



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107722158 B

(45)授权公告日 2019.12.17

(21)申请号 201710936061.2 *C08F 220/06*(2006.01)
(22)申请日 2017.10.10 *C08F 2/44*(2006.01)
(65)同一申请的已公布的文献号 *C08F 2/26*(2006.01)
申请公布号 CN 107722158 A *G01N 33/533*(2006.01)

审查员 任莹莹

(43)申请公布日 2018.02.23

(73)专利权人 成都爱兴生物科技有限公司
地址 611730 四川省成都市郫都区成都现代工业港北片区港通北三路269号

(72)发明人 程敏卓

(74)专利代理机构 北京细软智谷知识产权代理有限公司 11471

代理人 王金宝

(51)Int.Cl.
C08F 212/08(2006.01)
C08F 222/02(2006.01)

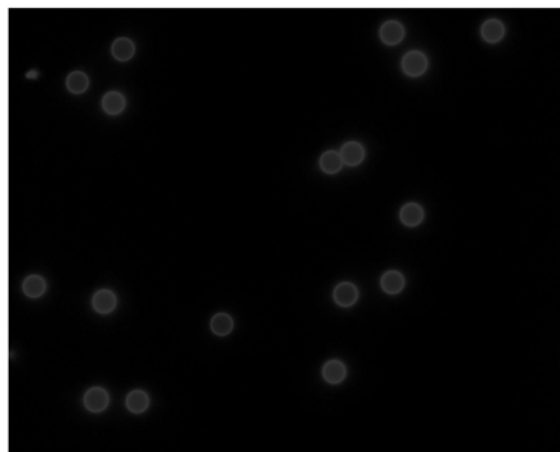
权利要求书1页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

单分散羧基修饰量子点复合微球、其制备方法及应用

(57)摘要

本发明涉及一种单分散羧基修饰量子点复合微球、其制备方法及应用。所述制备方法,先使用先采用均质机处理的方法制备量子点细乳液,再制备单体乳液,最后采用杂化乳液聚合的方法制备得到单分散羧基修饰量子点复合纳米微球。使用所述制备方法,无需再对聚苯乙烯微球表面进一步功能修饰,可以直接制备纳米级的单分散羧基修饰聚苯乙烯量子点复合微球,进一步大幅简化操作,降低损耗。所述制备方法操作简便,适于产业化推广使用,并且最关键的是可以制备获得单分散的、粒径高度均匀的、羧基修饰的量子点复合微球,为量子点复合微球在化学发光免疫等领域的应用做好了基础准备工作。



1. 单分散羧基修饰量子点复合微球的制备方法,其特征在于,所述制备方法包括以下步骤:

A、量子点细乳液的制备:将量子点溶解于有机溶剂中,加入含有十二烷基磺酸钠的水相中,所述十二烷基磺酸钠的浓度均低于临界胶束浓度,均质后得到量子点细乳液;

B、单体乳液的制备:将苯乙烯和十六烷混合均匀后,使用SPG膜乳化器装置将两者混合物从1.2 μm 孔径的SPG模板中挤入含有十二烷基磺酸钠的连续水相中,所述十二烷基磺酸钠的浓度均低于临界胶束浓度,得到单体乳液;

C、单分散羧基修饰量子点复合微球的制备:将引发剂和步骤A得到的量子点细乳液混合,加入含有羧基的功能单体和步骤B得到的单体乳液,在70-80 $^{\circ}\text{C}$ 下反应后,即可得到所述单分散羧基修饰量子点复合纳米微球。

2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤A中,所述量子点为油溶性量子点,所述有机溶剂为正辛烷。

3. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤C中,所述引发剂为KPS,所述含有羧基的功能单体为甲基丙烯酸、丙烯酸或衣康酸。

4. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤B和步骤C的过程中,使用惰性气体进行保护。

5. 一种单分散羧基修饰量子点复合微球,其特征在于,所述单分散羧基修饰量子点复合微球由权利要求1-4任一所述的制备方法制备而成。

6. 权利要求5所述的单分散羧基修饰量子点复合微球在荧光检测分析技术中的应用。

单分散羧基修饰量子点复合微球、其制备方法及应用

技术领域

[0001] 本发明属于高分子功能材料技术领域,具体涉及一种单分散羧基修饰量子点复合微球、其制备方法及应用。

背景技术

[0002] 量子点因具有独特的光电性质,近年来得到了很大的发展和广泛的应用。相对于传统的有机荧光染料分子而言,具有以下优势:

[0003] 1、发射峰窄且均匀对称,没有荧光染料典型的红移拖尾,在特征波长下具有很强的荧光信号;

[0004] 2、可使用同一激发光,选用不同的量子点,就能获得不同发射波长,可以进行多重检测,这可作为免疫荧光层析中多重检测的基础;

[0005] 3、荧光的量子效率高(CdSe为0.65~0.95)并且抗光漂白,是一种更为理想的生物标记发光材料。

[0006] 为了保证量子点的应用,一般需要量子点分散在水相里,同时还要求低毒性和稳定性。但高质量的荧光量子点通常是在有机相里合成,通常也会用到重金属离子。虽然通过配体交换和相转移的方法可以使量子点分散在水相里,但不太稳定,会使量子点的荧光性质因外界影响降低,同时也会泄露重金属离子。为提高量子点的稳定性和生物相容性,降低重金属离子泄露的危险,可以将量子点负载在聚合物微球里,制备成聚合物量子点复合微球。聚合物基质可以使纳米复合材料具有好的机械强度和化学稳定性,保持量子点的稳定性,聚合物量子点复合微球是一种有着广阔应用前景的荧光标识物。

[0007] 目前,制备聚合物量子点复合微球的方法主要有微乳液聚合法、分散聚合法、悬浮聚合法、溶胀法和逐层组装法等,这些方法各有特点,很多学者针对不同的应用领域已对这些方法进行了研究。这些方法中,微乳液聚合法可以用来制备单分散性较好的量子点复合微球,但量子点主要集中在微球的外围,而且量子点在微球内部分布不均匀;采用分散聚合法、悬浮聚合法制备的聚合物量子点复合微球通常粒径不太均一,而且粒径较大,多为微米级;溶胀法可以得到纳米级的单分散的复合微球,但量子点也主要集中在微球的外围,而且量子点在微球内部分布不均匀,微球之间的荧光强度差别较大,并且在某些条件下容易泄露量子点;逐层组装法是通过静电作用将量子点吸附在微球的表面,可以控制量子点的分布位点和负载量,使微球具有较好的荧光效果,但因为量子点是分布在聚合物微球的表面,并没有进入微球的内部,所以表面的量子点也容易泄露。而单分散性和稳定性是衡量聚合物量子点复合微球的重要指标,尤其是当应用于化学发光免疫时。

[0008] 基于以上相关背景,本领域内的聚合物量子点复合微球的制备方法普遍存在制备获得的聚合物量子点复合微球量子点分布不均匀,化学性质不太稳定,粒径分布较宽、不具有单分散性、应用领域范围受限等不足。

发明内容

[0009] 为了解决现有技术存在的问题,本发明提供了一种单分散羧基修饰量子点复合微球、其制备方法及应用。使用所述制备方法能够获得单分散羧基修饰量子点复合纳米微球,所述制备方法操作简便、适于产业化的推广应用。

[0010] 本发明的目的是提供一种单分散羧基修饰量子点复合微球。

[0011] 本发明的再一目的是提供所述单分散羧基修饰量子点复合微球的制备方法。

[0012] 本发明的再一目的是研究所述单分散羧基修饰量子点复合微球在在荧光检测分析技术中的应用。

[0013] 根据本发明的单分散羧基修饰量子点复合微球的制备方法,所述制备方法包括以下步骤:

[0014] A、量子点细乳液的制备:将量子点溶解于有机溶剂中,加入含有乳化剂的水相中,均质后得到量子点细乳液;

[0015] B、单体乳液的制备:将单体加入含有乳化剂的水相中,混合后得到单体乳液;

[0016] C、单分散羧基修饰量子点复合微球的制备:将引发剂和步骤A得到的量子点细乳液混合,加入含有羧基的功能单体和步骤B得到的单体乳液,在70-80℃下反应后,即可得到所述单分散羧基修饰量子点复合纳米微球。

[0017] 所述制备方法,先使用先采用均质机处理的方法制备量子点细乳液,再制备单体乳液,最后采用杂化乳液聚合的方法制备得到单分散羧基修饰量子点复合纳米微球,所述制备方法操作简便,适于产业化推广使用,并且最关键的是可以制备获得单分散的、粒径高度均匀的、羧基修饰的量子点复合微球,为量子点复合微球在化学发光免疫等领域的应用做好了基础准备工作。

[0018] 步骤A中,将所述量子点溶解于有机溶剂中,得到质量分数为10-50%的量子点溶液,再将乳化剂溶解于水中得到水相,所述乳化剂和水的重量比为1:2000-5000,将量子点溶液加入含有乳化剂的水相中,均质后得到量子点细乳液。所述量子点溶液与水相的重量比为1:20-100。

[0019] 步骤B中,将乳化剂溶解于水中得到水相,所述乳化剂和水的重量比为1:1000-1500,将所述单体加入含有乳化剂的水相中,混合后得到单体乳液。所述单体与水相的重量比为1:10-25。

[0020] 步骤C中,将引发剂和量子点细乳液加入到反应瓶中,所述引发剂和量子点细乳液的重量比为1:150-250;搅拌20-40分钟,通氮气去除体系中的氧,再加入含有羧基的功能单体和步骤B得到的单体乳液,在70-80℃反应24-30小时后,得到所述单分散羧基修饰量子点复合纳米微球。所述功能单体和所述单体的重量比为1:10-100,所述量子点细乳液和所述单体乳液的重量比为2:3-5。

[0021] 另外,步骤A中,均质操作采用均质机进行。步骤B中,使用SPG膜乳化器将单体从1.2 μ m孔径的SPG模板中挤入水相中,得到所述单体乳液。

[0022] 根据本发明的制备方法,其中,步骤A中,所述量子点为油溶性量子点,所述有机溶剂为正辛烷。

[0023] 根据本发明的制备方法,其中,步骤B中,所述单体为苯乙烯。最终得到单分散羧基修饰聚苯乙烯量子点复合微球。

[0024] 根据本发明的制备方法,其中,步骤A和B中,所述乳化剂为十二烷基磺酸钠。

[0025] 根据本发明的制备方法,其中,步骤A和B中,所述乳化剂的浓度均低于反应体系的临界胶束浓度。以保证乳化剂首先吸附在单体液滴表面,连续相中不能形成胶束。

[0026] 根据本发明的制备方法,其中,步骤B中,将单体与超疏水剂混合后,加入含有乳化剂的水相中。

[0027] 所述疏水剂与苯乙烯的重量比为1:80-100;在单体中加入少量超疏水剂,能够保证得到的所述单体乳液的稳定性。

[0028] 根据本发明的制备方法,其中,所述超疏水剂为十六烷。

[0029] 根据本发明的制备方法,其中,所述引发剂为KPS,所述含有羧基的功能单体为甲基丙烯酸、丙烯酸或衣康酸。

[0030] KPS,为过硫酸钾的别称,在本申请中,作为引发剂使用。

[0031] 根据本发明的制备方法,其中,步骤B和步骤C的过程中,使用惰性气体进行保护。一般来说,使用氮气进行保护处理:在反应前,向反应器中通入氮气,将其中的氧气排出。

[0032] 根据本发明的单分散羧基修饰量子点复合微球,所述单分散羧基修饰量子点复合微球由上述的制备方法制备而成。

[0033] 本发明还公开了所述单分散羧基修饰量子点复合微球在荧光检测分析技术中的应用。所述荧光检测分析技术包括不限于侧向纸层析、基于不透明微孔板的发光免疫分析,基于磁珠的免疫发光分析技术。基于玻璃或塑料介质的生物芯片分析技术,基于微流控原理的POCT产品及技术等。

[0034] 本发明的有益效果为

[0035] 1、本发明提供了一种单分散羧基修饰(聚苯乙烯)量子点复合微球及其制备方法,所述制备方法,先使用先采用均质机处理的方法制备量子点细乳液,再制备单体乳液,最后采用杂化乳液聚合的方法制备得到单分散羧基修饰(聚苯乙烯)量子点复合纳米微球,所述制备方法操作简便,适于产业化推广使用,并且最关键的是可以制备获得单分散的、粒径高度均匀的、羧基修饰的(聚苯乙烯)量子点复合微球,为量子点复合微球在化学发光免疫等领域的应用做好了基础准备工作。

[0036] 2、本发明中提供了一步法制备表面含有羧基基团的单分散的聚苯乙烯量子点复合微球的方法,通过该方法无需再对聚苯乙烯微球表面进一步功能修饰,可以直接制备纳米级的单分散羧基修饰聚苯乙烯量子点复合微球,进一步大幅简化操作,降低损耗。

[0037] 3、使用所述制备方法制得的单分散羧基修饰量子点复合微球,能够应用于荧光检测分析技术。所述荧光检测分析技术包括不限于侧向纸层析、基于不透明微孔板的发光免疫分析,基于磁珠的免疫发光分析技术。基于玻璃或塑料介质的生物芯片分析技术,基于微流控原理的POCT产品及技术等。

附图说明

[0038] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0039] 图1是本发明实施例3制备的单分散羧基修饰聚苯乙烯量子点复合微球的动态激光散射粒度分析数据图；

[0040] 图2是本发明实施例3制备的单分散羧基修饰聚苯乙烯量子点复合微球的显微镜图；

[0041] 图3是本发明实施例3制备的单分散羧基修饰聚苯乙烯量子点复合微球的表面羧基滴定图；

[0042] 图4为所述单分散羧基修饰聚苯乙烯量子点复合微球建立CK-MB量子点侧向纸层析的试剂卡装配示意图。

具体实施方式

[0043] 为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚，下面将对本发明的技术方案进行详细的描述。显然，所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例，而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例，本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动的前提下所得到的所有其它实施方式，都属于本发明所保护的范围。

[0044] 实施例1

[0045] 本实施例提供一种一步法制备表面含有羧基基团的单分散的聚苯乙烯量子点复合微球的制备方法，具体步骤如下：

[0046] 将油溶性的量子点纳米粒子溶解于正辛烷中，配成质量分数为10%的量子点溶液，称量20mg十二烷基磺酸钠溶解于40g蒸馏水得到十二烷基磺酸钠的水溶液，然后将2g量子点溶液加入到十二烷基磺酸钠的水溶液中进行混合，将混合液在低温下用均质机进行处理，得到量子点细乳液。

[0047] 称量80mg十二烷基磺酸钠溶解于80g蒸馏水得到十二烷基磺酸钠的水溶液，然后将3.2g苯乙烯单体与40mg超疏水剂十六烷混合，装入单体罐中，通氮气保护，施加压力，使单体从1.0um孔径的SPG模板中挤出到十二烷基磺酸钠的水溶液中，得到单体乳液。

[0048] 将16mg KPS和40g量子点细乳液加入到反应瓶中，搅拌40分钟，通氮气去除体系中的氧，然后将反应瓶放入80℃的恒温水浴中搅拌，向上述体系中加入230mg衣康酸和60g单体乳液，开始聚合反应26小时，得到单分散羧基修饰聚苯乙烯量子点复合微球。

[0049] 实施例2

[0050] 本实施例提供一种一步法制备表面含有羧基基团的单分散的聚苯乙烯量子点复合微球的制备方法，具体步骤如下：

[0051] 将油溶性的量子点纳米粒子溶解于正辛烷中，配成质量分数为50%的量子点溶液，称量20mg十二烷基磺酸钠溶解于100g蒸馏水得到十二烷基磺酸钠的水溶液，然后将1g量子点溶液加入到十二烷基磺酸钠的水溶液中进行混合，将混合液在低温下用均质机进行处理，得到量子点细乳液。

[0052] 称量80mg十二烷基磺酸钠溶解于120g蒸馏水得到十二烷基磺酸钠的水溶液，然后将12g苯乙烯单体与120mg超疏水剂十六烷混合，装入单体罐中，通氮气保护，施加压力，使单体从1.5um孔径的SPG模板中挤出到十二烷基磺酸钠的水溶液中，得到单体乳液。

[0053] 将25mg KPS和40g量子点细乳液加入到反应瓶中，搅拌20分钟，通氮气去除体系中的氧，然后将反应瓶放入70℃的恒温水浴中搅拌，向上述体系中加入90mg丙烯酸和100g单

体乳液,开始聚合反应30小时,得到单分散羧基修饰聚苯乙烯量子点复合微球。

[0054] 实施例3

[0055] 本实施例提供一种一步法制备表面含有羧基基团的单分散的聚苯乙烯量子点复合微球的制备方法,具体步骤如下:

[0056] 将油溶性的量子点纳米粒子溶解于正辛烷中,配成质量分数为20%的量子点溶液,称量20mg十二烷基磺酸钠溶解于50g蒸馏水得到十二烷基磺酸钠的水溶液,然后将1g量子点溶液加入到十二烷基磺酸钠的水溶液中进行混合,将混合液在低温下用均质机进行处理,得到量子点细乳液。

[0057] 称量80mg十二烷基磺酸钠溶解于100g蒸馏水得到十二烷基磺酸钠的水溶液,然后将5g苯乙烯单体与80mg超疏水剂十六烷混合,装入单体罐中,通氮气保护,施加压力,使单体从1.2 μ m孔径的SPG模板中挤出到十二烷基磺酸钠的水溶液中,得到单体乳液。

[0058] 将25mg KPS和量子点细乳液加入到反应瓶中,搅拌30分钟,通氮气去除体系中的氧,然后将反应瓶放入78 $^{\circ}$ C的恒温水浴中搅拌,向上述体系中加入50mg甲基丙烯酸和单体乳液,开始聚合反应24小时,得到单分散羧基修饰聚苯乙烯量子点复合微球。

[0059] 实施例4

[0060] 本实施例为使用实施例1-3任一得到的所述单分散羧基修饰聚苯乙烯量子点复合微球建立CK-MB量子点侧向纸层析分析及对应的产品组装,包括以下步骤:

[0061] 1、所述单分散羧基修饰聚苯乙烯量子点复合微球通过EDC/NHS方法进行CK-MB抗体1偶联;

[0062] 2、将上述偶联好量子点微球用于量子点微球垫制备;

[0063] 3、按照图4的示意图进行试剂卡组装;

[0064] 在加样区域加入样本,经过10min后,即可将卡插入荧光定量读数器进行结构判读。

[0065] 实施例5

[0066] 本实施例为使用实施例1-3任一得到的所述单分散羧基修饰聚苯乙烯量子点复合微球建立CK-MB量子点微孔板发光免疫分析方法及对应的产品组装,包括以下步骤:

[0067] 1、上述微球通过EDC/NHS方法进行CK-MB抗体1偶联;

[0068] 2、对微孔板进行CK-MB抗体2进行包被及封闭,备用;

[0069] 3、在包被板中加入样本,量子点标记CK-MB抗体1,37度温育30min,用0.01M, pH7.4PBST洗涤3次;

[0070] 4、将微孔板至于微孔板荧光读数仪进行结果判读。

[0071] 实施例6

[0072] 本实施例为使用实施例1-3任一得到的所述单分散羧基修饰聚苯乙烯量子点复合微球建立CK-MB量子点复合微球发光免疫分析方法及对应的产品组装,包括以下步骤:

[0073] 1、上述微球通过EDC/NHS方法进行CK-MB抗体1偶联;

[0074] 2、将CK-MB抗体2与量子点复合微球进行偶联,备用;

[0075] 3、在反应杯中加入样本,量子点标记CK-MB抗体1,免疫磁珠,37度温育30min,用0.01M, pH7.4PBST洗涤3次;

[0076] 4、加入200微升去离子水,重悬量子点复合微球免疫复合物;

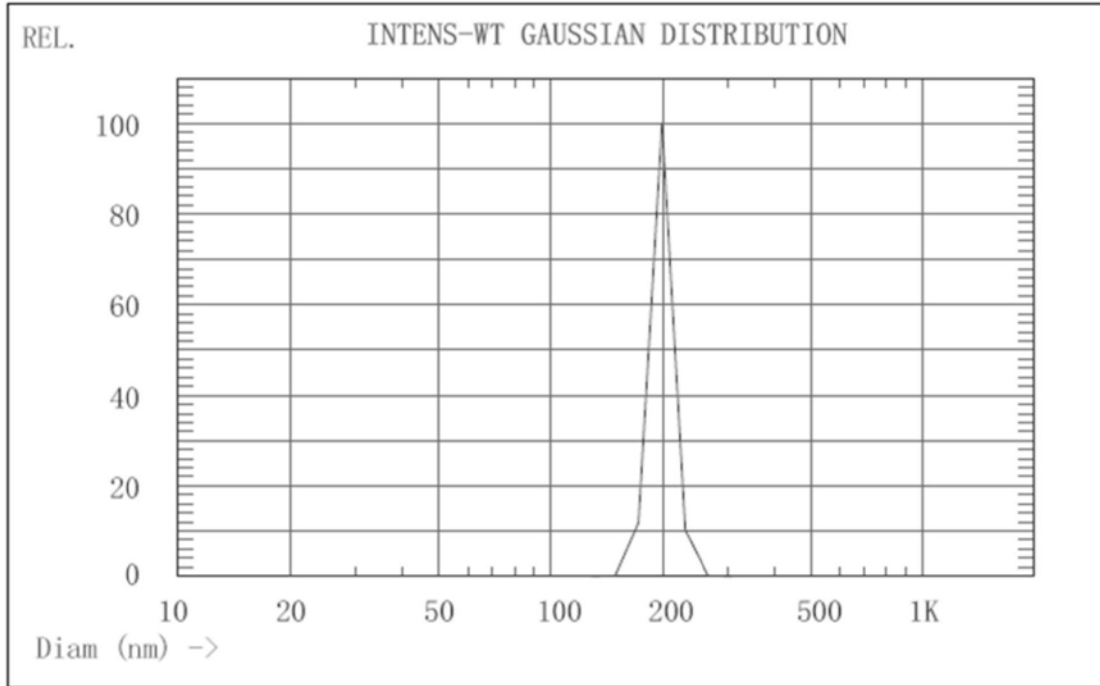
[0077] 5、将反应管置于管式荧光读数仪进行结果判读。

[0078] 以上所述,仅为本发明的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内,可轻易想到变化或替换,都应涵盖在本发明的保护范围之内。因此,本发明的保护范围应以所述权利要求的保护范围为准。

INTENSITY-Weighted GAUSSIAN DISTRIBUTION Analysis (Solid Particle)

GAUSSIAN SUMMARY:

<i>Mean Diameter</i>	= 199.1 nm	<i>Variance (P.I.)</i>	= 0.005
<i>Std. Deviation</i>	= 13.5 nm (6.8 %)	<i>Chi Squared</i>	= 0.339
<i>Norm. Std. Dev.</i>	= 0.068	<i>Baseline Adj.</i>	= 0.000 %
<i>(Coeff. of Var'n)</i>		<i>Z-Avg. Diff. Coeff.</i>	= 2.33E-008 cm ² /s



Run_Sample

图1

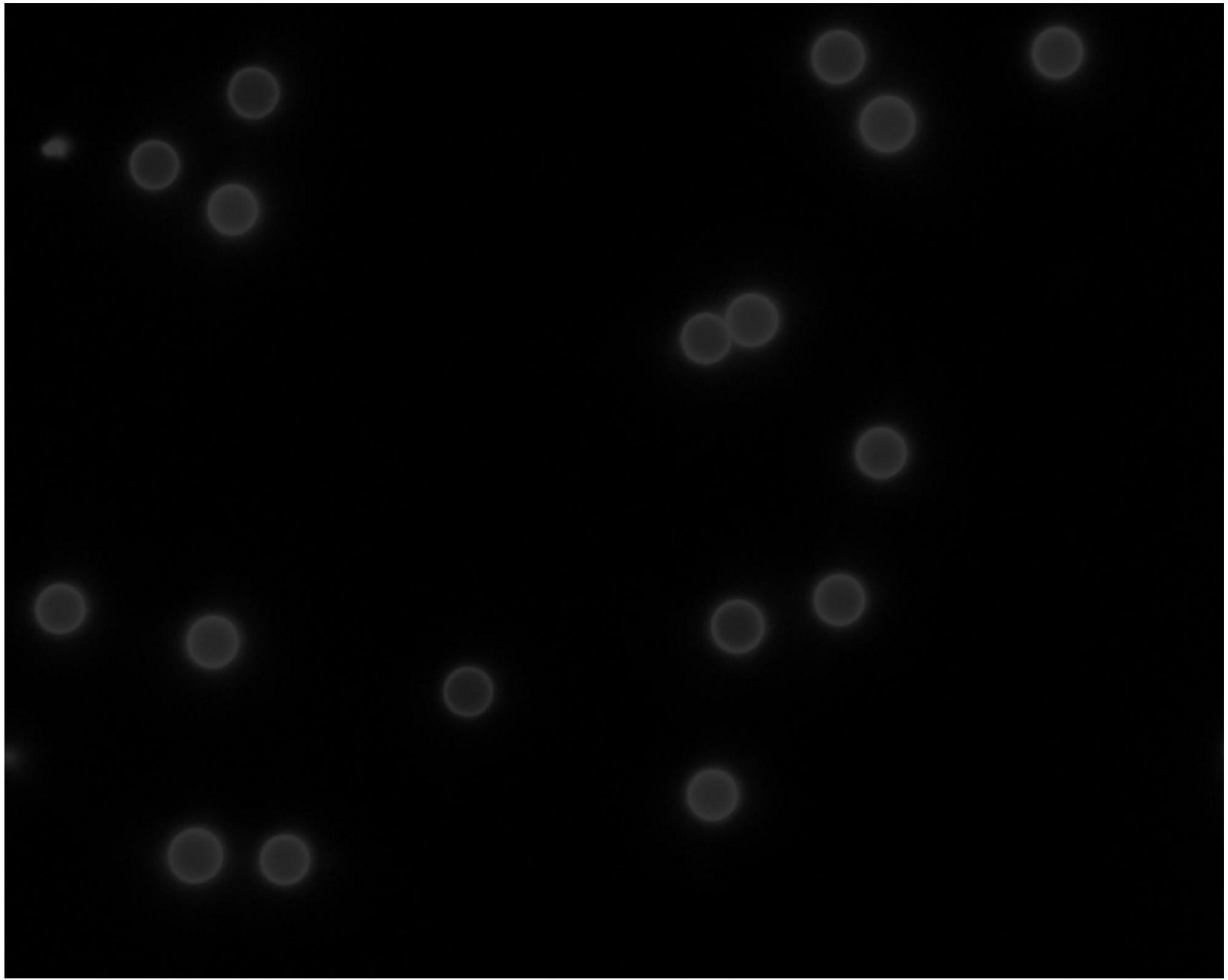
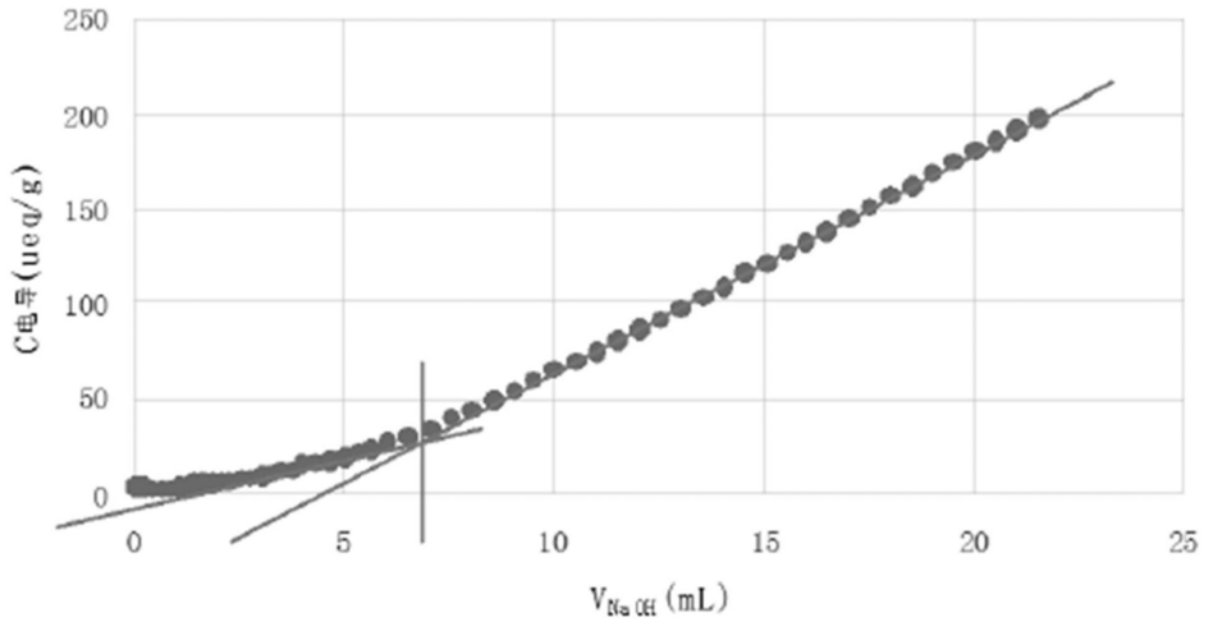


图2



$$COOH = C_{NaOH} \times V_{NaOH} \times 1000 / (m_{样品} \times BC\%)$$

$$= 0.009865 \times 7.11 \times 1000 / (111.51 \times 0.77\%)$$

$$= 81.69 \mu eq/g$$

C_{NaOH} : 氢氧化钠的浓度, mol/L

V_{NaOH} : 氢氧化钠的体积, mL

$m_{样品}$: 样品微球的质量, g

BC%: 样品微球的固含

图3

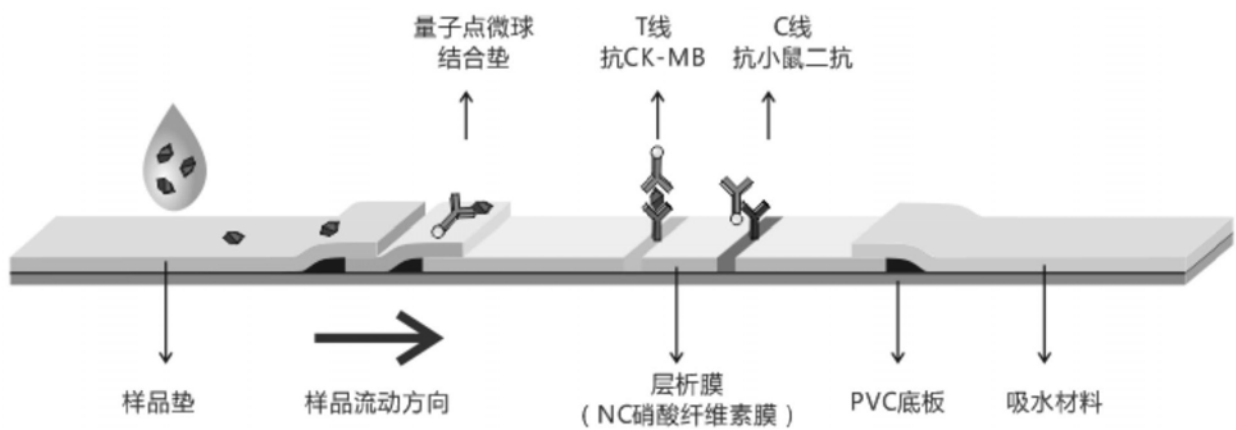


图4

专利名称(译)	单分散羧基修饰量子点复合微球、其制备方法及应用		
公开(公告)号	CN107722158B	公开(公告)日	2019-12-17
申请号	CN2017110936061.2	申请日	2017-10-10
[标]申请(专利权)人(译)	成都爱兴生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	成都爱兴生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	成都爱兴生物科技有限公司		
[标]发明人	程敏卓		
发明人	程敏卓		
IPC分类号	C08F212/08 C08F222/02 C08F220/06 C08F2/44 C08F2/26 G01N33/533		
CPC分类号	C08F2/26 C08F2/44 C08F212/08 G01N33/533 C08F222/02 C08F220/06		
代理人(译)	王金宝		
审查员(译)	任莹莹		
其他公开文献	CN107722158A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种单分散羧基修饰量子点复合微球、其制备方法及应用。所述制备方法，先使用先采用均质机处理的方法制备量子点细乳液，再制备单体乳液，最后采用杂化乳液聚合的方法制备得到单分散羧基修饰量子点复合纳米微球。使用所述制备方法，无需再对聚苯乙烯微球表面进一步功能修饰，可以直接制备纳米级的单分散羧基修饰聚苯乙烯量子点复合微球，进一步大幅简化操作，降低损耗。所述制备方法操作简便，适于产业化推广使用，并且最关键的是可以制备获得单分散的、粒径高度均匀的、羧基修饰的量子点复合微球，为量子点复合微球在化学发光免疫等领域的应用做好了基础准备工作。

