

纳米科学与技术



# 纳米分析化学

朱俊杰 等 编著



科学出版社



国家出版基金项目  
NATIONAL PUBLICATION FOUNDATION

纳米科学与技术

# 纳米分析化学

朱俊杰 等 编著



科学出版社  
北京

## 内 容 简 介

本书总结作者多年来在纳米材料分析化学包括纳米材料的制备与功能化、传感器构建以及微流控芯片等方面的教学实践和科学研究成果与经验,结合多种分析手段包括电化学、光化学、光电化学、质谱等,对纳米材料在生物分析领域中的应用进行详细的描述。主要内容包括纳米材料简介、纳米材料用于光学分析、纳米材料用于电化学分析、纳米材料用于光电化学分析、纳米材料用于电致化学发光分析、纳米材料用于微流控芯片和质谱分析以及纳米材料用于药物负载与传输等。

本书可供化学、生命科学、医学、环境科学以及材料科学等领域科技工作者参考,同时也可作为大专院校化学专业高年级学生和分析化学专业研究生的教材。

### 图书在版编目(CIP)数据

纳米科学与技术 / 白春礼总主编. —北京: 科学出版社, 2014

国家出版基金项目

ISBN 978-7-03-042826-4

I. ①纳… II. ①白… III. ①纳米技术 IV. ①TB383

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)299072号

丛书策划: 杨 震 / 责任编辑: 周巧龙 孙 艳 / 责任校对: 刘亚琦  
责任印制: 钱玉芬 / 封面设计: 陈 敬

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京厚诚则铭印刷科技有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2015年1月第一版 开本 720×1000 1/16

2015年1月第一次印刷 印张 20 3/4 插页: 4

字数: 420 000

定价: 12 000.00 元 (全 80 册)

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

## 《纳米科学与技术》丛书编委会

顾 问 韩启德 师昌绪 严东生 张存浩

主 编 白春礼

常务副主编 侯建国

副主编 朱道本 解思深 范守善 林 鹏

编 委 (按姓氏汉语拼音排序)

陈小明 封松林 傅小锋 顾 宁 汲培文 李述汤

李亚栋 梁 伟 梁文平 刘 明 卢秉恒 强伯勤

任咏华 万立骏 王 琛 王中林 薛其坤 薛增泉

姚建年 张先恩 张幼怡 赵宇亮 郑厚植 郑兰荪

周兆英 朱 星

## 《纳米科学与技术》丛书序

在新兴前沿领域的快速发展过程中，及时整理、归纳、出版前沿科学的系统性专著，一直是发达国家在国家层面上推动科学与技术发展的重要手段，是一个国家保持科学技术的领先权和引领作用的重要策略之一。

科学技术的发展和应用，离不开知识的传播：我们从事科学研究，得到了“数据”（论文），这只是“信息”。将相关的大量信息进行整理、分析，使之形成体系并付诸实践，才变成“知识”。信息和知识如果不能交流，就没有用处，所以需要“传播”（出版），这样才能被更多的人“应用”，被更有效地应用，被更准确地应用，知识才能产生更大的社会效益，国家才能在越来越高的水平上发展。所以，数据→信息→知识→传播→应用→效益→发展，这是科学技术推动社会发展的基本流程。其中，知识的传播，无疑具有桥梁的作用。

整个 20 世纪，我国在及时地编辑、归纳、出版各个领域的科学技术前沿的系列专著方面，已经大大地落后于科技发达国家，其中的原因有许多，我认为更主要的是缘于科学文化的习惯不同：中国科学家不习惯去花时间整理和梳理自己所从事的研究领域的知识，将其变成具有系统性的知识结构。所以，很多学科领域的第一本原创性“教科书”，大都来自欧美国家。当然，真正优秀的著作不仅需要花费时间和精力，更重要的是要有自己的学术思想以及对这个学科领域充分把握和高度概括的学术能力。

纳米科技已经成为 21 世纪前沿科学技术的代表领域之一，其对经济和社会发展所产生的潜在影响，已经成为全球关注的焦点。国际纯粹与应用化学联合会 (IUPAC) 会刊在 2006 年 12 月评论：“现在的发达国家如果不发展纳米科技，今后必将沦为第三世界发展中国家。”因此，世界各国，尤其是科技强国，都将发展纳米科技作为国家战略。

兴起于 20 世纪后期的纳米科技，给我国提供了与科技发达国家同步发展的良好机遇。目前，各国政府都在加大力度出版纳米科技领域的教材、专著以及科普读物。在我国，纳米科技领域尚没有一套能够系统、科学地展现纳米科学技术各个方面前沿进展的系统性专著。因此，国家纳米科学中心与科学出版社共同发起并组织出版《纳米科学与技术》，力求体现本领域出版读物的科学性、准确性和系统性，全面科学地阐述纳米科学技术前沿、基础和应用。本套丛书的出版以高质量、科学性、准确性、系统性、实用性为目标，将涵盖纳米科学技术的所有领域，全面介绍国内外纳米科学技术发展的前沿知识；并长期组织专家撰写、编辑出版下去，为我国纳米科技各个相关基础学科和技术领域的科技工作者和研究生、本科

生等，提供一套重要的参考资料。

这是我们努力实践“科学发展观”思想的一次创新，也是一件利国利民、对国家科学技术发展具有重要意义的大事。感谢科学出版社给我们提供的这个平台，这不仅有助于我国在科研一线工作的高水平科学家逐渐增强归纳、整理和传播知识的主动性（这也是科学研究回馈和服务社会的重要内涵之一），而且有助于培养我国各个领域的人士对前沿科学技术发展的敏感性和兴趣爱好，从而为提高全民科学素养作出贡献。

我谨代表《纳米科学与技术》编委会，感谢为此付出辛勤劳动的作者、编委会委员和出版社的同仁们。

同时希望您，尊贵的读者，如获此书，开卷有益！



中国科学院院长

国家纳米科技指导协调委员会首席科学家

2011年3月于北京

# 前 言

纳米技术是用单个原子、分子制造物质的科学技术，研究结构尺寸在 1~100 nm 范围内材料的性质和应用，它是现代科学（量子力学、分子生物学等）和现代技术（计算机技术、微电子和扫描隧道显微镜技术等）结合的产物。

20 世纪 70 年代，科学家便开始从不同角度提出有关纳米技术的构想，80 年代末 90 年代初发展起来这一多学科交叉的新兴学科，它的发展开辟了人类认识世界的新层次。1993 年，国际纳米科技指导委员会将纳米技术划分为 6 个分支：纳米电子学、纳米物理学、纳米化学、纳米加工学、纳米计量学和纳米生物学。这标志着这种介于原子、分子和宏观物质尺度之间的纳米科学技术已成为全球科技研究的一大热点。纳米科学和现代分析化学相结合而形成的纳米分析化学，以生命体为研究对象，运用纳米技术与传统分析技术的理论与方法，开展生物学和医学研究与实践，已经可以实现细胞、亚细胞、分子、原子等层次水平的研究，为生命过程的机制阐明、人类疾病的机理研究、临床医学诊断和治疗等方面提供了全新的材料、技术、方法和手段。目前，综合各学科而发展起来的各种新型纳米材料如纳米颗粒、量子点及碳纳米管等，已经在生物样品的超灵敏检测、疾病的早期诊断、基因与药物的靶向输送、生物分离、生物医学成像等众多方面取得较为理想的成果。

本书共分 7 章，从纳米分析化学研究涉及的纳米基础知识出发，总结多功能纳米材料的制备方法、表征及生物功能化（第 1 章），概括作者十多年来在纳米与光、电化学以及分离、载药等方面科学研究的经验与成果，并吸收国内外有关参考文献和近年来该领域发展的新成就，阐述当代纳米分析化学及其在生命分析化学研究中的应用与发展，对纳米分析化学在光学分析（第 2 章）、电化学分析（第 3 章）、光电化学分析（第 4 章）、电致化学发光分析（第 5 章）、微流控芯片和质谱分析（第 6 章）以及药物负载与传输（第 7 章）中的应用进行深入浅出的描述与详细的介绍，对疾病的早期诊断、愈后评估、生物分离、医学成像具有重要的参考价值。

本书在编著过程中得到了陈洪渊院士的大力支持与关怀。参加本书编写的还有李菁菁、沈清明、李玲玲、闵乾昊、曹俊涛等博士，以及张鹏晖、郑婷婷等博士研究生，胡立慧和朱莹娣两位同学参加全书的统稿，在此，对他们的贡献表示衷心感谢！感谢国家自然科学基金委员会对相关研究工作给予的资助，本书的出版得到国家出版基金的资助，谨在此表示衷心感谢！

由于作者水平有限，经验不足，且该领域的发展极快，难免有疏漏和不妥之处，欢迎读者随时提出宝贵的意见。

朱俊杰

2014 年 4 月 25 日于南京

# 目 录

## 《纳米科学与技术》丛书序

### 前言

第 1 章 纳米材料简介	1
1.1 纳米材料的定义	1
1.2 纳米材料的分类	2
1.3 纳米材料的制备方法	18
1.4 纳米材料的表征	32
1.5 纳米材料的生物功能化	49
1.6 纳米材料的应用	53
参考文献	59
第 2 章 纳米材料用于光学分析	65
2.1 DNA、RNA 分析	65
2.2 蛋白质分析	82
2.3 生物小分子分析	99
2.4 离子分析	116
2.5 生物成像	131
参考文献	145
第 3 章 纳米材料用于电化学分析	153
3.1 细胞分析	154
3.2 DNA、RNA 分析	168
3.3 免疫分析	182
参考文献	200
第 4 章 纳米材料用于光电化学分析	206
4.1 光电化学技术简介	206
4.2 光电化学传感的基本原理	207
4.3 光电活性纳米材料	207
4.4 电位型光电化学传感	209
4.5 电流型光电化学传感	210
参考文献	225
第 5 章 纳米材料用于电致化学发光分析	229
5.1 电致化学发光原理	230
5.2 电致化学发光物质	234
5.3 电致化学发光的应用	237
参考文献	249



---

第 6 章 纳米材料用于微流控芯片和质谱分析 .....	252
6.1 微流控芯片分析平台 .....	252
6.2 生物质谱中样品预处理及分析 .....	264
参考文献 .....	295
第 7 章 纳米材料用于药物负载与传输 .....	302
7.1 石墨烯纳米复合材料 .....	302
7.2 磁性铁氧化物纳米颗粒 .....	305
7.3 金纳米颗粒 .....	306
7.4 介孔硅纳米材料 .....	308
参考文献 .....	318
索引 .....	319
彩图	

# 第 1 章 纳米材料简介

## 1.1 纳米材料的定义

纳米材料是指在三维空间中至少有一维处于纳米尺度范围(1~100 nm)或由它们作为基本结构单元所构成的材料。诺贝尔奖获得者、美国著名物理学家 Feynman 在 20 世纪 60 年代就曾预言:如果我们对物体微小规模上的排列加以某种控制的话,我们就能使物体得到大量的异乎寻常的特性,就会看到材料的性能产生丰富的变化<sup>[1]</sup>。他所说的材料就是现在的纳米材料,纳米材料以其高表面活性,独特的光、电、磁性能以及极小的空间三维结构,顺应了当前元器件的超微化、高密度集成、低能耗等发展趋势,引起了科学家极大的研究热情。与纳米材料相对应的纳米技术已经成为 21 世纪的主导技术,推动着信息、能源、环境、生物、农业、国防等领域的技术创新,将再一次引发技术产业革命的浪潮<sup>[2~8]</sup>。

纳米材料科学是一门新的科学领域,它是由原子物理、凝聚态物理、胶体化学、固体化学、配位化学、化学反应动力学和表面、界面科学等多种学科交叉汇合而形成的。它的研究对象是介于宏观块体物质和微观分子、原子体系的中间态物质。由于纳米尺寸的物质具有奇特的物理化学性质以及诱人的应用前景,纳米科技已成为 21 世纪科学与技术研究领域的前沿和主导。如今,纳米科技已渗透到现代自然科学与技术的方方面面,如纳米物理学、纳米化学、纳米材料学、纳米生物学、纳米电子学、纳米力学、纳米加工学等<sup>[9~15]</sup>。其中,不同尺寸、形貌、组成以及结构的纳米材料的制备是纳米科技发展的基础。

纳米材料是介于宏观与微观之间的一个新的物质层次,因而表现出独特的物理化学性质。

### 1. 小尺寸效应<sup>[16, 17]</sup>

当纳米颗粒尺寸与光波的波长、传导电子的德布罗意波长以及超导态的相干长度或穿透深度等物理特征尺寸相当时,晶体周期性的边界条件将被破坏,声、光、力、热、化学活性等与普通颗粒相比均有很大的变化,这就称为纳米颗粒的小尺寸效应。如纳米颗粒的熔点可远低于块状金属,而当金属纳米颗粒的直径小于 10 nm 时,就会失去原有的金属光泽,呈现出黑色。

## 2. 量子尺寸效应<sup>[18-20]</sup>

当纳米颗粒尺寸下降到某一值时, 颗粒费米能级面附近电子能级由准连续变为离散能级, 并且纳米颗粒存在不连续的最高占据轨道能级和最低未占轨道能级, 这使得能隙变宽, 该现象称为量子尺寸效应。在纳米颗粒中处于分立的量子化能级中电子的波动性带来了纳米颗粒的一系列特殊性质, 如高的光学非线性、特异的催化和光催化性质等。

## 3. 表面效应<sup>[21]</sup>

纳米材料的表面效应是指纳米颗粒的表面原子数与总原子数之比随着粒径的变小而急剧增大后所引起的性质上的变化。如粒径在 10 nm 以下, 将迅速增加表面原子的比例, 而当粒径降到 1 nm 时, 表面原子数的比例将达到 90% 以上, 原子几乎全部集中到颗粒表面。由于纳米颗粒表面原子数增多, 表面原子配位数不足, 这些原子易与其他原子结合达到稳定状态, 故具有很高的化学活性。如化学惰性的金属铂在制成纳米颗粒后也变得不稳定, 使其成为活性极好的催化剂; 当铜纳米颗粒的粒径从 100 nm 降低到 10 nm 时, 其颗粒的比表面积和表面能都将增加 2 个数量级。又如金属的熔点虽然很高, 但是它的纳米颗粒在空气中却会燃烧, 而无机物的纳米颗粒暴露在空气中会吸附气体, 并与气体发生反应。

## 4. 宏观量子隧道效应<sup>[22, 23]</sup>

近年来, 人们发现一些宏观物理量, 如微颗粒的磁化强度、量子相干器件中的磁通量等也显示出隧道效应, 称为宏观的量子隧道效应。Awschalom 等采用扫描隧道显微镜技术控制磁性纳米颗粒的沉淀, 用量子相干磁强计研究了低温条件下微粒磁化率对频率的依赖性, 证实了低温下确实存在磁的宏观量子隧道效应。宏观量子隧道效应的研究对基础研究和应用研究如导电、导磁高聚物、微波吸收高聚物等都有重要的意义。

# 1.2 纳米材料的分类

## 1.2.1 碳基纳米材料

碳元素是自然界中存在的与人类最密切相关的重要元素之一, 碳原子之间除了以  $sp^3$  杂化轨道形成单键外, 还能以  $sp^2$  及  $sp$  杂化轨道形成稳定的双键和叁键, 从而形成许多结构和性质完全不同的物质。如人们熟悉的金刚石和石墨, 以及近

年发现的以富勒烯 (fullerene) 和碳纳米管 (carbon nanotubes, CNTs) 为代表的碳纳米材料。目前, 碳纳米材料是碳领域中崭新的高功能、高性能材料, 也是一个新的研究热点。

富勒烯 ( $C_{2n}$ ,  $n=12, 13, 14, \dots$ ) 固有的疏水性, 使其无法与人体内“靶分子”作用, 从而限制了它们在生物化学领域中的研究和应用。但近年来, 对合成水溶性富勒烯衍生物方面的突破和成功, 大大拓宽了富勒烯及其衍生物在生物方面的应用范围。如 Decamp 等用理论和实验都证明了某些水溶性  $C_{60}$  衍生物对人体免疫缺损病毒蛋白酶有抑制作用<sup>[24]</sup>; Miyata 等<sup>[25]</sup>发现某些  $C_{60}$  衍生物能促使脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) 的选择性分裂。

$C_{60}$ 、 $C_{70}$  等富勒烯分子因其独特的结构而呈现出独特的性能。目前已发现  $C_{60}$ 、 $C_{70}$  等富勒烯分子及其衍生物在光、电、磁等方面有一系列优异的性能, 尤其是由  $C_{60}$  制备出来的纳米管具有广阔的应用前景。

Ayajan 等<sup>[26]</sup>报道了利用溴仿作固定剂的碳纳米管修饰电极, 将多巴胺电化学反应的峰电位差改善到 30 mV。陈朝平等利用多壁碳纳米管修饰电极将对苯二酚的峰电位差从 285 mV 降低到 38 mV, 同时峰电流显著增大。这些都体现了碳纳米管对生物分子的电催化作用, 显示了其作为生物传感器的应用潜能<sup>[27]</sup>。

Merkoci 等<sup>[28]</sup>用碳纳米管修饰玻碳电极, 明显地降低了烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NADH) 的氧化过电位, 显示了显著的电催化活性。Rivas 等<sup>[29]</sup>研究了石墨电极和碳纳米管修饰电极在浓度为  $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  过氧化氢中的循环伏安曲线。碳纳米管修饰电极对过氧化氢的还原表现出优异的电催化效果, 这使得我们可以将碳纳米管修饰的电极用于酶生物传感器。

Hiii 等<sup>[30]</sup>将细胞色素 C 固定在碳纳米管上, 碳纳米管可以保持细胞色素 C 的活性。此后他们将内酰胺酶固定在碳纳米管上, 并用高分辨率发射电子显微镜进行观察, 结果表明一部分酶因其与碳纳米管内表面有强烈的相互作用而被固定, 还有一部分酶以其二聚体、四聚体以及更高级的聚合体形式被固定在碳纳米管中。比较固定化后的内酰胺酶和游离酶对青霉素的水解性能, 固定化酶保持了显著的催化活性<sup>[31]</sup>。

Hong 等<sup>[32]</sup>研究了辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 在碳纳米管修饰电极上的直接电化学反应。他们认为碳纳米管可以直接传递电子, 这一方面是因为碳纳米管的表面缺陷导致了其具有较高的表面活性, 有利于酶和碳纳米管之间的电子传递; 另一方面是碳纳米管独特的纳米结构起到了“分子导线”的作用, 可以将电子传递到酶的氧化还原中心。

碳点 (carbon dots, CDs) 是一类尺寸在 10 nm 以下的新型碳纳米材料, 是在电泳法制备单壁碳纳米管的纯化过程中被首次发现的<sup>[33]</sup>。传统的 CdSe、CdTe 等半导体量子点及其相关的核壳纳米颗粒被广泛地应用于光学分析, 但是这些量子

点中的重金属离子对生物体和环境的负面影响,限制了其在活体研究领域的应用。然而,碳点具有低毒性和可调的发光性质,有效克服了传统量子点的缺陷,在生物分析方面有广泛的应用前景。Wang 等<sup>[34]</sup>首先报道了碳点在生物成像方面的应用,用聚 *N*-丙酰基乙基酰亚胺-乙烯亚胺(乙烯亚胺约占 20%)来钝化合成的碳点,使用双光子荧光显微镜来研究碳点在细胞成像领域的应用,选择人体乳腺癌细胞 MCF-7 作为研究的载体。将 MCF-7 细胞在 37 °C 的碳点缓冲液中浸泡后,在 800 nm 脉冲激光的激发下, MCF-7 细胞在荧光显微镜下表现出强发光性质。碳点可以用来标记 MCF-7 的细胞膜和细胞质,并且碳点从细胞膜外到细胞质内的迁移是与温度相关的,在 4 °C 时,基本上观察不到碳点的迁移。

2004 年曼彻斯特大学 Novoselov、Geim 等运用机械剥离法制备出了单层二维(2D)石墨烯(graphene),加上此前的零维(0D)富勒烯(C<sub>60</sub>、C<sub>70</sub>等)、一维(1D)碳纳米管、三维(3D)金刚石,从 0D 到 3D 的碳纳米材料体系完整地建立了。

石墨烯是由单层 sp<sup>2</sup> 杂化碳原子排列形成的蜂窝状六角平面晶体,单层石墨烯的厚度仅为 0.35 nm, C—C 键长为 0.142 nm,这样独特的稳定结构使石墨烯强度高(杨氏模量达到 1 TPa)、导热性能优良(热导率是金刚石的 3 倍,达到 5000 W · m<sup>-1</sup> · K<sup>-1</sup>)、零带隙、电子/空穴迁移率高(理论上达到 200 000 cm<sup>2</sup> · V<sup>-1</sup> · s<sup>-1</sup>),电子在轨道中移动时,不会因晶格缺陷或引入外来原子而发生散射。由于石墨烯具有良好的导电性能,各类基于石墨烯修饰电极的生物传感器被广泛研究并应用于生物分析,目标分析物包括谷胱甘肽<sup>[35]</sup>、还原型辅酶<sup>[36]</sup>及葡萄糖<sup>[37]</sup>等。

2009 年, Niu 等<sup>[38]</sup>报道了利用石墨烯纳米材料构建电化学生物传感器用于 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的检测(图 1.1)。他们制备的聚赖氨酸(poly-L-lysine, PLL)修饰的石墨烯在水中具有良好的分散性。此外, PLL 上的活性氨基基团赋予了石墨烯优良的生物相容环境以用于固定生物分子。他们通过将辣根过氧化物酶(HRP)修饰在该石墨烯复合物上实现了对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的灵敏检测。

最近, Ramaprabhu 等<sup>[39]</sup>利用原位化学还原的方法,将金和铂纳米颗粒同时结合在石墨烯表面,由此形成的纳米复合材料可以提高传感器的灵敏度。基于石墨烯快速的电子传递性能,我们可以制备石墨烯-量子点纳米复合材料,并将其用于构建电致化学发光(electrogenenerated chemiluminescence, ECL)传感器。在量子点发光过程中,石墨烯的存在能加速量子点的氧化,有利于自由基的产生,促使量子点激发态的形成,最终提高电致化学发光信号强度。与单用量子点时的信号相比,石墨烯-量子点复合材料的电致化学发光信号强度提高了 5 倍。基于该复合材料的电致化学发光传感器对谷胱甘肽的检测限低至 8.3 μmol · L<sup>-1</sup> (S/N=3),用于对未经前处理的实际样品进行检测时,线性范围可以达到 0.04~0.29 mg · L<sup>-1</sup>。另有研究表明,用 CdS 量子点与石墨烯形成的复合材料来负载葡萄糖氧化酶

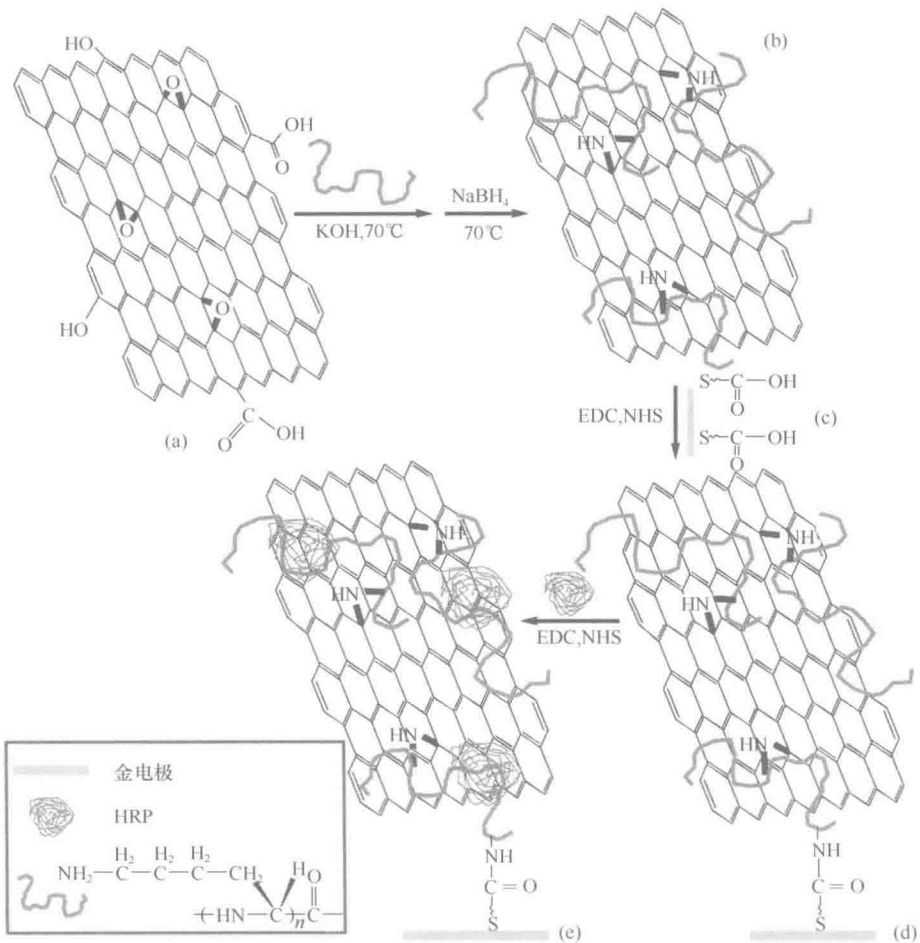


图 1.1 聚赖氨酸修饰的石墨烯和辣根过氧化物酶 (HRP) 在金电极上的装配示意图<sup>[38]</sup>

(glucose oxidase, GOx) 时, 石墨烯与 CdS 量子点之间存在协同效应, 可以有效提高葡萄糖氧化酶的催化速率常数 ( $K_s$ , 可达到  $5.9 \text{ s}^{-1}$ ), 对葡萄糖的检测限可达到  $0.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 石墨烯与卟啉铁形成复合材料用于负载葡萄糖氧化酶时, 对葡萄糖的测量线性范围下限低至  $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 线性范围为  $0.5 \sim 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[40]</sup>。Xu 等<sup>[41]</sup>通过将石墨烯掺杂到 Nafion 膜后能有效地加速钉联吡啶  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  的电子转移速率, 抑制  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  向 Nafion 膜疏水端的扩散, 进而提高电致化学发光传感器的稳定性, 对三丙胺 (tripropylamine, TPA) 的检测限达到  $50 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。最近, Hou 等<sup>[42]</sup>利用溶液中细菌对石墨烯修饰电极电子传递性能的影响, 构建了一种基于石墨烯的电化学阻抗生物传感器, 用于对海洋致命性细菌的检测, 线性范围为  $1.8 \times 10^1 \sim 1.8 \times 10^7 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

### 1.2.2 金属纳米材料

由金、银、钯、铂等材料组成的金属纳米颗粒具有三维纳米结构，它们的物理性质和化学性质与常规材料均存在很大差别，已经引起人们广泛的兴趣。这些金属纳米颗粒的表面通常有巯基、二硫化物、胺类、氰基、羧酸和膦等修饰基团<sup>[43]</sup>。多位点金属-硫键的形成是直接功能分子固定成预期几何构型的方式。烷基硫醇稳定的金纳米颗粒（Au nanoparticles, Au NPs）表面的部分巯基配体可以被其他硫醇取代，取代率取决于离开和引入的硫醇分子链的长度和立体结构，以及 Au NPs 的电荷。巯基-巯基交换大多需要过量的置换配体，以完成彻底的配体交换，不过有时刻意保持部分交换也有着一定的意义。此外，羧基-氨基偶联反应也可用于连接任何蛋白质和伯胺修饰的 Au NPs<sup>[44]</sup>。

Mo 等<sup>[45]</sup>在平行金电极表面通过交流电沉积自组制备 Au-Pt 合金纳米颗粒，纳米颗粒生长初期有个电化学反应过程，且在纳米颗粒结构中形成了金属键，因此这种方法制得的纳米颗粒比一般化学还原法制备的纳米颗粒有更强的力学性能，而后金电极直接作为工作电极即可用于传感实验，简单易行，且制备出的传感器有较好的灵敏度、检测限和线性范围。整个传感实验方法简便、快捷，具有很好的实际应用前景。

Au NPs 独特的性能为生物分子的固定提供了合适的微环境，能使生物分子保留生物活性，同时还能促进电极和蛋白质分子之间的电荷转移性能，因此被广泛用于构建电化学生物传感器<sup>[46]</sup>。Niu 等<sup>[47]</sup>制备的一种基于壳聚糖/石墨烯/Au NPs 的复合薄膜，对  $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{O}_2$  表现出较好的催化活性，固定上葡萄糖氧化酶后的修饰电极对葡萄糖检测的线性范围为  $2\sim 14 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ，最低检测限为  $180 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。Shi 等<sup>[48]</sup>将直径  $2\sim 6 \text{ nm}$  的带正电的 Au NPs 自组装在 1-芞丁酸功能化的石墨烯片（1-pyrene butyric acid functionalized graphene, PFG）上，PFG 对 Au NPs 具有很高的负载能力，Au NPs 和 PFG 复合材料修饰的玻碳电极可以用于构建电化学传感器。Duan 等<sup>[49]</sup>通过构建石墨烯纸和 Au NPs 二维组装体系，制备了一种高性能的柔性电极（图 1.2）。

Ag、Au、Cu 等金属的纳米颗粒具有非同寻常的光学特性，近年来被广泛用于激发局域表面等离子体共振（localized surface plasmon resonance, LSPR），即电子与电磁波作用发生共振后可在紫外-可见光波段产生特征吸收带。该特征光谱除了可以用来表征不同类型材料外，同时也能进一步反映纳米结构的尺寸、分布和形状信息。经研究，基于 LSPR 与表面等离子体共振（surface plasmon resonance, SPR）的生物传感器具有相似的灵敏度，但 LSPR 光谱的采集在便携式仪器的开发方面更具前景，此外 LSPR 光谱系统的成本仅为商业化 SPR 设备的  $1/30$ <sup>[50]</sup>。由此，LSPR 技术的研究为解决 SPR 技术设备成本高问题提供了可能。

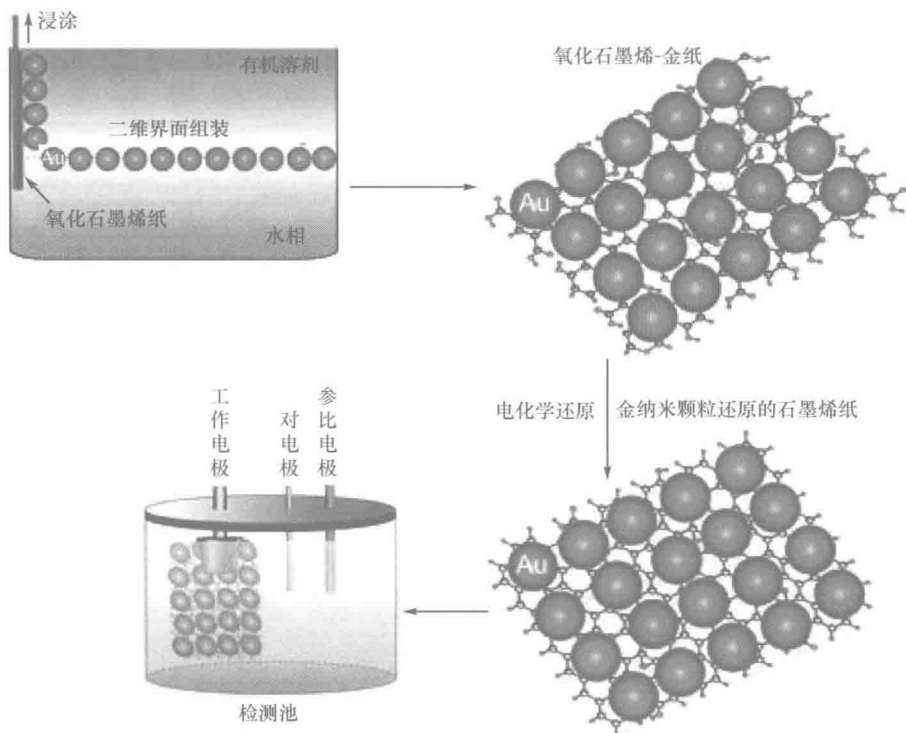


图 1.2 制备二维自组装金纳米颗粒和石墨烯纸的示意图<sup>[49]</sup>

### 1.2.3 上转换纳米材料

上转换纳米材料，或称上转换发光纳米材料。上转换发光，即反斯托克斯（anti-Stokes）发光，由 Stokes 定律而来。Stokes 定律认为材料只能受到高能量的光激发，发出低能量的光，换句话说，就是波长短的频率高的激发出波长长的频率低的光。例如，紫外线激发出可见光，或者蓝光激发出黄光，或者可见光激发出红外线。但是后来人们发现，其实有些材料可以实现与上述定律正好相反的发光效果，于是我们称其为反 Stokes 发光，又称上转换发光。

迄今为止，上转换发光纳米材料都是由掺杂稀土离子和基质材料组成的。其中，掺杂离子又分为激活剂（活化剂）和敏化剂两种。激活剂作为发光中心，敏化剂负责吸收能量并传递能量给激活剂离子。

发射辐射能的离子称为激活剂，掺杂量需小于 2%，以减少交叉弛豫导致的能量损失。目前研究最多的激活剂离子主要是镧系离子中的  $\text{Er}^{3+}$ 、 $\text{Tm}^{3+}$ 、 $\text{Ho}^{3+}$  和  $\text{Pr}^{3+}$ 。这是因为：①它们具有丰富的能级且亚稳态能级的寿命较长，为输出高效的上转换发光提供了前提条件；②它们在红外或近红外波段有很好的吸收，且与常用的



敏化剂离子之间存在高的能量传递效率，从而容易实现高效的上转换发光；③源自这些离子的发光受晶场的影响很小，均呈现很窄的谱带，非常有利于特殊领域的应用，如固体激光器、荧光防伪探针等。

能量给体称为敏化剂，掺杂量大约需 20%。对于敏化剂离子来说，首先，它应满足在激发波段具有较大的振子强度，或者说吸收强度；其次，它的发射光谱与激活剂离子的吸收光谱之间应有较大的光谱重叠；最后，敏化剂离子与激活剂离子之间应该存在相互作用，如电子交换相互作用或多极-多极相互作用等。 $\text{Yb}^{3+}$ 是上转换发光材料中应用最多的敏化剂，因为：①它在 980 nm 左右的近红外波段具有非常大的吸收强度；② $\text{Yb}^{3+}$ 只有一个激发态  $^2\text{F}_{5/2}$ ，从而决定它在离子晶格中具有非常高的量子效率，接近于 100%；③其近红外发射光谱与主要的激活剂离子的吸收光谱均有很大的光谱重叠，能够有效地吸收泵浦能量并通过电偶极-电偶极相互作用传递能量给这些激活剂离子。

与掺杂离子不同，基质材料通常只发挥固定掺杂离子以及为发光中心提供适当晶体场的作用。上转换材料基质的选择取决于其声子能量，声子能量就是晶格的振动能。当声子能量同激发光子或发射光子能量相近时，基质的晶格会吸收能量，导致发光效率下降。因此，为保证上转换发光效率，基质材料必须有较低的声子能量。三价稀土、碱土金属 ( $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Sr}^{2+}$ 、 $\text{Ba}^{2+}$ ) 和过渡金属 ( $\text{Zr}^{4+}$  和  $\text{Ti}^{4+}$ ) 的化合物经常被选作基质材料。卤化物（指氯、溴、碘）声子能量低 ( $<300\text{ cm}^{-1}$ ) 但易吸湿，氧化物稳定但声子能量高 ( $>300\text{ cm}^{-1}$ )，氟化物有低的声子能量 ( $\sim 350\text{ cm}^{-1}$ ) 和高的化学稳定性，是最好的基质材料。

上转换纳米材料的特殊组成决定了其出色的性质，如：①上转换纳米材料所选用的无机基质材料化学稳定性好，材料毒性低，在生物体内不易形成聚集；②在长时间激发光照射下发光依然非常稳定，无光闪烁，不易光解和光致漂白；③上转换纳米材料激发光源通常为 980 nm 的近红外光，可有效避免生物样品自发荧光干扰和散射光干扰，进而提高检测灵敏度；④980 nm 的激发光位于近红外区，能量较低，对生物体组织的损伤很小，同时，由于生物体组织一般对该波长激发光的吸收很低，故近红外激发光在生物组织内具有很深的穿透力，非常适合于体外或活体成像分析；⑤通过调节所掺杂稀土元素的种类、浓度和基质材料的类别，可在同一激发光下，实现多色上转换发光，可用于多目标同时标记。

#### 1.2.4 半导体纳米材料

半导体纳米材料不仅具备了与其他纳米材料一样比表面积大、表面能高等特性，其特殊的电子传输、催化、光电转换以及化学与生物亲和性等性能使得其在信号放大与对生物活性物质（酶、蛋白质、DNA、细胞、细胞器、组织等）的亲