

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810033970.6

[51] Int. Cl.  
C09K 11/06 (2006.01)  
G01N 33/533 (2006.01)

[43] 公开日 2008年8月13日

[11] 公开号 CN 101240167A

[22] 申请日 2008.2.28

[21] 申请号 200810033970.6

[71] 申请人 上海师范大学

地址 200234 上海市徐汇区桂林路 100 号

[72] 发明人 黄杉生 朱佩思

[74] 专利代理机构 上海伯瑞杰知识产权代理有限公司

代理人 何葆芳

权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 1 页

## [54] 发明名称

一种基于纳米二氧化钛的无毒荧光材料及其制备和应用

## [57] 摘要

本发明公开了一种基于纳米二氧化钛的无毒荧光材料，其是由纳米  $\text{TiO}_2$  颗粒与荧光素 TRITC 及金纳米溶胶耦联得到的  $\text{TiO}_2 - \text{TRITC} - \text{Au}$  荧光纳米材料。所述荧光材料是通过先将纳米  $\text{TiO}_2$  颗粒加入荧光素 TRITC 水溶液中，制备  $\text{TRITC} - \text{TiO}_2$  固体，然后将  $\text{TRITC} - \text{TiO}_2$  固体加入金纳米溶胶中反应而得。本发明的制备方法不仅能使荧光素毒性大大减小而光学活性基本不变，还能使二氧化钛的团聚现象不影响其掺杂的荧光素的光学稳定性，适合工业化批量生产。所制备的  $\text{TiO}_2 - \text{TRITC} - \text{Au}$  荧光纳米材料，具有无毒且光稳定性优良的特殊性能，可应用于对卵巢癌细胞 SKOV-3 的免疫分析检测，且检测灵敏度高。

1. 一种基于纳米二氧化钛的无毒荧光材料，其特征在于，所述荧光材料是由纳米  $\text{TiO}_2$  颗粒与染料荧光素四甲基异硫氰酸罗丹明及金纳米溶胶耦联得到的  $\text{TiO}_2$ -TRITC-Au 荧光纳米材料。

2. 一种权利要求 1 所述的基于纳米二氧化钛的无毒荧光材料的制备工艺，其特征在于，所述工艺包括如下步骤：

- 1) 制备锐钛矿晶型的纳米  $\text{TiO}_2$  颗粒；
- 2) 制备金纳米溶胶；
- 3) 称取染料荧光素四甲基异硫氰酸罗丹明，加入去离子水中，配制成浓度为  $0.0025 \sim 0.0030\text{g/mL}$  的溶液；
- 4) 加入锐钛矿晶型的纳米  $\text{TiO}_2$  颗粒，在室温下搅拌反应  $2 \sim 4$  天；
- 5) 停止反应，室温自然晾干，得到 TRITC- $\text{TiO}_2$  固体；
- 6) 称取上述 TRITC- $\text{TiO}_2$  固体，加入金纳米溶胶中，在室温下搅拌反应  $30 \sim 40$  小时；
- 7) 停止反应，放入  $35 \sim 37^\circ\text{C}$  的恒温烘箱中干燥  $24 \sim 36$  小时，即得  $\text{TiO}_2$ -TRITC-Au 荧光纳米材料。

3. 根据权利要求 2 所述的基于纳米二氧化钛的无毒荧光材料的制备工艺，其特征在于，所述锐钛矿晶型的纳米  $\text{TiO}_2$  颗粒的平均粒径为  $30 \sim 40 \text{ nm}$ 。

4. 根据权利要求 2 所述的基于纳米二氧化钛的无毒荧光材料的制备工艺，其特征在于，所述金纳米溶胶的平均粒径为  $8 \sim 12 \text{ nm}$ 。

5. 根据权利要求 2 所述的基于纳米二氧化钛的无毒荧光材料的制备工艺，其特征在于，所述 TRITC 和纳米  $\text{TiO}_2$  的质量之比为  $0.048: 1 \sim 0.052: 1$ ，金纳米溶胶和 TRITC- $\text{TiO}_2$  的质量之比为  $0.052: 1 \sim 0.048: 1$ 。

6. 一种权利要求 1 所述的基于纳米二氧化钛的无毒荧光材料的应用，其特征在于，所述荧光材料用于对卵巢癌细胞 SKOV-3 的免疫分析检测。

## 一种基于纳米二氧化钛的无毒荧光材料及其制备和应用

### 技术领域

本发明涉及一种荧光材料及其制备和应用，具体说，是涉及一种基于纳米二氧化钛的无毒荧光材料及其制备和应用。

### 背景技术

近年来，纳米技术被世界各国列为 21 世纪的关键技术之一。将纳米技术、分析化学、材料科学以及生物技术等多个研究领域相结合，尤其在纳米尺度上原位、活体、实时地获取相关生物化学信息，已成为当今化学与生物交界处的前沿研究热点。生物亲和性功能化纳米颗粒是纳米技术、生物技术与材料制备技术三项尖端技术结合的代表，是在纳米尺度上研究细胞、亚细胞、单分子、原子的行为和相互作用机理的新型纳米材料。

纳米  $\text{TiO}_2$  颗粒无毒、稳定、有化学惰性、且价格低廉，容易再生和回收利用，通过染料修饰、掺杂以及贵金属的表面修饰可以很容易改变其光的吸收行为等。但是，目前纳米  $\text{TiO}_2$  的研究更多的在于其光催化性能的研究，而其本身的无毒特性，特别是与金纳米颗粒及荧光物质的耦联制备无毒荧光材料及其在生物体系中的应用还是一片空白。

### 发明内容

本发明需要解决的技术问题是提供一种基于纳米二氧化钛的无毒荧光材料及其制备和应用，以填补现有技术的空白。

本发明所述的基于纳米二氧化钛的无毒荧光材料，是由纳米  $\text{TiO}_2$  颗粒与染料荧光素四甲基异硫氰酸罗丹明 (TRITC) 及金纳米溶胶耦联得到的  $\text{TiO}_2$ -TRITC-Au 荧光纳米材料。

所述  $\text{TiO}_2$ -TRITC-Au 荧光纳米材料的制备工艺包括如下步骤：

- 1) 制备锐钛矿晶型的纳米  $\text{TiO}_2$  颗粒；
- 2) 制备金纳米溶胶；

3) 称取染料荧光素四甲基异硫氰酸罗丹明(TRITC), 加入去离子水中, 配制成浓度为 0.0025 ~ 0.0030g/mL 的溶液;

4) 加入锐钛矿晶型的纳米  $\text{TiO}_2$  颗粒, 在室温下搅拌反应 2 ~ 4 天;

5) 停止反应, 室温自然晾干, 得到 TRITC- $\text{TiO}_2$  固体;

6) 称取上述 TRITC- $\text{TiO}_2$  固体, 加入金纳米溶胶中, 在室温下搅拌反应 30 ~ 40 小时;

7) 停止反应, 放入 35~37℃ 的恒温烘箱中干燥 24 ~ 36 小时, 即得  $\text{TiO}_2$ -TRITC-Au 荧光纳米材料。

所述锐钛矿晶型的纳米  $\text{TiO}_2$  颗粒的平均粒径为 30~40 nm。

所述金纳米溶胶的平均粒径为 8~12 nm。

所述 TRITC 和纳米  $\text{TiO}_2$  的质量之比为 0.048: 1 ~ 0.052: 1, 金纳米溶胶和 TRITC- $\text{TiO}_2$  的质量之比为 0.052: 1 ~ 0.048: 1。

本发明所述的基于纳米二氧化钛的无毒荧光材料— $\text{TiO}_2$ -TRITC-Au 荧光纳米材料可应用于对卵巢癌细胞 SKOV-3 的免疫分析检测。

本发明的制备方法不仅能使荧光素毒性大大减小而光学活性基本不变, 还能使二氧化钛的团聚现象不影响其掺杂的荧光素的光学稳定性, 适合工业化批量生产。所制备的  $\text{TiO}_2$ -TRITC-Au 荧光纳米材料, 具有无毒且光稳定性优良的特殊性能, 可应用于对卵巢癌细胞 SKOV-3 的免疫分析检测, 且检测灵敏度高, 填补了现有技术的空白。

### 附图说明

图 1 为荧光光谱分析图;

图 2 为紫外 - 可见吸收光谱分析图。

### 具体实施方式

下面通过实施例对本发明作进一步说明, 其目的仅在于更好理解本发明的内容而非限制本发明的保护范围:

#### 实施例 1

1) 制备锐钛矿晶型的纳米  $\text{TiO}_2$  颗粒

在 40℃ 水浴下, 将 10 mL 钛酸正丁酯滴加入不断搅拌的 40 mL 无水乙醇中;

另配制 10 mL 无水乙醇和 2.5 mL 硝酸溶液 ( $V_{\text{H}_2\text{O}}: V_{\text{HNO}_3}=5:1$ ) 的混合溶液, 将其逐滴加入到钛酸正丁酯和无水乙醇的溶液中, 搅拌至粘稠状, 得到淡黄色凝胶; 将淡黄色凝胶置于 80 °C 恒温烘箱中干燥, 然后置于马弗炉中在 500 °C 焙烧 4 h, 出炉冷却后用玛瑙研钵研磨成细粉末, 即得平均粒径为 30~40 nm 的锐钛矿晶型的纳米  $\text{TiO}_2$  颗粒。

## 2) 制备金纳米溶胶

将 100 mL 水加入碘量瓶中, 在冰水浴和不断搅拌下, 加入 0.7 mL 1%  $\text{HAuCl}_4$  溶液并搅拌 1 min; 加入 1 mL 1%  $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$  溶液后, 再搅拌 1 min; 加入 1 mL 0.75% 的  $\text{NaBH}_4$  溶液, 溶液颜色瞬间由淡金黄色转变为酒红色, 继续在冰水浴条件下充分搅拌 5 min, 即得平均粒径为 8~12 nm 的金纳米溶胶。

3) 称取 0.01 g 染料荧光素四甲基异硫氰酸罗丹明(TRITC), 加入 3.63 mL 去离子水中, 配制成溶液;

4) 加入 0.2 g 锐钛矿晶型的纳米  $\text{TiO}_2$  颗粒, 在室温下搅拌反应 2~4 天;

5) 停止反应, 室温自然晾干, 得到 TRITC- $\text{TiO}_2$  固体;

6) 称取上述 TRITC- $\text{TiO}_2$  固体 0.1069 g, 加入 1.86 mL 金纳米溶胶中, 在室温下搅拌反应 30~40 小时;

7) 停止反应, 放入 37 °C 的恒温烘箱中干燥 24~36 小时, 即得  $\text{TiO}_2$ -TRITC-Au 荧光纳米材料。

由图 1 的荧光光谱分析图可知:  $\text{TiO}_2$ -TRITC-Au (图 1c) 荧光纳米颗粒有很好的光学稳定性能。纯 TRITC (图 1a) 的光强约 2000 a.u., 修饰上纳米  $\text{TiO}_2$  (图 1b) 后, 光强急剧下降至 200 a.u.左右, 荧光强度减少了 10 倍, 可视为发生了荧光猝灭现象。但加入纳米 Au 后, 荧光强度回升至 2340 a.u.左右, 比原有的 TRITC 荧光颗粒的强度还要高, 并解决了核壳型荧光纳米颗粒的荧光稳定性的问题。

由图 2 的紫外-可见吸收光谱分析图可知:  $\text{TiO}_2$ -TRITC-Au 荧光纳米颗粒有较好的紫外吸收能力。图 2a 为 TRITC 的紫外吸收谱图, 在 500 nm 处有最大吸收。合成的纳米  $\text{TiO}_2$  (图 2d) 在 210 nm、350 nm 出现一对较弱的吸收峰, 而合成的纳米 Au (图 2b) 则在 ~550 nm 位置出现最大吸收峰。终产品  $\text{TiO}_2$ -TRITC-Au (图 2c) 纳米颗粒有类似于原料 TRITC 的阶跃并且最大吸收峰的位置与纳米 Au 的最大吸收峰相一致, 表明  $\text{TiO}_2$ -TRITC-Au 是以化学键合的形

式相连接的，并且有较高的紫外-可见的光吸收的能力。

将本实施例所制备的  $\text{TiO}_2\text{-TRITC-Au}$  荧光纳米材料，按照对卵巢癌细胞 SKOV-3 的免疫分析检测的常规条件进行检测实验：即，将 0.75 mL anti-HER2 抗体加入 TRITC- $\text{TiO}_2\text{-Au}$  荧光纳米粉体中，然后加入 1.0 mL 水，搅拌反应；离心，贮存于 1% 双抗（青霉素和链霉素）的水溶液中，放置冰箱内备用；利用抗体抗原的特定性免疫反应进行检测。检测实验结果表明：连接了 TRITC- $\text{TiO}_2\text{-Au}$  荧光纳米颗粒的抗体 HER2 可以非常快速地识别卵巢癌细胞 (SKOV-3) 的表面抗原蛋白，大大地提高了免疫反应的灵敏度，也为临床的免疫检测提供了一种新的材料和方法。

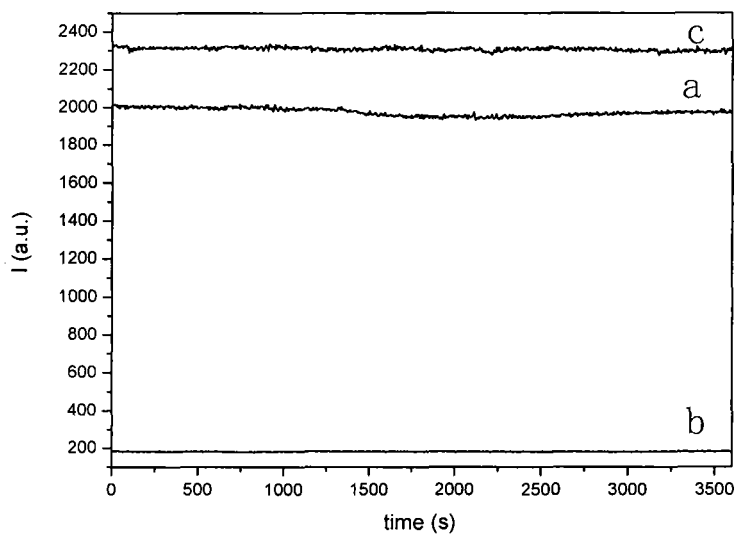


图 1

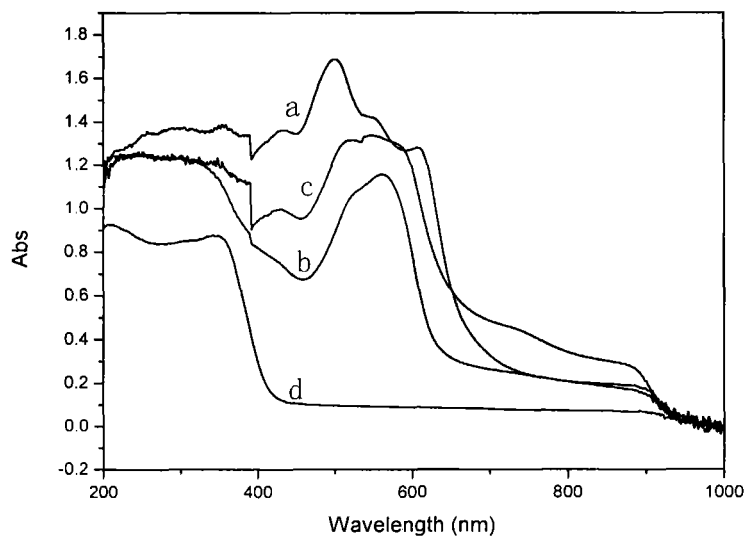


图 2

专利名称(译)	一种基于纳米二氧化钛的无毒荧光材料及其制备和应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN101240167A</a>	公开(公告)日	2008-08-13
申请号	CN200810033970.6	申请日	2008-02-28
[标]申请(专利权)人(译)	上海师范大学		
申请(专利权)人(译)	上海师范大学		
当前申请(专利权)人(译)	上海师范大学		
[标]发明人	黄杉生 朱佩思		
发明人	黄杉生 朱佩思		
IPC分类号	C09K11/06 G01N33/533		
代理人(译)	何葆芳		
其他公开文献	CN101240167B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明公开了一种基于纳米二氧化钛的无毒荧光材料，其是由纳米TiO<sub>2</sub>颗粒与荧光素TRITC及金纳米溶胶耦联得到的TiO<sub>2</sub> - TRITC - Au荧光纳米材料。所述荧光材料是通过先将纳米TiO<sub>2</sub>颗粒加入荧光素TRITC水溶液中，制备TRITC - TiO<sub>2</sub>固体，然后将TRITC - TiO<sub>2</sub>固体加入金纳米溶胶中反应而得。本发明的制备方法不仅能使荧光素毒性大大减小而光学活性基本不变，还能使二氧化钛的团聚现象不影响其掺杂的荧光素的光学稳定性，适合工业化批量生产。所制备的TiO<sub>2</sub> - TRITC - Au荧光纳米材料，具有无毒且光稳定性优良的特殊性能，可应用于对卵巢癌细胞SKOV - 3的免疫分析检测，且检测灵敏度高。

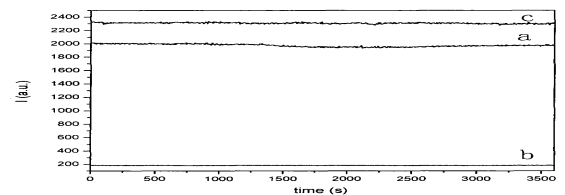


图 1

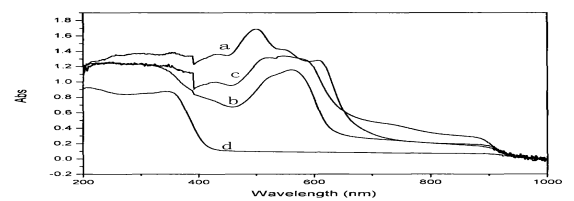


图 2