

doi:10.3788/gzxb20174609.0916002

# GSH 诱导的金纳米棒自组装及汞离子检测

李剑君, 杨玉捷, 翁国军, 朱键, 赵军武

(西安交通大学 生命科学与技术学院 生物医学信息工程教育部重点实验室, 西安 710049)

**摘 要:**提出了一种基于金纳米棒自组装的促进和抑制检测汞离子的方法.在合适的实验条件下,当金纳米棒胶体溶液中加入还原性谷胱甘肽(GSH)时,金纳米棒因 Au-S 键的形成,通过氢键和静电相互作用发生头对头(End to End)的自组装.当以上体系中加入汞离子时,这种头对头的自组装会被打破,金纳米棒重新呈分散状态.这种方法的最低检测限为 1 nmol/L,检测范围为 1 nmol/L-100 $\mu$ mol/L.该汞离子检测方法特异性强、灵敏度高且检测的浓度范围比较大,有望广泛用于水环境中汞离子的检测.

**关键词:**金纳米棒;自组装;纵横比;汞离子检测;吸收光谱

中图分类号:

文献标识码:A

文章编号:1004-4213(2017)09-0916002-6

## GSH Induction of Gold Nanorods Self-assembly and Mercury Ion Detection

LI Jian-jun, YANG Yu-jie, WENG Guo-jun, ZHU Jian, ZHAO Jun-wu

(The Key Laboratory of Biomedical Information Engineering of Ministry of Education, School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)

**Abstract:** A simple and ultrasensitive detect method for mercury based on the assembly and disassembly of gold nanorods was proposed. When reduced glutathione(GSH) was added into gold nanorods colloidal solution, Au - S bond will formed on the surface of the gold nanorods. Meanwhile hydrogen bonding and electrostatic interaction prompt self-assembly of gold nanorods (End to End). After mixed with mercury ion, self-assembly of gold nanorods will be inhibition and re-dispersion. Based on above phenomenon, super lower concentration of mercury ion can be detected used surface plasmon resonance (SPR) of gold nanorods. The lowest detection limit of this method is 1nmol/L when measured by UV - Vis spectroscopy, and the range is from 10  $\mu$ mol/L to 100  $\mu$ mol/L when observed by the naked eye. This method for mercury detection based on the assembly and disassembly of gold nanorods can be applied to detecting and monitoring of mercury in environmental.

**Key words:** Gold nanorods; Self-assembly; Aspect ratio; Mercury ion detection; Absorption spectrum

**OCIS Codes:** 160.4236; 160.1190; 160.4760; 160.4670; 160.0160

## 0 引言

金纳米棒是目前研究广泛且制备工艺比较成熟的一种贵金属纳米颗粒.将金纳米棒进行一维、二维、三维自组装之后形成的金纳米棒自组装体具有多个单体之间耦合的光化学性质和电学性质.研究者们一直在探索一种简便快速且有效的金纳米棒自组装方法,且不断将其应用于各种领域尤其是生化分子的检测<sup>[1-4]</sup>.

在各种金纳米棒的自组装方法中,化学驱动诱导的自组装研究已成为研究热点.Bifeng Pan 等<sup>[1]</sup>以 DNA 的双螺旋结构为模板,诱导金纳米棒的一维和二维自组装;Tiziana Placido 等<sup>[2]</sup>将金纳米棒进行表面修饰后,通过 Hg<sup>2+</sup> 与修饰物结合实现金纳米棒的自组装及汞离子的检测;T. S. Sreepasad 等<sup>[3]</sup>利用金纳米

基金项目:国家自然科学基金(No. 61675162)和中央高校基本科研业务费(No. xjj2015082)资助

第一作者:李剑君(1973-),女,教授,博士,主要研究方向为纳米生物器件与基于生物光谱传感的检测.Email: jjunli@xjtu.edu.cn

通讯作者:赵军武(1960-),男,教授,博士,主要研究方向为纳米生物器件与生物光谱传感.Email: nanoptzhao@163.com

收稿日期:2017-03-14;录用日期:2017-05-24

棒表面的 CTAB 与加入的 EDTA 络合,引起金纳米棒从自组装并测试其拉曼特性;Xiaoge Hu 等<sup>[4]</sup>将半胱氨酸加入金纳米棒胶体后,利用半胱氨酸的巯基、氨基和羧基三个官能团的化学性质,引发了金纳米棒自组装.现已报道的金纳米棒的自组装方法或需要复杂的条件,或需要较长时间.

由于金纳米棒具有的光化学特性被广泛用于生物、化学、医学检测.对汞离子的检测,Ning Bi 等<sup>[5]</sup>利用汞离子存在时,DTT 诱导金纳米棒形成的自组装将被抑制这一现象,来检测汞离子;Haowen Huang 等<sup>[6]</sup>将汞离子还原为零价的汞原子后,与金纳米棒表面的金形成汞金合金,使金纳米棒自组装之后的纵向表面等离子体共振吸收峰蓝移而实现汞离子的检测;Tiziana Placido 等<sup>[7]</sup>用半胱氨酸修饰金纳米棒后,再加入汞离子会诱导金纳米棒的自组装而检测汞离子;Yi Wang 等<sup>[8]</sup>通过将金纳米棒与富含胸腺嘧啶(T)的寡核苷酸交联后,加入的汞离子与寡核苷酸链形成 T-Hg<sup>2+</sup>-T 复合物进而金纳米棒自组装从而检测汞离子.已报道的汞离子检测方法或检测灵敏度较低,或检测范围较小不具有广泛性,或无法区分汞离子和铅离子,特异性较差.

本文针对金纳米棒的自组装,改进了已有的汞离子检测方法,本方法仅需要恒温水浴锅和 pH 计即可实现谷胱甘肽(GSH)诱导的金纳米棒的自组装.这种方法得到的自组装的纳米棒,对汞离子的检测既保证了较高的灵敏度,又有较宽的检测范围和强的特异性.

## 1 实验

### 1.1 实验材料和仪器

材料分别为十六烷基溴化铵(CTAB, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>15</sub>N(Br)(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, Sigma),硝酸银(AgNO<sub>3</sub>, 阿拉丁),硼氢化钠(NaBH<sub>4</sub>, 阿拉丁),抗坏血酸(AA, C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>, 阿拉丁),盐酸(HCl, 北京化工),谷胱甘肽(GSH, 阿拉丁),氯化汞(HgCl<sub>2</sub>)氯金酸(HAuCl<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O, 国药集团),柠檬酸三钠(Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>, 北京化学试剂厂),其他试剂均为分析纯,超纯水(18.2 MΩ·cm).

主要仪器有紫外可见吸收光谱仪(UV-3600 UV-vis-NIR spectrophotometer, Shimadzu, Japan),透射电子显微镜(JEM-200CX transmission electron microscope, JEOL, Japan),Milli-Q 型超纯水仪(Millipore SAS, Germany).

### 1.2 金纳米棒的制备

实验中,金纳米棒的制备采用改进的经典种子生长法.首先在干净的试管中加入 5 mL 0.1 mol/L CTAB 和 250 μL 0.01 mol/L 的氯金酸,接着加入 600 μL 0.01 mol/L 的硼氢化钠.每加入一种试剂,都用涡旋振荡器充分混匀.以上三种试剂的混合溶液置于 27℃ 水浴锅充分反应两小时后得到种子溶液.

另取干净试管制备生长液,依次加入 400 μL 0.01 mol/L 氯金酸,一定量的硝酸银,9.5 mL 0.1 mol/L CTAB,震荡混匀后,再加入 250 μL 1% 的盐酸,然后加入 64 μL 0.1 mol/L 抗坏血酸,摇晃试管充分混合.此时溶液的颜色由棕黄色变为无色.最后取 20 μL 前述种子溶液加入到生长液中,充分混匀后,置 27℃ 的水浴中过夜生长.

制备的金纳米棒用紫外可见吸收光谱仪对其吸收光谱进行表征,用透射电子显微镜直观显示金纳米棒的形貌.

### 1.3 不同纵横比金纳米棒的自组装

首先进行金纳米棒的预处理,将金纳米棒胶体溶液于 15 000 rpm 的转速下离心 10 min,除去上清液后用超纯水重悬,离心两次后得提纯的金纳米棒溶液,用于后期的自组装实验或于 4℃ 冰箱长期保存.

取若干份等量(4 mL)金纳米棒溶液,分别加入不同量的 GSH(金纳米棒纵向吸收峰为 740 nm 时 GSH 的浓度为 0.1 mmol/L;纵向吸收峰在 660 nm 的金纳米棒自组装用的 GSH 浓度为 1 mmol/L),然后用质量浓度为 1% 的盐酸调节 pH 到 3.5,将调节好 pH 的溶液置于 45℃ 水浴锅中,2 小时后通过吸收光谱表征可以发现金纳米棒发生了不同程度的自组装.透射电子显微镜可以进一步直观显示出金纳米棒的形貌.

### 1.4 Hg<sup>2+</sup> 的检测

实验中汞离子的加入可以抑制金纳米棒的自组装.与金纳米棒自组装实验的步骤类似,首先在 4 mL 金纳米棒胶体溶液中依次加入一定量的 GSH,1 mL 不同浓度的氯化汞溶液,一定量的盐酸.最终,混合溶液充分混匀后置 45℃ 水浴锅中反应两小时,用紫外可见吸收光谱仪测定溶液中金纳米棒的自组装或者分散状态.

## 2 结果和讨论

### 2.1 金纳米棒,金纳米棒-GSH 以及金纳米棒-GSH-Hg<sup>2+</sup> 三种体系的表征

金纳米棒,金纳米棒-GSH 以及金纳米棒-GSH-Hg<sup>2+</sup> 三种体系的吸收光谱见图 1.从图 1 可以看出,实验体系中金纳米棒的横向表面等离子体共振吸收峰位于 511 nm 处(A1,第一吸收峰),吸收峰强度较弱;纵向表面等离子体共振吸收峰在 740 nm 波长处(A2,第二吸收峰),吸收峰强度较强,对应金纳米棒的透射电镜照片见图 2(a)和 2(b).由图 2 可见制备的金纳米棒具有良好的均一性和分散性,纵横比大约为 4.

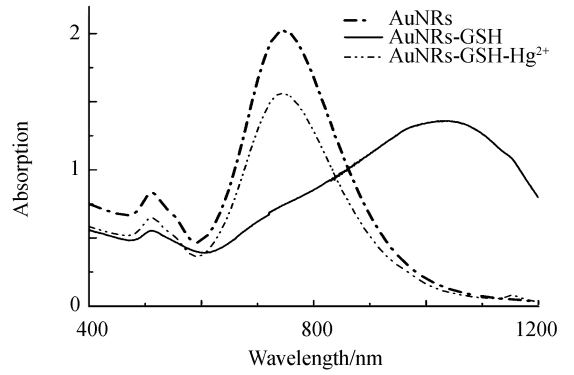
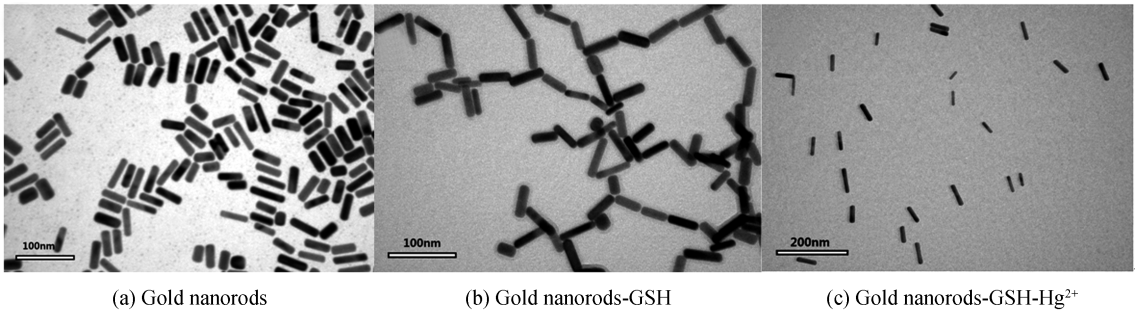


图 1 金纳米棒,金纳米棒-GSH 以及金纳米棒-GSH-Hg<sup>2+</sup> 三种体系的吸收光谱

Fig.1 Absorption spectra of gold nanorods, gold nanorods-GSH and gold nanorods-GSH-Hg<sup>2+</sup>

当加入 1 mmol/L 的 GSH 并设定反应温度为 45℃,反应时间为 2 小时,纵向等离子体共振吸收峰发生强烈红移,在波长为 1 027 nm 处出现一个新的吸收峰(A3,第三吸收峰),表明金纳米棒会形成有序的自组装,溶液中出现大量的链状金纳米棒.图 2(c)和 2(d)为加入 GSH 形成自组装后的透射电镜照片,从电镜照片也可以看出金纳米棒以 end to end 的形式自组装.汞离子加入组装后的金纳米棒溶液,这种有序的自组装会被抑制进而打破,纳米金棒重新呈现分散状态.如图 1 中点虚线所示,第三吸收峰将逐渐减弱直至消失,而 740 nm 处的吸收峰也逐渐恢复最初的吸收强度,对应的透射电镜照片如图 2(c).下文中使用的 LSPR 吸收峰位于 650 nm 处的短棒也有类似规律.



(a) Gold nanorods

(b) Gold nanorods-GSH

(c) Gold nanorods-GSH-Hg<sup>2+</sup>

图 2 金纳米棒,金纳米棒-GSH 以及金纳米棒-GSH-Hg<sup>2+</sup> 三种体系的透射电镜照片

Fig.2 TEM images of gold nanorods, gold nanorods-GSH and gold nanorods-GSH-Hg<sup>2+</sup>

### 2.2 金纳米棒自组装机制推测

由谷胱甘肽分子特点推测其诱导金纳米棒的自组装示意图如图 3.当谷胱甘肽分子被加入金纳米棒胶体

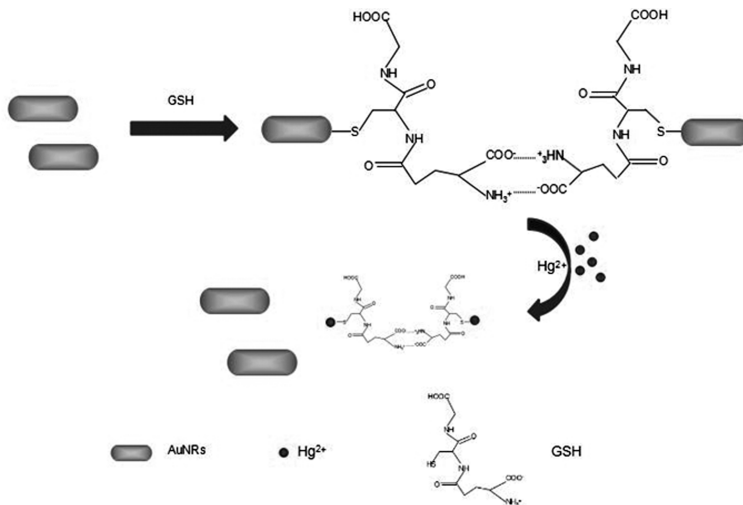


图 3 GSH 诱导的金纳米棒自组装及 Hg<sup>2+</sup> 的影响示意图

Fig.3 Schematics of GSH inducing gold nanorods self-assembly and Hg<sup>2+</sup>

溶液时,谷胱甘肽的巯基与金纳米棒表面以键能较高的 Au-S 键连接,而谷胱甘肽分子中另外两种基团——氨基和羧基则通过氢键使分子间相互结合,引起相邻两个被谷胱甘肽修饰的金纳米棒末端相连,进而形成 End to End 自组装.当溶液中加入汞离子后,由于 Hg-S 键键能高于 Au-S 键,汞离子取代金与谷胱甘肽的巯基结合,从而抑制金纳米棒的聚集,使得胶体溶液中金纳米棒重新处于高度分散的状态.

### 2.3 不同纵横比金纳米棒的自组装

因纵横比会明显影响金纳米棒的纵向吸收峰,实验选用两种不同纵横(LSPR 分别为 650 nm 和 740 nm)的金纳米棒进行自组装和汞离子的检测.图 4 为金纳米棒溶液中加入不同体积相同浓度的 GSH 时,引起金纳米棒不同程度的自组装后,溶液的吸收光谱.当金纳米棒的纵向吸收峰波长为 650 nm,见图 4(a),GSH 浓度为 1 mmol/L 时,加入量从 20  $\mu\text{L}$  到 100  $\mu\text{L}$  变化可引起金纳米棒不同程度的自组装,表现为第三吸收峰峰强逐步增大.当加入的 GSH 达到 100  $\mu\text{L}$  时,890 nm 波长处出现一个强的吸收峰,继续增加 GSH,体系发生明显的聚沉,实验认定此时金纳米棒发生了最大程度的自组装.对于纵向吸收峰在 740 nm 的金纳米棒,见图 4(b),GSH 浓度为 0.1 mmol/L 时,体积从 40  $\mu\text{L}$  到 120  $\mu\text{L}$  可以引起金纳米棒不同程度的自组装,第三吸收峰的峰强随着 GSH 的增大而增大.当加入的 GSH 为 120  $\mu\text{L}$  时,图 4(b)显示此时在 1 000 nm 波长处的吸收峰吸收强度最大,继续加大 GSH 会引起聚沉,金纳米棒此刻发生最大程度的自组装.

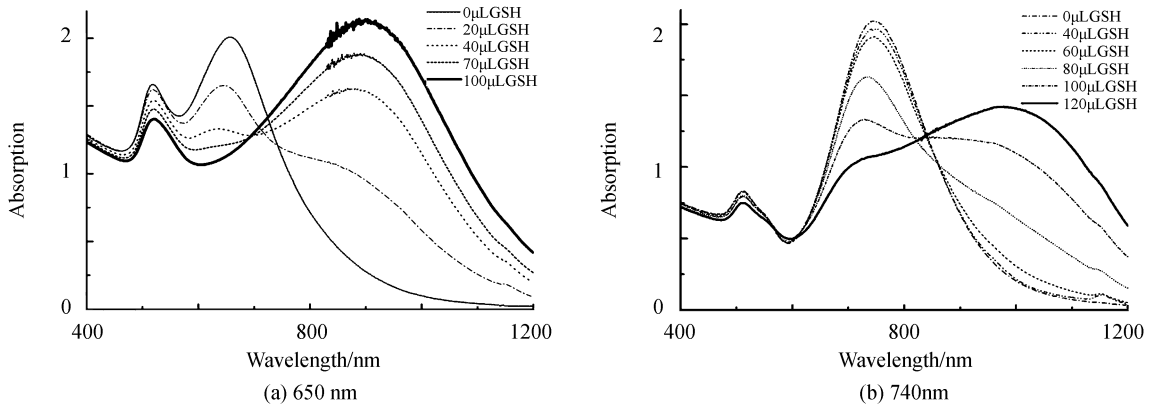


图 4 GSH 对 LSPR 为 650 nm 和 740 nm 的金纳米棒自组装的影响

Fig.4 Absorption spectra of gold nanorods self-assembly of 650 nm and 740 nm nanorods in different GSH

### 2.4 GSH 引起的金纳米棒自组装体系对汞离子的检测

当含有汞离子的溶液与 GSH 诱导的金纳米棒自组装体系混合后,从溶液的吸光度变化(图 5 和图 6 所示)可以看出,随着汞离子溶液的增加,LSPR 吸收峰逐渐蓝移,与自组装前的分散状态类似.在实际检测汞离子浓度时,利用标示自组装的第三吸收峰与标示分散状态金纳米棒的纵向吸收峰(第二吸收峰)的吸收强度比值,可以间接计算汞离子加入后体系中自组装的金纳米棒所占比例的变化.LSPR 为 650 nm 金纳米棒(图 5(a))对汞离子的检测范围为 10  $\mu\text{mol/L}$  到 100  $\mu\text{mol/L}$ ,而 LSPR 为 740 nm 金纳米棒(图 6(a))对汞离子的检测范围为 1 nmol/L 到 10  $\mu\text{mol/L}$ .通过计算,该方法对汞离子检测的检测限为 1 nmol/L.

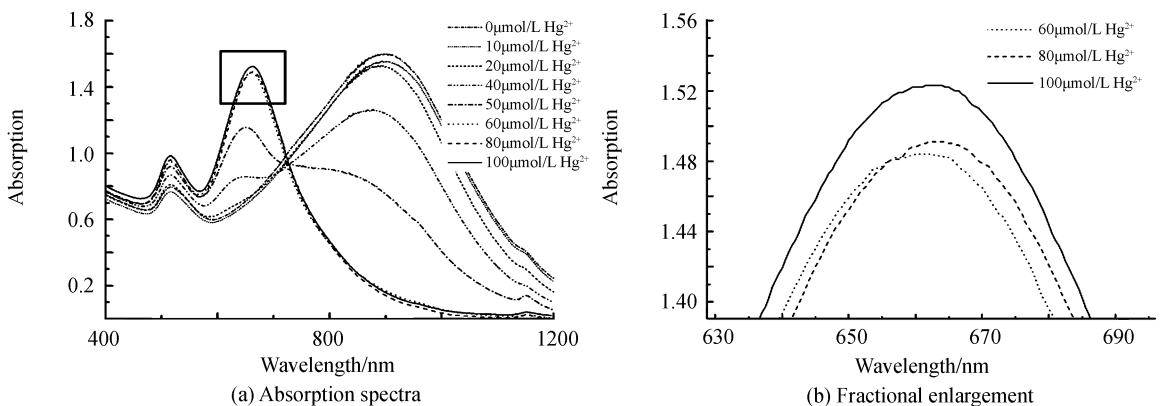


图 5 汞离子对 LSPR 为 650 nm 的金纳米棒自组装的影响及局部放大图

Fig.5 Absorption spectra of gold nanorods self-assembly of 650 nm nanorods in different  $\text{Hg}^{2+}$  and its fractional enlargement

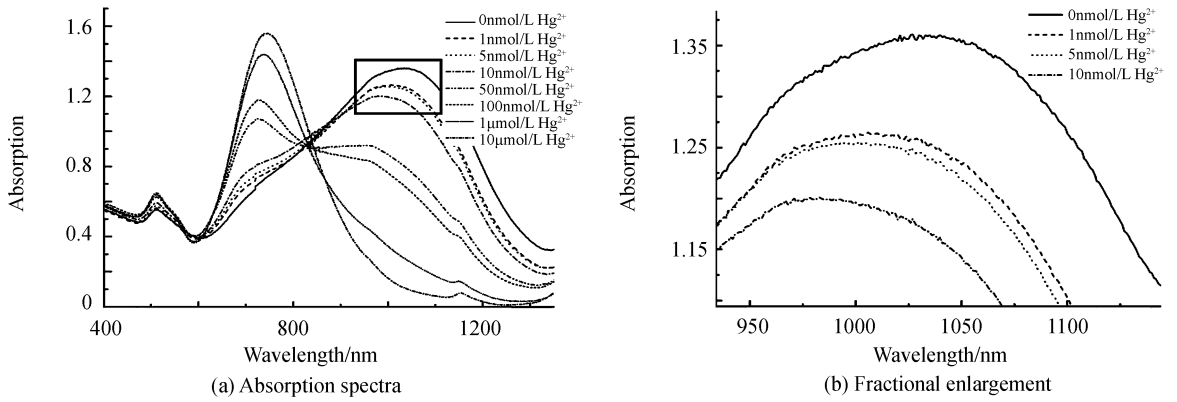


图 6 汞离子对 LSPR 为 740 nm 的金纳米棒自组装的影响及局部放大图

Fig.6 Absorption spectra of gold nanorods self-assembly of 740 nm nanorods in different  $Hg^{2+}$  and its fractional enlargement

表 1 为近期公开发表文献中不同的汞离子检测方法数据,可以看出,本方法在保证一定的检测线的同时,使得汞离子的检测范围增大。

表 1 不同汞离子检测方法的比较

Table 1 Comparison of different methods for detection of mercury ion

Nanoprobes	Method	LOD/( $nmol \cdot L^{-1}$ )	Range( $nmol \cdot L^{-1}$ )	Ref.
rGO-AuNPs	SERS	0.1	$0.1-6 \times 10^3$	[9]
L-Cysteine-AuNRs	UV-vis spectroscopy	60	$5 \times 10^2-2.5 \times 10^6$	[10]
DNA-AuNPs	UV-vis spectroscopy	100	$0-2 \times 10^3$	[11]
N-acetyl-cysteine-AuNPs	UV-vis spectroscopy	5	$5 \times 10^2-1 \times 10^4$	[12]
DNA-AuNRs	UV-vis spectroscopy	3.2	4-40	[13]
DNA-AuNPs	Fluorescence spectroscopy	40	$96-6.4 \times 10^3$	[14]
AgNPs@GO	UV-vis spectroscopy	338	$1 \times 10^4-2 \times 10^5$	[15]
1-Dodecanethiol-AgNPs	UV-vis spectroscopy	3.3	$10-4 \times 10^3$	[16]
Dialkyne-AgNPs	SERS	0.8	1.1-61.2	[17]
GSH-AuNRs	UV-vis spectroscopy	1	$1-1 \times 10^5$	Proposed method

### 2.5 汞离子检测的选择性实验

为了证明本方法对汞离子检测的选择性,用同样的体系检测了  $Ag^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Pb^{2+}$  和  $Zn^{2+}$  等离子.其中选用的其他金属离子浓度均为  $5 \mu mol/L$ ,而汞离子的浓度为  $2 \mu mol/L$ ,分别选用 LSPR 为 650 nm 和 740 nm 的金纳米棒进行选择实验.实验表明,只有汞离子对金纳米棒的自组装有抑制作用,本检测方法对汞离子具有很好的特异性.图 7 用  $A2/A3$  表示体系的分散程度,其中  $A2$  是分散的金纳米棒的纵向吸收峰的强度, $A3$  是自组装的金纳米棒链的吸收强度。

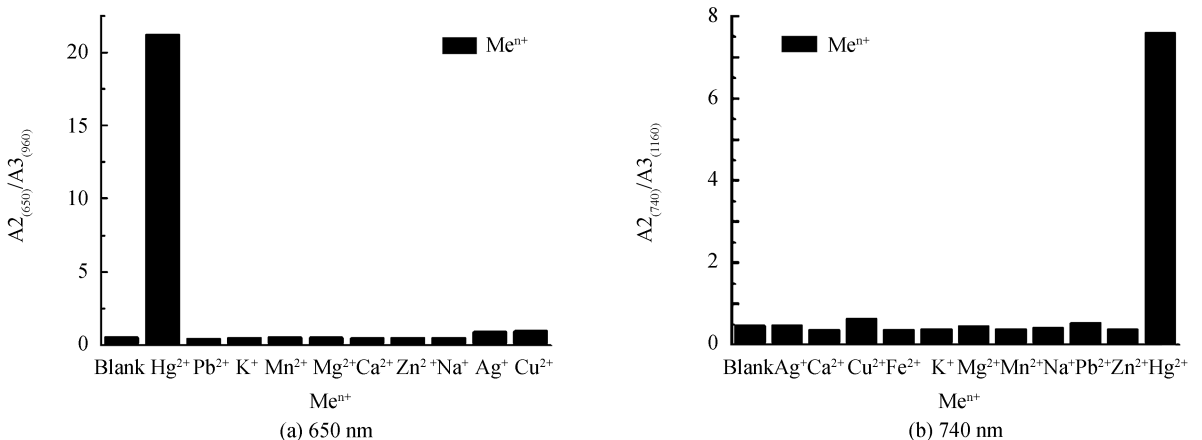


图 7 LSPR 为 650 nm 和 740 nm 的金纳米棒对汞离子检测的选择性

Fig.7 Selectivity of mercury ion detection with 650 nm and 740 nm gold nanorods

### 3 结论

提出了一种简便的金纳米棒制备和自组装步骤, 仅需恒温水浴锅和 pH 计就可以实现金纳米棒的自组装. 这种自组装体系对汞离子的检测有较强的灵敏度和特异性. 利用 GSH 的特殊性质, 使金纳米棒组装为 End to End 形式; 利用汞离子破坏金纳米棒的自组装, 导致体系的吸收光谱发生强烈变化, 实现了在低检测限为 1 nmol/L 的情况下, 汞离子的检测范围扩大到 1 nmol/L-100  $\mu$ mol/L. 这种检测方法有望用于环境中汞离子的检测.

#### 参考文献

- [1] PAN B, CUI D, OZKAN C, *et al.* DNA-templated ordered array of gold nanorods in one and two dimensions[J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2007, **111**(34): 12572-12576.
- [2] PLACIDO T, ARAGAY G, PONS J, *et al.* Ion-directed assembly of gold nanorods: a strategy for mercury detection[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2013, **5**(3): 1084-1092.
- [3] SREEPRASAD T S, PRADEEP T. Reversible assembly and disassembly of goldnanorods induced by EDTA and its application in SERS tuning[J]. *Langmuir*, 2011, **27**(7): 3381-3390.
- [4] HU X, CHENG W, WANG T, *et al.* Well-ordered end-to-end linkage of gold nanorods[J]. *Nanotechnology*, 2005, **16**(10): 2164.
- [5] BI N, CHEN Y, QI H, *et al.* Spectrophotometric determination of mercury (II) ion using gold nanorod as probe[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2012, **166**: 766-771.
- [6] HUANG H, QU C, LIU X, *et al.* Amplification of localized surface plasmon resonance signals by a gold nanorod assembly and ultra-sensitive detection of mercury[J]. *Chemical Communications*, 2011, **47**(24): 6897-6899.
- [7] PLACIDO T, COMPARELLI R, STRICCOLI M, *et al.* Assembly of gold nanorods for highly sensitive detection of mercury ions[J]. *IEEE Sensors Journal*, 2013, **13**(8): 2834-2841.
- [8] WANG Y, LI Y F, WANG J, *et al.* End-to-end assembly of gold nanorods by means of oligonucleotide - mercury (II) molecular recognition[J]. *Chemical Communications*, 2010, **46**(8): 1332-1334.
- [9] DING X, KONG L, WANG J, *et al.* Highly sensitive SERS detection of Hg<sup>2+</sup> ions in aqueous media using gold nanoparticles/graphene heterojunctions[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2013, **5**(15): 7072-7078.
- [10] LIANG G X, WANG L, ZHANG H, *et al.* A colorimetric probe for the rapid and selective determination of mercury (II) based on the disassembly of gold nanorods[J]. *Microchimica Acta*, 2012, **179**(3-4): 345-350.
- [11] KNECHT M R, SETHI M. Bio-inspired colorimetric detection of Hg<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> heavy metal ions using Au nanoparticles[J]. *Analytical And Bioanalytical Chemistry*, 2009, **394**(1): 33-46.
- [12] LOU T, CHEN Z, WANG Y, *et al.* Blue-to-red colorimetric sensing strategy for Hg<sup>2+</sup> and Ag<sup>+</sup> via redox-regulated surface chemistry of gold nanoparticles[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2011, **3**(5): 1568-1573.
- [13] ZHANG Q, NI Y, KOKOT S. The use of DNA self-assembled goldnano-rods for novel analysis of lead and/or mercury in drinking water[J]. *Analytical Methods*, 2015, **7**(11): 4514-4520.
- [14] WANG H, WANG Y, JIN J, *et al.* Gold nanoparticle-based colorimetric and "turn-on" fluorescent probe for mercury (II) ions in aqueous solution[J]. *Analytical Chemistry*, 2008, **80**(23): 9021-9028.
- [15] KAMALI K Z, PANDIKUMAR A, JAYABAL S, *et al.* Amalgamation based optical and colorimetric sensing of mercury (II) ions with silver@ graphene oxide nanocomposite materials[J]. *Microchimica Acta*, 2016, **183**(1): 369-377.
- [16] CHEN L, FU X, LU W, *et al.* Highly sensitive and selective colorimetric sensing of Hg<sup>2+</sup> based on the morphology transition of silver nanoprisms[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2013, **5**(2): 284-290.
- [17] KANG Y, WU T, LIU B, *et al.* Selective determination of mercury(II) by self-referenced surface-enhanced raman scattering using dialkyne-modified silver nanoparticles.[J]. *Microchimica Acta*, 2014, **181**: 1333-1339.