

纳米金表面修饰与表面等离子体共振传感器的相互作用研究^{*}

郝 鹏 吴一辉[†] 张 平

(中国科学院长春光学精密机械与物理研究所 应用光学国家重点实验室, 长春 130033)

(2009 年 10 月 29 日收到 2010 年 1 月 29 日收到修改稿)

为了分析纳米金表面修饰对表面等离子体共振 (SPR) 的放大作用, 以及其对传感器本身的影响, 首先, 基于色散介质的吸收理论, 通过建立波长型 SPR 生物传感器四层膜结构的数学模型, 理论分析了传感器表面所吸附纳米金对传感器的影响: 纳米金的表面修饰, 改变了表面等离子体传感器中棱镜表面各介质层内电磁场的能量分布, 削弱了金属膜在共振吸收中的作用, 从而使 SPR 曲线的半波宽度增加, 最小反射系数增大, 金膜的最优膜厚度也随之改变. 其次, 通过不同厚度的金膜外吸附纳米金的对比试验, 验证了此理论. 金膜厚 45 nm、表面修饰 10 nm 纳米金颗粒后, 传感器的折射率灵敏度比金膜 48 nm 未吸附纳米金 SPR 传感器折射率灵敏度提高了近 1.5 倍.

关键词: 表面等离子体共振, 生物传感器, 纳米金, 金属膜

PACC: 7320M, 4225B, 7360D

1. 引 言

上世纪 90 年代初, 表面等离子体共振 (surface plasmon resonance, SPR) 技术首次应用于生物分子相互作用研究方面, 由于其可实时监测反应的动态过程, 且样品无需标记和纯化的优点, 现已成为药物筛选、临床诊断、食品和环境监测、以及生命科学等领域一种强大的分析测试手段, 且取得了瞩目的进展^[1-6]. 近期, 一些研究者如 Gu, Liebermann 等发展了胶体金 SPR、荧光增强 SPR 技术通过在金膜表面引入一层吸收介质膜, 运用表面功能化技术从物理和生物两个层面进行信号放大提高其探测灵敏度^[7-11]. 但是, 吸收介质膜引入的同时, 也对传感器本身带来了一定的影响. 对此, 本文基于色散介质的吸收理论, 通过建立数学模型, 针对纳米金表面修饰对 SPR 传感器信号的放大作用这一现象, 通过电磁场在各层分布的变化情况, 分析金膜表面引入纳米金薄膜对 SPR 生物传感器产生的影响; 并进行试验验证.

2. 理论分析

对于 Kretschmann 结构的波长型 SPR 生物传感器, 根据菲涅尔公式^[12,13], 可得 P 偏振光反射和折射系数

$$r = \frac{(M_{11} + M_{12}q_D)q_p - (M_{21} + M_{22}q_D)}{(M_{11} + M_{12}q_D)q_p + (M_{21} + M_{22}q_D)},$$

$$t = \frac{2q_p}{(M_{11} + M_{12}q_D)q_p + (M_{21} + M_{22}q_D)}, \quad (1)$$

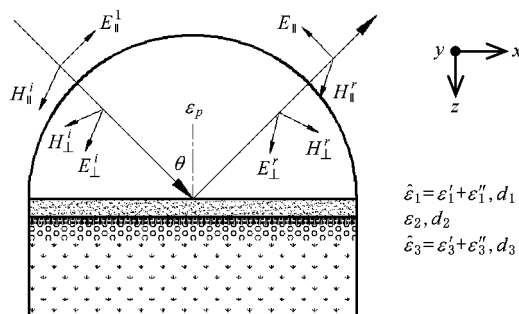


图 1 波长型 SPR 原理

其中膜系特征矩阵 M 为

^{*} 国家自然科学基金 (批准号: 60971025) 和国家高技术研究发展计划 (863 计划) (批准号: 2007AA042102) 资助的课题.

[†] 通讯联系人. E-mail: yihuiwu@ciomp.ac.cn

$$M = \prod_{j=1}^3 \begin{bmatrix} \cos(k_{zj}d_j) & -\frac{i}{q_j}\sin(k_{zj}d_j) \\ -iq_j\sin(k_{zj}d_j) & \cos(k_{zj}d_j) \end{bmatrix},$$

$q_j = k_{zj}/\hat{\varepsilon}_j$, $k_{zj} = [(2\pi/\lambda)^2 \hat{\varepsilon}_j - k_{xp}^2]^{1/2}$ ($j = P, 1, 2, 3, D$) 为 j 层 Z 方向的波矢, $k_{xp} = (2\pi/\lambda) [\varepsilon_p \sin^2 \theta]^{1/2}$ 为棱镜中 X 方向的波矢, 位于第 i 层介质中, 与棱镜表面距离为 z 的某点 TM 波的电场强度可由菲涅耳反射和折射系数表示为

$$\begin{aligned} \langle H_{yz}^2 \rangle &= |U_z|^2, \\ \langle E_{xz}^2 \rangle &= \frac{\varepsilon_p}{(2\pi/\lambda)^2} |V_z|^2, \\ \langle E_{zz}^2 \rangle &= \frac{k_{xp}^2}{(2\pi/\lambda)^2 |\hat{\varepsilon}_j|} |U_z|^2, \end{aligned} \quad (2)$$

其中

$$\begin{aligned} \begin{bmatrix} U_z \\ V_z \end{bmatrix} &= \begin{bmatrix} \cos(k_{zl}\Delta z) & i\frac{\hat{\varepsilon}_l}{k_{zl}}\sin(k_{zl}\Delta z) \\ i\frac{k_{zl}}{\hat{\varepsilon}_l}\sin(k_{zl}\Delta z) & \cos(k_{zl}\Delta z) \end{bmatrix} \\ &\times \prod_{j=1}^N \begin{bmatrix} \cos(k_{zj}d_j) & -i\frac{\hat{\varepsilon}_j}{k_{zj}}\sin(k_{zj}d_j) \\ -i\frac{k_{zj}}{\hat{\varepsilon}_j}\sin(k_{zj}d_j) & \cos(k_{zj}d_j) \end{bmatrix} \\ &\times \begin{bmatrix} t \\ k_{zD}t \\ \hat{\varepsilon}_D \end{bmatrix} H^i, \end{aligned}$$

$\Delta z = z - \sum_{j=1}^l d_j$ 为此点到 $l/(l-1)$ 界面处的距离, 入射 TM 波的磁场强度 $H^i = (\varepsilon_p)^{1/2} E^i$ (E^i 为电场强度).

一束平行 P 偏振光以入射角 θ 照射在棱镜和金膜(厚度约为 48 nm)表面, 当入射角 θ 大于全反射临界角时, 在棱镜与金膜界面处产生消逝场, 其 X 方向的波矢与表面等离子体波波矢相匹配时, 产生表面等离子体共振. 由于金膜为吸收介质, 其介电常数虚部不为零, 在共振时导致能量的损耗. 所以, 在吸收介质(金膜)引起能量损耗的情况下, 其反射率也可表示为^[11, 12]

$$\begin{aligned} R(\lambda) &= 1 - A \\ &= 1 - \left(\frac{2\pi}{\lambda} \right) \frac{1}{k_{zp}(\lambda)} \int_0^{d_1} \varepsilon_1'' \langle E^2(\lambda) \rangle dz, \end{aligned} \quad (3)$$

其中, A 为由于吸收引起的损耗率, 电场强度 $\langle E^2 \rangle = \langle E_x^2 \rangle + \langle E_z^2 \rangle$.

为提高其探测灵敏度, 通过表面修饰, 在金膜

外再引入一层吸收介质膜后, 金膜导致能量损耗的同时复介电常数的吸收介质, 也会导致表面等离子体波能量的损耗. 因此, 此时的反射率 R 为

$$\begin{aligned} R(\lambda) &= 1 - A \\ &= 1 - \left(\frac{2\pi}{\lambda} \right) \frac{1}{k_{zp}(\lambda)} \left[\int_0^{d_1} \varepsilon_1'' \langle E^2(\lambda) \rangle dz \right. \\ &\quad \left. + \int_{d_2}^{d_2+d_3} \varepsilon_3'' \langle E^2(\lambda) \rangle dz \right]. \end{aligned} \quad (4)$$

对于表面修饰的纳米金复合膜, 当纳米金颗粒的浓度小于 1/3, 颗粒形状近似球形和椭球形, 且直径远远小于入射光的波长时, 可采用麦克斯韦-噶尼特(Maxwell-Garnett)模型进行有效介质近似^[14-17], 其等效介电常数 ε_e 为

$$\varepsilon_3 = \varepsilon_e = \varepsilon_m \frac{\varepsilon_i(1+2\phi) + 2\varepsilon_m(1-\phi)}{\varepsilon_i(1-\phi) + \varepsilon_m(2+\phi)}, \quad (5)$$

其中 ε_m 为金的介电常数, ε_i 为基体的介电常数, ϕ 为纳米金颗粒的浓度. 其他各参数为

棱镜: $\varepsilon_p = 2.30$;

金膜^[4]: $\hat{\varepsilon}_1(\lambda) = \varepsilon_1' + i\varepsilon_1'' = 1 - \frac{\lambda^2 \lambda_c}{\lambda_p^2 (\lambda_c + i\lambda)} \lambda_c$
 $= 1.6826 \times 10^{-4} \mu\text{m} \lambda_p = 8.9342 \times 10^{-3} \mu\text{m}; d_1 = 50 \text{ nm};$

藕联层: $\varepsilon_2 = 2.143$, $d_2 = 2 \text{ nm}$;

样品溶液: $\varepsilon_D = 1.769$.

理论仿真结果: 如图 2 所示, 金膜外无吸收介质时, 随着样品折射率的增加, 共振波长随着折射率的增加而发生红移, 半波宽度、共振峰处的反射率最小值不变; 如图 3 所示, 金膜外修饰纳米金薄膜(吸收介质薄膜)后, 共振波长在随着折射率的增加而发生红移的同时, 半波宽度变大, 共振时的反射率也随之变大. 在无吸收介质薄膜时, 能量的吸收是由于金属膜所产生, 折射率的变化, 只是引起了

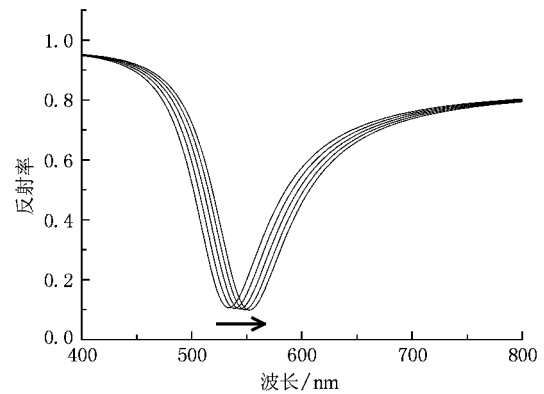


图 2 无吸收介质膜的不同膜厚的波长 SPR 谱线

共振条件的改变,并未影响到电磁场能量的消耗;而存在纳米金薄膜(吸收介质薄膜)时,能量的消耗不仅仅发生于金属膜内部,吸收介质膜同样也会引起能量的消耗.

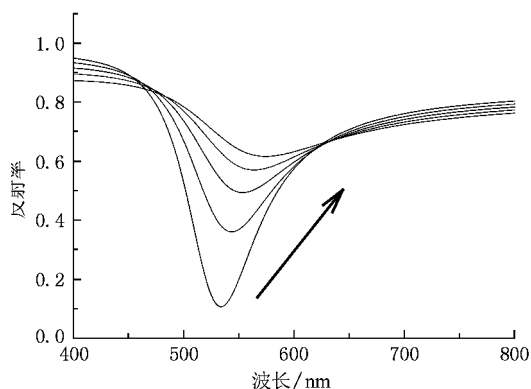


图3 吸收介质膜的不同膜厚的波长 SPR 谱线

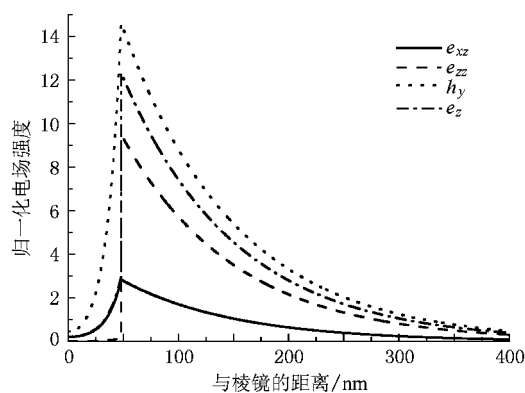


图4 棱镜外的电磁场强度分布情况

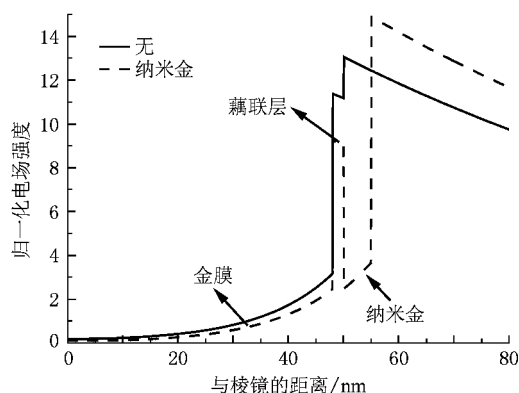


图5 有无纳米金的电场强度分布情况

如图4所示,当金膜外无纳米金薄膜时,棱镜外金膜和样品内部的电磁场分布情况,电场强度在金膜与样品界面处最强,并向此界面处的两侧逐渐衰

减,而当金膜外吸附纳米金层吸收介质后,如图5所示,改变了各层内电磁场的分布状况,金膜内的电场强度由于此纳米金薄膜的引入,电场强度减弱,使表面等离子体波电磁场(消逝场)一部分能量消耗被吸收介质所分担,样品内的电磁场强度增加.由于纳米金薄膜的作用,金属膜内电场强度变弱,金属膜在共振吸收中的作用也就相对的减弱,从而使半波宽度变大,共振时的反射率也随之变大.

由上分析可知,当金膜表面修饰纳米金后,被测样品折射率的变化不仅会导致表面等离子体波共振条件的变化,而且也会导致纳米金吸收介质层等效介电常数的增加,实际被测信号应为两者的叠加,从而对测试信号起到了放大作用.纳米金薄膜的引入对 SPR 生物传感器灵敏度的影响,如图6所示,相同量的折射率变化,有纳米金表修饰的吸收介质引起共振波长的变化量大约是无纳米金吸收介质的1.6倍,即由于引入了纳米金吸收介质,从物理层面上,对信号起到了1.6倍的放大作用.

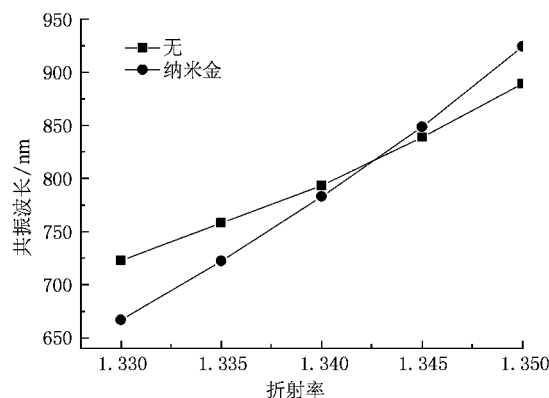


图6 共振波长-样品折射率的关系

在纳米金吸收介质引入的同时,也给 SPR 传感器自身带来一些不利影响,如共振曲线的半波宽度和共振点反射率增加,其原因是棱镜表面各层电磁场能量分布发生了变化,所以可以通过改变金膜的膜厚来调整其能量分布.

3. 试验验证

实验采用脒胺为偶联剂,在金膜表面形成半脒胺 SAM,当有胶体金溶液通过时,脒胺另一端的氨基依靠静电力将纳米金进行吸附.实验时先将金膜表面丙酮超声 10 min,去离子水反复冲洗后用氮气

吹干, 浸入 0.02 mol/L 胱胺盐酸盐溶液中, 室温下放置 24 h, 然后去离子水洗去非特异性吸附的胱胺, 在芯片的表面组装成上一层自组装半胱胺单分子层。

实验 1 选用厚度为 48 nm 金膜, 经过表面修饰, 通入 10 min 去离子水, 待光谱稳定后, 再通入胶体金溶液。图 7 为金膜厚 48 nm、胶体金颗粒为 10 nm 扫描电镜图及实验反应曲线。

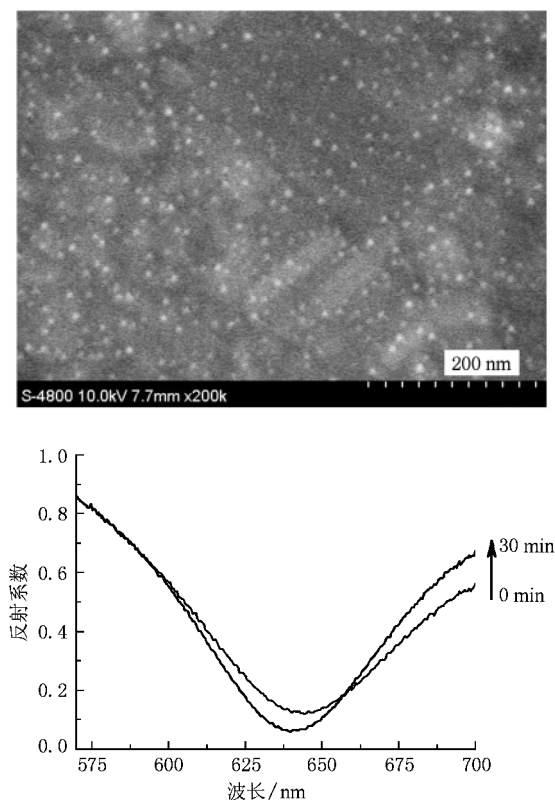


图 7 金膜厚 48 nm, 10 nm 纳米金颗粒扫描电镜图及实验曲线

实验 2 选用厚度为 45 nm 金膜, 经过表面修饰, 通入 10 min 去离子水, 待光谱稳定后, 再通入胶体金溶液。图 8 为金膜厚 45 nm、胶体金颗粒为 10 nm 扫描电镜图及实验反应曲线。

通过以上的两对比实验, 我们可知, 当 SPR 传感器金膜膜厚为 48 nm 时, 如图 7 所示, 随着胶体金在膜表面的吸附, SPR 谱线变得越来越钝, 共振峰处的最小值变大, 并且略微产生红移, 这与数值模拟结果图 3 相一致; 但当金膜的膜厚小于最佳膜厚时, 如图 8 所示, 随着胶体金在膜表面的吸附, SPR 谱线并不是变得越来越钝, 而是变得越来越尖锐, 共振峰处的最小值变小, 共振波长基本上不发生变化。也就是说, 当金膜表面修饰一层吸收介质

薄膜用来进行测试时, 如金膜膜厚仍按照以前设计原则进行设计, SPR 谱线将会由于吸收介质薄膜的存在而半波带宽增加, 因此最佳膜厚应该由于吸收介质纳米金的引入而减小。

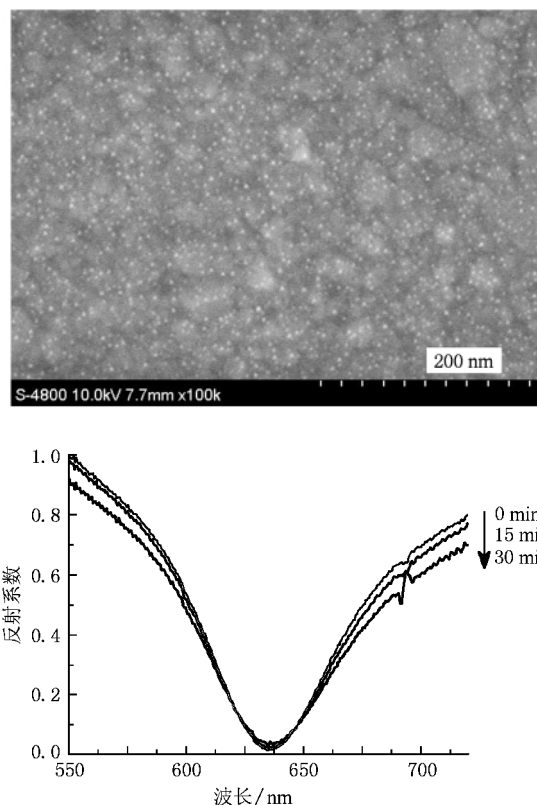


图 8 金膜厚 45 nm, 10 nm 纳米金颗粒扫描电镜图及实验曲线

金膜厚为 48 nm 和金膜厚 45 nm、表面修饰胶体金颗粒为 10 nm 两传感芯片测试不同折射率甘油去离子水溶液的测试曲线如图 9 所示, 测试结果基本上与理论分析相一致, 由于纳米金的表面修饰, 传感器的折射率灵敏度提高了近 1.5 倍。

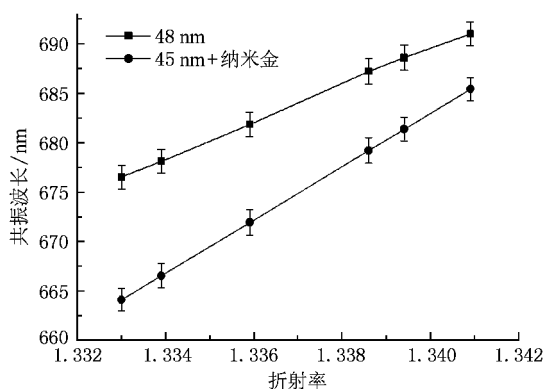


图 9 有无纳米金折射率测试实验

4. 结 论

为了克服 SPR 生物传感器探测生物小分子(如蛋白质片断、小分子量药品)灵敏低的缺点,常常通过在金膜表面引入一层吸收介质膜,如胶体金 SPR、荧光增强 SPR 等对信号进行放大;但是,在吸收介质层引入的同时也会给对 SPR 生物传感器带来一些不利的影响.

在色散介质的吸收理论基础上,通过对纳米金表面修饰对传感器的影响理论仿真,可以看出:由

于对纳米金薄膜的引入,棱镜表面金属膜内电磁场的能量变化情况,随着吸收介质膜厚的增加金属膜内电场强度变弱,金属膜在共振吸收中的作用也就相对减弱;在纳米金吸收介质引入的同时,共振曲线的半波宽度和共振点反射率增加,对 SPR 传感器自身也产生了影响.因此,必须对整个系统进行优化,通过改变金属膜的膜厚来调整其能量分布,另外,通过不同厚度的金膜外吸附纳米金对比实验,也说明了考虑纳米金薄膜的影响,对整个系统进行重新优化的必要性.

-
- [1] Hong X, du D D, Qiu Z R, Zhang G X 2007 *Acta Phys. Sin.* **56** 7219 (in Chinese) [洪 昕、杜丹丹、裘祖荣、张国雄 2007 物理学报 **56** 7219]
- [2] Kooyman R P H, Kolkman H, Van Gent J, Greve J 1988 *Anal. Chim. Acta* **213** 35
- [3] Homola J, Yee S S, Gauglitz G 1999 *Sens. Actuators B Chem.* **54** 3
- [4] Okamoto T, Yamaguchi I 2003 *J. Phys. Chem. B* **107** 10321
- [5] Hansen W N 1968 *J. Opt. Soc. Am.* **58** 380
- [6] Zheng X H, Wang Y Q, Zhang Y 2009 *Acta Phys. Sin.* **58** 8751 (in Chinese) [郑显华、王瑛琪、张 岩 2009 物理学报 **58** 8751]
- [7] He L, Musick M D, Nicewarner S R, Salinas F G, Benkovic S J, Natan M J, Keating C D 2000 *J. Am. Chem. Soc.* **122** 9071
- [8] Hanning A, Roeraade J, Delrow J J, Jorgenson R C 1999 *Sens. Actuators B* **54** 25
- [9] Lee C M, Liao C H, Chang L B, Chiao T L 1996 *Jpn. J. Appl. Phys.* **35** 5448
- [10] Baba A, Park M K, Advincula R C, Knoll W 2002 *Langmuir* **18** 4648
- [11] Johnson P B, Christy R W 1972 *Phys. Rev. B* **6** 4370
- [12] Ekgasit S, Thammacharoen C, Knoll W 2004 *Anal. Chem.* **76** 561
- [13] Ekgasit S, Thammacharoen C, Yu F, Knoll W 2004 *Anal. Chem.* **75** 2210
- [14] Dobierzewska-Mozrzymas E, Wojcik J, Bieganski P, Pieciul E 1999 *Vacuum* **54** 289
- [15] Wang P H, Dai X H, Zhao X L, Song X P, Sun Z Q 2006 *Acta Optica Sinica* **26** 1871 [王佩红、戴旭涵、赵小林、宋学萍、孙兆奇 2006 光学学报 **26** 1871]
- [16] Born M, Wolf E (Translated by Yang J S) 1978 *Principles of Optics* (Beijing: Science Press). p182—190 (in Chinese) [玻恩、沃尔夫、杨葭孙译 1978 光学原理(北京:科学出版社)第182—190页]
- [17] Guo Y N, Xue W R, Zhang W M 2009 *Acta Phys. Sin.* **58** 4168 (in Chinese) [郭亚楠、薛文瑞、张文梅 2009 物理学报 **58** 4068]

Study of interaction of surface plasmon resonance sensor with nano-gold^{*}

Hao Peng Wu Yi-Hui[†] Zhang Ping

(*National Key Lab of Applied Optics, Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, China*)

(Received 29 October 2009; revised manuscript received 29 January 2010)

Abstract

For a quantitative analysis of the detection performance of wavelength surface plasmon resonance sensor after the introduction of absorbing thin films, a mathematical model was established for the wavelength SPR biosensor. Based on absorption theory of dispersive media, the distribution of electromagnetic field in each film outside the prism is calculated. The results show that, after introducing the absorbing thin films, electromagnetic field energy distribution in each layer out of the prism surfaces was changed, the metal film contribution on the resonance absorption was reduced, which increases the half wave width of SPR curve and the minimum reflection coefficient, so the optimal film thickness of metal film was also changed. Then the effect of colloidal gold and immunogold on SPR biosensor has been theoretically and experimentally verified. The result shows that, compared with the 48 nm gold film SPR sensor, the sensitivity increases 1.5 times when 45 nm gold film is surface-modified with 10 nm nano-gold.

Keywords: surface plasmon resonance, biosensors, nano-gold, metal films

PACC: 7320M, 4225B, 7360D

^{*} Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 60971025), the National High Technology Research and Development Program of China (Grant No. 2007AA042102).

[†] Corresponding author. E-mail: yihuiwu@ciomp.ac.cn