



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105436516 B

(45)授权公告日 2018.06.08

(21)申请号 201510875494.2

G01N 33/53(2006.01)

(22)申请日 2015.12.03

审查员 周丽

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105436516 A

(43)申请公布日 2016.03.30

(73)专利权人 南昌大学

地址 330031 江西省南昌市红谷滩新区学府大道999号

(72)发明人 熊勇华 徐鹏 江湖 赖卫华
李娟

(74)专利代理机构 南昌新天下专利商标代理有限公司 36115

代理人 施秀瑾

(51)Int.Cl.

B22F 9/24(2006.01)

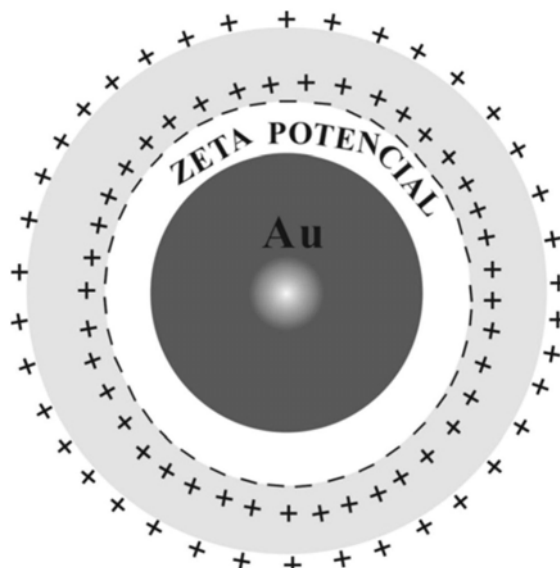
权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54)发明名称

可控粒径高吸光强度多枝状胶体金纳米粒子的制备方法

(57)摘要

本发明涉及纳米材料开发与应用领域,公开了一种通过胶体金种子介导生长合成不同粒径大小的高吸光强度的多枝状胶体金纳米粒子的方法。首先采用常规柠檬酸三钠还原法,将氯金酸分子中的Au³⁺还原成Au⁰,得到圆球状胶体金种子。然后将胶体金种子加入至一种生长液中,该生长液的主要成分包括超纯水、氯金酸和柠檬酸三钠等溶液,磁力搅拌器上缓慢搅拌,溶液混匀后加热至50℃,此时加快转速,同时一次性加入足量的对苯二酚溶液,混合溶液温度维持50℃,继续反应10min后停止加热,冷却至室温即得到高吸光强度的多枝状胶体金溶液。本发明方法具有易操作,流程简单、反应迅速、可控性好、重复性高等特点。



1. 可控粒径高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒的制备方法, 其特征在于包括如下步骤:

(1) 圆球状胶体金种子溶液的合成: 采用经典的柠檬酸三钠还原法, 准确移取1mL 1% H_{AuCl}4溶液至盛有99mL超纯水的锥形瓶中, 磁力搅拌器上缓慢搅拌加热至沸腾, 此时加快转速并且迅速一次性加入2.7mL 1% Na_{3C}6H_{5O}7溶液, 继续沸腾15min, 待溶液颜色变为酒红色并且不再发生变化, 停止加热, 匀速搅拌冷却至室温, 即得到粒径为 18 ± 2 nm的圆球状胶体金种子溶液;

(2) 粒径大小为 33 ± 3 nm高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒的制备: 准确移取上述圆球状胶体金种子溶液9mL至生长液中, 该生长液由超纯水100mL、1% H_{AuCl}4溶液1.2mL、1% Na_{3C}6H_{5O}7溶液2.64mL组成; 磁力搅拌器上缓慢搅拌, 混匀后加热至50°C, 此时加快转速, 同时迅速一次性加入30mmol/L对苯二酚溶液24mL, 溶液温度维持50°C, 继续反应10min, 停止加热, 冷却至室温即得到粒径大小为 33 ± 3 nm高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒溶液, 4°C保存备用。

2. 权利要求1所述合成方法获得的可控粒径高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒在制备胶体金免疫层析试纸条中的应用。

可控粒径高吸光强度多枝状胶体金纳米粒子的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及纳米材料开发与应用领域中贵金属纳米粒子的开发,具体是涉及一种通过胶体金种子介导生长合成不同粒径大小,高吸光强度的多枝状胶体金纳米粒子的方法。

背景技术

[0002] 胶体金(colloid gold)也称纳米金(nanogold),是指分散相粒子直径在1-150nm之间的金溶胶,属多相不均匀体系。胶体金颗粒由一个基础金核(Au原子)和包围在外的双离子层构成,如图1所示,紧连在金核表面的是内层负离子,外层离子层则分散在胶体溶液中,以维持胶体金游离于溶胶间的悬液状态。胶体金溶液颜色取决于纳米金的颗粒大小、颗粒形状以及溶液中金颗粒单分散性等。在球状或椭球状金颗粒中,最小的胶体金(2~5nm)是橙黄色的,中等大小的胶体金(10~20nm)是酒红色的,较大颗粒的胶体金(30~80nm)则是紫红色的。一些颗粒形状不规则的胶体金粒子则呈现出紫色、蓝色以及蓝紫色等。胶体金具备一系列独特的光电学特性,如(1)静电相互排斥所带来极强的化学和机械稳定性;(2)显著的光电学物理特性;(3)易于表面功能化;(4)表面等离子共振效应;(5)特殊的催化活性;(6)无毒性、生物兼容性;(7)抗氧化、可结晶;(8)易合成且形态可控;(9)良好的粒子分散性等。其中,强稳定性及显著的光电学特性是胶体金最重要的性质。另外,胶体金的性质在很大程度上易受到外界条件的影响,比如颗粒大小、形状、溶液pH值以及表面形态等发生变化时均会导致其性质的改变。近年以来,胶体金的特性得到广大科研工作者们深入的研究,同时也尝试着开拓新的方法来提高纳米金的特性。

[0003] 胶体金在免疫化学中的应用又被称为免疫金(immunogold)。胶体金标记(Immunogold labeling)实质上是抗体蛋白质等高分子被吸附到胶体金颗粒表面的包被过程,吸附机理可能是:(1)金颗粒表面带负电荷,蛋白质表面带正电荷,两者靠静电引力相互吸引,达到范德华力范围内即形成牢固的结合;(2)蛋白通过某些氨基酸残基包括色氨酸与金粒子表面的疏水吸附作用;(3)蛋白中的半胱氨酸的巯基与金粒子之间通过配位键共价结合。免疫金标记技术(Immunogold labeling technique)主要利用了金颗粒具有高电子密度的特性,在金标蛋白结合处,显微镜下可见黑褐色颗粒,当这些标记物在相应的配体处大量聚集时,会出现肉眼明显可见红色或粉红色斑点,因而可用于定性或半定量的快速免疫检测,这一反应也可以通过银颗粒的沉积被放大,称之为免疫金银染色。目前电镜水平的免疫金染色(IGS),光镜水平的免疫金银染色(IGSS),以及肉眼水平的斑点免疫金染色技术日益成为科学研究和临床诊断的有力工具。此外,胶体金在流式细胞仪,免疫印迹技术,免疫层析快速诊断技术中也有很广泛的应用,可以预见,随着纳米技术的不断发展,胶体金必将越来越受到相关研究领域的重视。

[0004] 众所周知,胶体金独特的光电学特性不仅取决于其颗粒尺寸的大小,而且也与其颗粒形状以及溶液中金粒子浓度密切相关。伴随着金纳米粒子形状的变化,其自身的各种理化特性如表面等离子共振吸收峰(surface plasmon resonance absorption band,

SPR) 及摩尔消光系数 (extinction coefficient) 也相应发生很大的变化。研究表明,与常规球状纳米金 (颗粒直径约为20-40nm) 相比,多枝状纳米金具备一系列独特的优势,如多枝状纳米金的表面等离子共振吸收峰 (λ_{\max}) 会出现明显红移、同时具有更高的摩尔消光系数、更强的表面增强拉曼散射 (surface enhance Raman scattering, SERS) 活性以及更为显著的表面等离子共振效应,致使这种现象出现的主要原因是因为在多枝状纳米金颗粒表面的刺突上分布着更强的局域电磁场。季艳伟等科研人员利用种子生长法制备粒径为75nm的多枝状胶体金纳米颗粒,用其作为标记探针构建多枝状胶体金免疫层析试纸条实现对大米等农作物中黄曲霉毒素 (AFB1) 的定量检测。实验结果表明,与常规球状纳米金免疫层析试纸条相比,在检测灵敏度方面,多枝状胶体金免疫层析试纸取得超过10倍的提高。现有种子介导生长法制备了多枝状胶体金纳米颗粒。首先利用柠檬酸三钠还原法合成胶体金种子溶液,然后以胶体金种子为核,通过核表面各向异性生长即金原子选择性的在胶体金种子表面沉积,形成多枝状胶体金纳米颗粒。此法的不足之处在于其合成的多枝状胶体金溶液中金颗粒浓度较低,溶液自身的吸光强度很弱,导致的结果是在使用的过程中首先要对胶体金溶液进行浓缩处理以提高其吸光强度,溶液前处理过程不仅增大了工作量,而且大大的浪费了人力、物力和财力。

发明内容

[0005] 本发明提供了一种比现有方法更为简单、反应更为迅速、可控性更好、重复性更高的通过胶体金种子介导生长合成不同粒径大小,高吸光强度的多枝状胶体金纳米粒子的方法。

[0006] 具体来说本发明的技术方案包含下列步骤:

[0007] 可控粒径高吸光强度多枝状胶体金纳米粒子,其合成方法包括如下步骤:(1) 圆球状胶体金种子溶液的合成:采用经典的柠檬酸三钠还原法,准确移取1mL 1%HAuCl₄溶液至盛有99mL超纯水的锥形瓶中,磁力搅拌器上缓慢搅拌加热至沸腾,此时加快转速并且迅速一次性加入2.7mL 1%Na₃C₆H₅O₇溶液,继续沸腾15min,待溶液颜色变为酒红色并且不再发生变化,停止加热,匀速搅拌冷却至室温,即得到粒径为 18 ± 2 nm的圆球状胶体金种子溶液即圆球状胶体金种子溶液;

[0008] (2) 粒径大小为 33 ± 3 nm高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒的制备:准确移取上述圆球状胶体金种子溶液9mL至生长液中,该生长液由超纯水100mL、1%HAuCl₄溶液1.2mL、1%Na₃C₆H₅O₇溶液2.64mL组成;磁力搅拌器上缓慢搅拌,混匀后加热至50℃,此时加快转速,同时迅速一次性加入30mmol/L对苯二酚溶液24mL,溶液温度维持50℃,继续反应10min,停止加热,冷却至室温即得到粒径大小为 33 ± 3 nm高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒溶液,4℃保存备用。

[0009] 粒径大小为 68 ± 2 nm高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒的制备:首先用移液枪准确移取上述圆球状胶体金种子溶液6mL至生长液中,该生长液由超纯水100mL、1%HAuCl₄溶液1.2mL、1%Na₃C₆H₅O₇溶液2.64mL组成;磁力搅拌器上缓慢搅拌,混匀后加热至50℃,此时加快转速,同时迅速一次性加入30mmol/L对苯二酚溶液24mL,溶液温度维持50℃,继续反应10min,停止加热,冷却至室温即得到粒径大小为 68 ± 2 nm高吸光强度的多枝状胶体金溶液。

[0010] 粒径大小为 88 ± 4 nm高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒的制备:首先用移液枪准

确移取上述圆球状胶体金种子溶液6mL至生长液中,该生长液由超纯水100mL、1%HAuCl₄溶液1.2mL、1%Na₃C₆H₅O₇溶液2.64mL组成;磁力搅拌器上缓慢搅拌,混匀后加热至50℃,此时加快转速,同时迅速一次性加入30mmol/L对苯二酚溶液24mL,溶液温度维持50℃,继续反应10min,停止加热,冷却至室温即得到粒径大小为88±4nm,高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒溶液。

[0011] 此处所指室温一般指0-35℃。

[0012] 本发明还涉及上述高吸光强度的多枝状胶体金纳米粒子在免疫层析试纸条分析检测中的应用,将上述多枝状胶体金纳米粒子与抗体通过静电吸附、疏水作用或范德华力进行偶联制备金标抗体纳米探针,然后通过免疫学中抗原与抗体的特异性反应实现对待检物质的检测。

[0013] 发明人分别用柠檬酸三钠还原法和种子介导生长法合成了球状胶体金,短刺突多枝状胶体金和长刺突多枝状胶体金纳米粒子,其粒子粒径均为30-40nm,将其用作标记探针分别构建了球状纳米金免疫层析试纸条、短刺突多枝状胶体金免疫层析试纸条和长刺突多枝状胶体金免疫层析试纸条,选择赭曲霉毒素(OTA)为目标分子,利用竞争免疫学模式实现对OTA的快速定量检测。实验结果同样表明,较球状纳米金免疫层析试纸条而言,无论是在检测灵敏度方面,还是在单张试纸条所需抗体等材料消耗方面,多枝状胶体金免疫层析试纸条都展现出十分显著的优越性。一方面,多枝状胶体金免疫层析试纸条提高了超过4倍的灵敏度;另一方面,多枝状胶体金免疫层析试纸条的单张试纸条抗体消耗量仅为球状胶体金免疫层析试纸条的20%左右,极大的节省了材料。实验结果还显示,在免疫层析试纸条上,多枝状胶体金与抗体偶联形成的金标抗体纳米探针与抗原具有更强的亲和力,同时还具备更快的毛细管涌动速率,极大的减少了检测时间。以上结果均可说明正是基于多枝状胶体金纳米粒子更为独特的光学特性,将其用作标记探针替代传统的球状胶体金,不仅有利于提高免疫层析试纸条的灵敏度,而且从成本的角度考虑,能够极大的减少成本,这对于大批量的工业化生产而言,其意义无疑是非常重大的。

[0014] 与此同时,溶液中胶体金粒子浓度对其光学特性具有一定的决定性作用,高吸光强度的胶体金溶液拥有更为显著的吸光强度(optical density),发明人利用种子介导生长法,通过调整生长液中胶体金种子的比重合成两种多枝状胶体金溶液,通过紫外分光光度计测试,其吸光强度分别为0.2和1.0,将其作为标记探针应用于免疫层析试纸条,实验结果表明,无论是在灵敏度方面还是单张试纸条材料消耗方面,高吸光强度的胶体金免疫层析试纸条具有更好的检测性能。

[0015] 现有种子介导生长法制备了多枝状胶体金纳米颗粒。首先利用柠檬酸三钠还原法合成胶体金种子溶液,然后以胶体金种子为核,通过核表面各向异性生长即金原子选择性的在胶体金种子表面沉积,形成多枝状胶体金纳米颗粒。此法的不足之处在于其合成的多枝状胶体金溶液中金颗粒浓度较低,溶液自身的吸光强度很弱,导致的结果是在使用的过程中首先要对胶体金溶液进行浓缩处理以提高其吸光强度,溶液前处理过程不仅增大了工作量,而且大大的浪费了人力、物力和财力。

[0016] 本发明通过胶体金种子介导生长合成的高吸光强度的多枝状胶体金纳米粒子有效弥补了常规胶体金吸光值偏弱的缺点,这无论是对于科学研究还是工业化生产而言,都是非常有意义的。

[0017] 本发明技术方案具有如下优点：

[0018] 1、本发明方案合成的高吸光强度的多枝状胶体金溶液吸光强度高，可直接投入使用，不需要经过浓缩等前处理步骤。本发明方法易操作，流程简单。借助可加热型磁力搅拌器，通过胶体金种子介导生长可直接合成不同粒径大小，高吸光强度的多枝状胶体金纳米粒子。

[0019] 2、本发明方法反应时间短，速度快。耗时10min即可获得高吸光强度的多枝状胶体金溶液，极大的提高了反应速率，缩短反应时间。

[0020] 3、本发明方法可控性好，能实现对多枝状纳米金颗粒尺寸大小的可控合成。通过调整胶体金种子溶液的比重，可获得不同粒径大小的(30-100nm)，高吸光强度的多枝状胶体金溶液。所制备的高吸光强度的多枝状胶体金溶液粒子单分散性良好，纳米粒子在溶液中均匀分布、无絮集、尺寸均一。

[0021] 4、本发明方法重复性高。此法合成高吸光强度的多枝状胶体金溶液重复性高，各批次之间胶体金纳米颗粒粒径大小变异系数小于10%。

附图说明

[0022] 图1本发明胶体金种子颗粒结构图；

[0023] 图2本发明胶体金种子和不同粒径的多枝状胶体金颗粒紫外表征图谱；

[0024] 图3本发明胶体金种子和不同粒径的多枝状胶体金颗粒透射电镜图；

具体实施方式

[0025] 为了使本发明更加清楚明白，以下结合实施例，对本发明进行进一步详细说明。应当理解，此处所描述的具体实施例仅用以解释本发明，并不用于限定本发明。

[0026] 溶液配制：1、1%HAuCl₄溶液：将1.0g氯金酸粉末溶于超纯水中，待完全溶解后加超纯水定容至100mL，配成终浓度为1% (w/v) 的水溶液。将已配制好的氯金酸溶液储存于棕色试剂瓶中，4℃保存备用。2、1%Na₃C₆H₅O₇溶液：准确称取1.0g二水合柠檬酸三钠固体粉末，溶于超纯水中，待完全溶解后加超纯水定容至100mL，配成终浓度为1% (w/v) 的水溶液，经0.22μm滤膜过滤，4℃保存备用。3、30mmol/L对苯二酚溶液：准确称取330mg对苯二酚固体粉末，溶于超纯水中，待完全溶解后加超纯水定容至100mL，配成终浓度为30mmol/L的水溶液，经0.22μm滤膜过滤，4℃保存备用。

[0027] 实施例1粒径大小为33±3nm，高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒的制备

[0028] 以粒径为18±2nm的圆球状胶体金纳米粒子为种子：

[0029] (1) 圆球状胶体金种子溶液(圆球状胶体金纳米粒子)的合成：采用经典的柠檬酸三钠还原法，准确移取1mL 1%HAuCl₄溶液至盛有99mL超纯水的锥形瓶中，磁力搅拌器上缓慢搅拌加热至沸腾，此时加快转速并且迅速一次性加入2.7mL 1%Na₃C₆H₅O₇溶液，继续沸腾15min，待溶液颜色变为酒红色并且不再发生变化，停止加热，匀速搅拌冷却至室温，即得到粒径为18±2nm的圆球状胶体金种子溶液(图3A)。如图2，经测定其最大表面等离子共振吸收波长为520nm，最大吸光强度(OD)为0.9，4℃保存备用。

[0030] (2) 高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒的制备：首先用移液枪准确移取上述圆球状胶体金种子溶液9mL至生长液中，该生长液由超纯水100mL、1%HAuCl₄溶液1.2mL、1%

$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ 溶液2.64mL组成;磁力搅拌器上缓慢搅拌,混匀后加热至 50°C ,此时加快转速,同时迅速一次性加入30mmol/L对苯二酚溶液24mL,溶液温度维持 50°C ,继续反应10min,停止加热,冷却至室温即得到粒径大小为 $33\pm 3\text{nm}$ 高吸光强度的多枝状胶体金溶液(图3B), 4°C 保存备用。

[0031] (3) 常规多枝状胶体金纳米颗粒(低吸光强度的多枝状胶体金)的制备:首先用移液枪准确移取上述圆球状胶体金种子溶液2mL至生长液中,该生长液由超纯水100mL、1% HAuCl_4 溶液375 μL 、1% $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ 溶液220 μL 组成;快速搅拌,迅速一次性加入30mmol/L对苯二酚溶液1mL,继续反应30min,得到粒径大小为 $33\pm 3\text{nm}$,低吸光强度的多枝状胶体金溶液, 4°C 保存备用。

[0032] 通过紫外分光光度计,对上述已制备好的高吸光强度与常规多枝状胶体金溶液进行表征,用移液枪分别移取500 μL 高吸光强度与低吸光强度多枝状胶体金溶液至两支比色皿中,借助紫外分光光度计仪器,波长450–750nm条件下扫描,相同条件下,高吸光强度多枝状胶体金溶液的吸光强度为0.9,而低吸光强度多枝状胶体金溶液的吸光强度仅为0.2。

[0033] 实施例2基于高吸光强度与低吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒免疫层析试纸条的构建

[0034] 以赭曲霉毒素(OTA)作为分析物,采用竞争抑制模式。试纸条由样本垫,结合垫,硝酸纤维素膜,吸水纸以及聚氯乙烯底板组成,硝酸纤维素膜上包被赭曲霉毒素抗原和驴抗鼠二抗分别作为检测线(T)和质控线(C):

[0035] (1) 粒径为 $33\pm 3\text{nm}$,高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒免疫层析试纸条的构建:以粒径为 $33\pm 3\text{nm}$,高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒(取实施例1所得高吸光强度的多枝状胶体金溶液,不做浓缩处理)作为标记材料,通过静电吸附等作用力与抗赭曲霉毒素单克隆抗体偶联(抗体标记浓度为 $4.5\mu\text{g}/\text{mL}$ 胶体金溶液),获得胶体金与抗体纳米探针复合物,通过喷膜仪将复合物包被在结合垫上,组装试纸条。

[0036] (2) 粒径为 $33\pm 3\text{nm}$,低吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒免疫层析试纸条的构建:以上述已制备好的粒径为 $33\pm 3\text{nm}$,低吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒(取实施例1所得低吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒,不做浓缩处理)作为标记材料,通过静电吸附等作用力与抗赭曲霉毒素单克隆抗体偶联(抗体标记浓度为 $4.5\mu\text{g}/\text{mL}$ 胶体金溶液),获得胶体金与抗体纳米探针复合物,通过喷膜仪将复合物包被在结合垫上,组装试纸条。

[0037] (3) 高吸光强度与低吸光强度多枝状胶体金免疫层析试纸条检测性能的比较:在保证抗赭曲霉毒素单克隆抗体标记浓度,胶体金与抗体纳米探针复合物消耗量,硝酸纤维素膜上检测线抗原浓度以及驴抗鼠二抗浓度等条件均一致的情况下,借助相应的胶体金读取仪对两种试纸条进行判读,通过试纸条检测线和质控线的条带显色情况来比较高吸光强度与低吸光强度多枝状胶体金免疫层析试纸条的性能。

[0038] 使用胶体金读取仪(HG-8,上海互幅科学仪器有限公司)对试纸条进行判读,实验结果显示,即使在最优条件下,低吸光强度多枝状胶体金免疫层析试纸条检测线和质控线的条带读取值仅为 66 ± 3 和 60 ± 5 ,根本无法满足科研和工业化生产的要求,而高吸光强度多枝状胶体金免疫层析试纸条检测线和质控线均具有很深的显色强度,其条带读取值分别可达到 500 ± 15 和 450 ± 25 ,完全能够满足工业化生产的要求。高吸光强度多枝状胶体金免疫层析试纸条具有良好的灵敏度,其对样本中赭曲霉毒素A的最低检测限能达到 $0.07\text{ng}/$

mL,同时,高吸光强度多枝状胶体金免疫层析试纸条还具有良好准确性和精密度。多枝状胶体金免疫层析试纸条的单张试纸条抗体消耗量仅为球状胶体金免疫层析试纸条的20%左右,极大的节省了材料。

[0039] 在免疫层析试纸条上,多枝状胶体金与抗体偶联形成的金标抗体纳米探针与抗原具有更强的亲和力,同时还具备更快的毛细管涌动速率,极大的减少了检测时间。以上结果均可说明正是基于多枝状胶体金纳米粒子更为独特的光学特性,将其用作标记探针替代传统的球状胶体金,不仅有利于提高免疫层析试纸条的灵敏度,而且从成本的角度考虑,能够极大的减少成本,这对于大批量的工业化生产而言,其意义无疑是非常重大的。

[0040] 实施例3粒径大小为 $68 \pm 2\text{nm}$,高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒的制备

[0041] 以粒径为 $18 \pm 2\text{nm}$ 的圆球状胶体金纳米粒子为种子:

[0042] (1) 圆球状胶体金种子溶液(圆球状胶体金纳米粒子)的合成:采用经典的柠檬酸三钠还原法,准确移取1mL 1%HAuCl₄溶液至盛有99mL超纯水的锥形瓶中,磁力搅拌器上缓慢搅拌加热至沸腾,此时加快转速并且迅速一次性加入2.7mL 1%Na₃C₆H₅O₇溶液,继续沸腾15min,待溶液颜色变为酒红色并且不再发生变化,停止加热,匀速搅拌冷却至室温,即得到粒径为 $18 \pm 2\text{nm}$ 的圆球状胶体金种子溶液(图3A)。如图2,经测定其最大表面等离子共振吸收波长为520nm,最大吸光强度(OD)为0.9,4℃保存备用。

[0043] (2) 高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒的制备:首先用移液枪准确移取上述圆球状胶体金种子溶液6mL至生长液中,该生长液由超纯水100mL、1%HAuCl₄溶液1.2mL、1%Na₃C₆H₅O₇溶液2.64mL组成;磁力搅拌器上缓慢搅拌,混匀后加热至50℃,此时加快转速,同时迅速一次性加入30mmol/L对苯二酚溶液24mL,溶液温度维持50℃,继续反应10min,停止加热,冷却至室温即得到粒径大小为 $68 \pm 2\text{nm}$ 高吸光强度的多枝状胶体金溶液即高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒溶液(图3C),4℃保存备用。

[0044] (3) 表征:通过紫外分光光度计,对上述已制备好的高吸光强度多枝状胶体金溶液进行表征,用移液枪移取500μL高吸光强度多枝状胶体金溶液至比色皿中,借助紫外分光光度计仪器,波长450-750nm条件下扫描,如图2所示,高吸光强度多枝状胶体金溶液的吸光强度为0.9,最大表面等离子共振吸收波长为610nm。

[0045] 此法合成高吸光强度的多枝状胶体金溶液重复性高,各批次之间胶体金纳米颗粒粒径大小变异系数小于10%。与常规多枝状胶体金纳米颗粒相比在吸光度上同样具有明显优势。

[0046] 实施例5粒径大小为 $88 \pm 4\text{nm}$,高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒的制备

[0047] 以粒径为 $18 \pm 2\text{nm}$ 的圆球状胶体金纳米粒子为种子:

[0048] (1) 圆球状胶体金种子溶液(圆球状胶体金纳米粒子)的合成:采用经典的柠檬酸三钠还原法,准确移取1mL 1%HAuCl₄溶液至盛有99mL超纯水的锥形瓶中,磁力搅拌器上缓慢搅拌加热至沸腾,此时加快转速并且迅速一次性加入2.7mL 1%Na₃C₆H₅O₇溶液,继续沸腾15min,待溶液颜色变为酒红色并且不再发生变化,停止加热,匀速搅拌冷却至室温,即得到粒径为 $18 \pm 2\text{nm}$ 的圆球状胶体金种子溶液(图3A)。如图2,经测定其最大表面等离子共振吸收波长为520nm,最大吸光强度(OD)为0.9,4℃保存备用。

[0049] (2) 高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒的制备:首先用移液枪准确移取上述圆球状胶体金种子溶液6mL至生长液中,该生长液由超纯水100mL、1%HAuCl₄溶液1.2mL、1%

$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ 溶液2.64mL组成;磁力搅拌器上缓慢搅拌,混匀后加热至 50°C ,此时加快转速,同时迅速一次性加入30mmol/L对苯二酚溶液24mL,溶液温度维持 50°C ,继续反应10min,停止加热,冷却至室温即得到粒径大小为 $88\pm 4\text{nm}$,高吸光强度的多枝状胶体金溶液即高吸光强度多枝状胶体金纳米颗粒溶液(图3D), 4°C 保存备用。

[0050] (3) 表征:通过紫外分光光度计,对上述已制备好的高吸光强度多枝状胶体金溶液进行表征,用移液枪移取500 μL 高吸光强度多枝状胶体金溶液至比色皿中,借助紫外分光光度计仪器,波长450-750nm条件下扫描,如图2所示高吸光强度多枝状胶体金溶液的吸光强度为0.9,最大表面等离子共振吸收波长为630nm。

[0051] 此法合成高吸光强度的多枝状胶体金溶液重复性高,各批次之间胶体金纳米颗粒粒径大小变异系数小于10%。与常规多枝状胶体金纳米颗粒相比在吸光度上同样具有明显优势。

[0052] 以上所述仅为本发明的较佳实施例,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

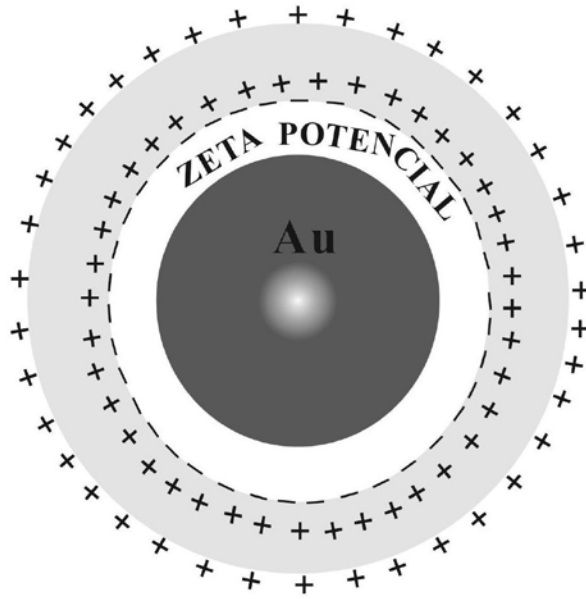


图1

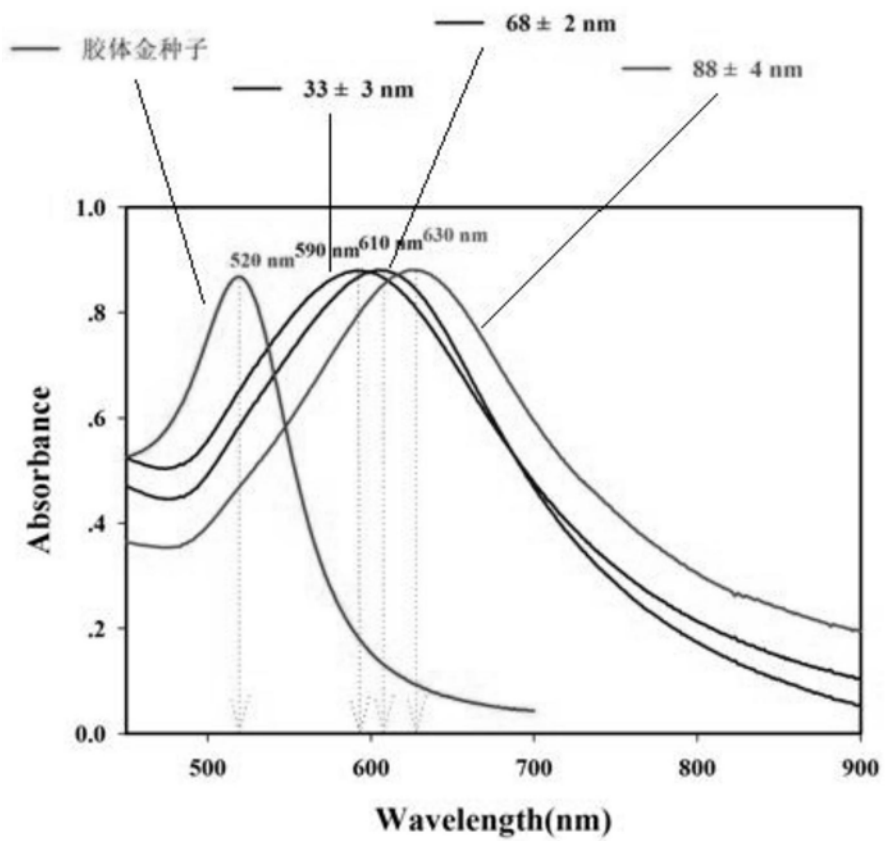


图2

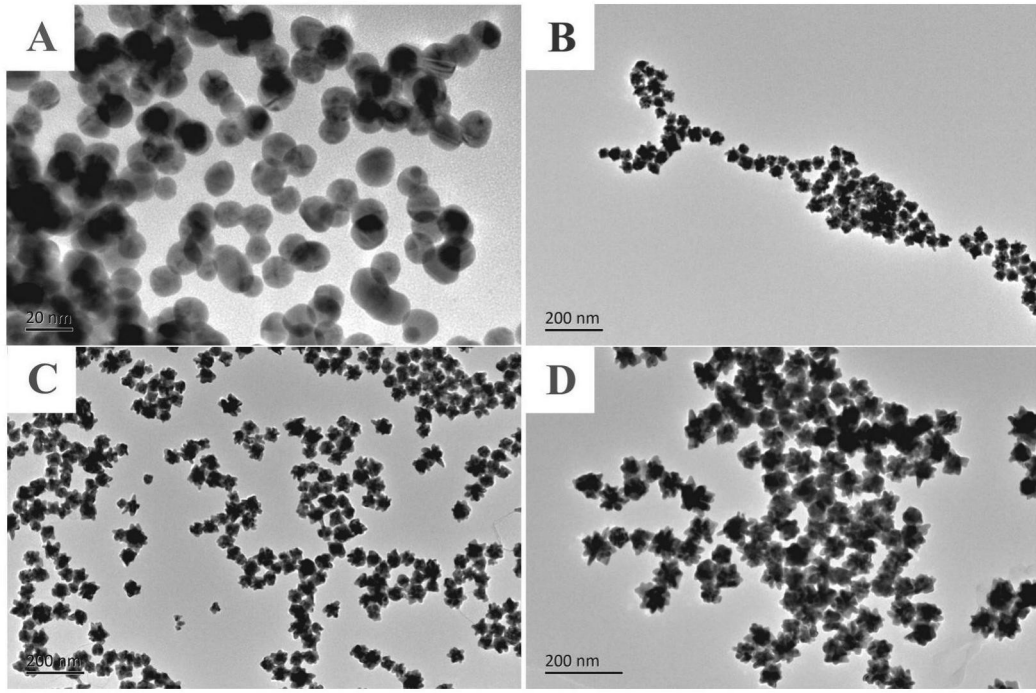


图3

专利名称(译)	可控粒径高吸光强度多枝状胶体金纳米粒子的制备方法		
公开(公告)号	CN105436516B	公开(公告)日	2018-06-08
申请号	CN201510875494.2	申请日	2015-12-03
[标]申请(专利权)人(译)	南昌大学		
申请(专利权)人(译)	南昌大学		
当前申请(专利权)人(译)	南昌大学		
[标]发明人	熊勇华 徐鹏 江湖 赖卫华 李娟		
发明人	熊勇华 徐鹏 江湖 赖卫华 李娟		
IPC分类号	B22F9/24 G01N33/53		
审查员(译)	周丽		
其他公开文献	CN105436516A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及纳米材料开发与应用领域，公开了一种通过胶体金种子介导生长合成不同粒径大小的高吸光强度的多枝状胶体金纳米粒子的方法。首先采用常规柠檬酸三钠还原法，将氯金酸分子中的Au³⁺还原成Au⁰，得到圆球状胶体金种子。然后将胶体金种子加入至一种生长液中，该生长液的主要成分包括超纯水、氯金酸和柠檬酸三钠等溶液，磁力搅拌器上缓慢搅拌，溶液混匀后加热至50℃，此时加快转速，同时一次性加入足量的对苯二酚溶液，混合溶液温度维持50℃，继续反应10min后停止加热，冷却至室温即得到高吸光强度的多枝状胶体金溶液。本发明方法具有易操作，流程简单、反应迅速、可控性好、重复性高等特点。

