

基于上/下转换发光的新比率荧光温度探针

陈硕然¹, 郑道远¹, 刘 腾¹, 叶常青^{1*}, 宋延林²

1. 苏州科技大学, 绿色印刷纳米光子工程技术研究中心, 江苏省环境功能材料重点实验室, 江苏 苏州 215009
2. 中国科学院化学研究所, 中国科学院绿色印刷重点实验室, 北京 100190

摘 要 温度的可视化实时监测, 一直都是科学研究的重点方向。荧光传感是一种具有高灵敏度、快速响应、可视化等优点的半侵入式测温方法, 在生物医药等领域已被广泛应用。然而, 传统荧光探针容易受到外界条件波动的影响而产生误差。为解决这一问题, 可以采用两组荧光检测信号构建比率型荧光探针, 通过两组信号的相互校准提高检测的准确性。传统的比率荧光温度探针大多基于下转换荧光发射, 这类探针通常由短波长光激发, 对生物组织穿透性差且有一定伤害, 还会受到生物组织自发荧光的干扰。频率上转换是由长波长激发, 短波长发射的一种光致发光现象, 由其构建的荧光探针可以克服传统下转换荧光探针的上述缺点。而基于三线态-三线态湮灭(TTA)机理的频率上转换发光体系, 由光敏剂和湮灭剂的双分子体系共同构成, 因而自身就同时具有上/下转换的发光特性, 满足了构建比率型荧光探针的条件。然而目前, 基于TTA上转换体系的比率型荧光温度探针还鲜见报导, 已报导的工作中仍需要另外添加参比探针。仅通过TTA双分子体系构建的上/下转换比率型荧光温度探针仍然是一大挑战。本文通过将传统的TTA上转换体系(PdOEP/DPA)负载于由温敏型两亲性聚合物 Pluronic-F127 组装形成的胶束中, 形成上转换纳米胶束温度探针。随着温度的升高, 聚合物亲水链段水溶性下降, 向胶束核心位置收缩, 导致负载上转换分子的胶束内部空间体积减小, TTA分子间碰撞概率增大, 上转换效率提高, 上转换发光的强度也随之提高; 与此同时, 光敏剂的下转换磷光发射也会发生小幅度的下降。由此上/下转换两组荧光信号构成的比率荧光, 可成功实现25~60 °C范围内对温度的线性检测, 并可通过肉眼观察到体系发光由紫红色向蓝紫色的转变, 检测结果的重复性良好。TTA上转换分子通过被温敏聚合物胶束的包覆, 既解决了在实际应用中探针水溶性差, 以及上转换发光易被氧气淬灭的问题, 还为上转换体系提供了温敏性质, 实现了上转换发光对温度的精确响应。这种基于上转换纳米胶束的比率型荧光温度探针不仅制备方法简单, 具有良好的生物相容性, 且检测灵敏度高, 可以人眼识别, 无需外加参比, 对生物体内温度在线监测的实现具有重要意义。

关键词 三线态-三线态湮灭频率上转换; 两亲性嵌段共聚物; 温敏型纳米胶束; 比率型荧光探针
中图分类号: O657.3 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)10-3088-08

引 言

温度, 作为衡量物体分子热运动程度的一个统计物理量, 自然界中几乎所有的物理、化学和生物过程都与其紧密相关^[1]。对温度的测量只能通过物体其他物化性质随温度的变化间接实现, 如基于热胀冷缩性质的膨胀式温度计, 基于电导率变化的热电阻温度计和基于黑体辐射的红外温度计等

各种接触或非接触型温度计^[2]。近年来, 荧光温度传感技术因灵敏度高、空间分辨率高、响应时间短、可视化效果好等优点, 可实现大范围、流动相和生物体等体系中的精确温度测量, 从而引发了广泛关注^[3-5]。传统荧光温度探针是基于分子跃迁速率随温度变化造成荧光强度或寿命的改变来实现对温度的间接测量^[6]。实际应用中, 单一激发态荧光温度传感体系会受到探针分子分布不均、分子浓度变化、激发光强度波动等因素影响, 很难保证荧光强度的变化是完全来自于

收稿日期: 2018-10-22, 修订日期: 2019-03-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(51603141, 51873145), 江苏省自然科学基金-优秀青年基金项目(BK20170065), 江苏省自然科学基金项目(BK20160358), 江苏省高校自然科学研究重大项目(17KJA430016), 江苏省高校自然科学基金项目(18KJB430024), 江苏省“六大人才高峰”(XCL-79), 江苏高校“青蓝工程”, 苏州科技大学研究生科研创新计划项目(SKCX16_064)资助

作者简介: 陈硕然, 1987年生, 苏州科技大学化学生物与材料工程学院讲师 e-mail: chensr@mail.usts.edu.cn

* 通讯联系人 e-mail: yechangqing@mail.usts.edu.cn

温度的改变,从而造成温度测量上的误差。

相比依赖于单一荧光信号强度变化的传感体系,比率型荧光探针体系具有自校准性,可消除探针分子分布和激发光强度等因素的扰动影响,具有较高的分辨率和灵敏度,成为了温度检测发展的新趋势。比率荧光温度传感体系的构筑大多是基于不同波长的两处荧光强度对温度差异化响应,两处发光可以来自不同发光物种也可以来自同一化合物的不同激发态,且两处荧光强度对温度的响应方式不同:如一处波长的荧光随温度明显变化,另一处波长荧光对温度无响应或弱响应^[7-8];或两处波长荧光强度对温度的响应变化趋势相反,则会更有利于检测灵敏度的提高。

理想的比率型荧光探针体系要求两处荧光发射峰位置具有明显差距,有利于区分。已报道的比率荧光温度传感体系多基于下转换发光,如:有机荧光分子^[9-10]、量子点^[11-14]、荧光蛋白^[15]体系等。与上述材料相比,三线态-三线态湮灭(triplet-triplet annihilation, TTA)频率上转换发光,是基于给体(光敏剂)和受体(湮灭剂)分子之间的能量传递过程来实现用长波长光激发获得短波长光发射的现象^[16-19]。在 TTA 上转换体系中,光敏剂和湮灭剂分子本身具有不同的荧光或磷光发射性能,既可以各自单独被激发,又能够通过三线态-三线态能量转移(triplet-triplet energy transfer, TTET)和 TTA 能量传递过程产生上转换发光^[18],因此 TTA 上转换体系适合构建成为比率型探针。此外,TTA 上转换探针还具有其他优势,例如可以消除来自于生物体内源性荧光团或非特异性结合探针的背景干扰,有利于满足生物体内的检测需求。然而,目前将 TTA 上转换体系应用于温度检测的研究仍很少见。复旦大学李富友团队采用具有温度响应性的湮灭剂构建了温敏型 TTA 上转换探针,并加入对温度不敏感的发光团作为参比,构成了比率型探针^[20]。然而,不额外添加参比探针,仅利用 TTA 体系自身的上/下转换发光构建比率型荧光探针实现温度的可视化精确检测仍未见报道。

有一些对温度敏感的体系,可以通过温度变化控制分子或者纳米材料的组装形态^[21-23]。本文将对温度并不敏感的传统 TTA 上转换体系与具有温敏特性的两亲性嵌段聚合物结合,通过分散介质对温度的响应性来调控 TTA 体系的上转换发光。温敏型聚合物所包含的亲水和疏水链段,可以使其在水溶液中自组装形成不同形状和尺寸(直径)的胶束。温度变化可以改变亲水链段的亲疏水性,从而实现对胶束的尺寸调控^[24]。本文通过将 TTA 上转换分子包覆于温敏型聚合物自组装构成的胶束内,构筑一种新型比率荧光温度探针。通过温度对胶束尺寸大小的改变,可实现对胶束内 TTA 上转换分子的运动扩散与能量传递过程的调控,实现上/下转换发光对温度的差异性响应,并基于此现象构筑比率型荧光温度探针,实现了对温度的精确测量。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

Pluronic-F127(分析纯, Sigma-Aldrich 试剂公司)、2,3,7,8,12,13,17,18-八乙基-21H,23H-卟吩钯(PdOEP, 分析

纯, Frontier 公司)、9,10-二苯基蒽(DPA, 分析纯, 百灵威公司)、四氢呋喃(THF, 分析纯, 国药集团化学试剂公司),上述药品均未进一步纯化。

紫外可见吸收光谱使用岛津 UV-2600 型紫外可见吸收光谱仪;稳态荧光发射光谱使用爱丁堡 FLS-920 型荧光光谱仪;动态光散射(DLS)测试使用马尔文 Zetasizer Nano ZS90 动态光散射仪;上转换发光光谱测试使用上海复享 PG2000 Pro 光纤光谱仪;上转换发光的激发光源采用 532 nm 固态连续激光器,激发功率为 60 mW。

1.2 上转换胶束溶液的制备过程

所有溶剂包括 THF 及去离子水在使用前均通过氮气鼓泡操作除氧 10 min 以上,且溶液的配制过程均在氮气氛围下完成。配制 PdOEP($5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的 THF 溶液,以及 DPA($1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的 THF 溶液,按照一定比例混合均匀混合。称取 0.6 g 的 Pluronic-F127 溶解于 20 mL 的去离子水中,得到 $30 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的水溶液。在磁力搅拌状态下,取 5 mL 的 Pluronic-F127 水溶液缓慢滴加一定量的 PdOEP/DPA 的 THF 溶液,超声 1 h。之后旋转蒸发除去 THF,即可得到透明澄清的 PdOEP/DPA@Pluronic-F127 纳米胶束溶液,且最终 PdOEP 的浓度为 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,DPA 的浓度为 $0 \sim 3.2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.3 测试过程

1.3.1 上转换发光光谱测试

由于 TTA 上转换发光会被氧气猝灭,故在使用前需要进行除氧步骤,对于 PdOEP/DPA 体系,上转换效率较高,故只需要向待测溶液中通入氮气 20 min 即可。在测试上转换发光时,用 532 nm 激光作为光源,使用实验室自制加热平台作为控温装置,使用光纤光谱仪作为测试仪器,在入射光的垂直方向上进行检测。

1.3.2 上转换光量子产率计算

本文中的上转换量子产率采用相对量子产率,计算公式见式(1),其中 A_0 和 A_s 分别表示参考标准样和实际测试样的吸光度; F_0 和 F_s 分别表示参考标准样的荧光发射峰的积分面积和实际测试样品上转换发光峰的积分面积; η_0 和 η_s 分别表示参考标准物质在溶剂中的折射率和实际测试体系所使用溶剂的折射率; Φ_0 为参考标准样品的荧光量子产率。由 TTA 上转换机理可得,两个低频率光子转化为一个高频率光子,所以计算效率需要乘以系数 2,参考标准样一般选用高量子产率的物质,本文中选用罗丹明 6G。

$$\Phi_{\text{UC}} = 2\Phi_0 \left(\frac{A_0}{A_s} \right) \left(\frac{F_s}{F_0} \right) \left(\frac{\eta_s}{\eta_0} \right) \quad (1)$$

1.3.3 三线态-三线态能量转移效率

TTET 效率($k_q = \Phi_{\text{TTET}}$)可通过 Stern-Volmer 方程(磷光猝灭实验)得到,见式(2)。其中三线态湮灭剂作为猝灭剂,结果拟合将得到 K_{SV} 值(Stern-Volmer 猝灭常数)和 k_q 值(双分子猝灭常数)。 I_0 和 I 分别表示无和有湮灭剂时光敏剂的磷光强度, $[Q]$ 表示的是湮灭剂的浓度, τ_0 表示光敏剂的三线态寿命。

$$\begin{aligned} I/I_0 &= K_{\text{SV}}[Q] + 1 = k_q \times \tau_0 [Q] + 1 \\ &= \Phi_{\text{TTET}} \times \tau_0 [Q] + 1 \end{aligned} \quad (2)$$

1.3.4 荧光探针灵敏度计算

文中的比率型荧光温度探针的灵敏度计算公式见式(3), 其中 S 表示探针灵敏度 ($^{\circ}\text{C}^{-1}$); Y 为探针信号即发射光强度或比率大小; T 为温度 ($^{\circ}\text{C}$)。

$$S = (dY/dT)/Y \times 100\% \quad (3)$$

2 结果与讨论

2.1 胶束尺寸对温度的响应性研究

本文选用温敏型聚合物 Pluronic-F127 来形成胶束, 这是一种由聚氧乙烯链段(PPO)和聚氧丙烯链段(PEO)组成的三嵌段聚合物(图 1)。在水溶液中, 亲水的 PPO 链段与水结合呈现舒张状态, 而疏水的 PEO 链段呈现收缩状态, 并且聚集在胶束核心位置。当温度变化时, Pluronic-F127 链段的亲疏水性变化, 导致对聚合物胶束形态的调控, 进而实现胶束体积的变化, 最终影响分散在胶束内部的光敏剂和湮灭剂分子之间的能量传递过程。具体来说, 当温度升高时, PEO 链段在水中的溶解性降低, 造成 PEO 疏水性增强, 导致更多的 PEO 链段向胶束核内填充, 相应 PPO 链段也随之发生塌陷, 造成胶束的整体尺寸缩小, 而胶束内空间的减小则会导致内部 TTA 体系分子之间的能量传递效率发生改变。

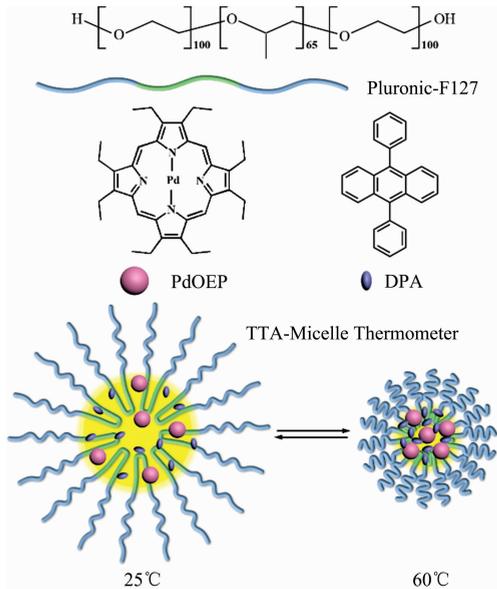


图 1 基于 PdOEP/DPA@Pluronic-F127 纳米胶束的上/下转换比率型荧光温度探针示意图

Fig. 1 Schematic diagram of ratiometric thermometer based on the up/down-conversion emission of PdOEP/DPA @ Pluronic-F127 nanoscale micelles

DLS 表征发现, 当温度从 20°C 升高到 60°C , 胶束平均尺寸从 53.1 nm 逐渐缩小到 23.2 nm [图 2(a)]。将胶束的粒径与温度的关系图进行求导处理, 可以得到胶束尺寸变化程度与温度的关系[图 2(b)]。在 $20\sim 30^{\circ}\text{C}$ 内, 胶束尺寸的变化程度较大, 对温度的响应较为灵敏; 在 $30\sim 60^{\circ}\text{C}$ 之间, 胶束尺寸大小随温度变化的程度变缓。

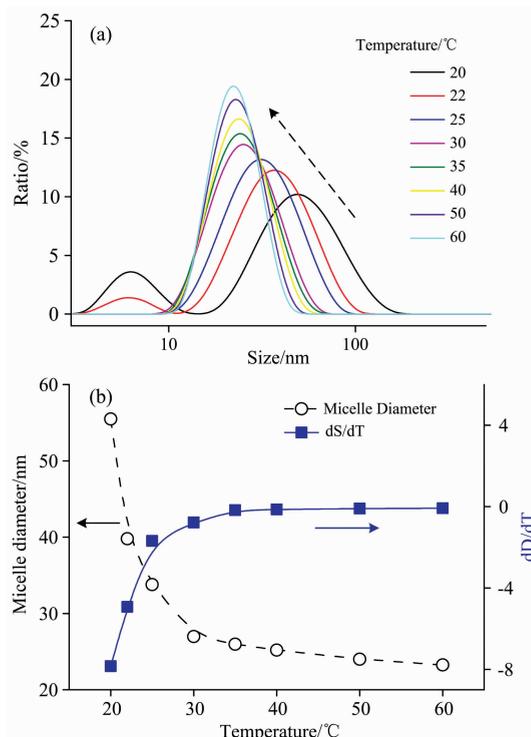


图 2 胶束尺寸随温度的变化图

(a): DLS 表征不同温度下胶束尺寸分布图; (b): 胶束平均尺寸及其变化程度与温度的关系图, 其中左侧纵坐标代表胶束尺寸, 右侧纵坐标代表胶束尺寸对温度的微分

Fig. 2 Diagram of the size of Pluronic-F127 micelles dependent on temperature

(a): Size distribution of micelles under different temperatures by DLS measurement; (b): Average size (left) and dS/dT (right) of micelles dependent on temperature

2.2 上转换体系在溶液和胶束体系中的发光性能研究

本文以 PdOEP 作为三线态能量给体(光敏剂)和 DPA 作为三线态能量受体(湮灭剂)所组成的 TTA 上转换体系, 其发生频率上转换的机理是光敏剂和湮灭剂双组份之间发生能量传递的过程。首先通过 532 nm 绿色激光, 可将光敏剂 PdOEP 分子激发, 通过 Franck-Condon 过程快速振动弛豫到其最低单线激发态 S_1 则发射 600 nm 橙色荧光; 或通过系间窜越(ISC)跃迁至其最低三线激发态 T_1 , 发射出 665 nm 红色磷光; 当有湮灭剂 DPA 参与时, 可以通过 TTET 过程, 进一步将能量传递到 DPA 的三线激发态。两个处于三线态激发态的 DPA 分子, 可以经过 TTA 过程获得 430 nm 上转换荧光发射。

由紫外吸收光谱可得, PdOEP 分子在 THF 溶液中有两个吸收带, 分别是位于 394 nm 左右的 Soret 带和位于 545 nm 左右的 Q 带。PdOEP 在胶束中的紫外吸收最大吸收峰位与在溶液中几乎一致, 没有发生明显峰位红移或蓝移[图 3(a)]。除氧后在氮气保护下测试, PdOEP 分子在 545 nm 波长激发下(THF 溶液)可得到 2 个发射峰, 分别对应的是 620 nm 的荧光发射峰和 680 nm 的磷光发射峰; 相应胶束溶液中, PdOEP 荧光与磷光发射峰位也同样没有明显的位移。

DPA 在 THF 溶液有 4 个吸收峰，分别是 338、355、375 以及 395 nm。DPA 在最大吸收波长 375 nm 激发下，得到双波长发射峰，分别是 424 和 440 nm。相应的，在胶束中 DPA 的吸收和荧光峰位也没有明显的变化[图 3(b)]。这些说明

PdOEP/DPA 双分子体系可以被成功负载到胶束内部，并且所处的微环境的光物理参数如溶剂极性等等并没有发生显著改变。

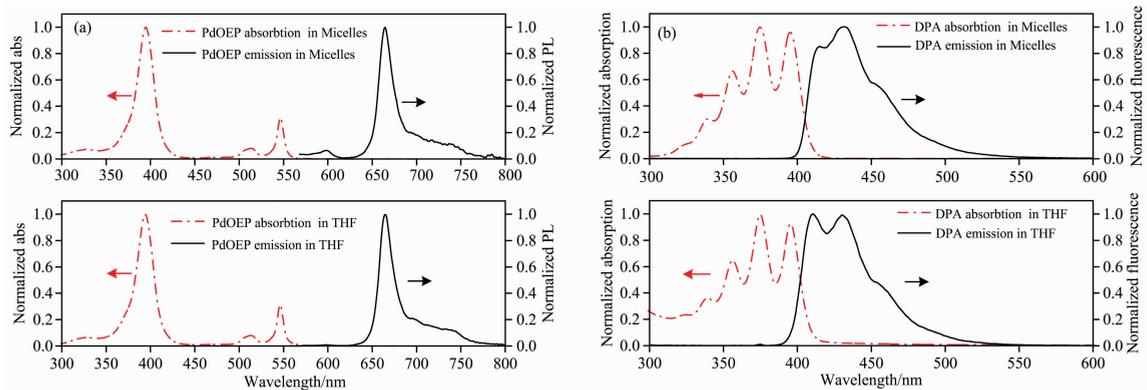
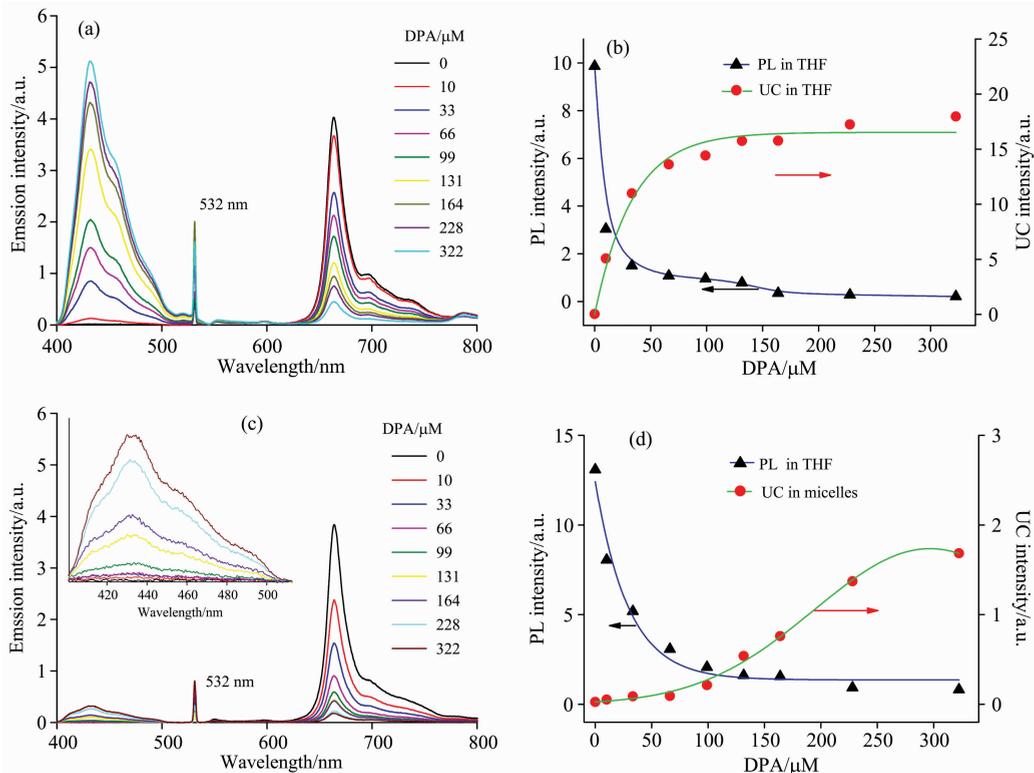


图 3 (a) PdOEP 分别在胶束体系和 THF 中的紫外吸收光谱及在 545 nm 激发下的荧光发射光谱；(b) DPA 分别在胶束体系和 THF 中的紫外吸收光谱及在 375 nm 激发下的荧光发射光谱

Fig. 3 (a) The absorption spectra and emission spectra (excited at 532 nm) of PdOEP in micelles and THF; (b) The absorption spectra and emission spectra (excited at 375 nm) of DPA in micelles and THF

TTET 过程和 TTA 过程与光敏剂-湮灭剂之间的浓度比例有很大的关联。因此在溶液态及在纳米胶束体系中研究不同光敏剂-湮灭剂比例浓度的光物理性能是非常重要的。固定 PdOEP 和 Pluronic-F127 聚合物的浓度，通过改变 DPA 分子的负载量，制备一系列的纳米胶束溶液。在含有固定光敏剂浓度 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的除氧 THF 溶液中，当 DPA 浓度小于 $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时，胶束上转换发光强度随 DPA 浓度的升高而增强；当 DPA 浓度高于 $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时，

体系上转换发光的强度随着 DPA 浓度升高不再继续增强，达到饱和的状态[图 4(a, b)]。而在胶束中，同样固定光敏剂浓度为 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ，当 DPA 浓度在 $0 \sim 1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内，上转换强度基本为零，而 DPA 浓度在 $1 \sim 3 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内，上转换强度随其 DPA 浓度增加而增加(图 4c, d)。这说明在胶束中分子扩散受到更多限制，影响能量的传递；在胶束中需要更多的湮灭剂才有利于分子碰撞，达到实现 TTET 与 TTA 过程的条件，也改变了上转换



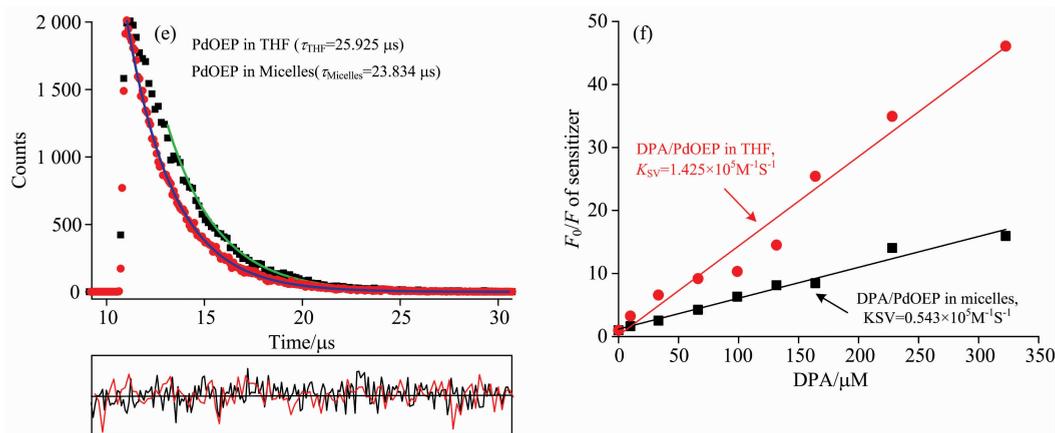


图 4 (a) THF 溶液中不同 DPA 浓度下上转换发光光谱图; (b) THF 溶液中上转换发光强度以及 PdOEP 磷光强度随 DPA 浓度变化关系图; (c) 胶束溶液中不同 DPA 浓度下上转换发光光谱图; (d) 胶束溶液中上转换发光强度以及 PdOEP 磷光强度随 DPA 的浓度变化关系图; (e) PdOEP 分别在胶束溶液和 THF 溶液中的磷光寿命图; (f) PdOEP/DPA 体系分别在 THF 和胶束溶液中的 Ster-Volum 方程, 猝灭剂为 DPA, PdOEP 浓度为 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, DPA 浓度范围为 $0 \sim 3.2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

Fig. 4 (a) Upconversion emission spectra with different DPA concentrations in THF solution; (b) Upconversion and phosphorescence intensity dependent on DPA concentration in THF solution; (c) Upconversion emission spectra with different DPA concentrations in micelle solution; (d) Upconversion and phosphorescence intensity dependent on DPA concentration in micelle solution; (e) Phosphorescence decay curves of PdOEP in micelle and THF solutions; (f) Ster-Volume equations in THF and micelle solutions (quencher: DPA, concentration: PdOEP $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, DPA $0 \sim 3.2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

发光对温度的响应性质。

进一步从动力学方面比较 PdOEP/DPA 上转换体系分别在 THF 溶液和胶束中的 TTET 过程。TTET 效率可通过式(1)Stern-Volmer 方程来估算。如图 4(e), PdOEP 分子在 THF 和胶束中磷光寿命基本相同, 分别是 25.92 和 23.824 μs , 且 $x^2 < 1.1$ 。但溶液中的猝灭速率 $5.496 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 要远大于胶束溶液 $2.27 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ [图 4(f), 表 1], 说明在胶束中给受体之间的能量传递过程受到胶束空间体积的限制。胶束随着温度升高发生空间体积的减小, 可以增大胶束内部上转换体系的分子密度, 加大分子碰撞频率, 从而加速能量传递过程, 进而影响到上转换发光强度。故通过温度响应的胶束体积大小变化, 可实现胶束内 TTA 上转换分子之间的运动扩散与能量传递过程的调控, 完成上转换发光强度对温度的响应。

表 1 PdOEP/DPA 上转换体系在 THF 与胶束溶液中的光物理常数

Table 1 Photophysical constants of PdOEP/DPA upconversion system in THF and micelle solution

Medium	K_{SV} $\times 10^{-5}/\text{M}^{-1}$	$k_q \times 10^{-9}$ $/\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	τ_0 $/\mu\text{s}$
THF	1.425	5.496	25.925
Micelle	0.543	0.227	23.834

2.3 TTA 上转换胶束探针的温度传感检测研究

不同温度下 PdOEP($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)/DPA($22.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的 THF 溶液的上转换发光强度随温度变化并不明显,

仅略有下降, 这是因为随着温度升高, 非辐射衰减增强, 从而削弱了辐射跃迁的部分, 造成上转换的荧光发射变弱。然而, 在上转换纳米胶束中, 上转换发光与温度的关系却是相反: 随着温度升高发生显著增强。如图 5(a)和(c)所示, 升温过程($25 \sim 60 \text{ }^\circ\text{C}$, 箭头方向)上转换荧光明显增加, 下转换磷光发射有小幅度的降低; 图 5(b)内插图照片表明, 随温度升高, 胶束体系的发光颜色从紫红色转变到蓝紫色, 可实现对温度的肉眼监测; 同时上转换效率从 2.25% 上升到 5%, 增强了一倍多[图 5(b)], 造成这种情况的原因是由于胶束尺寸的降低, 使分子密度增大, 分子间碰撞频率随之增大, 即光敏剂和淬灭剂之间的 TTET 的过程或淬灭剂之间的 TTA 过程增强导致上转换强度升高。除此以外, 微观尺度下, 胶束中的上转换溶液发光强度虽然也受到温度影响, 但胶束体积缩小对上转换强度的影响占主要因素。将上/下转换发光峰的强度比对温度作图[图 5(d)], 在 $25 \sim 60 \text{ }^\circ\text{C}$ 范围内, 可得到较好的线性关系: $I_{UC}/I_{PL} = 0.0244T + 0.00728$, 拟合相关系数 $r^2 = 0.987$, 温度测量灵敏度根据式(3)计算得到 $\sim 3.68\% \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$ 。据此, 我们可以通过体系的比率荧光来监测体系的温度变化。在 $25 \sim 60 \text{ }^\circ\text{C}$ 温度区间内进行多次循环变温实验, 体系的比率荧光对温度的响应具有较好的重复性(图 6), 说明 PdOEP/DPA@Pluronic-F127 纳米胶束对温度的响应性非常稳定, 可被应用为新型的温度传感材料。

3 结论

将 TTA 频率上转换体系(PdOEP/DPA)包覆于温敏型聚合物 Pluronic-F127 内, 成功制备了一种新型温度敏感型

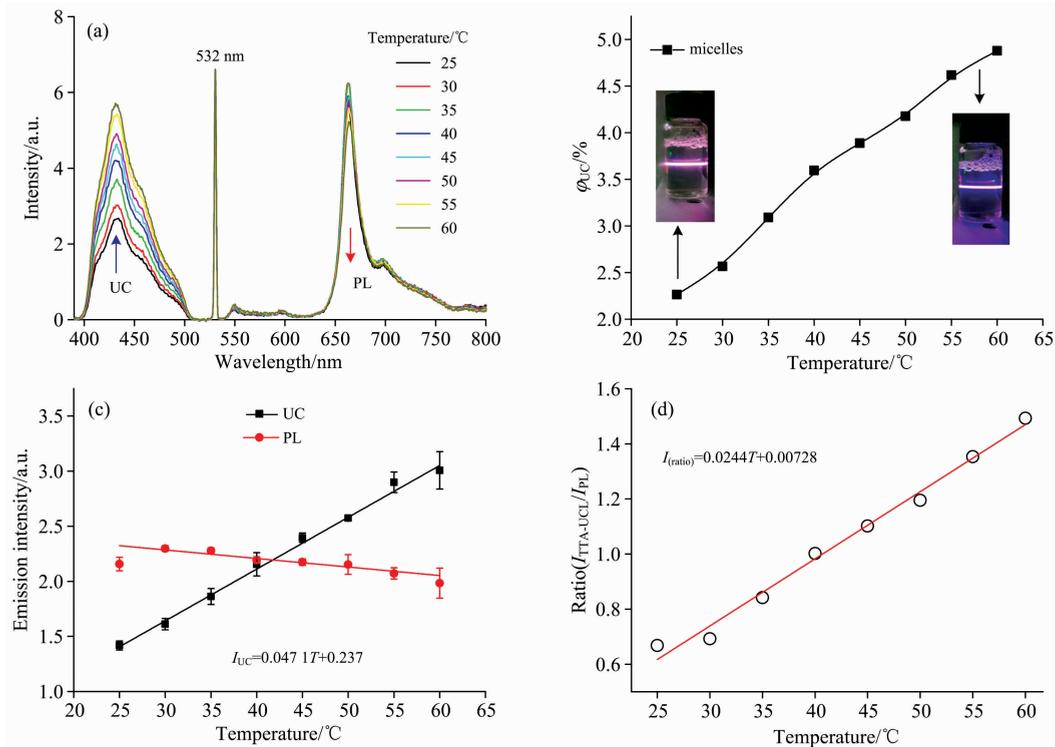


图 5 (a)不同温度下(25~60 °C), PdOEP/DPA@Pluronic-F127 纳米胶束(PdOEP 为 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; DPA 为 $2.28 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)溶液的发光光谱; (b)上转换发光效率与温度的对应关系图; 插图: 上转换胶束溶液分别在 25 和 60 °C 下的发光照片(加 532 nm 滤光片); (c) 图(a)中的上转换/磷光峰面积与温度的关系图; (d) 上/下转换发光强度比与温度的线性关系图

Fig. 5 (a) Emission spectra of PdOEP/DPA@Pluronic-F127 micelle (concentration: PdOEP $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; DPA $2.28 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) solution under different temperatures (25~60 °C); (b) Upconversion efficiency dependent on temperature; inset: photographs of the micelle solution luminescence at 25 and 60 °C (with 532 nm filter); (c) Intensity of upconversion and phosphorescence emission peaks in a) dependent on temperature; (d) Linearity of up/down-conversion emission intensity ratio dependent on temperature

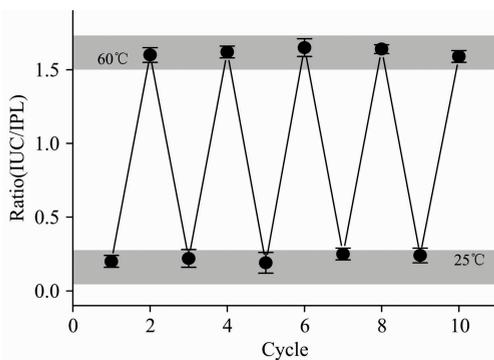


图 6 往复变温实验中 PdOEP/DPA@Pluronic-F127 上转换胶束比率荧光循环

Fig. 6 The 10 cycles of up/down-conversion emission ratio of the PdOEP/DPA@Pluronic-F127 micelle solution performed between 25 and 60 °C

上转换纳米胶束,并同时利用上、下转换荧光对温度的不同响应特性,构筑比率型荧光温度探针,最终实现对温度的可视化精确测量。温度升高,温敏型聚合物 Pluronic-F127 的 PEO 链段的疏水性增强,胶束组装形态向核心收缩塌陷,导致体积减小,引发 TTA 体系分子密度增大,也有利于分子之间的碰撞从而增强 TTET 和 TTA 过程。由温度引发的胶束体积变化,可以在较大范围内调控 TTA 上转换的发光强度,25~60 °C 上转换胶束体系的发光颜色可从紫红色转变到蓝紫色,可实现对温度的肉眼监测,并且检测的灵敏度可达 $3.68\% \cdot \text{C}^{-1}$,且具有良好的可重复性。由于 TTA 上转换发光体系与胶束体系的生物友好性,未来将有望应用于生物体系的温度检测,特别是对细胞内温度的变化进行在线监测将具有重要的意义。

References

- [1] Ross-Pinnock D, Maropoulos P G. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part B: Journal of Engineering Manufacture, 2015, 230(5): 793.
- [2] Rolls K, Armstrong K, Keating L, et al. Australian Critical Care, 2014, 27(1): 49.
- [3] Revil A, Meyer C D, Niu Q. Geophysics, 2016, 81(4): E243.
- [4] Bennet M A, Richardson P R, Arlt J, et al. Lab on a Chip, 2011, 11: 3821.
- [5] YE Chang-qing, CHEN Shuo-ran, LI Feng-yu, et al(叶常青, 陈硕然, 李凤煜, 等). Acta Chimica Sinica(化学学报), 2018, 76(4): 237.
- [6] Lou J, Finegan T M, Mohsen P, et al. Reviews in Analytical Chemistry, 1999, 18: 235.
- [7] QIN Tian-yi, ZENG Yi, CHEN Jin-ping, et al(秦天依, 曾毅, 陈金平, 等). Acta Chimica Sinica(化学学报), 2017, 75(12): 1164.
- [8] Wang X D, Song X H, He C Y, et al. Analytical Chemistry, 2011, 83(7): 2434.
- [9] Cao C, Liu X, Qiao Q, et al. Chemical Communications, 2014, 50(99): 15811.
- [10] Haro-González P, Martínez-Maestro L, Martín I R, et al. Small, 2012, 8(17): 2652.
- [11] Hsia C H, Wuttig A, Yang H. ACS Nano, 2011, 5(12): 9511.
- [12] Kalytchuk S, Poláková K, Wang Y, et al. ACS Nano, 2017, 11(2): 1432.
- [13] Liu J C, Xie Z, Shang Y Y, et al. ACS Applied Materials & Interfaces, 2018, 10(7): 6701.
- [14] Liu J C, Ren J K, Xie Z, et al. Nanoscale, 2018, 10: 4642.
- [15] Deepankumar K, Nadarajan S P, Bae D H, et al. Biotechnology & Bioprocess Engineering, 2015, 20(1): 67.
- [16] Ye C Q, Wang B, Hao R K, et al. Journal of Materials Chemistry C, 2014, 2(40): 8507.
- [17] Ye C Q, Ma J S, Chen S R, et al. The Journal of Physical Chemistry C, 2017, 121(37): 20158.
- [18] Ye C Q, Zhou L W, Wang X M, et al. Physical Chemistry Chemical Physics, 2016, 18(10): 10818.
- [19] CHEN Jia, YE Chang-qing, ZHU Sai-jiang, et al(陈佳, 叶常青, 朱赛江, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2018, 38(3): 715.
- [20] Xu M, Zou X M, Su Q Q, et al. Nature Communication, 2018, 9: 2698.
- [21] Cai J H, Liu J C, Wang T, et al. Journal of Materials Chemistry C, 2018, 6: 3849.
- [22] Wang J X, Wen Y Q, Feng X J, et al. Macromolecular Rapid Communications, 2006, 27(3): 188.
- [23] WAN Lun, ZHANG Man-bo, WANG Jing-xia, et al(万伦, 张漫波, 王京霞, 等). Acta Chimica Sinica(化学学报), 2016, 74(8): 639.
- [24] Heskins M, Guillet J E. Journal of Macromolecular Science: Part A-Chemistry, 1968, 2: 1441.

Ratiometric Fluorescent Temperature Probe Based on Up/Down-Conversion Luminescence

CHEN Shuo-ran¹, ZHENG Dao-yuan¹, LIU Teng¹, YE Chang-qing^{1*}, SONG Yan-lin²

1. Research Center for Green Printing Nanophotonic Materials, Jiangsu Key Laboratory for Environmental Functional Materials, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China
2. Key Laboratory of Green Printing, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

Abstract The visual and real-time monitoring of temperature has always been an attractive research direction. Fluorescent sensing is a semi-invasive temperature detecting method with the advantages of high-sensitivity, rapid-response and real-time visualization, which has been widely applied in biomedicine. However, conventional fluorescent detecting results can be easily effected by the fluctuation of external conditions which can cause deviation. Therefore, ratiometric fluorescent probes have been developed to solve this problem, because the two fluorescent signals can achieve intercalibration, improving the accuracy of the method. Traditional ratiometric fluorescent temperature probes are always based on down-conversion emission (fluorescence). This type of probes requires excitation at short wavelength like ultraviolet, which has poor penetrability and potential damage to biological tissues. Besides, the auto fluorescence from tissues become strong interference to the probes. Frequency upconversion is a photoluminescence phenomenon excited at long wavelength and emitting at short wavelength. Fluorescent probes based on up-conversion can overcome the drawbacks of conventional ones. Triplet-triplet annihilation (TTA) upconversion system requires two kinds of molecules, sensitizer and emitter, and has both up/down-conversion itself, which perfectly meets the requirement of ratiometric fluorescent probes. However, ratiometric fluorescent temperature probes based on TTA upconversion are barely

reported, and even in the reported work, additional reference probe is still needed. Ratiometric fluorescent temperature probes only based on the up/down-conversion luminescence of TTA system itself is still a great challenge. Herein, a traditional TTA system (PdOEP/DPA) is encapsulated into micelles assembled by amphiphilic polymer, Pluronic-F127, yielding a TTA upconversion nanoscale micelle temperature probe. As the temperature rises, the hydrophilicity of PEO segment in Pluronic-F127 decreased, yielding the micelles shrink inward and become smaller. The confined space inside the micelles results in greater collision probability of the TTA molecules, causing higher TTA upconversion efficiency and intensity. Meanwhile, the phosphorescence intensity of sensitizer slightly declines. The ratiometric fluorescence composed of up/down-conversion fluorescence signals of the TTA system can achieve linear detection of temperature from 25 to 60 °C, which can be observed by naked eye due to the color change of the emitting light from magenta to violet. The detecting results also have good repeatability. Encapsulated by thermo-sensitive polymer, the TTA system can be applied both in aqueous solution and in air atmosphere, solving the problems of poor water solubility and quenching by oxygen. Besides, the thermo-sensitive polymer brings the TTA system remarkable temperature response capability. This novel type of ratiometric fluorescent probe based on TTA upconversion micelles shows advantages of simple preparation, great biocompatibility, high sensitivity and human eye recognition. No extra reference probe is needed. This method will open an efficient avenue for vivo temperature detection.

Keywords Triplet-triplet upconversion; Amphiphilic block copolymer; Thermo-sensitive micelle; Ratiometric fluorescent probe

(Received Oct. 22, 2018; accepted Mar. 1, 2019)

* Corresponding author