



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108359118 B

(45)授权公告日 2020.05.12

(21)申请号 201810051819.9

G23C 14/04(2006.01)

(22)申请日 2018.01.19

G23C 14/58(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

B82Y 40/00(2011.01)

申请公布号 CN 108359118 A

G01N 33/531(2006.01)

(43)申请公布日 2018.08.03

审查员 李玮

(73)专利权人 电子科技大学

地址 611731 四川省成都市高新区(西区)

西源大道2006号

(72)发明人 贾坤 王盼 魏是亮 刘孝波

(74)专利代理机构 电子科技大学专利中心

51203

代理人 吴姗霖

(51)Int.Cl.

G23C 14/20(2006.01)

G23C 14/24(2006.01)

权利要求书1页 说明书8页 附图3页

(54)发明名称

一种聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的制备方法及应用

(57)摘要

一种聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的制备方法,属于贵金属纳米复合材料技术领域。包括以下步骤:1)以聚芳醚腈薄膜作为基底,采用物理气相沉积法在其上依次制备纳米级厚度的金(Au)膜和银(Ag)膜;2)将上步得到的含有Au膜和Ag膜的聚芳醚腈薄膜置于管式炉内,在惰性气氛下,以10~50℃/min的升温速率由室温升至250℃~310℃,然后自然冷却至室温。本发明在高于聚芳醚腈的玻璃化转变温度的条件下进行热处理,使得Au/Ag膜在断裂、迁移、连接的过程中,被固定于软化的聚芳醚腈薄膜表面,得到的纳米颗粒复合薄膜具有很高的稳定性,固定抗体后可用于对前列腺特异抗原(PSA)的免疫检测。

1. 一种聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

步骤1、采用物理气相沉积法在聚芳醚腈薄膜上依次制备纳米级厚度的Au膜和Ag膜;

以聚芳醚腈薄膜作为柔性基底,在其上覆盖透射电镜铜网作为掩膜版,采用真空物理气相沉积法,在压强小于 1×10^{-6} 托、沉积速度为 0.01 nm s^{-1} 的条件下,依次在聚芳醚腈薄膜上沉积2~6nm厚的Au膜和1~3nm厚的Ag膜,即可在聚芳醚腈薄膜上得到阵列排布的Au/Ag复合薄膜;

步骤2、将步骤1得到的含有Au膜和Ag膜的聚芳醚腈薄膜置于管式炉内,在惰性气体气氛下,以 $10 \sim 50^\circ\text{C}/\text{min}$ 的升温速率由室温升至 $250^\circ\text{C} \sim 310^\circ\text{C}$,然后自然冷却至室温,即可得到所述聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜。

2. 根据权利要求1所述的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的制备方法,其特征在于,步骤1所述采用物理气相沉积法制备Au膜和Ag膜时,采用透射电镜铜网作为掩膜版,得到的Au膜和Ag膜为阵列结构。

3. 根据权利要求1所述的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的制备方法,其特征在于,步骤2所述惰性气体为氮气或氩气。

4. 权利要求1至3任一项所述方法得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜在前列腺特异抗原的特异性检测中的应用。

5. 权利要求1至3任一项所述方法得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜对前列腺特异抗原的检测过程具体为:

步骤1、将权利要求1至4任一项所述方法得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜在乙醇中浸泡30min以上,去除薄膜表面的浮尘及多余的不稳定纳米粒子,然后干燥;

步骤2、将步骤1处理后得到的复合薄膜在室温下、11-巯基十一烷酸试剂的乙醇溶液中浸泡10~16h,取出后采用乙醇清洗,干燥;将上述干燥后的复合薄膜在室温下、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐/N-羟基琥珀酰亚胺试剂中浸泡40~80min,取出后采用去离子水清洗,干燥;

步骤3、将步骤2处理后得到的复合薄膜在 4°C 温度下、PSA抗体溶液中浸泡4~8h后取出,先后采用磷酸盐缓冲液、去离子水清洗,干燥;

步骤4、配制浓度为 100 ng mL^{-1} 的PSA溶液,与固定了Anti-PSA的PEN-Au/Ag NPs进行反应,检测反应前后PEN-Au/Ag NPs复合薄膜LSPR光谱的变化,包括共振峰强度、共振频率的变化。

一种聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的制备方法及应用

技术领域

[0001] 本发明属于贵金属纳米复合材料技术领域,具体涉及一种聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的制备方法及其在前列腺特异抗原 (prostate specific antigen,PSA) 的特异性免疫检测中的应用。

背景技术

[0002] 贵金属纳米材料具有良好的光学、催化及电学性能,已被广泛应用于医药、催化、电子等多个领域,尤其是其独特的光学性能,为设计光学生物传感器提供了多样化的信号转换与信号放大方法。例如当光线入射到贵金属纳米颗粒表面时,若入射光子频率与贵金属纳米颗粒自由电子的整体振动频率一致,即对入射光子能量进行吸收,产生局域表面等离子体共振 (Localized Surface Plasmon Resonance, LSPR) 现象。任何改变贵金属纳米颗粒形貌、粒子间距与表面介电环境的因素都会导致其LSPR光谱发生变化。在生物传感应用中,当保持贵金属纳米粒子的形貌不变时,在其表面固定生物特异性识别单元 (抗体、核酸等),与待测物质发生界面特异性反应,会增加贵金属纳米粒子的表面介电常数,进而导致其LSPR光谱发生红移,待测物质浓度与LSPR光谱红移程度成正比,从而完成对目标物质的无标记 (label-free) 快速光学检测。因此,以贵金属纳米材料LSPR效应为基础的光学生物传感器已成为即时检测 (Point-of-Care-Test, POCT) 领域的重要研究方向之一。

[0003] 不同种类的贵金属纳米颗粒具有不同的LSPR光谱,例如纳米金的共振吸收峰通常位于 $\sim 520\text{nm}$,而纳米银吸收峰则通常位于 $\sim 400\text{nm}$ 。目前,通过制备金银合金纳米材料,调节其中金银组分的比例获得不同的共振吸收光谱,即可应用于生物及化学传感器领域。专利申请号为201210492265.9的《一种金银合计纳米粒子的制备方法》、201310348676.5的《用于测定汞离子的LSPR传感膜及其制备方法》、201710219201.4的《一种基于酒石酸修饰的金银合金纳米粒子比色检测水质 Cr^{3+} 的方法》、201510250664.8的《一种谷胱甘肽-金银合金纳米材料及其制备方法与应用》及201510947225.2的《原位界面转化制备金银合金二位有序纳米薄膜及其方法》中公开了通过制备具有不同金银组分比的金银合金纳米粒子,调节其光学性能,并应用于生物/化学检测领域。

[0004] 在实际应用中,用于检测目标物质的贵金属纳米粒子需要被固定在特定基底之上。然而,通常采用的刚性基底 (如玻璃、硅片等) 上制备的贵金属纳米粒子存在界面稳定性差、容易脱落等问题,因此,需要添加界面稳定剂以增强纳米粒子与基底之间的结合力,导致工艺步骤繁琐,操作复杂。另外,采用真空物理沉积法在玻璃基底上蒸镀金银纳米薄膜、再退火热处理 (K. Jia, et al, ACS Appl. Mater. Interfaces, 2014, 6, 219), 也是制备金银纳米粒子的常用方法。该方法可以将金银合金纳米粒子镶嵌于玻璃基底表面进行固定;但是,该方法存在热处理温度过高 (高于 550°C)、热处理时间长等问题,增加了制造成本和能耗。因此,寻求一种快速、低成本、低能耗的方法将金属纳米粒子固定于基底上,并应用于生物/化学传感器领域是目前急需解决的问题。

发明内容

[0005] 本发明针对背景技术存在的缺陷,提出了一种聚芳醚腈-金银纳米颗粒(polyarylene ether nitrile-gold/silver nanoparticles, PEN-Au/Ag NPs)复合薄膜的制备方法及应用。本发明提供的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的制备方法中,以聚芳醚腈薄膜作为柔性基底,利用物理气相沉积法在其上蒸镀纳米厚度的金银金属层后,再在高于聚芳醚腈的玻璃化转变温度条件下进行快速退火热处理,最终得到PEN-Au/Ag NPs复合薄膜;本发明得到的纳米复合薄膜具有粒径分布均匀、稳定性强、易于生物功能化等特点,可应用于生物免疫检测、化学传感等高新技术领域中。

[0006] 本发明的技术方案如下:

[0007] 一种聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

[0008] 步骤1、以聚芳醚腈薄膜作为基底,采用物理气相沉积法在其上依次制备纳米级厚度的Au膜和Ag膜;

[0009] 步骤2、将步骤1得到的含有Au膜和Ag膜的聚芳醚腈薄膜置于管式炉内,在惰性气体气氛下,以10~50°C/min的升温速率由室温升至250°C~310°C,然后自然冷却至室温,即可得到所述聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜。

[0010] 进一步地,步骤1所述采用物理气相沉积法制备Au膜和Ag膜时,采用透射电镜铜网作为掩膜版,得到的Au膜和Ag膜为阵列结构。

[0011] 进一步地,步骤1所述采用物理气相沉积法制备Au膜和Ag膜的具体过程为:以聚芳醚腈薄膜作为柔性基底,在其上覆盖透射电镜铜网作为掩膜版,采用真空物理气相沉积法,在压强小于 1×10^{-6} 托、沉积速度为 0.01 nm s^{-1} 的条件下,依次在聚芳醚腈薄膜上沉积2~6nm厚的Au膜和1~3nm厚的Ag膜,即可在聚芳醚腈薄膜上得到阵列排布的Au/Ag复合薄膜。

[0012] 进一步地,步骤2所述惰性气体为氮气或氩气。

[0013] 本发明还提供了上述聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜在前列腺特异抗原(prostate specific antigen, PSA)的特异性检测中的应用。

[0014] 本发明方法得到的聚芳醚腈-金银纳米(PEN-Au/Ag NPs)复合薄膜对前列腺特异抗原(prostate specific antigen, PSA)的检测过程具体为:

[0015] 步骤1、将本发明得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜在乙醇中浸泡30min以上,去除薄膜表面的浮尘及多余的不稳定纳米粒子,然后干燥;

[0016] 步骤2、将步骤1处理后得到的复合薄膜在室温下、11-巯基十一烷酸(MUA)试剂的乙醇溶液中浸泡10~16h,取出后采用乙醇清洗,干燥;将上述干燥后的复合薄膜在室温下、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐/N-羟基琥珀酰亚胺(EDC/NHS)试剂中浸泡40~80min,取出后采用去离子水清洗,干燥;

[0017] 步骤3、将步骤2处理后得到的复合薄膜在4°C温度下、PSA抗体(Anti-PSA)溶液中浸泡4~8h后取出,先后采用磷酸盐缓冲液、去离子水清洗,干燥;

[0018] 步骤4、配制浓度为 100 ng mL^{-1} 的PSA溶液,与固定了Anti-PSA的PEN-Au/Ag NPs进行反应,检测反应前后PEN-Au/Ag NPs复合薄膜LSPR光谱的变化,包括共振峰强度、共振频率的变化。

[0019] 本发明的有益效果为:

[0020] 与现有技术相比,本发明以聚芳醚腈薄膜作为基底,采用物理气相沉积法在其上

制备Au/Ag膜,然后在高于基底的玻璃化转变温度下进行快速退火热处理,得到了纳米级、粒径分布均匀的金银纳米颗粒复合薄膜。本发明在高于聚芳醚腈的玻璃化转变温度的条件下进行热处理,使得Au/Ag膜在断裂、迁移、连接的过程中,被固定于软化的聚芳醚腈薄膜表面,得到的纳米颗粒复合薄膜具有很高的稳定性,固定抗体后可用于对前列腺特异抗原(prostate specific antigen,PSA)的免疫检测。同时,本发明在复合薄膜制备中引入银,与纯金组分的复合薄膜相比,纳米粒子的粒径分布更加均匀,LSPR吸收峰半峰宽更窄,品质因子更高。

附图说明

[0021] 图1为本发明方法得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的结构示意图;

[0022] 图2为本发明复合薄膜的基底聚芳醚腈的化学结构式;

[0023] 图3为本发明得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜在进行LSPR光谱定位测试时的光学显微镜照片;

[0024] 图4为实施例3、对比例1-3得到的退火前后的聚芳醚腈-金薄膜和聚芳醚腈-金银复合薄膜的LSPR光谱;其中,PEN-Au film为对比例1退火前的聚芳醚腈-金连续薄膜,PEN-Au NPs为对比例2退火后的聚芳醚腈-金纳米薄膜,PEN-Au/Ag film为对比例3退火前的聚芳醚腈-金银合金连续薄膜,PEN-Au/Ag NPs为实施例3退火后的聚芳醚腈-金银合金纳米复合薄膜;

[0025] 图5为实施例1-4得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的LSPR光谱对比图(A),以及实施例1-4得到的复合薄膜的扫描电子显微镜图片(B-E);其中,B对应实施例1,C对应实施例2,D对应实施例3,E对应实施例4;

[0026] 图6为实施例3得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的粒径分布图(A),以及实施例3得到的复合薄膜在乙醇中浸泡不同时间(15min,30min,1h,2h,4h,8h,12h)后LSPR吸收峰强度归一化后的变化曲线(B);

[0027] 图7为实施例3得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜对前列腺特异抗原(prostate specific antigen,PSA)进行特异性免疫检测的LSPR光谱(A),作为对比的非特异性抗原(牛血清白蛋白,albumin from bovine serum,BSA)检测时的LSPR光谱(B),实施例3得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的扫描电子显微镜图(C),以及对前列腺特异抗原(prostate specific antigen,PSA)进行特异性免疫检测后的纳米复合薄膜的扫描电子显微镜图(D)。

具体实施方式

[0028] 下面结合附图和实施例,详述本发明的技术方案。

[0029] 一种聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

[0030] 步骤1、可挠性聚芳醚腈透明薄膜的制备:准确称量1g聚芳醚腈放入三颈瓶中,然后向三颈瓶中添加11mLN,N-二甲基乙酰胺(N,N-dimethylacetamide,DMAC),在80℃下搅拌30min,得到聚芳醚腈溶液;然后,将得到的聚芳醚腈溶液缓慢倒于玻璃板上,放置于烘箱中,设置升温程序在80℃、100℃、120℃、140℃、160℃各个温度点下保持2h,完成后,自然冷却至室温,将薄膜从玻璃板上揭下,即可得到可挠性聚芳醚腈透明薄膜;

[0031] 步骤2、Au/Ag膜的制备:以步骤1得到的可挠性聚芳醚腈透明薄膜作为基底,采用

物理气相沉积法在其上依次制备Au膜和Ag膜；具体过程为：在步骤1得到的可挠性聚芳醚腈透明薄膜上覆盖透射电镜铜网作为掩膜版，放入装配有膜厚控制仪的蒸镀装置中，采用真空物理气相沉积法，在压强小于 1×10^{-6} 托、沉积速度为 0.01 nm s^{-1} 的条件下，依次在聚芳醚腈薄膜上沉积2~6nm厚的Au膜和1~3nm厚的Ag膜，即可在聚芳醚腈上得到阵列排列的Au/Ag复合薄膜，结构如图1所示；

[0032] 步骤3、退火热处理过程：将步骤2得到的含Au膜和Ag膜的聚芳醚腈薄膜置于管式炉内，在惰性气体气氛下，以 $10 \sim 50^\circ\text{C}/\text{min}$ 的升温速率由室温升至 $250^\circ\text{C} \sim 310^\circ\text{C}$ ，即刻自然冷却至室温，即可得到所述聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜。其中，退火温度均高于聚芳醚腈的玻璃化转变温度，目的是使Au/Ag膜发生断裂、迁移、连接进而形成稳定的纳米粒子的过程中，固定于软化的聚芳醚腈薄膜表面，得到高稳定性的纳米颗粒复合薄膜。

[0033] 为了保证薄膜具有较高的透明性，聚芳醚腈采用酚酞喹啉双酚单体与2,6-二氯苯晴，通过亲核取代缩聚反应得到。聚芳醚腈的化学结构式如图2所示。

[0034] 如图3所示，对本发明得到的PEN-Au/Ag NPs复合薄膜进行定位检测其LSPR光谱时，定位方法是基于透射电镜铜网为掩膜版得到的正方形阵列结构，一个阵列单元尺寸为 $110 \mu\text{m} \times 110 \mu\text{m}$ ，利用装配有卤素定位光圈、光谱仪与测试软件的光学显微镜，在目镜10倍、物镜10倍的条件下对其进行定位检测LSPR光谱。基于本发明阵列结构复合薄膜进行定位测试时，可以有效保证测试区域的统一性，避免因测试区域不同可能造成的光谱波动。

[0035] 实施例1

[0036] 一种聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的制备方法，包括以下步骤：

[0037] 步骤1、可挠性聚芳醚腈透明薄膜的制备：准确称量1g聚芳醚腈（化学结构式如图2所示）放入三颈瓶中，然后向三颈瓶中添加11mL N,N-二甲基乙酰胺（N,N-dimethylacetamide, DMAc），在 80°C 下搅拌30min，得到聚芳醚腈溶液；然后，将得到的聚芳醚腈溶液缓慢倒于干净的玻璃板上，放置于烘箱中，设置升温程序在 80°C 、 100°C 、 120°C 、 140°C 、 160°C 各温度点下保持2h，完成后，自然冷却至室温，将薄膜从玻璃板上揭下，即可得到可挠性聚芳醚腈透明薄膜；

[0038] 步骤2、Au/Ag膜的制备：将步骤1得到的可挠性聚芳醚腈透明薄膜剪裁为 $1.4 \text{ cm} \times 1.4 \text{ cm}$ 大小，然后在其上覆盖透射电镜铜网作为掩膜版，放入装配有膜厚控制仪的蒸镀装置中，采用真空物理气相沉积法，在压强小于 1×10^{-6} 托、沉积速度为 0.01 nm s^{-1} 的条件下，先在聚芳醚腈薄膜上蒸镀一层厚度为2nm的Au膜，再在Au膜上蒸镀一层厚度为1nm的Ag膜，即可在聚芳醚腈上得到阵列排列的Au/Ag复合薄膜，结构如图1所示；

[0039] 步骤3、退火热处理过程：将步骤2得到的含Au膜和Ag膜的聚芳醚腈薄膜置于管式炉内，在氮气气氛下，以 $30^\circ\text{C}/\text{min}$ 的升温速率由室温升至 250°C ，即刻自然冷却至室温，即可得到所述聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜。

[0040] 实施例2

[0041] 本实施例与实施例1相比，区别在于：步骤3中以 $30^\circ\text{C}/\text{min}$ 的升温速率由室温升至 270°C ，其余步骤与实施例1相同。

[0042] 实施例3

[0043] 本实施例与实施例1相比，区别在于：步骤3中以 $30^\circ\text{C}/\text{min}$ 的升温速率由室温升至 290°C ，其余步骤与实施例1相同。

[0044] 实施例4

[0045] 本实施例与实施例1相比,区别在于:步骤3中以30℃/min的升温速率由室温升至310℃,其余步骤与实施例1相同。

[0046] 对比例1

[0047] 一种聚芳醚腈-金连续薄膜(PEN-Au film)的制备方法,包括以下步骤:

[0048] 步骤1、可挠性聚芳醚腈透明薄膜的制备:准确称量1g聚芳醚腈(化学结构式如图2所示)放入三颈瓶中,然后向三颈瓶中添加11mL N,N-二甲基乙酰胺(N,N-dimethylacetamide,DMAc),在80℃下搅拌30min,得到聚芳醚腈溶液;然后,将得到的聚芳醚腈溶液缓慢倒于干净的玻璃板上,放置于烘箱中,设置升温程序在80℃、100℃、120℃、140℃、160℃各温度点下保持2h,完成后,自然冷却至室温,将薄膜从玻璃板上揭下,即可得到可挠性聚芳醚腈透明薄膜;

[0049] 步骤2、Au膜的制备:将步骤1得到的可挠性聚芳醚腈透明薄膜剪裁为1.4cm*1.4cm大小,然后在其上覆盖透射电镜铜网作为掩模版,放入装配有膜厚控制仪的蒸镀装置中,采用真空物理气相沉积法,在压强小于 1×10^{-6} 托、沉积速度为 0.01 nm s^{-1} 的条件下,在聚芳醚腈薄膜上蒸镀一层厚度为2nm的Au膜,得到聚芳醚腈-金连续薄膜。

[0050] 对比例2

[0051] 一种聚芳醚腈-金纳米薄膜(PEN-Au NPs)的制备方法,包括以下步骤:

[0052] 步骤1、可挠性聚芳醚腈透明薄膜的制备:准确称量1g聚芳醚腈(化学结构式如图2所示)放入三颈瓶中,然后向三颈瓶中添加11mL N,N-二甲基乙酰胺(N,N-dimethylacetamide,DMAc),在80℃下搅拌30min,得到聚芳醚腈溶液;然后,将得到的聚芳醚腈溶液缓慢倒于干净的玻璃板上,放置于烘箱中,设置升温程序在80℃、100℃、120℃、140℃、160℃各温度点下保持2h,完成后,自然冷却至室温,将薄膜从玻璃板上揭下,即可得到可挠性聚芳醚腈透明薄膜;

[0053] 步骤2、Au膜的制备:将步骤1得到的可挠性聚芳醚腈透明薄膜剪裁为1.4cm*1.4cm大小,然后在其上覆盖透射电镜铜网作为掩模版,放入装配有膜厚控制仪的蒸镀装置中,采用真空物理气相沉积法,在压强小于 1×10^{-6} 托、沉积速度为 0.01 nm s^{-1} 的条件下,在聚芳醚腈薄膜上蒸镀一层厚度为2nm的Au膜;

[0054] 步骤3、退火热处理过程:将步骤2得到的带Au膜的聚芳醚腈薄膜置于管式炉内,在氮气气氛下,以30℃/min的升温速率由室温升至290℃,即刻自然冷却至室温,即可得到所述聚芳醚腈-金纳米薄膜(PEN-Au NPs)。

[0055] 对比例3

[0056] 一种聚芳醚腈-金银合金连续薄膜(PEN-Au/Ag film)的制备方法,包括以下步骤:

[0057] 步骤1、可挠性聚芳醚腈透明薄膜的制备:准确称量1g聚芳醚腈(化学结构式如图2所示)放入三颈瓶中,然后向三颈瓶中添加11mL N,N-二甲基乙酰胺(N,N-dimethylacetamide,DMAc),在80℃下搅拌30min,得到聚芳醚腈溶液;然后,将得到的聚芳醚腈溶液缓慢倒于干净的玻璃板上,放置于烘箱中,设置升温程序在80℃、100℃、120℃、140℃、160℃各温度点下保持2h,完成后,自然冷却至室温,将薄膜从玻璃板上揭下,即可得到可挠性聚芳醚腈透明薄膜;

[0058] 步骤2、Au/Ag膜的制备:将步骤1得到的可挠性聚芳醚腈透明薄膜剪裁为1.4cm*

1.4cm大小,然后在其上覆盖透射电镜铜网作为掩膜版,放入装配有膜厚控制仪的蒸镀装置中,采用真空物理气相沉积法,在压强小于 1×10^{-6} 托、沉积速度为 0.01 nm s^{-1} 的条件下,先在聚芳醚腈薄膜上蒸镀一层厚度为2nm的Au膜,再在Au膜上蒸镀一层厚度为1nm的Ag膜,即可得到聚芳醚腈-金银合金连续薄膜(PEN-Au/Ag film)。

[0059] 对实施例3、对比例1-3得到的薄膜进行定位检测其LSPR光谱;定位方法是基于透射电镜铜网为掩膜版得到的正方形阵列结构,一个阵列单元尺寸为 $110 \mu\text{m} \times 110 \mu\text{m}$,利用装配有卤素定位光圈、光谱仪与测试软件的光学显微镜,在目镜10倍、物镜10倍的条件下对其进行定位检测LSPR光谱。基于阵列结构复合薄膜进行定位测试时,可以有效保证测试区域的统一性,避免因测试区域不同可能造成的光谱波动。测试状态实物图如图3所示,测试结果如图4所示。

[0060] 图4为实施例3、对比例1-3得到的薄膜的LSPR光谱;其中,PEN-Au film为对比例1退火前的聚芳醚腈-金连续薄膜,PEN-Au NPs为对比例2退火后的聚芳醚腈-金纳米薄膜,PEN-Au/Ag film为对比例3退火前的聚芳醚腈-金银合金连续薄膜,PEN-Au/Ag NPs为实施例3退火后的聚芳醚腈-金银合金纳米复合薄膜。由图4可知,退火前的PEN-Au film具有较宽不明显的共振吸收,这是由于2nm的金膜厚度较薄,表面不平整导致的;经过 290°C 退火处理后(对比例2),出现了位于613nm处的典型LSPR吸收峰,其半峰宽为220nm。而退火前的PEN-Au/Ag film无明显共振吸收峰出现,这是由于在2nm的金膜上蒸镀1nm的银膜,使金属薄膜表面更加平整;而经过 290°C 退火处理后(实施例3),出现了位于532nm处的LSPR吸收峰,其半峰宽为142nm。表明Au/Ag膜在热处理过程中发生断裂、迁移、连接进而形成稳定的纳米粒子,固定于软化的聚芳醚腈薄膜表面,且PEN-Au/Ag NPs的吸收峰波长短于PEN-Au NPs,PEN-Au/Ag NPs的半峰宽也小于PEN-Au NPs,表明PEN-Au/Ag NPs具有更加均匀的粒径分布。

[0061] 对实施例1-4得到的复合薄膜进行LSPR光谱的测试,结果如图5所示。图5为实施例1-4得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的LSPR光谱对比图(A),以及实施例1-4得到的复合薄膜的扫描电子显微镜图片(B-E);其中,B对应实施例1,C对应实施例2,D对应实施例3,E对应实施例4。由图5A可知,不同温度热处理得到的复合薄膜的LSPR吸收峰为:536nm(250°C),538nm(270°C),530nm(290°C),529nm(310°C),表明复合薄膜的吸收峰随着热处理温度的升高而出现蓝移的趋势,吸收强度随着热处理温度的升高而增加。其中, 310°C 热处理得到的复合薄膜在490nm以前的吸收明显增加,这是由于在该温度下,聚芳醚腈薄膜已出现部分分解导致薄膜发黄。由图5B-E可知,随着热处理温度的升高,金银纳米颗粒的尺寸呈现逐渐增大的趋势;而 310°C 热处理得到的复合薄膜中,纳米粒子粒径略小于 290°C 热处理得到的复合薄膜,这可能是由于在 310°C 下聚芳醚腈薄膜已出现少量分解,导致其分子链运动速度加快,金属纳米粒子迅速陷入聚芳醚腈薄膜表面,限制了其进一步断裂与迁移。

[0062] 对实施例3得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜表面的纳米粒子进行粒径分布计算与稳定性测试,结果如图6所示。图6为实施例3得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的粒径分布图(A),以及实施例3得到的复合薄膜在乙醇中浸泡不同时间(15min,30min,1h,2h,4h,8h,12h)后的LSPR吸收峰强度归一化后的变化曲线。由图6A可知,实施例3得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜中纳米粒子的平均粒径为 $\sim 35 \text{ nm}$,且分布均匀。由图6B可知,对实施例3得到的复合薄膜在乙醇中浸泡不同时间(15min,30min,1h,2h,4h,8h,12h)后的同一位

置进行定位测试其LSPR光谱,取光谱的共振峰强度进行归一化处理,随着乙醇浸泡时间的增加,其共振吸收峰强度变化极小;表明退火热处理温度采用高于聚芳醚腈的玻璃化转变温度,可使Au/Ag薄膜在断裂、迁移、连接的过程中镶嵌于软化的聚芳醚腈薄膜表面,增强了纳米薄膜的稳定性。

[0063] 本发明实施例3得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜对前列腺特异抗原(prostate specific antigen,PSA)进行特异性检测,具体过程为:

[0064] 步骤1、将本发明实施例3得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜在乙醇中浸泡30min并漂洗3遍,去除薄膜表面的浮尘及多余的不稳定纳米粒子,然后在真空烘箱中25℃下进行干燥;

[0065] 步骤2、PEN-Au/Ag NPs表面生物功能化:将步骤1处理后得到的复合薄膜在室温下、11-巯基十一烷酸(11-Mercaptoundecanoic Acid,MUA,1mmol L⁻¹)的乙醇溶液浸泡12h,利用MUA在纳米粒子表面自组装,进行羧基化单分子组装层修饰,然后取出后采用乙醇清洗3遍,去除表面多余的MUA,在真空烘箱中25℃下干燥;然后,将上述干燥后的复合薄膜在室温下、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(0.4mmol L⁻¹)/N-羟基琥珀酰亚胺(0.1mmol L⁻¹)试剂(N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-Ethylcarbodiimide Hydrochloride/N-Hydroxysuccinimide,EDC/NHS)中浸泡60min,进行表面羧基活化;最后,采用去离子水漂洗3遍,在真空烘箱中25℃下进行干燥;

[0066] 步骤3、PEN-Au/Ag NPs表面固定抗体蛋白质分子:将步骤2处理后得到的复合薄膜在4℃温度下、PSA抗体(Anti-PSA,100ng mL⁻¹)试剂中浸泡5h,取出后先采用磷酸盐缓冲液(Phosphate Buffered Saline,PBS,0.01mol L⁻¹)漂洗3遍、再采用去离子水漂洗3遍,最后在真空烘箱中25℃干燥;

[0067] 步骤4、PEN-Au/Ag NPs特异性识别抗原分子:配制浓度为100ng mL⁻¹的PSA溶液,与固定了Anti-PSA的PEN-Au/Ag NPs进行反应,检测反应前后PEN-Au/Ag NPs复合薄膜LSPR光谱的变化,包括共振峰强度,共振频率的变化。

[0068] 将本发明实施例3得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜对BSA的检测作为对比,具体为:配制浓度为100ng mL⁻¹的BSA溶液,与固定了Anti-PSA的PEN-Au/Ag NPs进行反应,检测反应前后PEN-Au/Ag NPs复合薄膜LSPR光谱的变化,包括共振峰强度,共振频率的变化。以此作为对照试验,验证本发明复合薄膜对PSA检测的特异性,得到的结果如图7所示。

[0069] 图7为实施例3得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜对前列腺特异抗原(prostate specific antigen,PSA)进行特异性免疫检测的LSPR光谱(A),作为对比的非特异性抗原(牛血清白蛋白,albumin from bovine serum,BSA)检测时的LSPR光谱(B),实施例3得到的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的扫描电子显微镜图(C),以及对前列腺特异抗原(prostate specific antigen,PSA)进行特异性免疫检测后的复合薄膜的扫描电子显微镜图(D)。由图7A-B可知,PEN-Au/Ag NPs在MUA及Anti-PSA处理后均出现共振频率红移与吸收强度增强的现象;与BSA反应后,复合薄膜LSPR光谱未出现明显变化;而与PSA反应后,复合薄膜出现了共振频率进一步红移与吸收强度增强的现象,且其共振光谱与未生物功能化之前,发生了10nm的红移及0.08个单位强度的吸收增加。结果表明采用Anti-PSA处理后的PEN-Au/Ag NPs具有对PSA的特异性检测。由图7C-D可知,与未生物功能化前晶粒分明的微观结构不同,进行免疫检测后的复合薄膜表面出现了被MUA、Anti-PSA及PSA分子覆盖的痕迹。

[0070] 本发明提供的聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的制备方法中,以聚芳醚腈作为柔性基底,在其上利用物理气相沉积法蒸镀金银金属层后,再在高于聚芳醚腈玻璃化转变温度的条件下进行快速退火热处理,制备得到金银纳米颗粒复合薄膜;本发明得到的金银纳米颗粒复合薄膜具有粒径分布均匀、稳定性强、易于生物功能化等特点,可应用于生物免疫检测、化学传感等高新技术领域中。本发明方法中热处理温度较低(250℃~310℃)、热处理时间短,大大降低了制备时间及能耗;同时,聚芳醚腈基底作为一种高分子材料,具有良好的透明度、柔韧性与可加工性,可进行灵活的剪裁与取用,便于进行前列腺特异抗原的免疫检测。

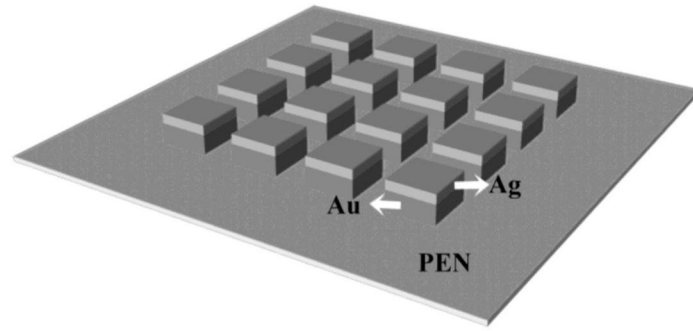


图1

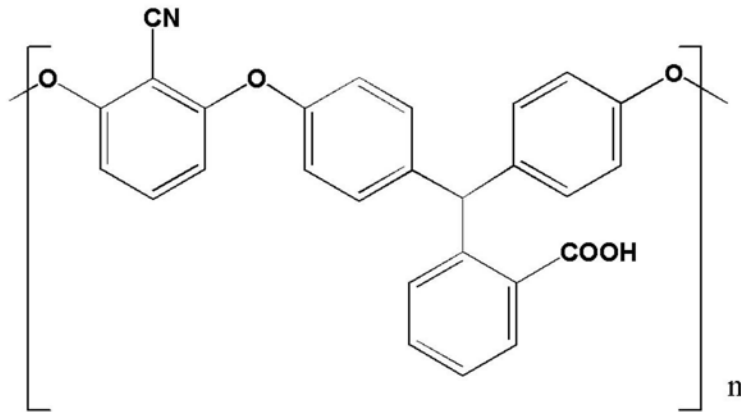


图2

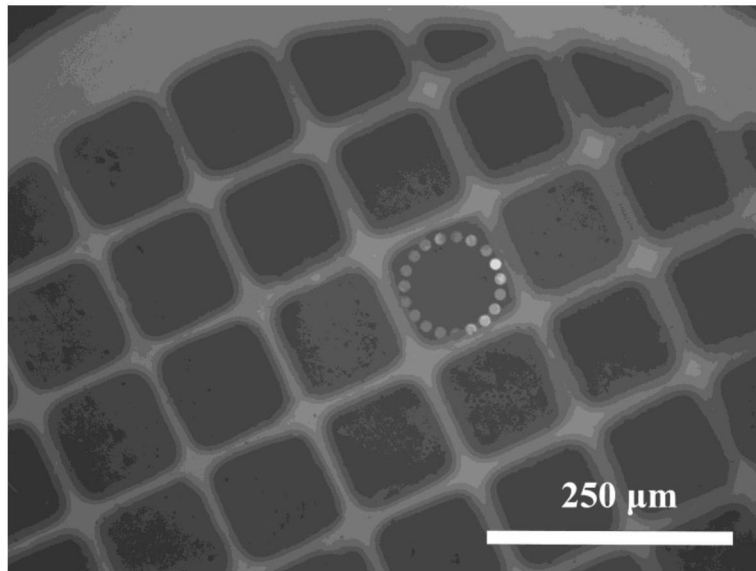


图3

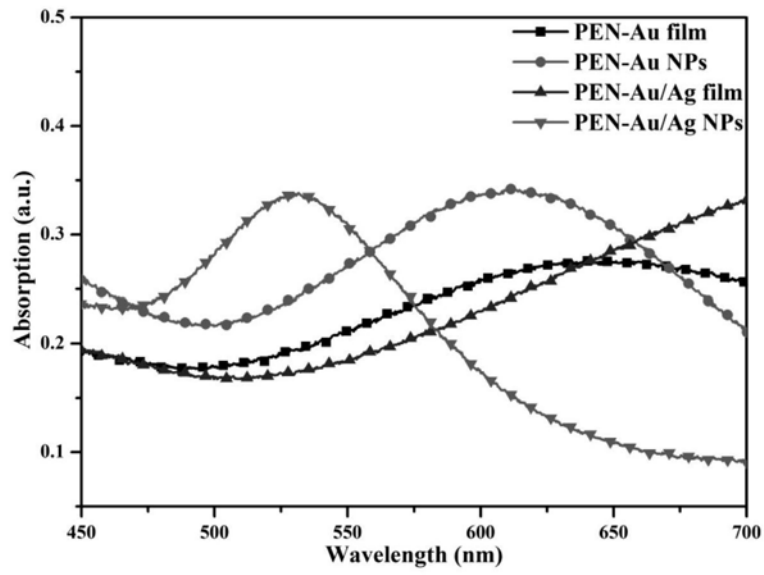


图4

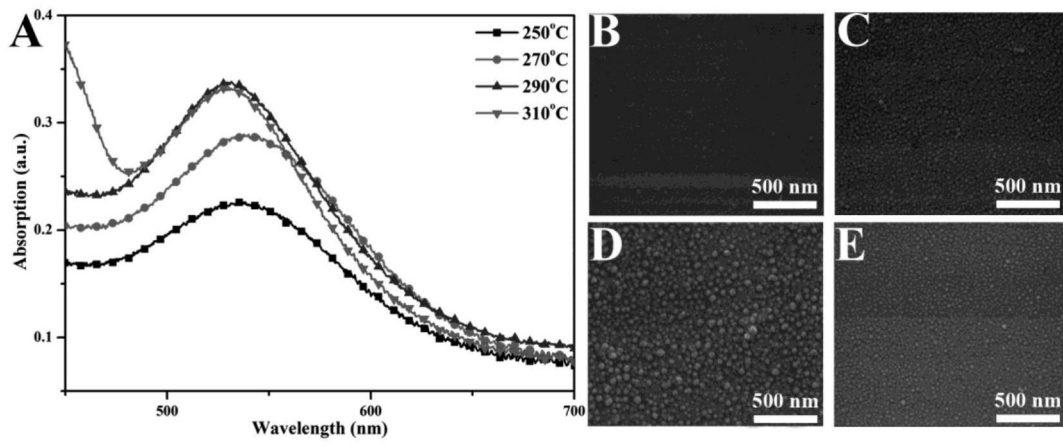


图5

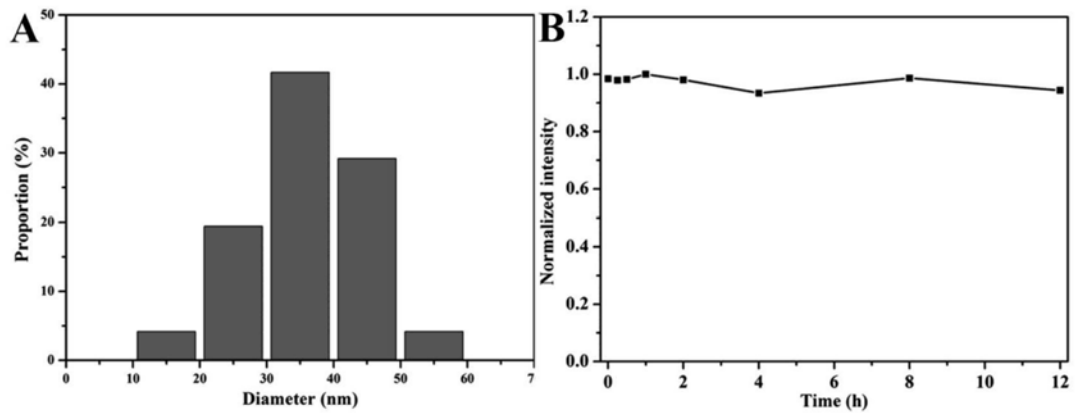


图6

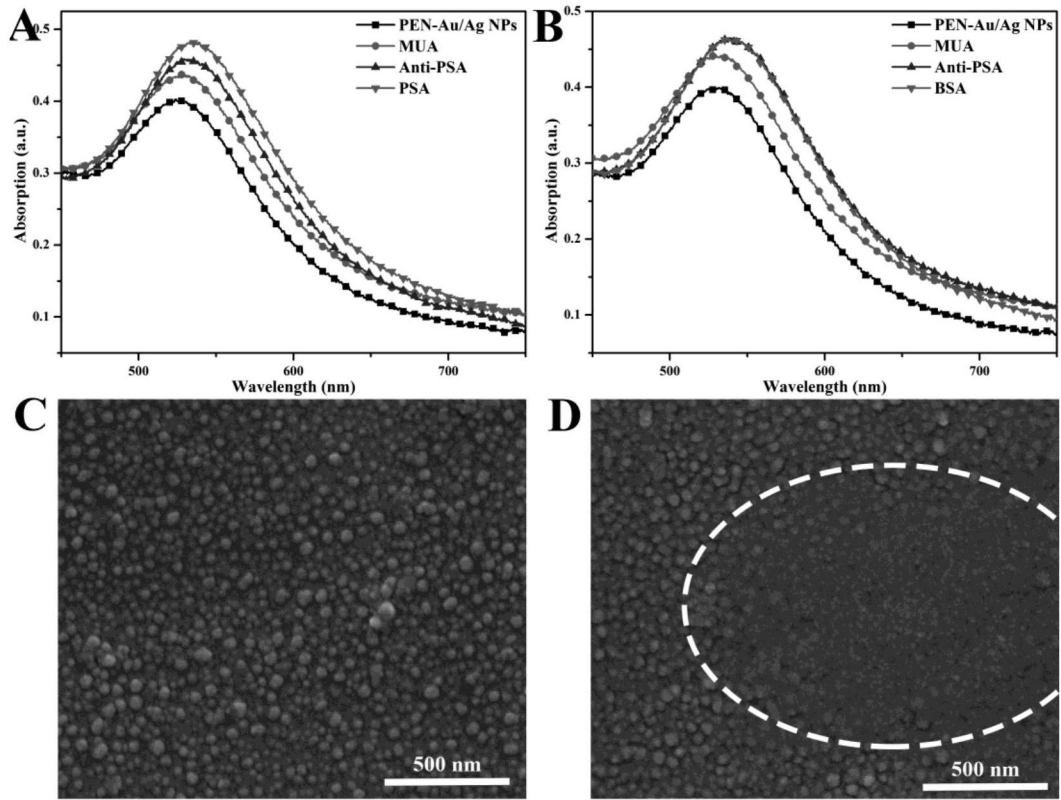


图7

专利名称(译)	一种聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的制备方法及应用		
公开(公告)号	CN108359118B	公开(公告)日	2020-05-12
申请号	CN201810051819.9	申请日	2018-01-19
[标]申请(专利权)人(译)	电子科技大学		
申请(专利权)人(译)	电子科技大学		
当前申请(专利权)人(译)	电子科技大学		
[标]发明人	贾坤 王盼 魏是亮 刘孝波		
发明人	贾坤 王盼 魏是亮 刘孝波		
IPC分类号	C23C14/20 C23C14/24 C23C14/04 C23C14/58 B82Y40/00 G01N33/531		
CPC分类号	B82Y40/00 C23C14/042 C23C14/20 C23C14/24 C23C14/5806 G01N33/531		
审查员(译)	李玮		
其他公开文献	CN108359118A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种聚芳醚腈-金银纳米复合薄膜的制备方法，属于贵金属纳米复合材料技术领域。包括以下步骤：1)以聚芳醚腈薄膜作为基底，采用物理气相沉积法在其上依次制备纳米级厚度的金(Au)膜和银(Ag)膜；2)将上步得到的含有Au膜和Ag膜的聚芳醚腈薄膜置于管式炉内，在惰性气体气氛下，以10~50°C/min的升温速率由室温升至250°C~310°C，然后自然冷却至室温。本发明在高于聚芳醚腈的玻璃化转变温度的条件下进行热处理，使得Au/Ag膜在断裂、迁移、连接的过程中，被固定于软化的聚芳醚腈薄膜表面，得到的纳米颗粒复合薄膜具有很高的稳定性，固定抗体后可用于对前列腺特异抗原(PSA)的免疫检测。

