

Eu³⁺, Tb³⁺掺杂荧光二氧化硅纳米粒子的合成 及其结构、成分和荧光性质的调控

邓 捷 李海峰 刘 燕 唐 娜 孙 康 陶 可*

(上海交通大学材料科学与工程学院金属基复合材料国家重点实验室, 上海 200240)

摘要: 针对目前存在的稀土螯合物掺杂量低、发射吸收波长受到限制等问题, 首先用设计好的敏化剂-配体-硅烷偶联剂来螯合稀土离子得到稀土螯合物, 然后在反相微乳液中将上述稀土螯合物与正硅酸乙酯(TEOS)共同水解缩聚, 合成了稀土掺杂的二氧化硅纳米粒子。通过这种方法, 不仅实现了对 FSNPs 粒径、成分、发射波长的调控, 还通过使用不同生色团和稀土离子, 获得了对激发波长的调控能力。此外, 进一步阐述了稀土掺杂 FSNPs 中的能量转移过程, 提出了一种通过能级调节 FSNPs 荧光的新方法。

关键词: 二氧化硅纳米粒子; 荧光; 稀土元素; 敏化剂

中图分类号: TB333; O614.33*8; O614.341

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2019)03-0393-10

DOI: 10.11862/CJIC.2019.068

Eu³⁺/Tb³⁺-Doped Silica Nanoparticles with Controllable Structure, Composition and Fluorescent Properties

DENG Jie LI Hai-Feng LIU Yan TANG Na SUN Kang TAO Ke*

(State Key Lab of Metal Matrix Composites, School of Materials Science and Engineering,
Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: Lanthanides-doped fluorescent silica nanoparticles (FSNPs) were synthesized via a two-step protocol: lanthanide ion was chelated with a conjugation of a chromophore, a ligand and a (3-aminopropyl)triethoxysilane (APTES) molecule. Then the complex was condensed in a water-in-oil microemulsion system together with tetraethyl orthosilicate (TEOS). The existence of coupling silane ensured the bonding in the formation of silica. The influence of water-to-surfactant molar ratio and the amount of prepared conjugation on controlling the particle size and the loading capacity of lanthanides were investigated. Meanwhile, an energy transfer process in lanthanides-doped FSNPs was illustrated by using different chromophores and lanthanides, so that made the excitation wavelength, emission wavelength and fluorescent intensity controllable. Thus, a framework was shaped for the design of silica nanoparticles with diverse fluorescent properties based on engineering the energy levels. In addition, the energy transfer process in rare earth doped FSNPs is further elaborated, and a new method for adjusting the fluorescence of FSNPs by energy level is proposed.

Keywords: silica nanoparticles; fluorescence; lanthanides; sensitizer

二氧化硅纳米粒子由于具有良好的物理刚性、化学稳定性、生物相容性以及易于合成和表面修饰等特性, 引起了人们的广泛关注^[1-3]。在二氧化硅纳米

粒子的研究中, 掺杂荧光物质形成的荧光二氧化硅纳米粒子(fluorescent silica nanoparticles, FSNPs)进一步扩展了它们的应用领域^[3-7]。例如, Benezra 等合

收稿日期: 2018-11-01。收修改稿日期: 2019-01-01。

国家自然科学基金(No.31470958, 31671027, 31671004)资助项目。

*通信联系人。E-mail: ktao@sjtu.edu.cn

成了一种可用于实时检测淋巴结转移和黑色素瘤等的染料掺杂 FSNNs, 该粒子已被批准作为荧光探针用于人体临床试验^[8]。这表明 FSNNs 在生物医学领域有着潜在的应用前景, 如细胞和生物分子的标记与靶向、离子检测等。

FSNNs 由二氧化硅基质和荧光材料组成。目前, 常用的荧光材料主要包括有机染料和量子点。与染料分子本身相比, 染料掺杂的 FSNNs 可以同时包裹大量的有机染料分子, 因此具有更强的荧光信号^[9]。然而, 有机染料自身具有斯托克斯位移小、高浓度荧光猝灭、光漂白效应等缺点, 导致染料掺杂的 FSNNs 仍面临信噪比低、光稳定性差等问题^[3,10-11]。另一方面, 量子点掺杂的二氧化硅纳米粒子虽然继承了量子点宽激发光谱、稳定和可调的发射波长和高量子产率等优点^[12-14], 但是量子点在生物医学方面的应用仍需要克服其本身细胞毒性大的问题^[3,12-13]。

在二氧化硅基质中掺杂稀土元素可以获得另一种新型的 FSNNs。稀土元素的加入, 使二氧化硅纳米粒子在拥有二氧化硅本身特性的同时, 增加了毫秒级发光寿命、大斯托克斯位移、尖锐发射峰、优异的光稳定性和低背景噪声等稀土元素的荧光特性^[15-18]。例如, Tan 等提出了一种共价结合共水解缩聚的方法, 该方法将铕螯合物包裹在二氧化硅纳米粒子中, 让 FSNNs 中的稀土螯合物和二氧化硅基体能够共价连接, 所以能够有效地保护螯合物免于泄漏, 使纳米粒子的荧光强度比相同摩尔浓度的游离稀土螯合物强 1.8×10^5 倍^[19]。Zhang 等合成了双稀土元素掺杂的二氧化硅纳米粒子, 这种二氧化硅纳米粒子能够在单波长激发下同时呈现 2 种不同的稀土特征光谱^[20]。此外, 研究人员还在稀土掺杂 FSNNs 的光稳定性^[15,21]、稀土元素泄漏防护^[22]、荧光颜色的调控^[20,23]以及生物医学领域的应用^[6,24]等方面取得了不错的进展。尽管如此, 大部分已报道的稀土掺杂 FSNNs 是在已经合成的二氧化硅表面上进一步螯合稀土离子制备得到^[25], 或者是在没有键合的情况下将稀土螯合物直接包裹进二氧化硅粒子中获得^[26-27], 这些都导致合成的 FSNNs 中稀土螯合物掺杂量低, 荧光强度较低。此外, FSNNs 结构和成分的调控以及稀土螯合物有机部分对 FSNNs 荧光性质的影响仍不清楚, 这些都严重阻碍了稀土掺杂 FSNNs 的进一步研究和应用。

在本文中, 我们通过反相微乳液法合成了粒径均一、荧光稳定性好、荧光寿命长的稀土掺杂

FSNNs。同时, 我们研究了水与表面活性剂的物质的量之比以及稀土螯合物的掺杂量对 FSNNs 粒径的影响, 并对 FSNNs 的负载能力和荧光强度进行了研究。此外, 我们研究了稀土掺杂 FSNNs 的能量转移过程, 通过选用不同的生色团和稀土元素实现了对其激发波长、发射波长的调控, 并通过改变掺杂的稀土离子 $\text{Tb}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ 的物质的量之比, 实现了对 FSNNs 荧光颜色的调控。

1 实验部分

1.1 材料

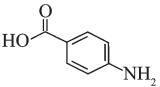
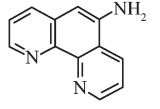
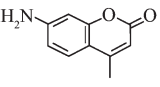
(3-氨基丙基)三乙氧基硅烷(APTES, 99%), 二乙基三胺五乙酸(DTPA, 98%), 对氨基苯甲酸(PABA, 99%), 香豆素 120(Cm120, 98%), 二甲基亚砜(DMSO, $\geq 99\%$), 六水合氯化铕($\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 99.99%), 六水合氯化铽($\text{TbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 99.9%), 正己醇(99%), 氨水(25%~28%), 正硅酸乙酯(TEOS, 99%)购自北京伊诺凯科技有限公司; 5-氨基-1,10-菲咯啉 (PTA, 97%)购自上海韶远科技有限公司; 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC, $\geq 97\%$), *N*-羧基琥珀酰亚胺(NHS, 98%), 曲拉通 100(Triton X-100, $\geq 98.0\%$)购自上海泰坦科技股份有限公司; 环己烷($\geq 99.7\%$), 丙酮($\geq 99.5\%$), 乙醇($\geq 99\%$)购自上海凌峰化学试剂有限公司。所有试剂在使用之前均无再处理, 实验中使用的都是去离子水。

1.2 稀土螯合物的合成

稀土螯合物(记为 APTES-DTPA-Sensitizer- Ln^{3+} , 其中 Sensitizer=PABA, PTA 或 Cm120, 如表 1 所示)的制备步骤如下。螯合物中各成分的物质的量之比是 $n_{\text{APTES}}:n_{\text{DTPA}}:n_{\text{Sensitizer}}:n_{\text{Ln}^{3+}}=1:1:1:1$ 。首先, 将 1 mmol

表 1 敏化剂的名称与化学结构式

Table 1 Names, abbreviations and chemical formulas of three sensitizers

Name	Abbreviation	Chemical formula
<i>p</i> -aminobenzoic acid	PABA	
5-amino-1,10-phenanthroline	PTA	
7-amino-4-methylcoumarin	Cm120	

DTPA 溶于 4 mL DMSO 溶液中, 加入 0.21 mmol EDC 和 0.07 mmol NHS 活化 10 min。随后加入 1 mmol Sensitizer, 室温避光搅拌 6 h。接着, 加入 0.21 mmol EDC 和 0.07 mmol NHS 活化 10 min 后, 加入 0.25 mL APTES, 将所得溶液室温避光搅拌过夜。然后, 将 4 mL $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 或 $\text{TbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 水溶液 ($0.25 \text{ mmol} \cdot \text{mL}^{-1}$) 加入至上述溶液中室温避光搅拌 6 h。对照组 DTPA-Sensitizer- Ln^{3+} 的合成方法与 APTES-DTPA-Sensitizer- Ln^{3+} 相同, 去掉其中加入 APTES 的步骤即可。最后, 通过超声分散和离心将所得稀土螯合物用乙醇和水洗涤数次, 以除去未反应的物质, 洗净、真空干燥后避光保存。

1.3 稀土掺杂 FSNNPs 的合成

稀土掺杂 FSNNPs 通过改进的反相微乳液法(W/O)合成^[28]。将 7.5 mL 环己烷, 1.8 mL 正己醇和 1.77 mL Triton X-100 室温混合搅拌 20 min。然后, 将 480 μL 稀土螯合物的水溶液(浓度从 $10.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 变化至 $172.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)加入到上述溶液中得到反相微乳液。间隔 30 min 后, 分别加入 100 μL TEOS 和 60 μL 氨水。加入完毕后, 让反应在室温条件下避光持续搅拌 24 h。最后, 加入等体积的丙酮破乳停止反应, 并依次用丙酮、乙醇和水洗涤所得的 FSNNPs 数次, 以除去表面活性剂和未反应的物质。洗净、真空干燥后避光保存。

1.4 仪器与表征

TEM 样品通过将约 2 mg 纳米粒子分散在 3 mL 乙醇中, 超声分散 3 min, 然后滴在镀膜铜网上, 室温下晾干后制得。FSNNPs 的形貌和粒径通过生物透射电镜(120 kV, Tecnai G2 spirit Biotwin0)观察; 高角

度环形暗场(HAADF)图像和元素分布通过场发射透射电镜(200 kV, TALOS F200X)观察; FSNNPs 中铈、硅元素的质量百分比通过电感耦合等离子体原子发射光谱仪(iCAP7600)测量; 荧光激发和发射光谱通过荧光光谱仪(200 W, 氙灯, Shimadzu RF5301PC)记录; FSNNPs、稀土螯合物和 PTA 的光稳定性通过连续测量 120 min 时间段内的荧光强度来获得(200 W, 氙灯, Shimadzu RF5301PC); FSNNPs 的荧光寿命通过美国 PTI 公司的稳态和时间分辨荧光分光光度计(QM/TM/IM)测量。

2 结果与讨论

2.1 稀土掺杂 FSNNPs 的合成

2.1.1 稀土掺杂 FSNNPs 的设计

稀土掺杂 FSNNPs 的制备示意图如图 1 所示。首先, 将 DTPA 作为配体通过其酸酐与有机生色团(敏化剂)和 APTES 共价偶联, 然后将产物与稀土离子螯合形成稀土螯合物(图 1a)。接着将得到的稀土螯合物(APTES-DTPA-Sensitizer- Ln^{3+})与 TEOS 在反相微乳液体系中共同水解缩聚, 加入氨水催化反应(图 1b), 最终形成稀土掺杂的二氧化硅纳米粒子(记为 APTES-DTPA-Sensitizer- $\text{Ln}^{3+}@\text{SiO}_2$)。

2.1.2 稀土螯合物的合成及表征

为了确认稀土螯合物的成功合成, 我们分别记录了稀土螯合物 APTES-DTPA-PABA- Eu^{3+} 以及 APTES-DTPA-PABA- Tb^{3+} 的光致发光激发光谱(PLE)和发射光谱, 如图 2 所示。APTES-DTPA-PABA- Tb^{3+} 的 PLE 峰在 300 nm 处, 其在 300 nm 激光照射下显示出 Tb^{3+} 的特征荧光发射光谱, 光谱呈现出中心离子 Tb^{3+}

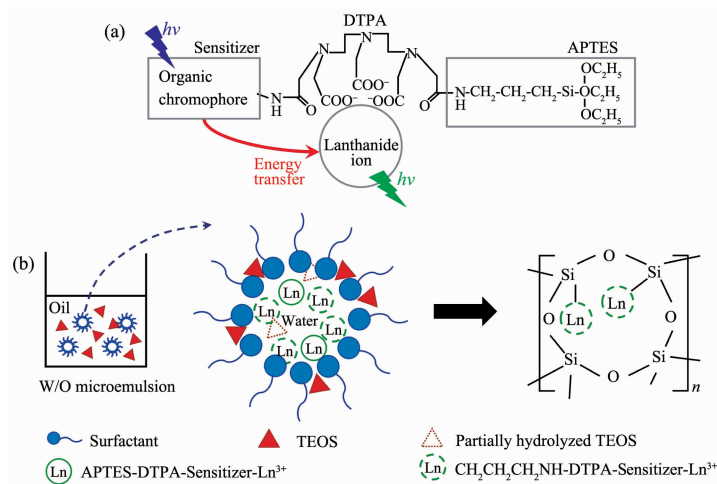
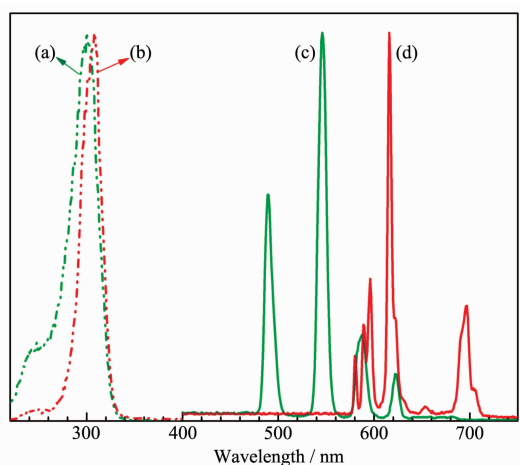


图1 稀土螯合物的结构示意图 (a)和反相微乳液制备稀土掺杂 FSNNPs 的示意图 (b)

Fig.1 Structure of APTES-DTPA-Sensitizer- Ln^{3+} (a) and preparation of APTES-DTPA-Sensitizer- $\text{Ln}^{3+}@\text{SiO}_2$ (b)

的特征跃迁: 622 nm($^5D_4 \rightarrow ^7F_3$), 587 nm($^5D_4 \rightarrow ^7F_4$), 547 nm($^5D_4 \rightarrow ^7F_5$), 494 nm($^5D_4 \rightarrow ^7F_6$); APTES-DTPA-PABA- Eu^{3+} 的 PLE 峰在 308 nm 处, 其在 308 nm 激光照射下显示出 Eu^{3+} 的特征荧光发射光谱, 光谱呈现出中心离子 Eu^{3+} 的特征跃迁: 700 nm($^5D_0 \rightarrow ^7F_4$), 617 nm($^5D_0 \rightarrow ^7F_2$), 593 nm($^5D_0 \rightarrow ^7F_1$), 580 nm($^5D_0 \rightarrow ^7F_0$)。由于游离的 $\text{Tb}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ 水溶液在相同的激发条件下未能检测到荧光, 因此, $\text{Eu}^{3+}/\text{Tb}^{3+}$ 特征荧光峰的出现证明了 DTPA、生色团以及稀土离子之间已成功偶联及螯



Excitation (a) and emission spectrum (c) of APTES-DTPA-PABA- Tb^{3+} , $\lambda_{\text{em}}=547$ nm, $\lambda_{\text{ex}}=300$ nm; Excitation (b) and emission spectrum (d) of APTES-DTPA-PABA- Eu^{3+} , $\lambda_{\text{em}}=617$ nm, $\lambda_{\text{ex}}=308$ nm

图 2 稀土螯合物的激发和发射光谱

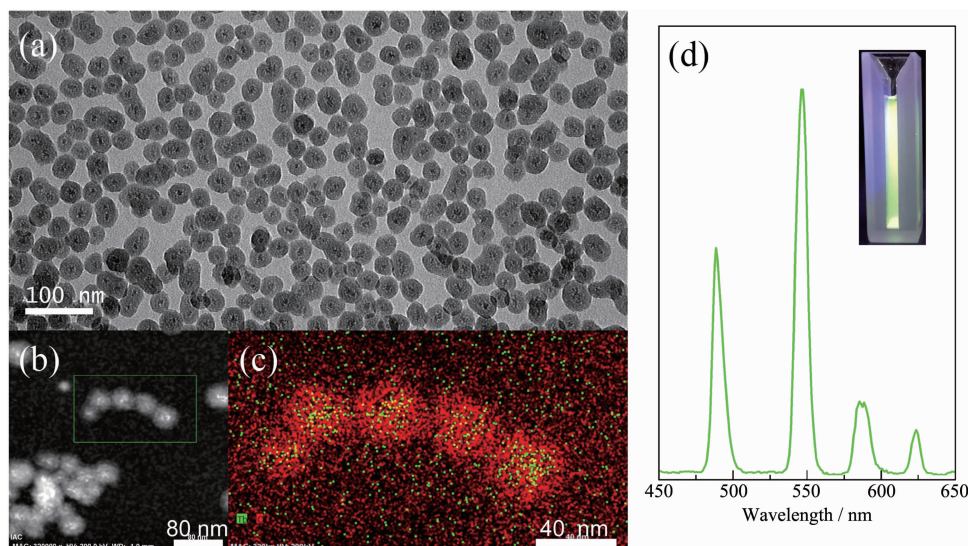
Fig.2 Excitation spectra and emission spectra of APTES-DTPA-PABA- Ln^{3+}

合。同时, 我们通过电感耦合等离子体原子发射光谱仪检测到稀土螯合物中硅元素的存在($w_{\text{Si}}=2.142\%$), 这表明 APTES 也已成功连接至稀土螯合物中。综上, 如图 1a 所示的稀土螯合物已经被成功合成。

此外, 将生色团更换为 PTA 或者 Cm120 时, 稀土螯合物 APTES-DTPA-PTA- Eu^{3+} 以及 APTES-DTPA-Cm120- Eu^{3+} 同样能够得到 Eu^{3+} 的特征荧光光谱, 但 APTES-DTPA-PTA- Tb^{3+} 以及 APTES-DTPA-Cm120- Tb^{3+} 无法得到 Tb^{3+} 的特征荧光光谱, 详细原因我们将在 2.3.1 章节中的发光机理部分进行讨论。

2.1.3 稀土掺杂 FSNPs 的合成及表征

为了证明能够通过上述反相微乳液法合成稀土掺杂 FSNPs, 我们对获得的 FSNPs 进行了 TEM、荧光等表征。图 3a 是 APTES-DTPA-PABA- $\text{Tb}^{3+}@\text{SiO}_2$ 的 TEM 图像。如图所示, FSNPs 呈近球形, 平均直径约 25 nm。同时, TEM 图像还显示出 FSNPs 内核与外部区域有明显的结构差异。我们通过 HAADF 图像进一步研究发现(图 3b), FSNPs 内核显示亮点, 即内部存在原子序数大的元素。这个亮点可能是由于内部分布有大量稀土螯合物。为了进一步证明 FSNPs 内部分布的是稀土螯合物, 我们测试了 FSNPs 内氧元素和铽元素分布情况, 结果如图 3c 所示。图中红点表示氧元素、绿点表示铽元素。我们发现, 铽元素集中分布于二氧化硅纳米粒子的中心, 这与 HAADF 结果相吻合, 证实了稀土螯合物已经成功掺杂至 FSNPs。背景噪声主要来源于样品中少量



Inset of (d): FSNPs in aqueous solution under irradiation of 254 nm Hg lamp

图 3 FSNPs 的 TEM 图像 (a), HAADF 图像 (b), 元素分布图像 (c) 和荧光发射光谱 (d)

Fig.3 TEM image (a), HAADF image (b), elemental mapping image (c) and emission spectrum (d) of FSNPs

残余的未成功掺杂的稀土螯合物以及小分子的硅化合物。

为了证明成功掺杂至 SiO₂ 内部的稀土螯合物仍具有稀土特征荧光,我们记录了其荧光发射光谱,如图 3d 所示。APTES-DTPA-PABA-Tb³⁺@SiO₂ 在 300 nm 激光的照射下,呈现出 Tb³⁺的特征荧光光谱,且在 254 nm 汞灯照射下显现绿色。这表明通过我们的设计能够成功制备稀土掺杂的荧光二氧化硅纳米粒子。

对于样品 APTES-DTPA-PABA-Eu³⁺@SiO₂、APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺@SiO₂ 以及 APTES-DTPA-Cm120-Eu³⁺@SiO₂,我们观察到了同样的结构和对应的稀土特征荧光发射光谱,表明 APTES-DTPA-PABA-Eu³⁺、APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺、APTES-DTPA-Cm120-Eu³⁺同样能够掺杂至 SiO₂ 中形成稀土掺杂的 FSNPs。

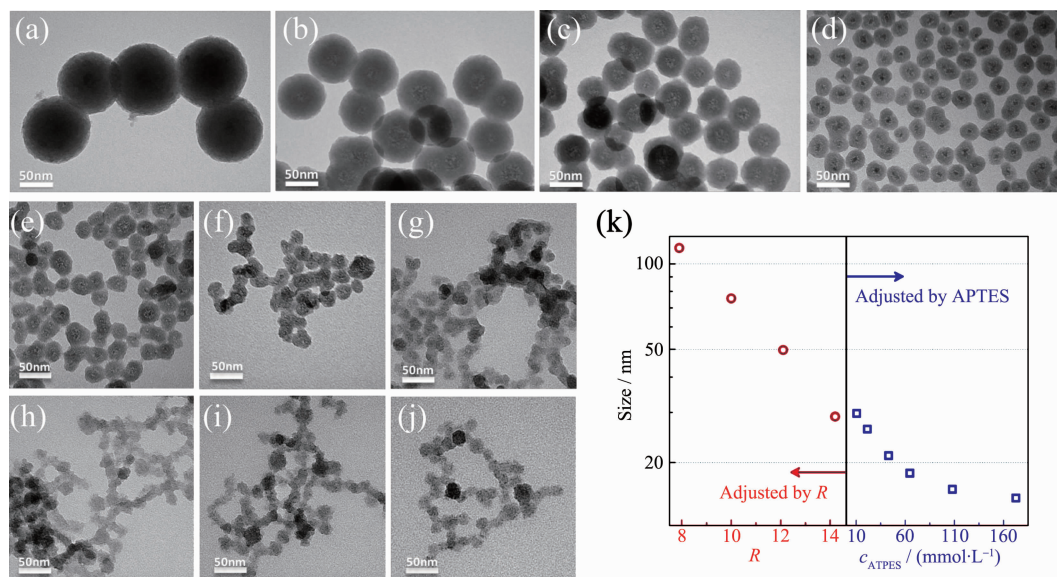
2.2 稀土掺杂 FSNPs 结构、成分的调控

2.2.1 稀土掺杂 FSNPs 的粒径控制及其机理

二氧化硅纳米粒子的粒径对其应用具有重要意义^[29-30],接下来,我们主要从 2 个方面研究 FSNPs 粒径的控制及其机理。一方面,在反相微乳液中,水与表面活性剂的物质的量之比(R)会影响水相纳米反应池的大小,纳米反应池的大小则会直接改变纳米颗粒的粒径^[31]。因此,在其他条件完全一致的情况下,我们首先通过改变反应中水的量,研究了 R 对 FSNPs 的粒径的影响。如图 4(a~d)所示,FSNPs 的粒

径随着 R 的增加以近线性的方式减小。当 $R=7.9$ 时,平均粒径为~105 nm;当 R 增加至 14.2,平均粒径则逐渐减小至约 30 nm。同时,随着粒径的减小,粒子的形态变得不规则。另一方面,考虑到稀土螯合物中的 APTES 能与 TEOS 发生共水解缩聚反应^[32-33],且 APTES 量的改变对 FSNPs 的形成会有一定程度的影响^[34],我们研究了稀土螯合物 APTES-DTPA-Sensitizer-Ln³⁺的掺杂浓度对 FSNPs 粒径和形貌的影响。如图 4(e~j)所示,FSNPs 的粒径随着稀土螯合物 APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺浓度的增加而减小。当 APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺的浓度从 10.8 mmol·L⁻¹ 增加到 43.2 mmol·L⁻¹ 时,FSNPs 的粒径从约 30 nm 减小到约 20 nm。当浓度最终变为 172.8 mmol·L⁻¹ 时,FSNPs 的粒径仅为约 15 nm。同时,在较低浓度时,FSNPs 的形态保持为球形,当 APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺浓度增加至 43.2 mmol·L⁻¹ 后,FSNPs 呈现不规则形状并出现黏连现象。这与文献中利用 APTES 与 TEOS 共水解缩聚形成 SiO₂ 时,增加 APTES 的量导致最终 SiO₂ 粒径减小、形貌变得不规则的结果一致^[34]。

为了弄清稀土掺杂 FSNPs 的形成与粒径变化机理,首先要了解纯 SiO₂ 纳米粒子的形成机理。相关文献关于 TEOS 在反相微乳液中水解缩聚形成纯二氧化硅纳米粒子的机理已经阐述的比较清楚^[31,35]。简要说,TEOS 首先溶解在油相中,靠近水-油界



TEM images of FSNPs prepared with (a~d) different water-to-surfactant molar ratios ($R=7.9, 10.0, 12.1, 14.2$), and (e~j) different APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺ concentrations (10.8, 21.6, 43.2, 64.8, 108.0, 172.8 mmol·L⁻¹)

图 4 不同反应条件合成的 FSNPs 的 TEM 图像(a~j)及其平均粒径(k)

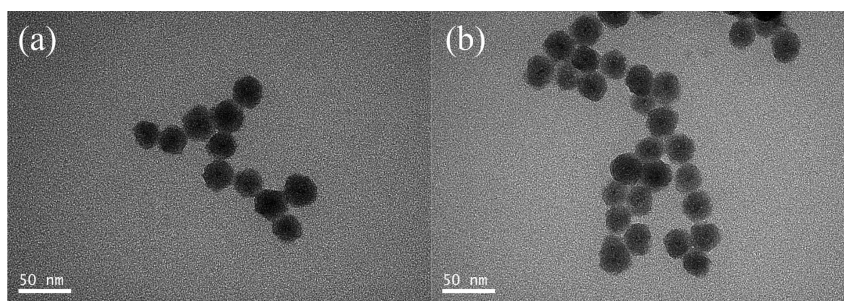
Fig.4 TEM images (a~j) and average size (k) of FSNPs under different reaction conditions

面的 TEOS 在氨水的催化下逐渐水解。水解后, TEOS 从疏水性转化为亲水性, 然后进入到水池中。接着, 水解的 TEOS 发生聚合反应最终得到二氧化硅纳米粒子。

在我们的实验中, 当 R 增大时, 水相反应池的体积也会随之增大, 每个水池能够承载的 TEOS 单体数量也会增加。因此, 当 R 增大时, 会有更多的晶核同时产生, 而 TEOS 的量是一定的, 生长至单个粒子表面的 TEOS 量减小, 纳米粒子的最终尺寸减小; 同时, 由于颗粒未完全生长, 其形状会变得不规则^[31]。另一方面, 分散在水相中的 APTES-DTPA-Sensitizer- Ln^{3+} 和表面活性剂附近的 TEOS 可能同时水解^[32-34]。因此, 当 APTES-DTPA-Sensitizer- Ln^{3+} 的量增加时, APTES 会水解缩聚形成更多的晶核, TEOS 量不变, 晶核数目的增多将导致平均每个晶核上能够生长的 TEOS 的数目减少, 从而造成 FSNPs 的粒径减小。此外, 过量 APTES-DTPA-Sensitizer- Ln^{3+} 的存在还会在一定程度上抑制 TEOS 水解聚合至纳米粒

子表面^[34], 阻止纳米粒子的进一步长大, 导致 FSNPs 粒径减小。作为对照实验, 我们制备了无偶联剂 APTES 的 DTPA-PTA- $\text{Eu}^{3+}@\text{SiO}_2$, 其 TEM 图像如图 5 所示。其形貌为中心有黑点、粒径约为 30 nm 的二氧化硅球, 而且当 DTPA-PTA- Eu^{3+} 的浓度从 $27.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加至 $110.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, FSNPs 粒径与形貌基本不发生改变。这是因为无 APTES 的稀土螯合物 DTPA-PTA- Eu^{3+} 不能与 TEOS 共水解缩聚, 仅能通过物理包裹的方式掺杂至 SiO_2 中, 不会和有 APTES 存在的稀土螯合物一样影响 FSNPs 的粒径和形貌。这一结果从侧面印证了 APTES 与 TEOS 之间共水解缩聚反应导致了上述 APTES-DTPA-PTA- $\text{Eu}^{3+}@\text{SiO}_2$ 粒径和形貌的变化^[32-34]。

综上, 基于这些机理, 我们可以在 15~110 nm 的范围内调控 APTES-DTPA-Sensitizer- $\text{Ln}^{3+}@\text{SiO}_2$ 的粒径(图 4k), 得到后续应用所需要的不同粒径的 FSNPs。



DTPA-PTA- Eu^{3+} concentration: $27.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (a) and $110.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (b)

图 5 不同浓度 DTPA-PTA- Eu^{3+} 掺杂 FSNPs 的 TEM 图像

Fig.5 TEM images of FSNPs with different DTPA-PTA- Eu^{3+} concentrations

2.2.2 稀土掺杂 FSNPs 负载能力的调控

目前报道的文献主要是通过将生色团-配体-稀土离子这种没有硅烷偶联剂的稀土螯合物直接包裹至二氧化硅纳米颗粒内部^[26,36], 或者通过直接将稀土螯合物吸附至已获得的二氧化硅纳米颗粒表面^[25]这两种方式制备稀土掺杂的 FSNPs。尽管它们都合成了具有稀土荧光的 FSNPs, 但这种 FSNPs 的稀土螯合物负载能力低, 荧光强度较弱^[21]。例如, Ye 等通过将没有偶联剂的 Tb 螯合物直接包裹在二氧化硅纳米粒子中合成了 42 nm 的 Tb 螯合物掺杂 FSNPs, 其 Tb 的负载量仅为 $0.52\% (w/w)$ ^[36]; 另外, Eliseeva 等将 Eu 的双金属螯合物直接包裹在 55 nm 的二氧化硅中, 最终得到了 Eu 的负载量仅为 $0.078\% (w/w)$ 的 FSNPs^[26]。在本文中, 我们研究了

FSNPs 对 APTES-DTPA-PTA- Eu^{3+} 的负载能力, 同时, 制备了不含偶联剂 APTES 的 DTPA-PTA- $\text{Eu}^{3+}@\text{SiO}_2$ 作为对比。

如图 6 所示, DTPA-PTA- Eu^{3+} 掺杂的 FSNPs 中 Eu 的负载量小于 $0.02\% (w/w)$, 并且随着稀土螯合物投入量的增大基本不变; 相反, APTES-DTPA-PTA- Eu^{3+} 掺杂的 FSNPs 对 Eu^{3+} 的负载能力比 DTPA-PTA- $\text{Eu}^{3+}@\text{SiO}_2$ 大一个数量级以上。在 Eu^{3+} 的投入量为 $12.15\% (w/w)$ 的情况下, 其最大掺杂量可以达到 $6.5\% (w/w)$, 即超过一半的稀土离子被成功掺杂至 FSNPs 中。而且, 在我们的研究范围内, 稀土螯合物的负载量随投入量的增大呈现线性增加且没有达到饱和, 这意味着可以进一步增加稀土离子有效负载。有文献表明, 当 APTES 与 TEOS 的物质的量之比小于 1

时,若 TEOS 的量保持不变,提高 APTES 的投入量可以增加其与 TEOS 共水解缩聚形成的 SiO₂ 的量,从而提高 SiO₂ 的最终产量^[34]。在我们的实验中,APTES 与 TEOS 的物质的量之比范围都小于 1,并且 APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺@SiO₂ 的产量同样随着 APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺投入量的提高而增加。因此,当 APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺的投入量提高时,有更多的 APTES 能够与 TEOS 共水解缩聚形成 SiO₂,也就意味着有更多的 APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺能够连接至 SiO₂,从而使 FSNPs 的负载能力得到提升。

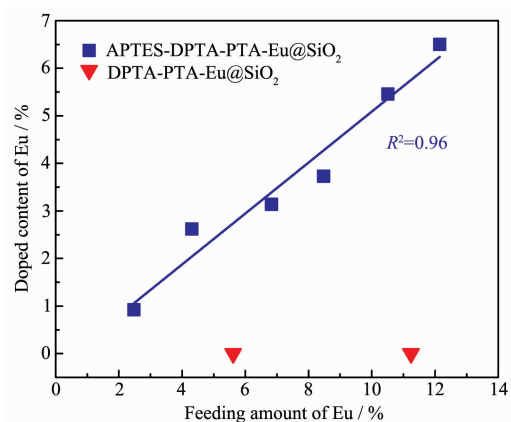


图 6 FSNPs 对两种稀土螯合物的负载能力

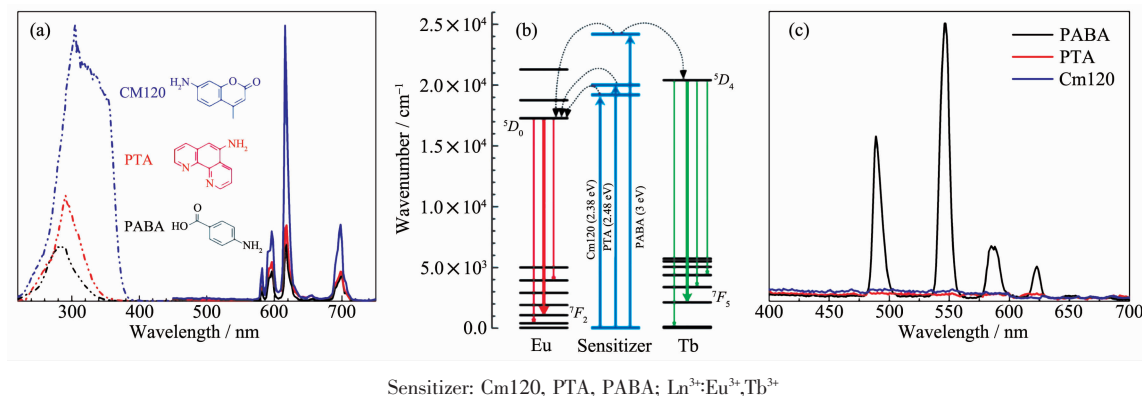
Fig.6 Loading ability of FSNPs for two chelates of APTES-DTPA-Sensitizer-Ln³⁺

2.3 稀土掺杂 FSNPs 荧光性质的调控

2.3.1 稀土掺杂 FSNPs 的发光机理

我们选用了 3 种有机生色团 (分别是 PABA, PTA 及 Cm120,如表 1 或图 7a 所示)来研究稀土掺杂 FSNPs 的发光机理。APTES-DTPA-PABA-Eu³⁺

@SiO₂、APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺@SiO₂、APTES-DTPA-Cm120-Eu³⁺@SiO₂ 的光致发光激发光谱(PLE)和荧光发射光谱如图 7a 所示。3 种 FSNPs 都呈现 Eu³⁺的特征发射光谱,在 617 nm 处的主峰对应于 Eu 离子 ⁵D₀(2.11 eV,或 17 267 cm⁻¹波数)到 ⁷F₂跃迁^[37]。在使用 PABA 作为生色团时,获得的 FSNPs 只能在小于 340 nm 的激发波长下被激发,其 PLE 峰在 285 nm 附近。为了增加激发波长,我们选用了三重激发态能级比 PABA(3 eV)低的 PTA(2.48 eV)和 Cm120(2.38 eV)作为生色团^[38-40]。如图 7a 所示,APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺@SiO₂ 激发波长的峰值增加到了 295 nm,APTES-DTPA-Cm120-Eu³⁺@SiO₂ 的可激发区域扩展至 400 nm,激发波长的峰值扩展至 300 到 380 nm 的区间。因此,我们可以通过选择合适的生色团来调控稀土掺杂 FSNPs 的激发波长。根据上述结论我们推测,在稀土螯合物中,生色团作为敏化剂首先吸收激发光的能量,然后将能量转移至 Eu³⁺,使其发光。为了进一步证实这一点,我们制备了 3 种对应的 Tb³⁺掺杂 FSNPs,分别为 APTES-DTPA-PABA-Tb³⁺@SiO₂、APTES-DTPA-PTA-Tb³⁺@SiO₂ 和 APTES-DTPA-Cm120-Tb³⁺@SiO₂。如图 7b 所示,Tb³⁺的激发态能量(⁵D₀:2.53 eV,或波数 20 406 cm⁻¹)低于 PABA 的激发态能量,但高于 Cm120 和 PTA 的三重激发态能量。因此,基于能量转移的理论,PTA 和 Cm120 无法激活 Tb³⁺,即 APTES-DTPA-PTA-Tb³⁺@SiO₂ 和 APTES-DTPA-Cm120-Tb³⁺@SiO₂ 无法产生 Tb³⁺特征荧光。结果如图 7c 所示,仅有 APTES-DTPA-PABA-Tb³⁺@SiO₂ 被成功激发,获得 Tb³⁺的特征荧光光谱,与前述结论相吻合。综上,我们的实验成功地证明了稀土掺杂



Sensitizer: Cm120, PTA, PABA; Ln³⁺:Eu³⁺,Tb³⁺

图 7 (a) APTES-DTPA-Sensitizer-Eu³⁺@SiO₂ 的激发和发射光谱; (b) APTES-DTPA-Sensitizer-Ln³⁺@SiO₂ 能量转移示意图; (c) APTES-DTPA-Sensitizer-Tb³⁺@SiO₂ 的发射光谱

Fig.7 (a) Excitation and emission spectra of APTES-DTPA-Sensitizer-Eu³⁺@SiO₂; (b) Schematic diagram for the energy transfer in APTES-DTPA-Sensitizer-Ln³⁺@SiO₂; (c) Emission spectra of APTES-DTPA-Sensitizer-Tb³⁺@SiO₂

FSNPs 中的能量转移过程,即稀土螯合物中的生色团作为敏化剂吸收激发光的能量并通过能量转移使稀土离子敏化发光的过程,且能量转移过程的实现要求生色团的三重激发态能量高于稀土离子的激发态能量。

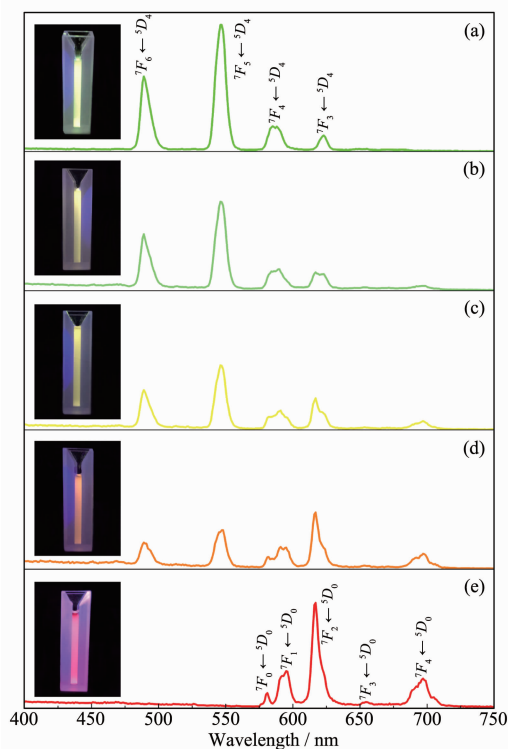
2.3.2 稀土掺杂 FSNPs 荧光颜色的调控

通过 2.3.1 小节的研究我们发现,当使用 PABA 为生色团时,能够分别得到具备 Tb^{3+} 或者 Eu^{3+} 特征荧光的 FSNPs。因此,我们尝试将 APTES-DTPA-PABA- Tb^{3+} 和 APTES-DTPA-PABA- Eu^{3+} 同时掺杂至 FSNPs 中,并通过改变两者之间的物质的量之比来调控 FSNPs 的荧光颜色。图 8a 是 APTES-DTPA-PABA- Tb^{3+} @ SiO_2 的荧光光谱,光谱显示出 4 个 Tb^{3+} 的特征主峰,最大强度的峰在 546 nm 处,且 FSNPs 在激发下呈现绿色。APTES-DTPA-PABA- Eu^{3+} @ SiO_2 的荧光光谱如图 8e 所示,该 FSNPs 拥有 Eu^{3+} 的 5 个特征峰,最大强度的荧光峰在 617 nm 处,且在激发下呈现红色。图 8b 到 8d 是不同比例的 $\text{Tb}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ 共

掺杂 FSNPs 的荧光发射光谱,从图中可以看出,随着 Tb^{3+} 和 Eu^{3+} 加入比例的改变, $\text{Tb}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ 共掺杂 FSNPs 显示出 Tb^{3+} 和 Eu^{3+} 的混合荧光峰,且在激发下呈现绿色和红色的混合色荧光。

2.3.3 稀土掺杂 FSNPs 荧光强度的调控

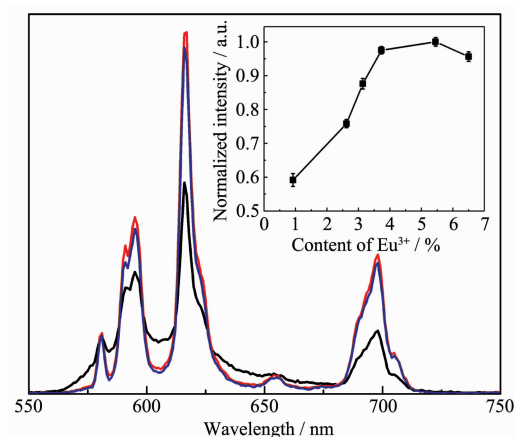
为了获得更高荧光强度的 FSNPs,我们进一步研究了稀土离子负载量对 FSNPs 荧光强度的影响。如图 9 所示,当 APTES-DTPA-PTA- Eu^{3+} @ SiO_2 中 Eu^{3+} 的负载量分别为 0.92%(w/w)(黑线), 5.45%(w/w)(红线)和 6.50%(w/w)(蓝线)时,发射光谱中发射峰的位置相同,而荧光强度不同。图 9 的插图表示的是 FSNPs 的荧光强度最高峰(617 nm)随着稀土离子负载量的变化情况:随着 Eu^{3+} 负载量从 0.92%(w/w)到 5.45%(w/w), FSNPs 的荧光强度迅速增加。然而,当负载量进一步增加至 6.50%(w/w)时, FSNPs 的荧光强度几乎保持稳定,略微有所降低。导致上述现象的原因主要有下面两个方面:一方面,随着稀土负载量的增加,单个纳米颗粒能够包裹更多的稀土螯合物,因此有助于其荧光强度的增加,特别是在低负载含量的范围^[41];然而,当螯合物的有效负载增加到一定程度时,生色团分子的聚集会导致高浓度猝灭现象^[22],因此, FSNPs 荧光强度的增加趋势会有所减缓。综合上述两个因素,随着稀土螯合物的剂量的进一步增加,荧光强度达到“饱和”,到达峰值。另一方面,随着 Eu^{3+} 负载量的增加, FSNPs 的尺寸减小(图 4k),位于 FSNPs 表面的稀土螯合物比例增加^[24,42]。表



(a) Pure Tb^{3+} , (b) $n_{\text{Tb}^{3+}}:n_{\text{Eu}^{3+}}=3:1$, (c) $n_{\text{Tb}^{3+}}:n_{\text{Eu}^{3+}}=1:1$, (d) $n_{\text{Tb}^{3+}}:n_{\text{Eu}^{3+}}=1:3$, (e) Pure Eu^{3+} ; Inset: corresponding photographs of FSNPs in aqueous solution under irradiation of a 254 nm Hg lamp

图 8 不同物质的量之比的 $\text{Tb}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ 螯合物掺杂 FSNPs 的荧光发射光谱

Fig.8 Emission spectra of FSNPs with different molar ratios of $\text{Tb}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ in the lanthanide chelates



Eu^{3+} loading amount: 0.92% (w/w) (black line), 5.45% (w/w) (red line) and 6.50% (w/w) (blue line); Inset: emission intensity of FSNPs at 617 nm with different Eu^{3+} loading amounts

图 9 不同稀土负载量的 FSNPs 的荧光发射光谱

Fig.9 Emission spectra of FSNPs with different Eu^{3+} loading amounts

面附近的稀土螯合物由于直接与氧气和水接触^[43], 荧光更容易猝灭, 导致 FSNPs 荧光强度的增加趋势减缓或是有所降低。因此, 综合上述因素, FSNPs 的荧光强度会先随着 Eu³⁺掺杂浓度的增加而增加, 当掺杂浓度增加到一定值时达到饱和, 甚至略微降低。

2.3.4 稀土掺杂 FSNPs 的光稳定性及荧光寿命

为了评估稀土掺杂 FSNPs 的光稳定性, 我们使用 200 W 氙灯作为光源, 120 min 连续照射纯 PTA 染料、纯 APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺螯合物和 APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺@SiO₂ 纳米粒子的水溶液, 记录它们各自的荧光强度。如图 10a 所示, 在使用 320 nm 的激光连续照射 120 min 后, 纯染料 PTA 的荧光强度

被漂白至 28%, APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺螯合物则保留了约 85% 的原始荧光强度。值得注意的是, APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺@SiO₂ 纳米粒子的荧光强度仍然保持在 95%。这一结果表明 FSNPs 中的二氧化硅基质能够有效地保护稀土螯合物免受外界环境的影响, 提高它的光稳定性。

此外, 我们还测试了 APTES-DTPA-PTA-Eu³⁺@SiO₂ 纳米粒子在激发波长为 320 nm, 发射波长为 617 nm 时的荧光寿命。如图 10b 所示, FSNPs 的荧光寿命为 0.85 ms, 这足以避免背景荧光的干扰, 可用于时间分辨荧光免疫分析等应用^[15]。

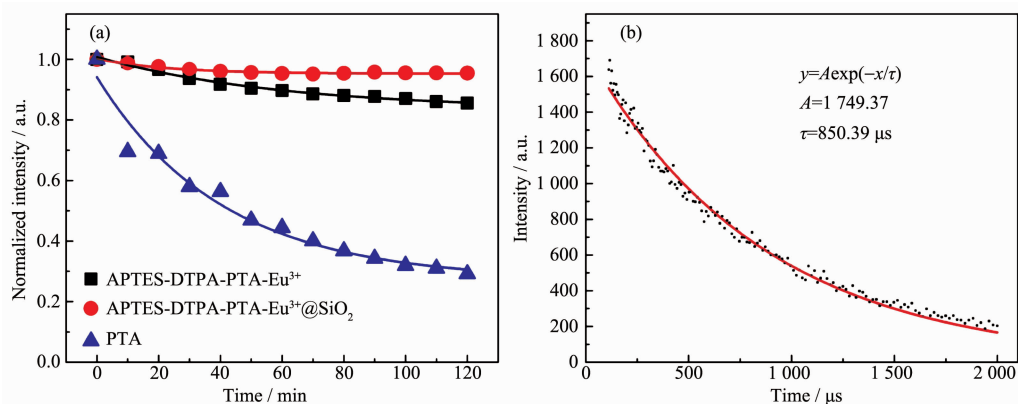


图 10 染料分子、稀土螯合物、FSNPs 的光稳定性 (a) 及 FSNPs 的荧光寿命 (b)

Fig.10 Photostability of dye molecules, lanthanide chelates and FSNPs (a) and lifetime of FSNPs (b)

3 结 论

综上, 我们通过反相微乳液法成功地合成了形态均匀、荧光稳定性强、荧光寿命长、粒径和成分可控的稀土掺杂 FSNPs。同时, 实现了对其荧光性质如激发波长、荧光强度和荧光颜色的调控。通过改变水与表面活性剂的物质的量之比, 实现 FSNPs 的粒径在 110~30 nm 范围内的调控; 通过改变加入的稀土螯合物的量, 实现 FSNPs 的粒径在 30~15 nm 范围内的调控。我们发现了 APTES 连接的稀土螯合物与二氧化硅基质之间的键合能够提高 FSNPs 的负载能力, 因此得到了 Eu 元素掺杂量高达 6.5%(w/w) 的 FSNPs。此外, 我们的工作证实了稀土掺杂 FSNPs 中的能量转移过程, 即稀土螯合物中的生色团分子吸收激发光的能量并将其转移以激活稀土离子发光的过程, 且该过程应满足生色团的三重激发态能量高于稀土离子的激发态能量这一基本条件。另外, 通过改变稀土螯合物的负载量, 我们实现了对 FSNPs 荧

光强度的调控; 通过改变稀土螯合物中 Tb³⁺/Eu³⁺ 的比例, 我们实现了对 FSNPs 荧光颜色的调控。这些对于 FSNPs 的进一步应用都是非常有意义的。

参考文献:

- [1] Rosso P, Ye L, Friedrich K, et al. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2006**, **100**(3):1849-1855
- [2] Slowing I I, Trewyn B G, Giri S, et al. *Adv. Funct. Mater.*, **2007**, **17**(8):1225-1236
- [3] Wang L, Zhao W J, Tan W H. *Nano Res.*, **2008**, **1**(2):99-115
- [4] Zong C H, Ai K, Zhang G, et al. *Anal. Chem.*, **2011**, **83**(8): 3126-3132
- [5] Tan H L, Li Q, Ma C J, et al. *Biosens. Bioelectron.*, **2015**, **63**:566-571
- [6] Zhang F, Zou M Q, Chen Y, et al. *Biosens. Bioelectron.*, **2014**, **51**:29-35
- [7] ZHANG Ze-Fang(张泽芳), YUAN Wei(袁薇), XU Ming(徐明), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.*(无机化学学报), **2018**, **34** (11):1943-1949

- [8] Benezra M, Penate-Medina O, Zanzonico P B, et al. *J. Clin. Invest.*, **2011**, **121**(7):2768-2780
- [9] Zhao X J, Bagwe R P, Tan W H. *Adv. Mater.*, **2004**, **16**(2): 173-176
- [10] Diamandis E P, Christopoulos T K. *Anal. Chem.*, **1990**, **62**(22):1149A-1157A
- [11] Wu X Y, Liu H J, Liu J Q, et al. *Nat. Biotechnol.*, **2003**, **21**(1):41-46
- [12] Medintz I L, Uyeda H T, Goldman E R, et al. *Nat. Mater.*, **2005**, **4**(6):435-446
- [13] Michalet X, Pinaud F, Bentolila L, et al. *Science*, **2005**, **307**(5709):538-544
- [14] ZHANG Bing-Bo(张兵波), GONG Xiao-Qun(宫晓群), LIN Ting-Ting(林婷婷), et al. *Chem. J. Chinese Universities* (高等学校化学学报), **2009**, **30**(2):246-249
- [15] Chen Y, Lu Z H. *Anal. Chim. Acta*, **2007**, **587**(2):180-186
- [16] Choi J, Burns A A, Williams R M, et al. *J. Biomed. Opt.*, **2007**, **12**(6):064007
- [17] Eliseeva S V, Bünzli J C G. *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, **39**(1): 189-227
- [18] YIN Dong-Guang(尹东光), ZHANG Li(张礼), LIU Bin-Hu(刘斌虎), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.*(无机化学学报), **2010**, **26**(3):419-425
- [19] Hai X D, Tan M Q, Wang G L, et al. *Anal. Sci.*, **2004**, **20**(2): 245-246
- [20] Zhang H, Xu Y, Yang W, et al. *Chem. Mater.*, **2007**, **19**(24): 5875-5881
- [21] Ye Z Q, Tan M Q, Wang G L, et al. *J. Mater. Chem.*, **2004**, **14**(5):851-856
- [22] Tan M Q, Wang G L, Hai X D, et al. *J. Mater. Chem.*, **2004**, **14**(19):2896-2901
- [23] YIN Dong-Guang(尹东光), ZHANG Li(张礼), LIU Bin-Hu(刘斌虎), et al. *Acta Chim. Sinica*(化学学报), **2010**, **68**(19): 1965-1970
- [24] Fedorenko S V, Mustafina A R, Mukhametshina A R, et al. *Mater. Sci. Eng. C: Mater. Biol. Appl.*, **2017**, **76**:551-558
- [25] Duarte A P, Mauline L, Gressier M, et al. *Langmuir*, **2013**, **29**(19):5878-5888
- [26] Eliseeva S V, Song B, Vandevyver C D, et al. *New J. Chem.*, **2010**, **34**(12):2915-2921
- [27] TAO Dong-Liang(陶栋梁), CUI Yu-Ming(崔玉民), QIAO Rui(乔瑞), et al. *Spectroscopy and Spectral Analysis*(光谱学与光谱分析), **2011**, **31**(03):723-726
- [28] Santra S, Zhang P, Wang K M, et al. *Anal. Chem.*, **2001**, **73**(20):4988-4993
- [29] Esquena J, Pons R, Azemar N, et al. *Colloids Surf. A*, **1997**, **123**:575-586
- [30] Yao L, Xu G Y, Dou W L, et al. *Colloids Surf. A*, **2008**, **316**(1/2/3):8-14
- [31] Arriagada F J, Osseo-Asare K. *J. Colloid Interface Sci.*, **1999**, **211**(2):210-220
- [32] van Blaaderen A, Vrij A. *J. Colloid Interface Sci.*, **1993**, **156**(1):1-18
- [33] Hüsing N, Schubert U, Mezei R, et al. *Chem. Mater.*, **1999**, **11**(2):451-457
- [34] Chen S, Hayakawa S, Shirotsaki Y, et al. *J. Am. Ceram. Soc.*, **2009**, **92**(9):2074-2082
- [35] Chang C L, Fogler H S. *Langmuir*, **1997**, **13**(13):3295-3307
- [36] Ye Z Q, Tan M Q, Wang G L, et al. *Anal. Chem.*, **2004**, **76**(3):513-518
- [37] Quici S, Cavazzini M, Marzanni G, et al. *Inorg. Chem.*, **2005**, **44**(3):529-537
- [38] Meijer G, de Vries M S, Hunziker H E, et al. *J. Chem. Phys.*, **1990**, **92**(12):7625-7635
- [39] Świtlicka-Olszewska A, Klemens T, Nawrot I, et al. *J. Lumin.*, **2016**, **171**:166-175
- [40] McCarthy P, Blanchard G. *J. Phys. Chem.*, **1993**, **97**(47): 12205-12209
- [41] Wu J, Ye Z Q, Wang G L, et al. *J. Mater. Chem.*, **2009**, **19**(9):1258-1264
- [42] Shirshahi V, Soltani M. *Contrast Media Mol. Imaging*, **2015**, **10**(1):1-17
- [43] Werts M H, Hofstraat J W, Geurts F A, et al. *Chem. Phys. Lett.*, **1997**, **276**(3/4):196-201