2005 年第 63 卷 第 10 期, 929～933
化 学 学 报 ACTA CHIMICA SINICA
Vol. 63, 2005 No. 10, 929～933

• 研究论文 •

金纳米壳球体的制备及其潜在的生物学应用

谈 勇 丁少华 王 毅 钱卫平*
(东南大学生物科学与医学工程系 吴健雄实验室 南京 210096)

摘要 利用分子自组装和胶体还原化学制备出具有核−壳结构的金纳米壳球体 $Au@SiO_2$; 通过透射电子显微镜(TEM)、X 射线光电子能谱 (XPS)和紫外−可见分光光度计对 $Au@SiO_2$ 的制备过程及其在全血中的光学特性进行了研究. 结果表明, 通过改变复合颗粒 $Au-APTES-SiO_2$ 的浓度, 可以得到具有合理核−壳比例的 $Au@SiO_2$, 其等离激元共振峰位于光谱的近红外区, 这使得具有红外消光特性的金纳米壳球体具有潜在的生物学应用价值.
关键词 金纳米壳球体; 核−壳结构; 等离激元共振; 全血

Fabrication of Gold Nanoshells and Their Potential Applications to Biology

TAN, Yong DING, Shao-Hua WANG, Yi QIAN, Wei-Ping*
(*Chien-Shiung Wu Laboratory, Department of Biological Science and Medical Engineering, Southeast University, Nanjing 210096*)

Abstract Molecular self-assembly and colloid reduction chemistry were used to fabricate gold nanoshells $Au@SiO_2$ with core-shell structures. Transmission electron microscopy (TEM), X-ray photoelectron spectrometer (XPS) and UV-vis spectrophotometer were employed to investigate the fabrication process of $Au@SiO_2$ and their optical properties in whole blood. Our results demonstrate that by varying the concentrations of composite particles $Au-APTES-SiO_2$, the gold nanoshells with appropriate core-shell ratio could be obtained and the plasmon resonances of these nanopaticles could be located in the infrared region of the spectrum, suggesting that gold nanoshells with infrared extinction properties have potential biological applications.
Keywords gold nanoshell; core-shell structure; plasmon resonance; whole blood

近年来, 纳米复合颗粒的制备已经成为材料科学中十分活跃的研究领域, 各种形态[1,2]、结构[3,4]以及成分可控的[5]新型核−壳材料[6,7]不断涌现, 其制备方法灵活、多样. 一方面, 核−壳成分可以自由选择, 如: 金属、无机物和有机物等, 而且可以自由组合[8]; 另一方面, 除了球形核外, 还可以在各种几何形状的核上形成壳层, 如: 纳米杆[9]、纳米锥和纳米立方体等; 另外, 将其中的核除去可以制备出中空的纳米壳[10,11], 或者进一步填充特殊材料. 这样, 通过控制核−壳结构的组成、形状和尺寸, 人们能够定制所需的纳米复合颗粒, 从而满足不同领域的应用需要[12].

目前, 具有核−壳结构的金纳米壳球体 $Au@SiO_2$ 因其独特的光学性质而成为基础研究[13]中的一个热点[14,15]. $Au@SiO_2$ 是一种球状分层的纳米复合颗粒, 由薄的金壳和二氧化硅核组成. $Au@SiO_2$ 之所以引起广泛的关注, 是因为: (1) $Au@SiO_2$ 的核−壳纳米结构具有可控性; (2) $Au@SiO_2$ 产生的等离激元共振具有可调性; (3) $Au@SiO_2$ 表面的金壳具有良好的生物相容性; (4)

* E-mail: wqian@seu.edu.cn; Tel: +86-25-83795719.
Received November 23, 2004; revised January 19, 2005; accepted February 3, 2005.
国家自然科学基金(Nos. 30370312, 90406024-4)、高等学校博士学科点专项科研基金和全国博士学位论文作者专项资金(No. 200252)资助项目.

$Au@SiO_2$ 的单分散性和稳定性较好; (5) 在共振波长处受到激光照射会释放热量. 所有这些特性使得 $Au@SiO_2$ 在药物缓释[16]、癌症治疗[12]和成像以及生物传感[17]等很多领域有着广阔的应用前景.

本文利用自组装和还原化学, 通过控制 Au-APTES-SiO_2 的浓度, 设计和制备具有合理核-壳比例的 $Au@SiO_2$, 使其共振吸收峰的位置位于光谱的近红外区; 并用 TEM, XPS 和紫外-可见分光光度计对其显微结构和光学性质进行表征; 同时, 还利用 $Au@SiO_2$ 在近红外区的的光学特性, 研究了 $Au@SiO_2$ 用于全血分析的可能性, 并探讨了 $Au@SiO_2$ 潜在的生物学应用.

1 实验部分

1.1 试剂

氯金酸、甲醛、硼氢化钠、碳酸钾和无水乙醇为国产分析纯试剂, 水为自制三次蒸馏水, 全血(血常规检验用血)由东南大学校医院提供, 二氧化硅水溶胶(粒径～110 nm)购于日本 Nissan 公司, γ-氨基丙基三乙氧基硅烷(APTES)购于 Sigma 公司.

1.2 方法

首先, 取 5 mL 的 SiO_2 水溶胶经离心、超声再分散置换为乙醇相(100 mL, 7×10^{13} particles/mL), 并重复三次以除杂质; 取 35 mL 的 SiO_2 醇溶胶(7×10^{13} particles/mL)与 0.275 mL 的 γ-氨基丙基三乙氧基硅烷(APTES, 98%)混合, 通过 APTES 修饰 SiO_2 颗粒使其表面氨基化[18]; 接着, 用硼氢化钠还原法制备 2～5 nm 的胶体金溶液(由金的密度和金颗粒的平均体积, 可计算出金颗粒的质量; 再根据还原金的质量, 可计算得到胶体金溶液的浓度为 1.88×10^{14} particles/mL)作为后续实验的"种子"; 然后, 2～5 nm 金颗粒通过静电作用吸附到氨基化 SiO_2 颗粒表面, 形成 Au-APTES-SiO_2 纳米复合颗粒(7×10^{11} particles/mL); 最后, 在甲醛的作用下更多的金被还原, 并以 SiO_2 表面吸附的金颗粒作为晶核, 在 SiO_2 颗粒表面形成完整的金壳, 从而得到 7×10^{11} particles/mL 的 $Au@SiO_2$ 水溶胶, 其壳的厚度可通过 Au-APTES-SiO_2 的浓度自由控制. 制备过程示意图如图1所示.

1.3 表征

用 JEM200CX(日本)透射电子显微镜(TEM)观察胶体溶液中的二氧化硅颗粒、胶体金颗粒、Au-APTES-SiO_2 复合颗粒以及金纳米壳球体 $Au@SiO_2$ 的显微结构和粒径分布; 在 Dtavg Escalab MarkII XPS 仪上测定 X 射线光电子能谱(XPS); 紫外-可见光谱的测定在 U-4100(日本)紫外-可见光分光光度计上完成.

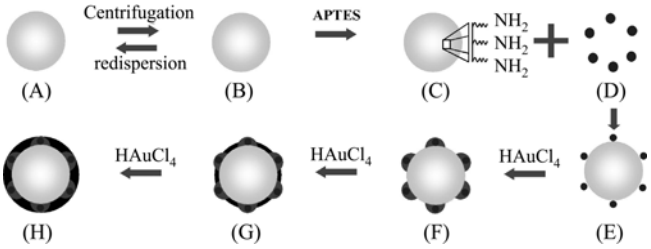

图 1 在 SiO_2 表面金壳层逐渐形成的示意图

Figure 1 Schematic diagrams of gradual growth of a gold nanoshell on a silica sphere

A—a silica sphere in water; B—a silica sphere in ethanol; C—SiO_2 functionalized with APTES; D—gold nanoparticles; E—SiO_2 attached with gold nanoparticles; F—gold nanoparticles as seeds; G—gradual growth of a gold nanoshell; H—completed growth of a gold nanoshell

2 结果与讨论

2.1 $Au@SiO_2$ 的制备

图 2(A)是表面氨基化的二氧化硅 TEM 图. TEM 分析表明: 通过反复离心和超声分散, 可除去二氧化硅水溶胶中的杂质并置换为乙醇相, 用硅烷偶联剂 APTES 修饰后, 可以获得单分散性好、形状均匀和粒径均一的二氧化硅颗粒(粒径～110 nm). 图 3 是氨基化前后的二氧化硅 XPS 图, 对比分析显示: 经 APTES 修饰后, 在 407 eV 处有明显的 N_{1s} 峰存在, 而且 C_{1s} 峰升高、O_{1s} 和 Si_{2s} 峰下降, 这证实二氧化硅颗粒表面已氨基化.

在制备金纳米壳球体的过程中, 胶体金颗粒的形状和大小以及金颗粒在 APTES-SiO_2 表面分布的密度和单分散性, 对能否形成厚度均一、形状均匀的金壳层影响很大. 本文利用硼氢化钠作为还原剂, 制备出形状均匀且粒径在 2～5 nm 之间的胶体金颗粒, TEM 表征见图 2(B). 由于胶体金颗粒带负电荷, 氨基化的二氧化硅颗粒表面带正电荷, 通过静电作用, 2～5 nm 的金颗粒吸附到二氧化硅颗粒表面, 同时, 金颗粒间还存在同种电荷的排斥作用, 所以金颗粒单分散地吸附在二氧化硅颗粒表面. 复合颗粒 Au-APTES-SiO_2 的表征见图 2C, 可以观察到吸附在二氧化硅表面的胶体金单分散性好、覆盖均匀.

分子自组装和胶体还原化学制备金纳米壳球体的优点在于壳层厚度可控, 通过改变 Au-APTES-SiO_2 溶胶的浓度, 可得到所需核-壳比例的 $Au@SiO_2$. 在还原剂甲醛的作用下, 金从氯金酸中还原出来, 以二氧化硅表面吸附的金颗粒作为成核位置, 包覆在二氧化硅表面. 作为"种子"的金颗粒粒径不断变大, 并逐渐连成一体, 形成完整的金纳米壳层. 制备出的金纳米壳球体 TEM 表征见图 2D, 金壳层表面粗糙度～5 nm, 壳的厚度～25 nm (核的直径为～110 nm).

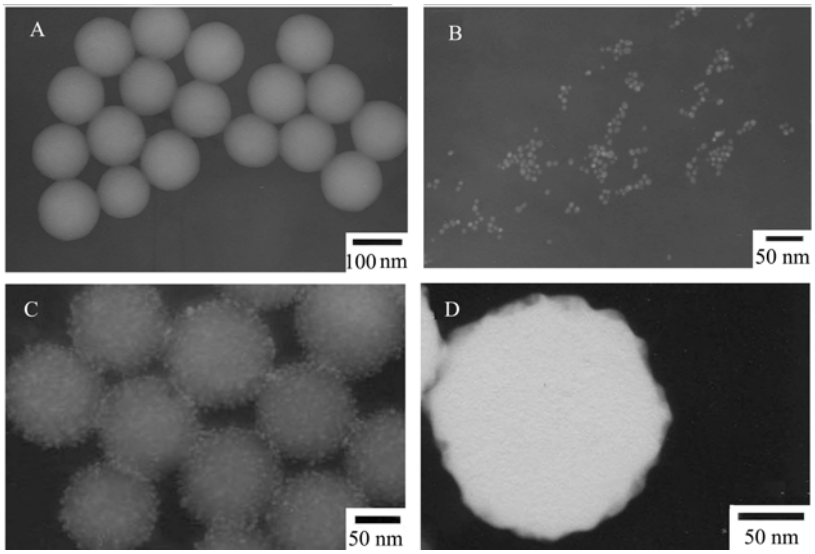

图 2　TEM 形貌图

Figure 2　TEM micrographs

A—silica nanoparticles (～110 nm) functionalized with APTES; B—gold nanoparticles (2～5 nm); C—silica nanoparticles with attached gold nanoparticles (2～5 nm); D—a gold nanoshell

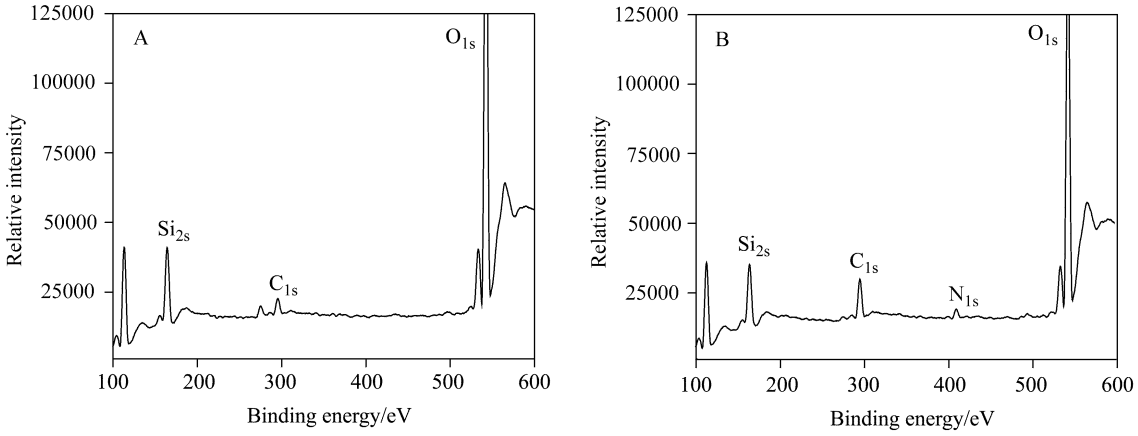

图 3　二氧化硅颗粒(～110 nm)的 XPS 图

Figure 3　XPS spectra of silica nanoparticles (～110 nm)

A—before functionalized with APTES; B—after functionalized with APTES

2.2　Au@SiO_2 的红外消光特性

具有核-壳结构的金纳米壳球体拥有诸多特性，其中具有生物学意义的是其红外消光特性. 本文通过化学还原反应，向剧烈搅拌的 4 mL 碳酸钾和氯金酸混合液中，依次加入 2 mL 不同浓度的 Au-APTES-SiO_2 溶胶(5.5×10^{11}，5.0×10^{11}，4.5×10^{11}，4.0×10^{11}，3.5×10^{11}，3.0×10^{11} 和 2.5×10^{11} particles/mL)，得到不同核-壳比的金纳米壳球体，其紫外-可见光谱见图 4. 结果表明：随着 Au-APTES-SiO_2 浓度的逐渐减小，由等离激元共振引起的吸收峰逐渐红移(a→b→c→d→e)，从～580 nm 位移到～720 nm，这表明金壳层逐渐形成；随后，吸收峰逐渐蓝移(e→f→g)，从～720 nm 位移到～680 nm，金壳层厚度逐渐增加.

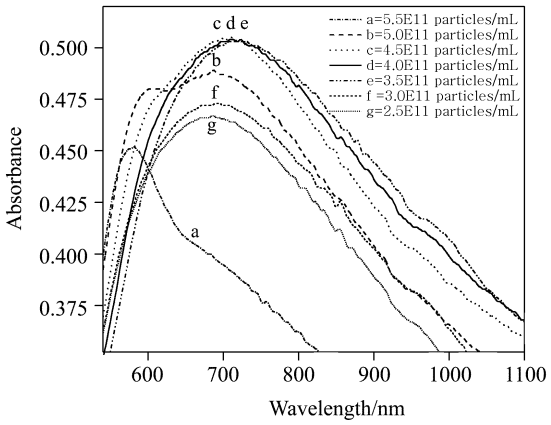

图 4　通过改变 Au-APTES-SiO_2 浓度制备金纳米壳球体的紫外-可见吸收谱

Figure 4　Evolution of the UV-vis absorption spectra of the gold nanoshells fabricated by varying the concentration of the Au-APTES-SiO_2 nanoparticles

研究表明: 在金纳米壳的形成过程中, 随着加入 Au-APTES-SiO_2 浓度的变化, 其等离激元共振吸收峰随核和壳相对大小的变化而系统地变化. 金纳米壳球体的等离激元共振之所以显示出几何可调性, 是由于金壳层中电子的自由程受壳层厚度的限制, 从而使其光学性质随壳层厚度的变化而变化. 金纳米壳球体这一独特的光学性质, 体现其人工设计的可控性. 人们可以自由地设计和制备金纳米壳球体, 使其强烈的等离激元共振吸收峰准确地定位于光谱的近红外区, 而近红外材料具有相当重要的生物学应用价值.

2.3 全血中 Au@SiO_2 的光学性质

金纳米壳球体强的消光特性提供了一条自由进入近红外区的有效途径, 这对许多生物医学应用来说极其有用. 一般来说, 传统的生化分析(如: 酶联免疫吸附测定法 ELISA 等)难以在全血体系内完成, 这是由于血液具有高的浊度和强烈的消光性, 会干扰可以用来检测的信号, 所以分析只能限制在稀释的血清样品中进行. 但是, 图 5A 中的光谱显示: ～600 nm 至～1200 nm, 光对人体血液的透射是最理想的, 其“通透性”类似分光光

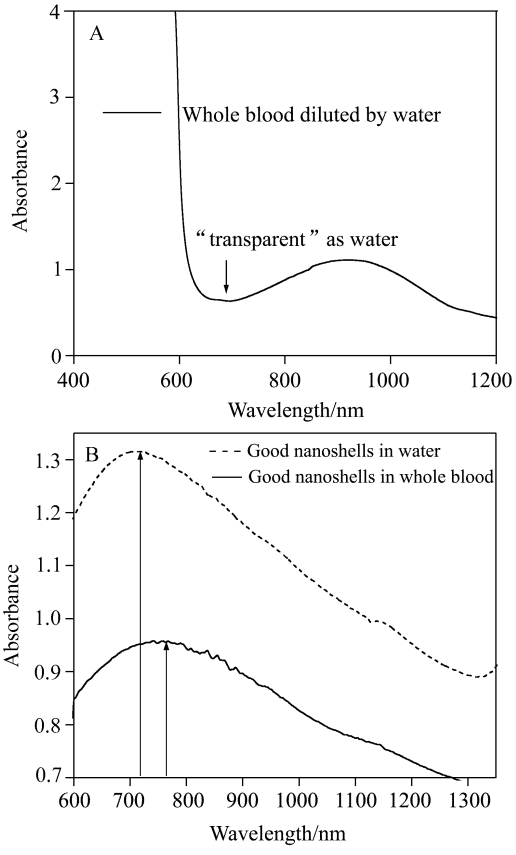

图 5 紫外−可见光谱

Figure 5 UV–vis absorption spectra

A—the whole blood diluted by water at the rate of 1∶1 by volume; B—the gold nanoshells (diameter$_{core}$=～110 nm, thickness$_{shell}$=～25 nm) in water (7×10^{11} particles/mL) and in whole blood (5×10^{11} particles/mL)

度法中的溶剂参比——水; 这样, 基于 Au@SiO_2 很好的单分散性和稳定性, 通过设计合理的核−壳比(110 nm∶25 nm), 将共振吸收峰定位于可把全血作为“溶剂参比”的近红外区, 近红外光能顺利传递到全血中的 Au@SiO_2, 从而实现全血体系的紫外−可见光谱分析.

图 5B 中的光谱显示: ～600 nm 至～1200 nm, Au@SiO_2 在全血中的吸收光谱和在水中的吸收光谱类似, 这说明 Au@SiO_2 在两种介质中的光学特性是一致的; 由于～600 nm 以下全血是不“透明的”, 可见光在透过血液时几乎全部被吸收(图5A), 从而破坏 Au@SiO_2 在全血中的吸收光谱, 所以本文将 Au@SiO_2 的共振消光峰定位于 600 和 1200 nm 之间. 另外, 源于 Au@SiO_2 浓度的变化($7\times10^{11}\rightarrow5\times10^{11}$ particles/mL)以及周围介质的变化(水→全血), Au@SiO_2 的等离激元共振不仅表现为吸收峰的下降(吸光度 1.32→0.95), 而且表现为吸收峰的红移(～720→～760 nm).

在现有技术条件下进行血液样品分析前, 往往需要一个耗时的样品分离、纯化和清洗过程, 这使得生化检测不能快速、有效地进行. 利用 Au@SiO_2 等离共振消光峰的可调性以及近红外光在全血中的通透性, 通过金壳与生物大分子的偶联, 可以将传统的生物识别技术和 Au@SiO_2 的光学特性巧妙地结合在一起, 从而将 Au@SiO_2 直接应用于血液样品分析; 不仅如此, 生物分子修饰后的 Au@SiO_2 可对特异性细胞或组织进行定位, 受共振波长处激光的照射会发生光学吸收, 并转变成热释放于靶向组织, 这有利于改善血液循环和加速伤口愈合. 可以预料, 具有红外消光特性的 Au@SiO_2, 有望在生化分析[19]、组织工程、疾病(如性病)的早期诊断和治疗以及医学影像[20]等生物学领域得到广泛应用. 其优势在于: (1) 无需样品的制备步骤, 实验方法简单、快速、花费少; (2) 与胶体金相比, 拥有更好的光学可调性; (3) 光谱分析非常方便, 用紫外−可见分光光度计即可实现; (4) 与传统的固相免疫分析相比, 可望实现均相分析, 可以提高灵敏度.

3 结论

通过控制 Au-APTES-SiO_2 的浓度, 设计和制备出核直径～110 nm、壳厚～25 nm 的金纳米壳球体 Au@SiO_2, 在水、全血中, 其共振吸收峰的位置分别位于～720 和～760 nm; 用 TEM, XPS 和紫外−可见分光光度计对其制备过程和显微结构的检测表明: 通过自组装和还原化学, 2～5 nm 的胶体金能够吸附到 APTES 修饰的二氧化硅颗粒表面, 并最终形成形状均匀、壳层厚度均一的金壳层; 最后, 对 Au@SiO_2 在近红外区的的光学特性研

究证实: 利用 $Au@SiO_2$ 共振消光峰的可调性和近红外光在全血中的通透性, 可将 $Au@SiO_2$ 直接应用于血液样品分析, 其潜在的生物学应用前景正引起许多研究小组的兴趣. 我们期待, 在生物学应用领域, 这种新型核−壳材料 $Au@SiO_2$ 能发挥越来越大的作用.

References

1 Sun, Y.-G.; Xia, Y.-N. *Nano Lett.* **2003**, *3*, 1569.
2 Huang, C.-C.; Yang, Z.; Chang, H.-T. *Langmuir* **2004**, *20*, 6089.
3 Sun, Y.-G.; Wiley, B.; Li, Z.-Y.; Xia, Y.-N. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9399.
4 Tan, Y.; Yang, K.-J.; Cao, Y.-X.; Zhou, R.; Chen, M.; Qian, W.-P. *Acta Chim. Sinica* **2004**, *62*, 2089 (in Chinese).
(谈勇, 杨可靖, 曹跃霞, 周蓉, 陈明, 钱卫平, 化学学报, **2004**, *62*, 2089.)
5 Zhang, J.-G.; Xu, S.-Q.; Kumacheva, E. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7908.
6 Sun, Y.-G.; Xia, Y.-N. *Science* **2002**, *298*, 2176.
7 Schuetz, P.; Caruso, F. *Chem. Mater.* **2004**, *16*, 3066.
8 Chatterjee, K.; Banerjee, S.; Chakravorty, D. *Phys. Rev. B* **2002**, *66*, 0854211.
9 Link, S.; Elsayed, M. *Int. Rev. Phys. Chem.* **2000**, *19*, 409.
10 Wang, L.-Z.; Ebina, Y.; Takada, K.; Sasaki, T. *Chem. Commun.* **2004**, *9*, 1074.
11 Jin, Y.-D.; Dong, S.-J. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 12902.
12 Hirsch, L. R.; Stafford, R. J.; Bankson, J. A.; Sershen, S. R.; Rivera, B.; Price, R. E.; Hazle, J. D.; Halas, N. J.; West, J. L. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2003**, *100*, 13549.
13 Oldenburg, S. J.; Averitt, R. D.; Westcott, S. L.; Halas, N. J. *Chem. Phys. Lett.* **1998**, *288*, 243.
14 Prodan, E.; Radloff, C.; Halas, N. J.; Nordlander, P. *Science* **2003**, *302*, 419.
15 Baer, R.; Neuhauser, D.; Weiss, S. *Nano Lett.* **2004**, *4*, 85.
16 Sershen, S. R.; West, J. L. *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *51*, 293.
17 Tam, F.; Halas, N. J. *Prog. Org. Coat.* **2003**, *47*, 275.
18 Zhang, D.; Chen, Y.; Chen, H. Y.; Xia, X. H. *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *379*, 1025.
19 Penn, S. G.; He, L.; Natan, M. J. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2003**, *7*, 609.
20 Wang, Y.-W.; Xie, X.-Y.; Wang, X.-D.; Ku, G.; Gill, K. L.; O'Neal, D, P.; Stoica, G.; Wang, L. V. *Nano Lett.* **2004**, *4*, 1689.

(A0411233 SONG, J. P.)