发射强度大大增加。采用激光 Raman 光谱测试,得到的 Raman 和荧光增强因子分别达到 29.08 和 28.26。

1 实验

实验所选用的金刚石购买于华晶微钻有限公司,尺寸为 50 nm。胶体金(gold colloid)(CAS:7440-57-5)购买于上海华蓝化学科技有限公司,尺寸为 20 nm。采用的是 JSM-6700F 型场发射扫描电子显微镜(field emission scanning electron microscopy, FESEM)对纳米颗粒进行微观形貌、尺寸的表征,并结合能谱(energy dispersive spectrometry, EDS)分析微区元素组成及分布;利用 InVia 型 Raman 激光光谱仪对样品发光光谱测试,光谱仪的激发光波长为 514.5 nm,功率为 5 mW,积分时间为 10 s。

在千级标准洁净室(温度 25 ℃,相对湿度 28%)

2015 年 11 月 13 日收到 国家杰出青年科学基金(51225504)、
国家自然科学基金重点项目(91123036)和
山西省高等学校优秀青年学术带头人支持计划资助
第一作者简介:翟陈婷(1990—),女,硕士研究生。研究方向:纳米材料的光学性能。

* 通信作者简介:刘 俊。E-mail: liuj@nuc.edu.com。

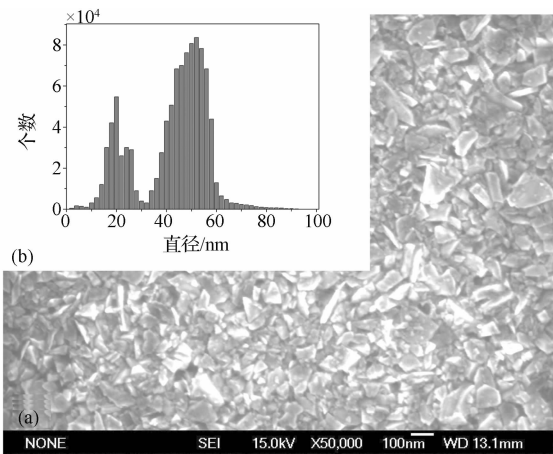
对硅片进行超声(SB-5200DNT)振荡 30 min,去离子水冲洗 30 s 后氮气吹干备用。然后,用电子天平称取一定质量分数的金刚石和胶体金,在烧杯中配成混合液。进行 30 min 超声振荡,防止纳米颗粒发生团聚。取 0.5 mL 悬浊液滴到硅片上,在匀胶机上进行低速 6 s、高速 10 s 旋转,使得混合液能更好的分散在硅片上,干燥环境静置 2.5 h 至水分完全蒸干备用。

2 实验结果和讨论

2.1 纳米颗粒的形貌和 EDS 测试

图 1 为样品的 FESEM,图像景深长,层次丰富,可以呈现三维立体结构,可看到纳米颗粒分布相对均匀。由图 1(a)得到样品粒径范围在 10 ~ 100 nm 之间,主要集中在 10 ~ 30 nm 和 35 ~ 60 nm。根据 EDS 图可以确定纳米颗粒为 Au 元素和 C 元素,Au 呈球形,NDs 形状不规则。FESEM 图可以看出,Au 颗粒随机分布于金刚石颗粒表面或间隙中,一部分仍以单个颗粒形式或较小团聚体存在。

利用 Smile View 软件对颗粒尺寸进行统计,手动选取颗粒的对角线作为颗粒直径,统计结果如图 1(b)所示,得到金刚石最可几粒径 52.3 nm,平均粒径为 49.8 nm。



(a) 为纳米颗粒的 FESEM; (b) 为颗粒尺寸(对角线)统计图

图 1 纳米颗粒的 FESEM 图和手动选取颗粒的尺寸(对角线)得到的统计图

Fig. 1 The FESEM image and the statistics of nanoparticles size (diagonal diameter) from FESEM data

1 号至 5 号样品中金刚石的质量同为 20 mg,胶体 Au 的体积分别为 0 mL、0.1 mL、0.3 mL、1 mL、2 mL,胶体 Au 的浓度为 0.01%,Au 的密度为 19.32 g/cm³,所以,根据式(1)和式(2)可以得到 Au 的质量百分比:

$$m = \rho v \quad (1)$$

$$w = \frac{m_{\text{Au}}}{m_{\text{Au}} + m_{\text{c}}} \times 100\% \quad (2)$$

式中, m 、 ρ 、 v 分别表示质量、密度和体积, w 表示质量百分比。根据公式可以计算出 Au 元素的质量百分数,与 EDS 测得的结果进行对比,绘制成表格(表 1)。

表 1 Au 含量的比重测试

Table 1 The proportion of Au element test

元素	1	2	3	4	5
理论值/	20	20	20	20	20
Au	0	0.19	0.58	1.90	3.86
[Au/(Au + C)]/%	0	0.94	2.82	8.68	16.18
C	99.56	46.48	60.43	46.42	50.15
实验值/	0.44	52.81	38.12	49.21	41.96
Si	0	0.71	1.45	4.37	7.90
Au	0	0.71	1.45	4.37	7.90
[Au/(Au + C)]/%	0	1.50	2.34	8.60	13.61

理论上,Au 元素的质量百分比 0.94 wt%、2.82 wt%、8.68 wt%、16.18 wt%。而 EDS 测得 Au 元素的质量百分是 1.50 wt%、2.34 wt%、8.60 wt% 和 13.61 wt%,与理论值存在差距,原因可能是样品中加入的胶体 Au 量少,样品整体分布均匀,局部区域金颗粒零散分布,测试的局部区域不能完全代替整体。

EDS 测试结果中,除 Au 元素、C 元素外,还存在 Si 元素,Si 元素来源于基底,并无其他元素干扰。

2.2 金刚石纳米颗粒的 Raman 散射特性

对样品进行 Raman 谱线测试,图 2(a)中曲线由下至上分别表示 1 号至 5 号样品的 Raman 谱线图,横坐标以波数(cm^{-1})表示 Raman 位移,纵坐标以光子计数表示 Raman 强度。

从测试结果可以看出,在 1 332 cm^{-1} 处存在金刚石的本征 Raman 振动峰(即存在 C—C 键),同时在 1 070 cm^{-1} 处呈现 C—C 骨架的振动能带。在 519.3 cm^{-1} 处也有一个明显的凸起,是基底 Si 的 Raman 振动峰(即存在 Si—Si 键)。

对多次测试数据进行统计,得到 1 ~ 3 号样品的 Raman 强度的平均值分别是 6.50 kcounts、38.70 kcounts、79.58 kcounts、117.44 kcounts、188.94 kcounts。相比于 1 号样品,加入胶体 Au 的 2 号、3 号、4 号、5 号样品的 Raman 峰强度随着胶体 Au 的质量分数的增加而增加,最大的增强因子达 29.08。

2.3 金刚石纳米颗粒的光致发光特性

与 Raman 相对应,进行金刚石的光致发光测试。图 3(a)中曲线从下至上分别为 1 号至 5 号样品的光致发光图。以波长(cm^{-1})和光子计数为横纵坐标,表示发光位置和荧光强度。

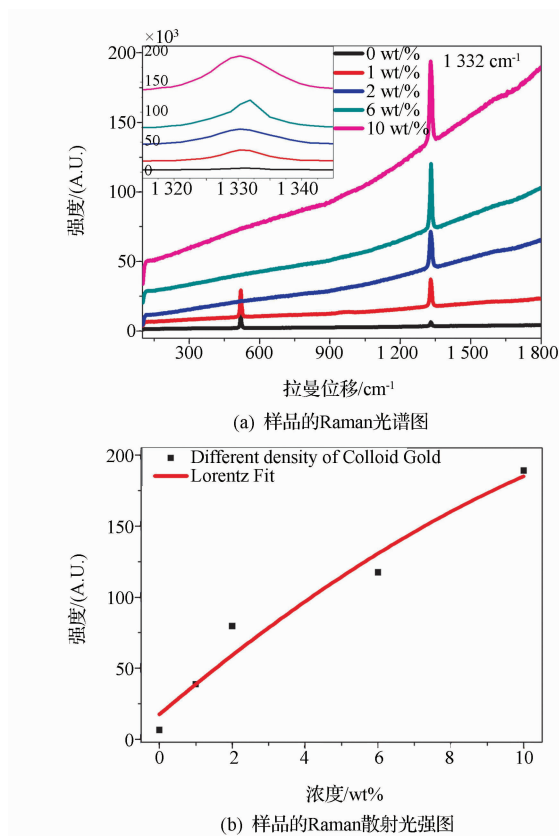


图2 样品的 Raman 光谱图以及 Raman 散射强度图

Fig. 2 The emission spectra of samples and the corresponding Raman scattering intensity diagrams

金刚石的发光带在 500 – 800 nm 范围, 荧光发光峰中心在 552.2 nm, 即金刚石的 Raman 本征振动峰。图中曲线由下至上分别为 1 号至 5 号样品的荧光谱线。统计多次测试结果, 得到样品的荧光强度的平均值分别为 5.80 kcounts、31.85 kcounts、66.48 kcounts、132.98 kcounts、163.78 kcounts, 最大增强因子为 28.24。

金刚石发生 Raman 散射增强和荧光增强的原因可能是: 一方面, 胶体 Au 具有大的比表面积, 颗粒中的自由电子集中在颗粒表面, 激发光与其发生相互作用, 在 Au 颗粒表面形成光波电磁场。当光波电磁场的频率与自由电子的振动频率相同时, 自由电子发生集体振荡, 在金属表面附近形成强烈的局域电场, 加速了处于激发态的金刚石释放光子, 从而使金刚石的荧光强度得到增强。另一方面, 从能量转移的角度分析^[14], 当金属中的自由电子与处于激发态的荧光分子发生相互作用时, 荧光分子会迅速将能量转移给自由电子。与自由空间的荧光分子相比, 这些被转移的能量会以更高的频率被释放出来, 因此, 可看到金刚石荧光增强现象。

还有一些研究者认为, 处于激发态的荧光分子

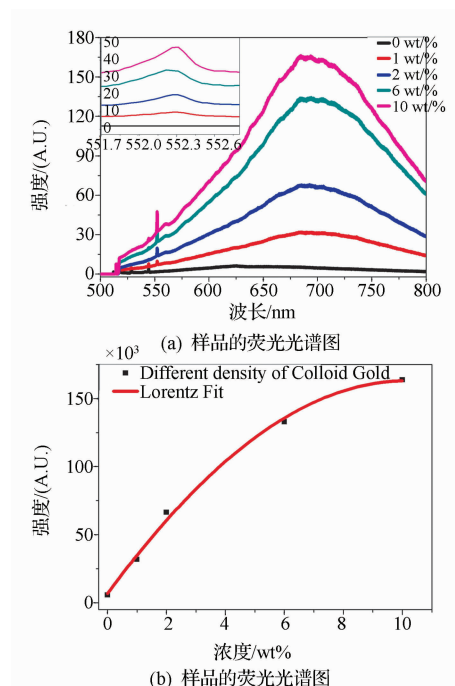


图3 样品的荧光光谱图和荧光强度图

Fig. 3 The fluorescence spectra of samples and the corresponding fluorescence intensity images

通过弛豫过程将能量转移给金属形成等离子体, 而没有发生弛豫的荧光分子所发射的荧光又会诱导这些等离子体, 产生与荧光分子辐射波长一致的辐射, 进而增加荧光强度^[15]。

3 结论

利用金刚石纳米颗粒与 Au 颗粒形成的等离子体发生相互作用, 增强金刚石的荧光。随着 Au 的质量分数逐渐增加, 金刚石的荧光强度也相应增加。当 Au 的质量分数为 16.18 wt% 时, 金刚石的 Raman 强度增加了 29.08 倍, 荧光强度增加了 28.26 倍。等离子体振荡增强局域电场, 加速金刚石光子速率, 以及金刚石与 Au 之间发生能量转移, 荧光分子诱导等离子体辐射都是导致金刚石荧光增强的原因。金刚石的荧光增强为进一步研究金刚石作为荧光探针提供研究基础。

参考文献

- 赵薇, 张志凌, 庞代文. 量子点荧光标记在生物医学领域的应用. 化学传感器, 2012; 28(1): 8—14
Zhao Wei, Zhang Zhiling, Pang Daiwen. Application of quantum dots as fluorescent labels in medicine. Chemical Sensors, 2012; 28(1): 8—14
- 罗金平, 田青, 岳伟伟, 等. 快速检测细菌总数的便携式生物荧光传感器. 分析化学, 2009; 37(2): 306—310
Luo Jinping, Tian Qing, Yue Weiwei, et al. Rapid detection of micro-

- bial count using portable bio luminescence-based biosensor. *Analytical Chemistry*, 2009; 37(2): 306—310
- 3 李常艳. 纳米功能材料的可控制备、表面修饰及其荧光标记和细胞毒性的研究. 内蒙古:内蒙古大学,2014
Li Changyan. Contrallable synthesis, surface modification of function nanomaterials and their fluorescence labeling and cytotoxicity study. Inner Mongolia: Inner Mongolia University, 2014
 - 4 Shivkumar M A, Inamdar L S, Rabinal M H K, *et al.* FRET from CdSe/ZnS core-shell quantum dots to fluorescein 27 dye. *Scientific Research Publishing*, 2013; 3(1): 40—48
 - 5 Kawazoe T, Hiroyasu F, Kiyoshi K, *et al.* Visible light emission from dye molecular grains via infrared excitation based on the nonadiabatic transition induced by the optical near field. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 2009; 15(5): 1380—1386
 - 6 Holt K B, Forryan C, Compton R G, *et al.* Anodic activity of boron-doped diamond electrodes in bleaching processes; effects of ultrasound and surface states. *New Journal of Chemistry*, 2003; 27(4): 698—703
 - 7 Mkandawire M, Pohl A, Gubarevich T, *et al.* Selective targeting of cells. *Journal of Biophotonics*, 2009; 2(10): 596—606
 - 8 Dankerl M, Hauf M V, Stutzmann Martin, *et al.* Diamond solution-gated field effect transistors: Properties and bioelectronic applications. *Applications and Materials Science*, 2012; 209(9): 1631—1642
 - 9 Wang Yikuan, Yang Tianyu, Pourmand M, *et al.* Time-resolved surface plasmon polariton coupled exciton and biexciton emission. *Optics Express*, 2010; 18(15): 15560—15568
 - 10 马秋梅,王艳伟,焦卓峰,等. 纳米粒子体系中染料分子的表面增强拉曼光谱. *山东科学*, 2010; 23(2): 28—32
Ma Qiumei, Wang Yanwei, Jiao Zhuofeng, *et al.* Surface-enhanced Raman spectrum of dye molecules in nanoparticle systems. *Shandong Science*, 2010; 23(2): 28—32
 - 11 Gireesh Babu P, Chaudhari Aparna. Development of a broad-spectrum fluorescent heavy metal bacterial biosensor. *Molecular Biology Reports*, 2009; 39(10): 11225—11229
 - 12 Cao Tun, Wei Chenwei, Zhang Lei. Odeling of multi-band circular dichroism using metal/dielectric/metal achiral metamaterials. *Optical Materials Express*, 2014; 4(8): 1526—1534
 - 13 吴金军. 金属纳米结构的表面等离子体共振特性研究. 长沙:中南大学,2012 年
Wu Jinjun. Surface Plasmon Resonance Characteristics of Nanometals Structures. Changsha: Central South University, 2012
 - 14 马慧莲,刘含智,王丽萍,等. 量子点的荧光共振能量转移在生物分析中的应用. *分析化学*, 2005; 33(9): 1335—1338
Ma Huilian, Liu Hanzhi, Wang Liping, *et al.* Application of quantum dots as fluorescent labels in medicine and biology. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2005; 33(9): 1335—1338
 - 15 Chen Yiyi, Shu Hualin, Kuo Yung, *et al.* Measuring forster resonance energy transfer between fluorescent nanodiamonds and near-infrared dyes by acceptor photobleaching. *Diamond and Related Materials*, 2011; 20(5): 803—807

Studing on the Characteristics of the Plasmonics Enhanced Fluorescence of Diamond Nanoparticles

ZHAI Chen-ting, TANG Jun, GUO Hao, ZHAO Miao-miao, ZHANG Wei, LIU Jun *

(Key Laboratory of Instrumentation Science and Dynamic Measurement, Ministry of Education;
Science and Technology Electronic Test Measurement Laboratory, North University of China, Taiyuan 030051, P. R. China)

[**Abstract**] Diamond particles is an inert nanomaterials with a large surface area、light stable、non-toxic and solid-state quantum bits characteristics. Therefore, it is widely used in biomedical, sensing, biological imaging, materials science, nuclear magnetic resonance and other fields. Use plasma resonance technology, this article realized enhanced fluorescent characteristic research of nanodiamond combined with colloidal gold. The result is Raman and fluorescence enhancement factor reached 29.08 and 28.26, respectively. This provides a foundation for further research of the nanodiamonds as biological fluorescent probe.

[**Key words**] nanodiamonds plasma resonance fluorescent probe