

第一章 前言

1.1 金属纳米结构

金属纳米结构是指至少有一维尺度在纳米级(100nm 以下)的金属结构。纳米材料具有表面效应、量子尺寸效应、宏观量子隧道效应、介电限域效应等效应,使得纳米材料的各种物理、化学性质与常规材料不同,表现出崭新性能^[1-4]。其中表面效应和量子尺寸效应是纳米材料最基本、最重要的特性,它使纳米材料呈现出与体相材料不同的奇异光学性质。作为纳米材料中重要的成员,金、银等贵金属纳米材料具有独特的物理、化学性能和良好的应用前景。金属的一切光学和电学性质都与金属表面的自由电子有关系,在金属电子论中,金属中的自由电子可以用自由电子气模型来表示:即价电子是完全共有化的,构成金属中导电的自由电子,离子实与价电子的相互作用完全被忽略,而且自由电子被视为毫无相互作用的理想气体,为了保持金属的电中性,可以设想将离子实的正电荷散布于整个体积之中,和自由电子的负电荷正好中和,正是由于这种自由电子气模型和常规等离子体相似,所以叫做金属中的等离子体^[5]。当电磁波作用于等离子体时,电场和等离子体流的相互运动使等离子体发生振荡,当电磁波的频率和等离子体振荡频率相同时,就会产生共振,称为体相等离子体共振,相似地在金属纳米粒子表面的自由电子,将发生局域化的、非传播的局部表面等离子体共振现象(localized surface plasmon resonance, LSPR)^[6-11]。每一种金属材料都有它固有的等离子体振荡频率,所以金属的表面等离子体共振频率反映了其光学性质。由于表面自由电子集体激发所产生的等离子体共振使金、银纳米颗粒具有很好的光学特性,大量研究已表明金属纳米结构的光学性质特别是 LSPR 频率依赖于包括纳米粒子的尺寸、形状、表面状态以及周围介质等在内的诸多因素^[12-33],因此金属纳米结构具有可控(可调节)的光学性质,使得其在新型传感器、纳电子及光子器件、表面增强光谱学及生物医学等诸多领域都有着极为重要的应用;金、银纳米颗粒的独特可调的光学特性使其可用作各种光学元件,如光学标签、光学滤波器和光学开关等。良好的生物活性和相容性使金、银纳米颗粒在生物医学、生物医药方面有广泛的应用前景,既可用作为超敏感生物传感器来检测 DNA 和一些抗体,也可作为某些生物分子如酶和特殊药物的

载体。另外,金属纳米粒子的局域表面等离子体共振除了对粒子的吸收、散射、消光等线性光学性质起决定性的影响外,它还可造成粒子表面某些部位的局域电磁场激增。这种局域化的电磁场增强将引起表面增强拉曼散射这一奇妙的物理现象^[34-45],即吸附在粒子表面的探针分子的拉曼光谱信号相对于自由分子的拉曼光谱信号可得到数百万倍甚至数百万亿倍的增强,因此金、银纳米颗粒同时也是典型的拉曼效应增强剂,可对多种有机分子的拉曼散射信号进行增强,通过调节单体颗粒的光吸收特性,使其吸收峰位置接近激发光源波长,对所检测分子的拉曼效应可产生最大程度的增强,有望用于单分子检测,这对于环境安全及其他应用有着极其重要的作用。

在理论方面,为了更深入地理解金属纳米粒子的光学性质以加速合成具有特定性质的纳米粒子,近年来发展了很多研究金属纳米粒子的光学性质的理论和方法^[46-58],主要有针对各向同性球形金属纳米粒子的 Mie 理论、在 Mie 理论上发展而来针对椭球状金属纳米粒子的 Gans 理论、针对任意形状金属纳米粒子的离散偶极子近似 (DDA) 方法和时域有限差分 (FDTD) 法等几种。其中, Mie 理论用严格的数学方法解析求解麦克斯韦方程组,给出了对光的吸收和散射的严格数学解析解,是研究金属纳米粒子线性光学性质的最基本工具之一,也是检验其它各类新发展的数值处理方法是否合理的重要标准。Gans 理论对尺寸较小的细长或扁平的椭球体可得到很好的结果,同时 Gans 理论对长径比较小的纳米棒的光学性质研究也有一定的借鉴意义。DDA 可对任意形状的金属纳米粒子单体的消光谱进行计算,通过扩展可以计算阵列的消光谱,也可以计算粒子周围的电场分布, FDTD 方法有很多商业软件,如 OptiWare 公司的 OptiFDTD, Lumerical 公司的 Lumerical FDTD 等,因此使用方便,而且 FDTD 方法对周期结构的计算具有独到的优势,这也是它应用广泛的原因。

在金属纳米结构制作和观察方面,近十年来通过物理或化学的方法,人们在合成尺寸及形状可控的金属纳米粒子方面不断取得突破,相继制备了立方体、三角形、棱柱状、棒(线)状、核壳结构等各种形状和结构组成的金属纳米粒子^[59-78],为各种有特异性能的功能材料的研制提供了有力保证,特别是纳米球光刻 (Nanosphere lithography, NSL)^[79-83]、纳米压印 (Nanoimprint lithography, NIL)^[84-87]等可大面积

制造纳米结构的方法为工业级的纳米结构制作, 电子束光刻(Electron-beam lithography, EBL)^[88-90]、聚焦离子束(Focused ion beam lithography, FIB)^[91-95]等小面积但高精度的制作技术为研究级的纳米结构制作提供了很好的支持。而透射电镜(TEM)、扫描电镜(SEM)、紫外-可见吸收光谱(UV-VIS)及表面增强拉曼散射光谱(SERS)等观测技术手段又为这些纳米粒子的形貌与光学性质的相互关联提供了方便、实时的手段。

1.2 拉曼散射和拉曼光谱

拉曼(Raman)散射效应是光与物质相互作用的一种形式, 按照现代量子理论, 拉曼散射效应的实质是光子与散射物质的分子之间发生了非弹性碰撞, 光子与分子之间发生能量的交换, 光子的运动方向和频率均发生变化, 从而使入射光子的能量和动量都发生改变^[6]。由于拉曼散射强度非常弱, 大约为瑞利散射的千分之一, 所以一直到 1928 年才被印度物理学家拉曼等所发现。拉曼光谱是一种散射光谱。在上世纪 30 年代, 拉曼散射光谱曾是研究分子结构的主要手段。后来随着实验内容的不断深入, 拉曼光谱的弱点(主要是拉曼效应太弱)越来越突出, 特别是 40 年代以后由于红外光谱的迅速发展, 拉曼光谱的地位更是一落千丈。自 1960 年激光器问世并将这种新型光源引入拉曼光谱后, 拉曼光谱出现了崭新的局面。目前激光拉曼光谱广泛应用于化学化工、生物、材料、医学、环保等各个领域, 成为重要的分析工具。

拉曼光谱包括当光子中的部分能量传递给分子时辐射的斯托克斯线和光子从分子得到部分能量时辐射的反斯托克斯线, 它们对称地分布在瑞利线的两侧^[7](见图 1-1)。瑞利线来自于瑞利散射, 强度最强, 其频率是激发光的频率, 因此又叫激发线。位于瑞利线左侧(低频侧)的是斯托克斯线, 它与瑞利线的频差为称为“喇曼频移”的 $\Delta\nu$, 其强度比瑞利线弱得多, 约为瑞利线的几百分之一至上万分之一。在瑞利线的另一边, 出现与斯托克斯线相对称的反斯托克斯线, 但反斯托克斯线的强度远小于斯托克斯线的强度, 这是由于 Boltzmann 分布使处于振动基态上的粒子数远大于处于振动激发态上的粒子数造成的。斯托克斯线和反斯托克斯线通常统称为拉曼线, 其频率常表示为 $\nu_0 \pm \Delta\nu$, 拉曼频移 $\Delta\nu$ 是拉曼散射物质自身的特性, 与激

发光频率 ν_0 无关。

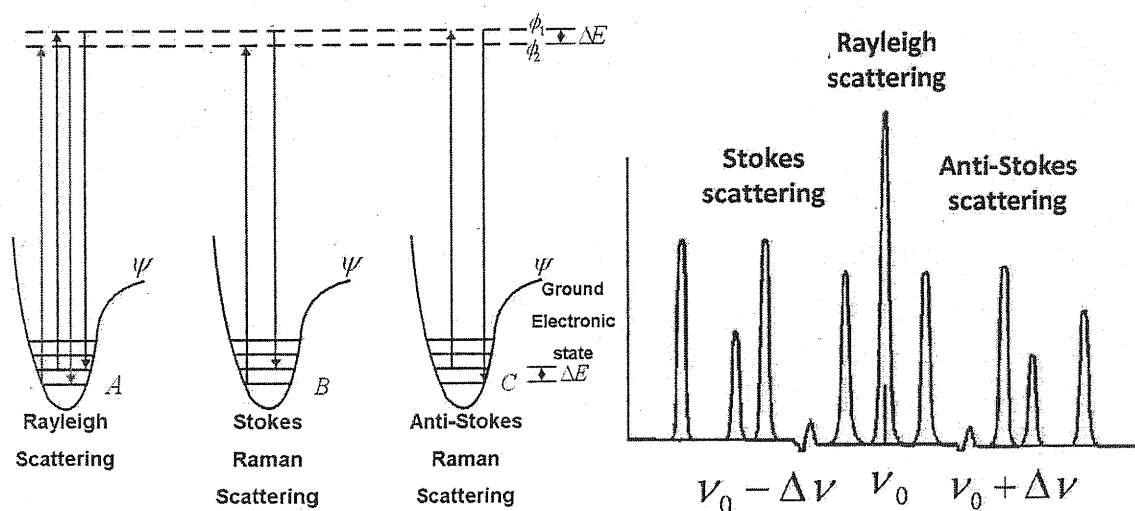


图 1-1 (左) 拉曼散射过程示意图, 和(右) 拉曼光谱示意图^[7].

从光量子的角度来解释拉曼效应: 频率为入射光 ν_0 , 其光量子能量为 $h\nu_0$ (h 为 Plank 常数), 作用到散射分子上, 散射分子自身的振动频率为 ν_1 , 具有振动能 $h\nu_1$, 入射光子与散射分子发生碰撞, 碰撞结果不仅使入射光子改变其飞行方向, 向旁边散射, 而且还改变了光子的能量, 如果碰撞的是处于振动基态的分子, 那么碰撞的结果是光量子把部分能量传给分子, 光量子能量减少, 形成 stokes 散射线, 反之, 若与光量子碰撞的是处于激发态的分子, 那么碰撞的结果是分子把部分能量传给光子, 光量子能量增加, 形成反 stokes 散射线。经典理论认为光散射现象是由于入射光的电磁波使原子或分子发生电极化造成的, 而拉曼散射则还因为分子的振(转)动引起分子的极化率发生变化。光作为电磁波引起的瞬间电偶极矩为:

$$\mu = \alpha \cdot E = \alpha E_0 \cdot \cos(2\pi\nu_i t) \quad (1.1)$$

其中 α 是分子的极化率, 由于分子中的原子在平衡位置周围振动时, 分子中的电子壳层会发生形变, 因此其极化率 α 不是一个常数, 而是振动坐标 γ 的函数, 即

$$\alpha = \alpha(\gamma) = \alpha_0 + (\gamma - \gamma_{eq}) \left(\frac{\partial \alpha}{\partial \gamma} \right) \quad (1.2)$$

其中振动坐标 γ 与其平衡位置 γ_{eq} 之间的差是振动频率的函数, 即

$$\gamma - \gamma_{eq} = \gamma_m \cos(2\pi\nu_f t) \quad (1.3)$$

于是将式(1.3)代入(1.2)得:

$$\alpha = \alpha_0 + \gamma_m \cos(2\pi\nu_f t) \left(\frac{\partial \alpha}{\partial \gamma} \right) \quad (1.4)$$

再将式(1.4)代入式(1.1)得:

$$\mu = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_i t) + E_0 \gamma_m \left(\frac{\partial \alpha}{\partial \gamma} \right) \cos(2\pi\nu_i t) \cos(2\pi\nu_f t) \quad (1.5)$$

利用数学中的三角函数积化和差的关系得:

$$\mu = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_i t) + \frac{E_0}{2} \gamma_m \left(\frac{\partial \alpha}{\partial \gamma} \right) \cos[2\pi(\nu_i - \nu_f)t] + \frac{E_0}{2} \gamma_m \left(\frac{\partial \alpha}{\partial \gamma} \right) \cos[2\pi(\nu_i + \nu_f)t] \quad (1.6)$$

感应偶极矩在 ν_i , $\nu_i - \nu_f$ 和 $\nu_i + \nu_f$ 三种频率下振动, 它们分别对应瑞利散射、斯托克斯散射和反斯托克斯散射。

由于拉曼效应起源于分子的振动与转动, 拉曼频率及强度、偏振等标志着散射物质的性质, 从拉曼光谱中可以得到分子振动能级与转动能级的信息, 从而可以导出物质结构及物质组成成分的信息, 因此拉曼光谱被誉为分子的指纹谱, 具有高特异性, 无需样品准备, 能够提供快速、可重复、无损伤的定性分析, 这就是拉曼光谱被广泛应用的原因。由于拉曼光谱技术具有对样品无损害的探测特点, 因此拉曼光谱在艺术品鉴别、考古学、刑侦等领域^[96-117]都有所应用。然而由于拉曼散射是二次光子过程, 分子的微分拉曼散射截面通常仅有(甚至低于) $10^{-29} \text{cm}^2 \text{sr}^{-1}$, 约比荧光散射截面低 14 个数量级, 因而检测灵敏度低、对样品的量及采谱时间都有着非常高的要求, 这大大限制了拉曼光谱的应用^[118-124]。

1.3 表面等离子体

贵金属纳米结构产生的光学增强主要归功于表面等离子体(surface plasmon, SP)激励产生的强局域场。如图 1-2 所示, 当入射光作用于导体材料, 应用电场将使在金属-介质界面的电子密度发生振荡。当这种振荡发生集体共振时, 光被吸收而形成表面等离子体(或称为振荡偶极子), 电荷振荡的结果是等离子体将产生从界面(表面)向金属体内和从界面向金属体外的辐射电场。

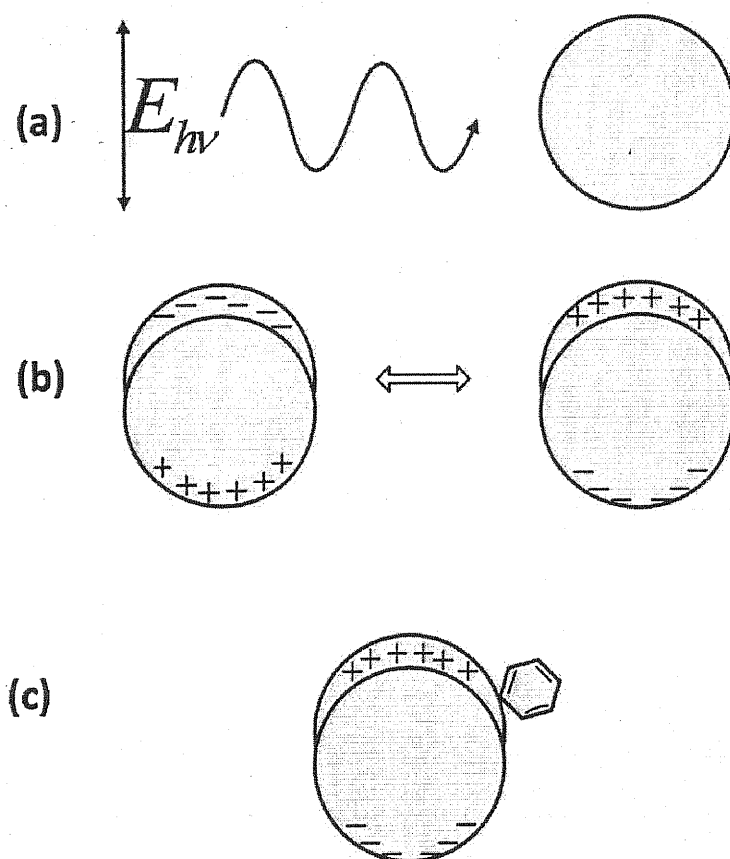


图 1-2 表面等离子体产生、作用示意图. (a) 光在纳米粒子上激励表面等离子体, (b) 表面等离子体在纳米粒子表面周围产生的电场, (c) 分子同表面等离子体产生的电场的交互作用.

入射光子在金属-介质界面耦合形成表面等离子体需要满足一定的条件, 在该过程中能量和动量都守恒。当界面是由平滑的金属表面和低介电常数的材料所形成时, 如光滑的银-空气界面, 由于在这样的界面上不可能满足能量和动量守恒, 那么入射光子将不能被耦合形成表面等离子体, 而波状起伏的光栅结构, 则很容易实现光子与 SP 的耦合, 同样地, 具有纳米粗糙度的金属膜、具有尖端的表面也都可以实现入射光子与 SP 的耦合。

局域表面等离子体为贵金属纳米结构的许多独特光学特性提供了基础。当表面等离子体被限制在一个很小的区域, 如作用在纳米粒子表面的 SP, 其诱导的电场将在这个限域内获得增强。处于该局部增强场内的分子与该等离子体场作用, 如图 1-2c 所示, 其散射场将大大增强。为了与在粗糙连续平面上的表面等离子体相区别, 这种限域的表面等离子体通常被称为局域表面等离子体 (localized surface Plasmon, LSP), 又叫粒子等离子体 (particle Plasmon)。对于尺寸远小于入射光波长的球形纳

米粒子来说, 其表面等离子体诱导的局部电场可以等效处理为一个振荡偶极子的辐射电场(见图 1-3), 其电场强度依赖于金属及其周围介质的介电函数, 即 ε_m 和 ε_s , 该关系可表示如下:

$$E_{SP} \propto \frac{\varepsilon_m(\lambda) - \varepsilon_s(\lambda)}{\varepsilon_m(\lambda) + 2\varepsilon_s(\lambda)} \quad (1.7)$$

最大电场强度发生在等离子体共振时即 $\varepsilon_m(\lambda) = -2\varepsilon_s(\lambda)$ 时, 在可见光波段, 金、银等几种贵金属的介电函数可满足这一条件, 这也是这几种贵金属被广泛用作等离子体材料的原因。

在尺寸大于 $\lambda/10$ 的粒子中的表面等离子体共振(surface Plasmon resonance, SPR)高度依赖于粒子的尺寸和形状, Van Duyne 及其合作者^[80]已经展示了采用光刻技术制作的在尺寸上差异较小的 Ag 纳米粒子的 SPR 如何受其尺寸的影响; 另外, 周围介质的介电函数对 SPR 也有影响, Van Duyne 等^[13]的研究表明随着周围介质折射率的提高, SPR 波长红移, 而且在高纵横比的纳米粒子上发现了折射率每变化 0.005 个单位粒子的 SPR 波长可移动 1nm, 即使距离该纳米粒子很远的环境介质发生变化, 如距离远达 90nm 的环境介质的折射率发生变化, 也仍然会影响粒子的 SPR 波长。

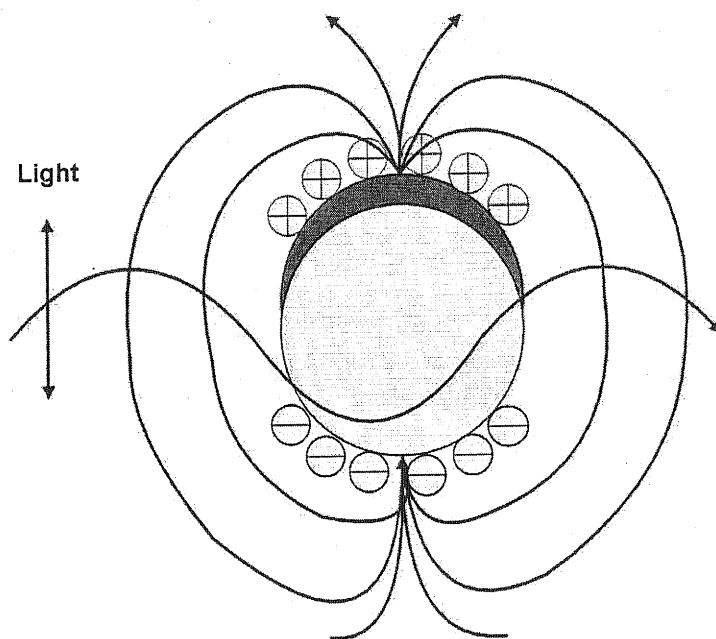


图 1-3 金属纳米粒子上的粒子等离子体激励

对于非球形纳米粒子, SP 诱导的电场不是均匀地分布在粒子表面周围, 对那些

带有尖端的粒子,由于“避雷针”效应(lightning rod effect),其电场分布十分复杂,其额外的电场增强因子可达到100到1000,据研究预测,对于扁长粒子来说,“避雷针”效应在扁长粒子的顶端达到最强,而对于扁平粒子来说,“避雷针”效应则在粒子的腰部达到最强。

对于间隙很小($<100\text{nm}$)的纳米粒子阵列(团簇)来说,偶极子振荡体相互耦合,产生团簇SP,该SP的共振特性强烈地依赖于结构的几何形状、激励波长和激励偏振态,粒子间的SP耦合将在粒子间隙区域产生很大的电场。

1.4 表面增强拉曼散射(SERS)和光谱

早在1974年,英国南安普顿大学的Fleischmann等人发现吸附在粗糙的银电极上的吡啶分子能产生很强的拉曼散射^[125],1977年,美国西北大学的Van Duyne以及Creighton两个小组^[126-127]各自独立地发现,吸附在粗糙银电极表面的每个吡啶分子的拉曼信号要比溶液中单个吡啶分子的拉曼信号大约强 10^6 倍。他们认为这种异常高的拉曼信号的增强不能简单地归因于银电极表面粗糙化后吸附的散射物质数量的增加,而必然存在某种新的物理效应,这种不同寻常的拉曼散射增强现象后来被称为表面增强拉曼散射。可见,表面增强拉曼散射(Surface-Enhanced Raman Scattering, SERS)实际是人们将激光拉曼光谱应用于表面科学研究的探索中所发现的一种异常表面光学现象,是一种具有表面选择性的增强光学效应,它可将表面分子的拉曼信号放大约百万倍,甚至对于某些纳米粒子体系可放大至百万亿倍。它的发现轰动了表面科学学术界,引起了光谱学家、电化学家及表面化学工作者的极大兴趣,人们随后在其它粗糙表面(如真空蒸镀的金属岛膜、化学制备的金属溶胶等)上也观察到了SERS现象,并且又发现了其它的表面增强光学效应(如表面增强红外(SEIRS)、表面增强二次谐波(SSHG)),从此以后SERS逐渐发展成一个非常活跃的研究领域。

但是发展SERS技术的进程中遇到了三大障碍^[119]: (1)仅有金、银、铜三种金属和少数极不常用的碱金属(如锂、钠等)具有强的SERS效应,而许多具有重要和广泛应用背景的过渡金属皆为非SERS活性金属; (2)金、银、铜金属尚需表面粗糙化处理之后才具有高SERS活性; (3)迄今没有一种SERS理论可以解释实验上所观察到的

种种复杂现象,物理增强和化学增强两大阵营一直争论不休。这三大难题最终导致SERS的研究热潮自80年代后期起逐渐衰落,直到上世纪90年代后期,美国的聂叔明^[128]和德国的Kneipp等^[139]分别采用SERS技术检测到吸附于银纳米颗粒的单个分子后,SERS的研究才又重新成为热点,随后SERS技术被提升为新兴的单分子科学的研究手段之一。而在表面化学方面,我国科学家田中群教授等^[120]在一系列的纯过渡金属体系上发现了SERS效应,将SERS的活性材料从少数贵金属拓展到了过渡金属。

表面增强拉曼散射的增强机理目前尚处于研究中,存在以物理(电磁场)增强机理和以化学(电荷转移)增强机理为主的两大学派^[98,129-134],而且两者在总的SERS中的贡献针对不同的体系而有所不同。物理增强机理主要考虑金属表面局域电场的增强,而化学增强机理主要考虑金属与分子间的化学作用所导致的极化率改变。目前,以金属的表面等离子体共振模型为代表的、具有长程效应的、与吸附分子种类无关的物理增强(即电磁增强)机制比电荷转移机制更成熟而且被普遍接受。电磁增强理论表明当入射光频率接近作为SERS效应载体的金属纳米粒子中自由电子的振荡频率时,在SERS活性基底上将发生局部表面等离子体共振现象(LSPR),吸附在SERS基底上的分子处于这样一个强电磁场中,其拉曼散射信号将被大大放大。

拉曼光谱技术的主要缺点是灵敏度差,而基于表面增强效应的SERS光谱,由于其巨大的放大效应,而具有极高的灵敏度,能够实现皮克(pg)和皮摩尔每升(pmol/L)的痕量探测,可以实现超低浓度溶液中的单分子检测并在单分子水平上研究分子的结构信息,特别适合在单分子水平上研究和探测液相生物,在痕量分析、生命科学、国防安全、化学及工业、环境科学、生物医学体系、纳米材料以及传感器等方面有独到优势并已很快取得了广泛应用^[135-148]。

过去几十年来的SERS实验及理论研究表明^[119],SERS效应主要是纳米尺度的粗糙表面或纳米颗粒体系所具有的异常光学增强现象,该现象与纳米科学密切相关,有许多亟待于深入研究的重要科学问题,全面认识SERS不但是表面科学、而且是纳米科学的重要问题。近年来纳米技术、光谱仪器以及SERS理论研究等方面的进展大大推进了SERS的发展,每年都有将近200多篇关于SERS的论文发表,其中有许多团队致力于SERS用于生化传感、生命科学领域的研究。如美国西北大学Van Duyne研究组^[99,100,124]开展了基于SERS光谱的炭疽杆菌生物标记分子的快速探测、葡萄糖传

感以及对芥子气的探测研究,并在葡萄糖的在体实时探测方面取得了丰硕的成绩。而EIC实验室^[140]在G类神经毒剂、地雷的SERS探测方面做了一定的研究并取得了比较好的成果,通过对TNT, 2, 4-DNT等爆炸物质的蒸汽相探测,成功地探测了地雷,探测灵敏度达到1ppb。特别是1997年美国印第安纳大学Nie研究组^[128]在Science上报道了利用表面增强拉曼光谱方法检测到单分子吸附在单个金属银溶胶纳米颗粒上的高质量SERS谱图,其拉曼增强因子高达 10^{14} ,使得SERS技术成为目前单分子科学的最重要的研究方法之一,该单分子的SERS谱的获得,遂成为近年来SERS领域的重要突破。国内方面,吉林大学的徐抒平等^[114]开展了利用SERS间接测定生物分子的研究,而厦门大学的田中群研究小组^[118]则开展了SERS光纤的研究。

作为SERS效应的主要载体和实现SERS放大效应的关键,金属纳米结构的SERS增强能力和加工工艺成为目前制约推广SERS应用的技术瓶颈,而构建于新型金属纳米结构之上的新型SERS基底也成为近年来该领域的研究热点。一方面,金属纳米结构作为承载SERS效应的关键,包括金属薄膜、金属电极、金属溶胶、金属纳米棒、金属纳米线、以及形态各异的金属纳米量子点等。在这方面, Schatz小组^[182]于2004年报道了电磁场计算获得的三角形银纳米粒子二聚物(dimer)高达 10^5 的电场增强因子并推断其约达 10^{10} 的拉曼增强因子, Lee 研究组^[228]于2004年报道了实验获得拉曼增强因子达 10^{10} 的回转新月Ag纳米粒子单体, Zhang xiang研究组^[45]于2006年报道了实验获得拉曼增强因子达 6.1×10^{11} 的多层金属纳米粒子单体。金属纳米粒子阵列由于粒子之间电磁场的耦合作用,理论上具有较单体更高的电场增强能力,但在实际应用中,制作的金属纳米粒子阵列基底的增强性能普遍在 10^8 左右^[180,185-186],这是因为阵列较单体更高的增强能力来自于粒子之间的电磁场耦合,特别是相邻粒子间的短程耦合,因此要提高阵列基底的增强能力往往要求缩短粒子间的间隙,而目前十分匮乏能够制作小周期结构的高精度低成本制作技术。另一方面,很多设计的金属纳米结构虽然具有很高的拉曼增强能力,但其制作工艺十分复杂,制作成本高,不利于SERS技术的推广,如zhang xiang研究组^[45]研究的拉曼增强因子达 6.1×10^{11} 的椭圆柱单体,其制作采用的是价格昂贵的EBL工艺,要将这种结构阵列化,也只能采用EBL技术来实现,因此不利于大规模制作和应用。因此在纳米结构设计层面,SERS基底的研究目前还主要是以易于阵列化的单体或双聚体为主,因为单体的增强能力提高了,那么该单体组成的阵列的增强能力自然跟着提高;而在纳米结构的制

作层面, SERS基底的研究目前主要侧重于发展低成本且容易实现批量生产的纳米加工工艺, 从而发展低成本且具有普适性的SERS基底。

近年来纳米制造工艺的日趋成熟、拉曼光学探测元部件的高速发展都促使SERS的基底研究、机理研究、应用研究获得空前发展, 成为近场光学领域的一个热点。SERS基底材料不再局限于金、银等贵金属, 铂、铑等过渡金属也开始崭露头角, 虽然目前在过渡金属上也发现了SERS效应, 但过渡金属的拉曼增强能力远远低于币族金属的增强能力, 在生物兼容能力上, 币族金属也好于过渡金属, 因此目前贵金属纳米结构仍然是主要的SERS活性材料, 在本论文的以后章节, 若无特别说明, “金属” 这一词也将主要指贵金属; SERS应用不再局限于生化传感, 也拓展到成像等领域; SERS研究则拓展到针尖增强拉曼光谱技术(tip enhanced Raman spectroscopy, 简称为TERS) 和表面增强共振拉曼散射SERRS(surface enhanced resonant Raman scattering) 等领域。

1.5 论文主要研究工作

由以上论述可知, SERS 效应主要是金属纳米结构体系所具有的异常光学增强现象, 研究表明对于贵金属(金、银)来说, 纳米结构的最佳尺寸在 10-100 nm。同时 SERS 效应的电磁增强机制表明金属的 SPR 在很大程度上决定了金属纳米结构的光学性质及表面增强拉曼光谱的强度, 而金属纳米结构的 SPR 又受形状、尺寸、材料等多方面影响, 因此研究作为承载 SERS 效应的金属纳米结构的 SPR 光学特性以及在此基础上探索其 SERS 增强能力是该领域的一个重要而又必要的课题。

另一方面, 表面增强拉曼光谱作为一种兼具高灵敏度和高选择性的探测技术, 已经受到生命科学领域、电化学领域、生化传感领域等多个领域的广泛关注并已在这些领域展开应用。但是要推进 SERS 技术在这些领域更好更快地发展的一个关键是要发展高性能、能体现 SERS 技术高灵敏度优势的 SERS 基底, 另一个关键则是发展实用化的、成本不会太高的、能批量加工的 SERS 基底。因此本论文就立足于发展高拉曼增强能力的新型 SERS 基底和实用化低成本的 SERS 基底这一目标, 开展了如下工作:

- (1) 研究利用纳米球光刻技术制备实用化的银膜覆盖纳米球结构(Ag film over nanosphere, AgFON)作为具有普适性的 SERS 基底。首先在玻璃衬底上涂覆聚

苯乙烯纳米球的悬浮液,进行自组装形成六角密堆排列的晶体,然后在上沉积一定厚度的金属银膜,形成表面具有纳米粗糙度、均匀排布的 AgFON 结构;(2) 以低浓度葡萄糖溶液的探测作为 AgFON 结构的应用实例,利用具有特殊官能团的分子自组装在此结构上进行对葡萄糖具有亲和力的活化,探索这种低成本的基底的 SERS 活性能力,以及该基底的应用前景;(3) 借鉴光天线的设计,研究 bowtie 结构作为高拉曼增强能力的新型 SERS 基底的潜力。探讨了金属 bowtie 纳米结构中顶尖错位、间隙误差以及尺寸等加工误差对结构的 LSPR 波长、电场增强因子以及拉曼增强能力的影响;提出了 Ag/SiO₂/Ag 三明治 bowtie 结构作为新型 SERS 基底,研究了介质层厚度、金属层厚度对该结构的 LSPR 波长的影响和调节作用,研究了该结构在 LSPR 波长激励下的电场分布和最大电场增强能力,得出“该三明治 bowtie 结构兼有 LSPR 波长易调和局部电场增强能力高因而适合作为高性能的 SERS 基底”的结论;(4) 自相似链结构对电场具有“层叠”放大效应,新月结构具有纳米尖端结构因而具有非常大的局部电场增强能力,结合这两种结构的优势,我们提出将新月自相似链结构作为高电场增强能力的 SERS 基底,并采用 FDTD 和 DDA 方法探讨了这类结构的 LSPR 波长、电场分布情况以及拉曼增强能力,结合目前的纳米结构制作工艺,得出该类结构具有“层叠”和“尖端”两种电场放大效应,拉曼增强能力高,作为新型 SERS 基底具有一定的可行性”的结论。

本论文的结构如下:论文第一章概述与 SERS 技术相关的金属纳米结构、拉曼散射和拉曼光谱、表面等离子体等相关内容;论文第二章将详细陈述 SERS 技术领域的现状,包括 SERS 增强机理、基底以及 SERS 在传感领域中的应用及发展趋势;第三章从覆盖纳米球从而具有纳米表面粗糙度的金属薄膜结构出发,在低浓度葡萄糖溶液的探测实验中探索这种低成本可批量化基底的工艺、SERS 活性能力,以及该基底的应用前景;借鉴光天线的设计,探讨加工误差对金属 bowtie 纳米结构 LSPR 特性和电场、SERS 增强能力的影响,研究三明治 bowtie 结构的 LSPR 与 SERS 性能,这些内容将在论文的第四章陈述;近年来提出的纳米新月结构表现出独特的光学特性,广泛应用在光天线,光传感及光刻领域,论文将在第五章探索新月单体、新月自相似链、一维新月阵列结构的等离子体特性,以及在 SERS 领域的优势;论文第六章是对整个论文的总结和展望。

第二章 SERS 现状

自 1974 年表面增强拉曼散射现象首次发现以来, SERS 技术领域经历了初期的研究热潮、中间的低迷期, 到 1997 年聂叔明的单分子 SERS 探测, 才又重新进入研究热潮。目前世界上对 SERS 技术的研究主要集中在三个方面: SERS 的增强机制、SERS 活性基底和 SERS 应用。本章将主要分析 SERS 领域的这三个研究热点的现状。

2.1 SERS 机理

多年以来, 关于表面增强拉曼散射方面的大量研究工作都是围绕着对增强机理的认识和理解而展开的。其中最主要的分歧是在化学机理和电磁机理之间如何划分高于 10^6 的增强因子。表面增强拉曼散射的增强机理目前尚处于研究中, 为了弄清 SERS 的机理, 人们提出了许多模型。总的说来, 所有的理论本质上都以金属表面对入射光电场和分子的极化率的影响为出发点。Raman 的散射强度正比于分子感应偶极距 μ 的平方, 其中 $\mu = \alpha E$, α 为分子的极化率张量, E 为作用于分子上的入射光的电场。根据这个关系, 可知拉曼散射的增强一定来源于作用于分子上的电场的增加或者分子极化率的变化, 从而对应提出了目前主要存在的物理(电磁场)增强机理和化学(电荷转移)增强机理两大增强机制, 物理增强机理认为 SERS 起源于金属表面局域电场的增强, 即 $\mu = \alpha E$ 中 E 的增强, 而化学增强机理认为 SERS 起源于分子的极化率的变化, 即 $\mu = \alpha E$ 中 α 的改变, 而且两者在总的 SERS 中的贡献针对不同的体系而有所不同。一般认为, 对金、银、铜等贵金属, SERS 主要来源于表面等离子体共振引起的局域电磁场(Electromagnetic, EM)增强机理和以光驱电荷转移(Charge Transfer, CT)理论为中心的化学增强机理的共同作用, 化学增强机理在最佳状态下也仅有约 2 个数量级的增强, 故电磁增强是影响 SERS 信号强弱的关键因素。

(1) 电磁场增强机理(Electromagnetic mechanism)

电磁场增强机制的代表模型主要有表面等离子体共振(SPR)、避雷针效应(lightning rod effect)和镜像场作用(image field effect)三种, 其中表面等离子体共振被公认为是 EM 机理中最重要的 SERS 增强来源, 它与由粒子表面尖端部分引起的避雷针效应的共同作用是引起表面增强拉曼散射的主要原因。SPR 模型

[6,131,149-153]认为在 SPR 条件下, 基底表面上形成非常大的局域电场, 在此区域内探针分子的拉曼信号也随之大幅增加, 表面等离子体共振所产生的电场强度随离表面距离的增加而呈指数降低, 其最大作用范围可达数纳米, 因此该机理属于长程效应, 如图2-1所示, 当分子吸附在纳米尺度的金属附近时(此处用金属小球表示), 其接受到的场强 E_M 由两部分构成, 一是场强为 E_0 的入射光场, 二是由金属小球感应偶极子产生的场强为 E_{sp} 的电场。即 $E_M = E_0 + E_{sp}$, 其中 E_{sp} 可以表示为:

$$E_{sp} = r^3 \frac{\varepsilon - \varepsilon_0}{\varepsilon + 2\varepsilon_0} E_0 \frac{1}{(r+d)^3} \quad (2.1)$$

因此在满足表面等离子体共振条件时(即 $\text{Re}(\varepsilon) = -2\varepsilon_0$, $\text{Im}(\varepsilon)$ 较小时), E_{sp} 将会变得非常大, 即在分子处频率为入射光频率的局部电场大大增强, 其增强因子约为:

$$|A_{(L)}|^2 = \left[\frac{\varepsilon - \varepsilon_0}{\varepsilon + 2\varepsilon_0} \right]_L^2 \left[\frac{r}{(r+d)} \right]^6 \quad (2.2)$$

而频率为拉曼散射光频率的电场也获得增强, 由于拉曼频移非常小, 因此可以近似地认为拉曼散射光的增强因子为:

$$|A_{(R)}|^2 = \left[\frac{\varepsilon - \varepsilon_0}{\varepsilon + 2\varepsilon_0} \right]_R^2 \left[\frac{r}{(r+d)} \right]^6 \quad (2.3)$$

于是得到表面增强拉曼散射信号的电磁场增强因子为:

$$A(\text{SERS}) = |A_{(L)}|^2 |A_{(R)}|^2 = \left[\frac{\varepsilon - \varepsilon_0}{\varepsilon + 2\varepsilon_0} \right]_L^2 \times \left[\frac{\varepsilon - \varepsilon_0}{\varepsilon + 2\varepsilon_0} \right]_R^2 \left[\frac{r}{(r+d)} \right]^{12} \quad (2.4)$$

而避雷针效应^[6,131,149-150] (lightning rod effect) 提出由于金属粗糙过程中产生的表面粒子形状各不相同, 一些粒子或粒子的某些部位曲率半径非常小, 这些地方电荷密度相对曲率半径大的地方要高得多, 因而形成很强的局域表面电磁场分布; 镜像场模型^[6,36,131,149-150,154-157]则假定金属表面是一面理想的镜子, 吸附分子为振动偶极子, 它在金属内产生共轭的电偶极子, 以此在表面形成镜像光电场, 入射光与镜像光电场都对吸附分子的表面拉曼信号起增强作用, 再加上表面反射造成两倍的局域电场增强, 可以得到 16 倍的总增强效应, 镜像场的强度和距离的立

方成反比，即随距离增加，镜像场强迅速降低，所以它是一个短程效应，仅仅解释了原子间距范围内表面增强的数量级。

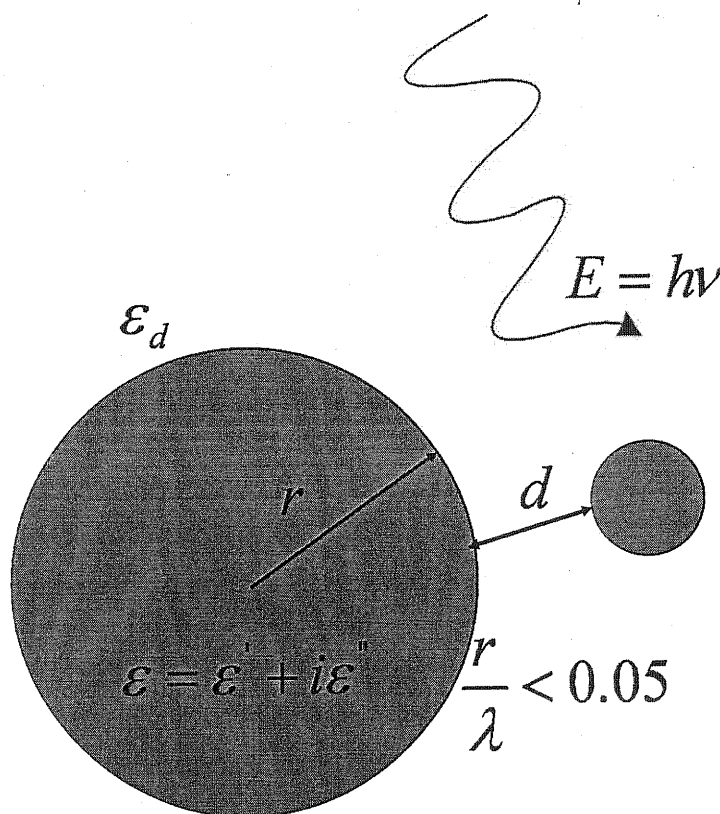


图 2-1 表面增强拉曼散射 (EM-SPR 模型) 示意图

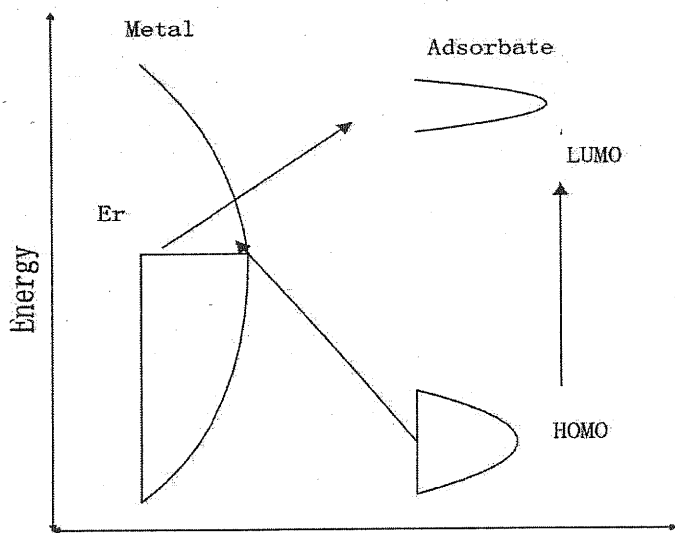
由于在这三种模型中，起主要作用的是具有长程效应的 SPR 模型，因此即使两个纳米粒子没有直接接触而是具有一定的间隙，它们之间也存在电磁场的交互作用，研究表明在两个金属纳米球的间隙间的电场远大于单个纳米球周围的局部电场，因此位于两个纳米球间隙间的分子具有更高的拉曼散射强度，这也是团簇胶体和单分子 SERS 探测实验的结论。伴随着单分子 SERS 的实验突破，粒子的尖端效应及粒子间的耦合效应对电磁场 SERS 增强的贡献也得到了高度的重视，如近年来对热点 (hot spots) 处 SERS 增强因子的研究就是一个很好的例子。

(2) 化学增强机理 (Chemical Enhancement)

电化学体系的 SERS 研究结果和单分子 SERS 的理论模拟结果表明仅仅靠 EM 增强机制是不能完全解释 SERS 增强效应的，许多理论也表明可能存在着独立于 EM 的另一种增强机制，即化学增强机制。对于某些分子可能这两种机制同时存在，它们的增强作用不是相互抵消，而是乘积累加。但是要将化学增强机制与电场增强机制分离开来是十分困难的，早期对化学增强机制的存在也是基于一

些实验推测出来的,如一氧化碳分子 CO 和氮气 N₂ 分子具有相同的拉曼散射截面,按照 EM 增强机制,吸附在相同粒子表面的不同分子的拉曼散射强度的放大应该是相同的,即与吸附分子种类无关,那么在相同试验测试设备和条件下这两种分子的 SERS 强度应该相同,但实际却是它们的 SERS 强度相差约 200 倍,因此科学家推测 SERS 的增强效应可能不仅来自 EM 机制的增强。

科学家从吸附物种与金属表面相互作用以及形成化学键的角度提出了许多模型来研究化学增强机理。在化学增强机理中最受重视的是金属吸附原子(簇)和吸附分子间电荷转移模型,即考虑所谓的吸附原子-电荷转移络合物模型[131,149-150,158-162],该模型表明吸附分子通过化学键的作用和这些吸附原子形成一些较特殊的表面化合物即吸附分子-金属表面化合物,而这些表面化合物在入射光的诱导下可能发生电荷转移,如图 2-2 所示,当入射光子能量和电荷转移态的能量匹配时,分子的最高占有轨道(highest occupied molecular orbital, HOMO)上的电荷将受激跃迁到金属的费米能级上,通过再次受激跃迁到分子的最低非占有轨道(lowest un-occupied molecular orbital, LUMO)上,由于金属的加入,提供了从能带 HOMO 跃迁到能带 LUMO 的中间过渡能级—费米能级,从而大大提高了跃迁几率,由于电荷转移的发生而导致类共振现象的激发,从而导致吸附分子的极化率被增大。化学增强作用建立在分子与金属表面之间存在化学作用的基础上,金属表面的粗糙度对电荷转移起着重要的作用,电荷转移过程仅能够在第一层吸附分子和金属表面之间产生,其增强效应仅表现在金属表面第一吸附层分子上,是一种短程效应,化学增强对 SERS 增强因子的贡献一般在 1~2 个数量级以内,特殊条件可达 6~7 个数量级。

图 2-2 分子吸附在金属表面的能级图^[161].

2.2 SERS 基底

具有高增强能力、高稳定性的 SERS 活性基底是利用 SERS 的放大效应实现高灵敏度探测从而推广 SERS 应用的关键因素之一。作为 SERS 效应的主要载体，金属纳米结构直接决定着 SERS 基底的增强能力。粗糙金属电极是最初发展的 SERS 基底，用于 SERS 理论研究，随后发展的金属溶胶因为容易制备获得广泛应用；随后金属纳米粒子膜和纳米探针因为提高的可重复性 (reproducibility) 取代了金属溶胶；“蚀刻的石英柱上覆盖银膜”也展现了极大的可重复性。为了简化固态 SERS 基底的制备，很多材料通过机械法粗糙表面产生 SERS 效应，并在此基础上发展了 Ag 纳米粒子包埋在溶胶-凝胶拉曼探针、原位光还原溶胶以及光纤 SERS 探针等。

根据国内外文献及相关报道，目前采用的 SERS 基底^[6,163-186]主要有以下几种：

(1) 表面粗糙电极 (metal electrodes)

粗糙金属电极主要包括以金、银、铜贵金属为主的金属电极和以 Pt、Pd、Rh 等为主的过渡金属电极。粗糙银电极是最早的 SERS 基底，随后是金、铜、铂等粗糙电极，这类基底的增强因子约为 10^6 ，主要用于电化学中电极 / 溶液界面的原位研究。Ag 电极是最常用的，采用电化学氧化—还原循环 (oxidation-reduction cycle, ORC) 法对 Ag 电极进行粗糙化预处理，可获得粗糙度为 (25~500) nm 的表面。

一直以来, 科学界从未放弃过将SERS基底从金属电极拓展到过渡金属电极。20世纪80年代中期, Fleis chmann^[229]和Weaver^[230]两个小组在具有较高SERS活性的Ag和Au电极表面上沉积极薄的过渡金属层(几至几十原子层), 利用SERS效应的长程作用机制获得过渡金属表面吸附物种的SERS信号; 20世纪90年代后期, Weaver小组^[231]报道了在具有SERS活性的Au表面沉积无针孔的过渡金属的薄层, 对铂系金属上的分子的吸附和反应开展了系统的研究。我国科学家田中群教授致力于研究直接从纯过渡金属表面获得表面增强拉曼光谱, 将SERS基底从稀有金属拓展到了过渡金属, 获得了Fe、Co、Ni、Pt、Pd、Rh等纯过渡金属电极^[120]。目前过渡金属电极, 主要用于电化学分析, 增强因子约为 $10^2 \sim 10^4$ 左右。

金属粗糙电极的主要优点在于可以通过对电极电位的循环研究电荷转移作用, 但作为SERS基底, 具有增强能力低而且容易氧化的特性, 这就限制了它在生物医疗方面的应用, 目前主要应用于电化学分析中。

(2) 金属溶胶(metal colloids)

自上世纪80年代以来, 金属溶胶作为SERS基底获得了广泛的应用。金属溶胶是最普遍的SERS活性基底之一, 它具有制备简单、成本低、容易表征、增强能力强的优点。通过用冰冷却的NaBH₄作还原剂, 还原AgNO₃溶液即可制得Ag溶胶悬浮液。典型溶胶团聚体的直径大小为(10~100)nm, 既可作为悬浮液使用也可干燥后作为固体颗粒使用。1997年, 德国的Kneipp等^[139]采用YAG 激光器的1064nm为激发线, 获得结晶紫分子吸附在银溶胶上的SERS谱图, 其计算的增强因子高达 10^{14} 。金属溶胶的高增强因子使得SERS技术在单分子探测领域得到迅速发展。同年, 聂叔明等^[128]在Science上报道了利用SERRS 检测到干燥银胶膜层中吸附在单个金属银纳米颗粒上的单分子, 将共振条件下的SERS推进到了单纳米颗粒单分子的水平上, 并观察到了单分子拉曼光谱的强烈偏振现象。随后, Meixner等^[187]利用SERS技术成功探测了吸附在单个银胶团簇上的单个R6G分子的光谱。在生物方面, Kneipp等^[190]利用金溶胶与生物细胞的相容性及近红外激发, 通过培养方式把金溶胶颗粒引入到活细胞内, 得到了活细胞内各种成分的表面增强拉曼光谱图, 提供了一种对细胞内组分进行灵敏的结构选择性检测的方法。

银胶基底具有较高的表面增强因子, 但它的大小与形状的均匀性难以控制,

金胶基底在可见光区的增强因子较小,但它易于制备成单分散的各种尺寸的胶体。因此,出现了通过金包覆银纳米粒子来获得分布均匀、粒径可控、增强效果好的活性介质的方法。

溶胶虽然具有很高的增强能力,但由于胶体存在团聚效应,单分散性较差,造成这种基底的稳定性和重复性差,通过利用自组装的聚合物吸附单分散银溶胶和金溶胶,形成高度有序的纳米粒子阵列可以改善溶胶的重复性。但是在将溶胶作为探测生物分子的SERS基底时该自组装层通常会带来背景干扰,因此该类基底一直在优化和改进中。

(3) 基于金属纳米结构的固态SERS基底(solid SERS substrates)

除了通过自组装层固定在固体表面的金属溶胶外,新型全固态的SERS基底被用于提高基底的重复性。金属沉积岛膜(metal-nanoparticle-island film)、金属包裹纳米球(metal-coated nanosphere)以及金属包裹纳米粒子(metal-coated nanoparticle)是这类基底的代表。

采用磁控溅射法或真空蒸镀在表面光滑的硅或石英等衬底表面沉积一层超薄的金属膜(通常厚度 $<10\text{nm}$),膜的厚度通过石英天平监测,由于膜很薄,金属膜通过团聚形成岛膜。岛膜的形状和尺寸受金属膜的厚度、沉积速率、温度以及沉积后的退火工序所影响。为了优化岛膜的成膜质量,采用了许多观测和表征手段,如吸收光谱、AFM以及SERS,近来,更有将拉曼光谱与近场扫描光学显微镜(scanning near-field microscopy,SNOM)技术结合起来表征岛膜的。在生物医疗分析中,探测物质容易破坏金属岛膜,因而影响信号的稳定性,为了克服这一缺点,研究者提出采用在玻璃衬底上增加缓冲金属层以及有机金属层等手段来固定岛膜。除Au和Ag之外,钼和铜也被用于岛膜材料,其中Au和Cu的岛膜可用于近红外(NIR)激励,这对于生物医疗应用特别具有优势,因为在NIR区域,荧光背景大大减少,而且NIR光在组织中比紫外和可见光传播得更远。金属岛膜的衬底可以是光栅、云母、各种玻璃以及蓝宝石、碳等材料。金属岛膜容易制备,其LSPR波长可通过调节薄膜的厚度来调节,但增强因子较低,而且随着温度的升高,其增强能力降低。

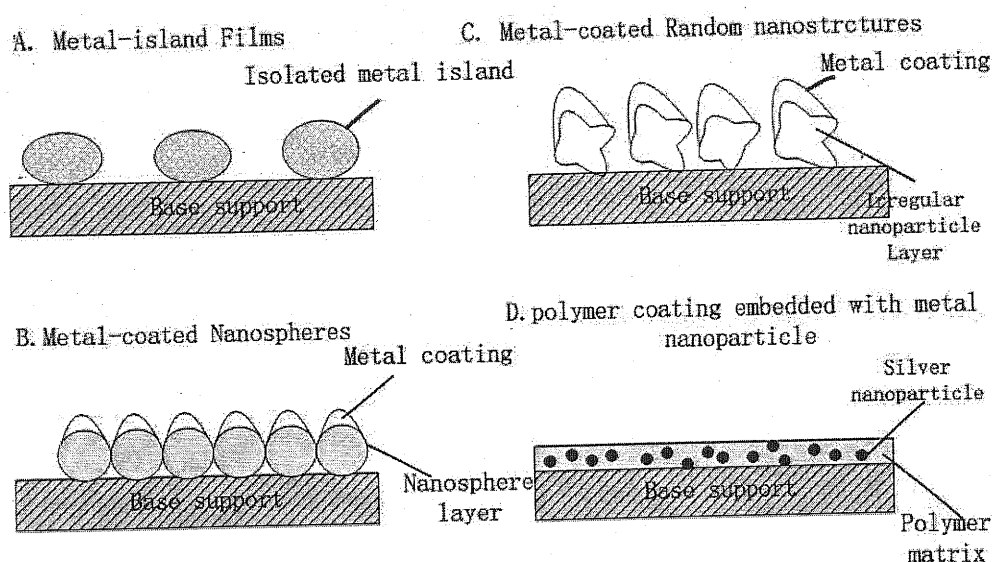
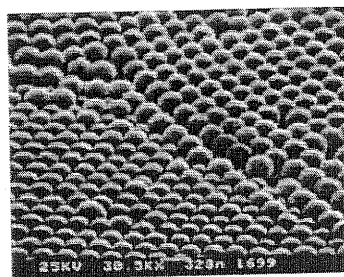


图 2-3 几种主要的固态 SERS 基底

金属包裹介质纳米球是另一种相对可靠的基底。纳米球直径规格50~500nm, 将纳米球旋涂在固态衬底上形成SERS效应需要的纳米粗糙度, 然后在纳米球上镀上(50~150)nm的Ag膜即可。这类基底的形貌容易控制, 容易实现不同批量生产间的重复性。而且银膜的厚度保证了这类基底比金属岛膜耐氧化, 也不易受到探测生物分子的破坏, 因此这种基底更适合生物医疗应用。这种基底的制作十分简单, 举个例子来说^[165]: 首先将50 μ l浓度为10%的直径为261nm的纳米球悬浮液滴在支撑平面上, 比如滤纸、玻璃或石英等上面, 然后在甩胶机上以800rpm~2000rpm之间的转速工作20s, 在衬底表面形成均匀的纳米球覆盖单层, 然后将该基片放入真空镀膜机的真空腔, 以(0.15~0.2)nm/s的沉积率沉积金属膜, 即可制得具有SERS活性的Ag覆盖纳米球基底, 如图2-4所示, 该基底的SEM图片表明其表面均匀性十分良好。

图 2-4 Ag 覆盖纳米球 SERS 基底的 SEM 图片^[165]。

金属包裹纳米粒子与金属包裹介质纳米球相似, 只是纳米粒子形状不再单单

是纳米球而已。目前金属包裹介质纳米球结构(metal over nanosphere, MFON)被大量用于生物/化学传感中,这种基底通过调节纳米球的直径、金属膜的厚度来调节基底的LSPR谱,从而调节基底的SERS增强性能,其增强因子可达 $10^8 \sim 10^9$ 左右;另外这种基底的稳定性可达40天左右,其尺寸形状重复性好,是一种较可靠的基底。Van Duyne等^[99,100,124]采用这种基底研究了葡萄糖、炭疽等分子的SERS谱,获得了稳定的信号;另外通过超声波降解去掉MFON中的纳米球,形成三角形的纳米粒子阵列,也可用作SERS基底,具有LSPR可调范围宽(400nm~6000nm)的优点。

(4) 金属覆盖石英柱

这种基底是将Ag膜覆盖在规则排列的石英柱上形成的,采用光刻技术可在一定程度上控制表面粗糙度,但这种粗糙度产生的拉曼增强因子约在7个数量级,可采用岛膜作为刻蚀的掩膜来克服增强因子低的缺陷。其制作过程如图2-5所示,首先在沸石英衬底上以(0.1~0.2) nm/s的沉积率沉积500nm厚的硅,然后在950℃退火45分钟。再沉积5nm的Ag膜,然后火速加热到500℃,保持20s,使Ag薄膜形成小球状的岛膜;以此岛膜作为掩膜,在CHF₃等离子气体中刻蚀30min~60min,形成亚微米扁长硅柱体。由于沸石英的刻蚀速度比热沉积的石英慢,因此下面的沸石英没有被刻蚀,最后清洗去除样品上的Ag掩膜,沉积连续状的Ag膜或仅在石英柱的顶端沉积Ag膜即可^[165]。

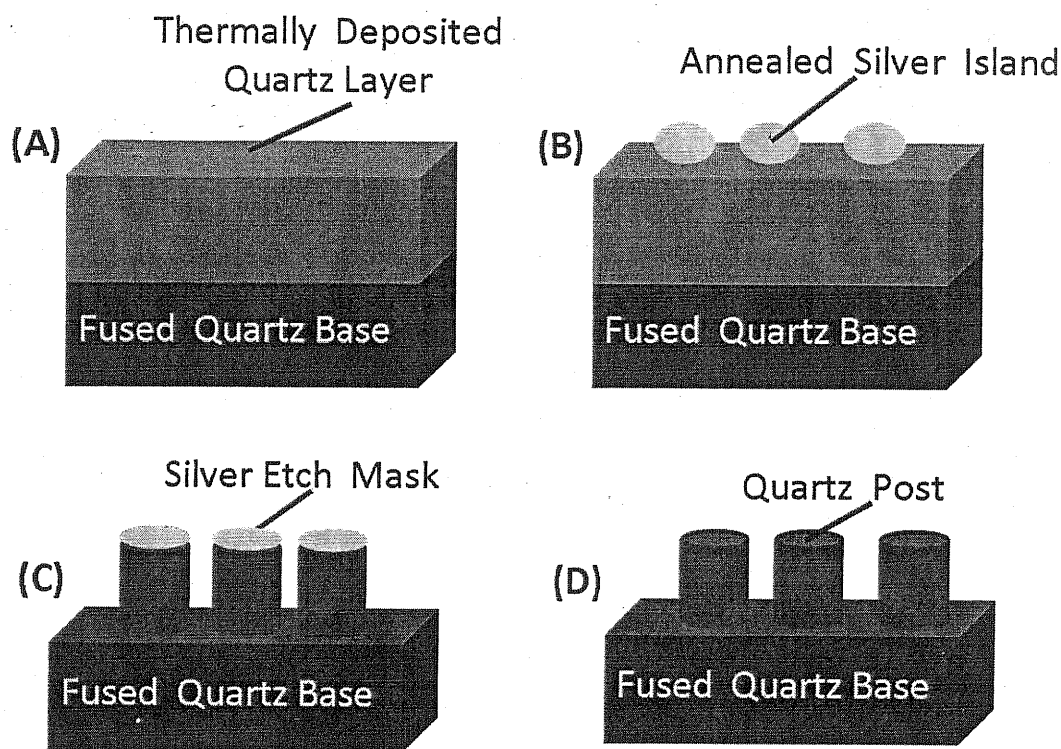


图2-5 Ag覆盖石英柱的SERS基底制作流程^[165]

这类基底的一个不好的地方是在制作石英柱的过程中，需要用到难度大、费时的刻蚀过程。但是，只需要在下次使用时替换一下上面的Ag膜，优化的石英柱便可以作为可重复使用的SERS基底。另一方面，石英柱易碎，不适用于现场使用，而且基底的拉曼增强能力与前述的金属覆盖纳米球、金属覆盖纳米结构很接近，因此不是很有竞争优势。

(4) 聚合物包埋金属纳米粒子

这种基底是采用溶胶-凝胶法将金属纳米粒子埋入透明、多孔的聚合物中形成的，该类基底不易氧化，稳定性高于其他基底，但是由于形成多孔聚合物薄膜过程存在随机性，使聚合物孔的均匀性受到影响，从而使基底的重复能力受到影响。

(5) 阳极氧化铝(AAO, Anodic Aluminum Oxide)模板

多孔阳极氧化铝(AAO)模板具有制备容易、成本低、孔道分布均匀、孔径大小均匀可调等特点，是制备纳米材料的理想无机模板，近几年颇受人们的关注，获得了深入的研究，广泛应用于纳米材料的研究中。多孔氧化铝模板是在一定的酸性溶液中用金属铝片作为阳极，在外加电场的作用下，进行阳极氧化，使其表

面生成多孔氧化膜而制得的。常用的阳极氧化电解液有硫酸、草酸、磷酸等。AAO模板具有纳米级别的粗糙表面或纳米孔，它不仅可用于“纳米复制”(Nano-copy)技术来合成各种功能材料，如纳米管状、线状结构或毛刷状结构、纳米阵列体系及量子点阵等，而且也是一种很好的SERS衬底^[181]。如图2-6所示，台湾大学的Wang等利用AAO模板制作出了间隙(gap)在5nm左右的Ag纳米粒子阵列^[180]。

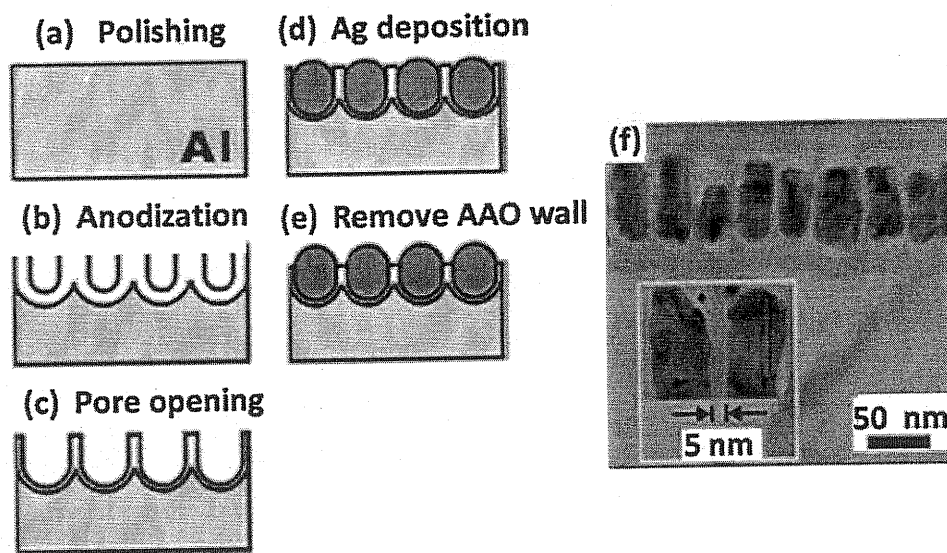


图2-6 (左 a-e) 采用 AAO 模板制作纳米粒子阵列的流程, (右 f) 制作的间隙为 5nm 的纳米粒子阵列的 TEM 图片^[180]。

在这种模板上覆盖金属纳米颗粒可制备规则均一、稳定的SERS活性体系，由于作为载体的多孔 Al_2O_3 膜还具有透明、耐高温、耐腐蚀、化学纯净等特点，这意味着AAO具有更多的SERS潜在应用价值。

(6) 金属纳米粒子聚集体和阵列

近年来，由于 SERS 技术在单分子探测上的进展，研究重点从关注 SERS 的平均增强效应迅速转移到对 SERS 具有最大增强效应的热粒子(hot particles)、热点(hot spots)、以及相邻粒子间相互耦合对 SERS 活性的影响上。特别是以二聚物(dimer)为代表的热粒子的研究，比如(美)西北大学的 Schatz 与 Hao^[182]利用 DDA 方法计算了各种不同形状的银纳米粒子单体及二聚体的电场增强能力，发现二聚体有远高于单体的增强因子，如图 2-7 所示，单个 Ag 纳米球的最大电场增强约为 100，而 Ag 纳米球双聚体的最大电场增强超过 10000，高出对应单体 100 倍左右，特别是三角形纳米粒子的二聚体，其最大电场增强因子高达 5.7×10^4 ，

对应最大 SERS 增强因子可达 3.2×10^9 。

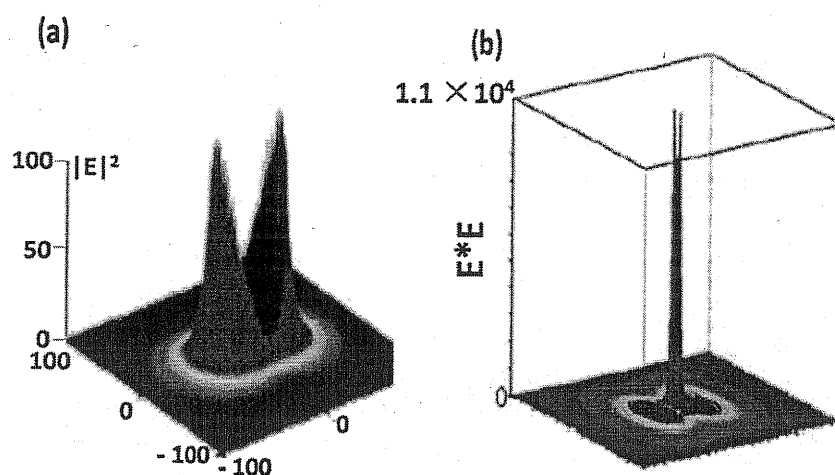


图 2-7 (a) Ag 纳米球单体的电场分布, (b) Ag 纳米球双聚体的电场分布^[182]。

同样地金属纳米粒子阵列由于粒子之间电磁场的耦合作用, 具有很高的电场增强能力, 同时, 在固体衬底上通过光刻技术形成的纳米粒子阵列具有金属溶胶所不可比拟的均匀性和可重复性, 是 SERS 基底研究的主要发展方向。如图 2-8 所示, JESÚS 等^[183]采用直接的不需要 lift-off 工艺的电子束光刻技术制作出了各种形状的高密度的纳米粒子阵列。目前固态衬底上金属纳米粒子单体的最好性能是拉曼增强因子达 6.1×10^{11} , 而可批量制作的金属纳米粒子阵列基底的增强性能普遍在 10^8 左右。

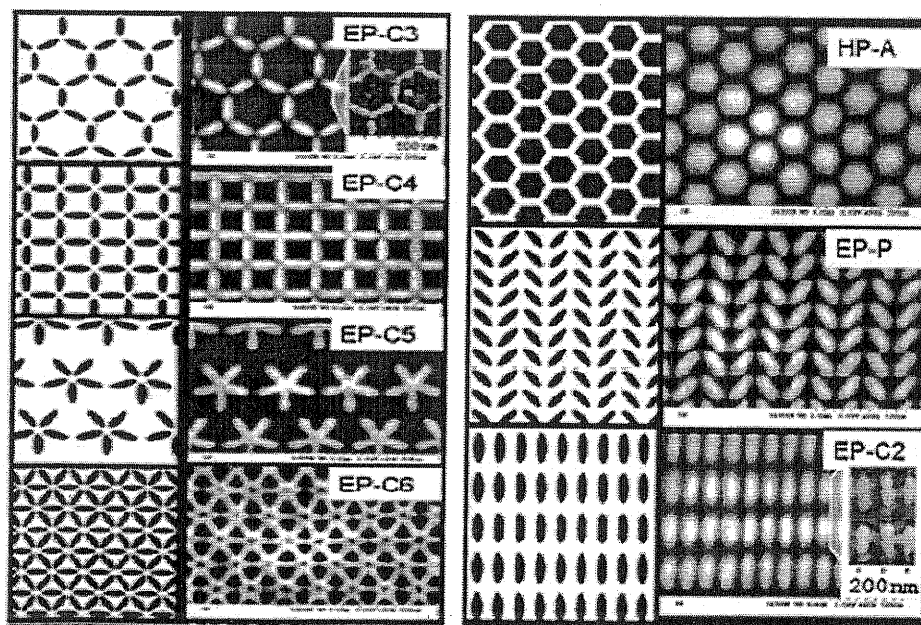


图 2-8 各种各样用于 SERS 基底的纳米粒子阵列^[183]。

可见,提高这种金属纳米粒子阵列的增强能力是阵列类基底发展的首要任务。但目前限制这类基底的增强能力的因素主要在于高精度低成本制作技术的匮乏。由于阵列较单体更高的增强能力来自于粒子之间的电磁场耦合,特别是相邻粒子间的短程耦合,因此要提高阵列基底的增强能力往往要求缩短粒子间的间隙,提高阵列的有序性,同时为了应用于实际,还需要阵列的制作工艺简单、耗时少、成本低、重复性好。目前在金属纳米棒阵列制作工艺的简易化和可批量化的研究方面已取得一些成果,如Wang^[180]采用阳极氧化铝多孔模板(AAO),制作了间隙可精确控制在(5-25) nm间变化的纳米棒阵列;Yang^[185]展现了一种通过“seed-mediated growth”和自组装(SAM)方法制作有序性较好的金属纳米棒阵列的方法;Stephen^[186]采用物理气相沉积中的斜角气相沉积法(Oblique angle deposition, OAD)实现了金属纳米棒阵列的制作,并利用BPE作Raman探针分子,测得阵列的平均增强因子为 1.39×10^8 。但是对于量子点阵列的制作工艺还没有很好的解决办法。利用日益成熟的纳米制备技术,人们已经可以获得颗粒形状和大小可以很好控制的纳米颗粒阵列,如Van Duyn^[80]小组发展纳米球光刻(NSL)的方法,制备出大小和形状可以控制的银纳米颗粒点阵;Felidj^[44]等利用电子束光刻(EBL)技术,加工出大小和间距可以控制的金纳米点阵,但是NSL技术制作的阵列,其周期受所用纳米球直径的限制,同时由于采用自组装因此不具有很好的有序性;而EBL、FIB等技术成本高、耗时长,不适于大量生产。

另一方面,组成阵列的单体的增强能力也是影响阵列增强能力的重要因素,很多具有高增强能力的单体并不容易实现阵列化,因为阵列化需要低成本的大面积加工工艺,而很多具有高增强能力的单体的加工是通过如EBL、FIB等价格昂贵的工艺实现的。但同时如果组成阵列的单体的增强能力提高了,阵列的增强能力自然会跟着提高。因此目前新型SERS基底的研究重点还是在于发展具有高增强能力且易于阵列化的金属纳米结构单体或双聚体。从金属纳米结构的LSPR特性与其SERS增强能力的关系来看,发展LSPR特性可调控的金属纳米结构单体,使其LSPR波长与激励光源的波长匹配,从而获得高SERS增强能力,这是获得高性能SERS基底的一个重要途径。通过粒子的形状、尺寸、材料、衬底的种类、周围介质、以及化学吸附单层膜的有效厚度都可以使基底的表面等离子体共振发生变化。目前,很多研究小组正致力于金属纳米结构的表面等离子体共振可调性

的研究中。

2.3 SERS 应用

SERS 光谱以其高灵敏度而获得科学家的青睐,已经成功地用做表征碳纳米管、纳米半导体、金属纳米结构等材料的工具之一。由于表面增强拉曼光谱技术还具有高特异性,因此在生命科学、国防安全等方面具有独到优势并很快取得了重大的应用,特别是自 Nie^[128]于 1997 年在《Science》上报导了在单个金属纳米粒子上获得单个 R6g 分子的拉曼光谱以来,SERS 技术就逐渐发展成新兴的单分子科学的重要检测手段之一。单分子振动信息的获得拓宽了 SERS 在物理、化学及生物医学等领域的应用范围,也为更深入了解 SERS 增强机理提供了大量至关重要的信息。迄今为止,SERS 技术已逐渐成为表面科学和电化学领域有力的研究手段,并已在痕量分析乃至单分子检测、化学及工业、环境科学、生物医学体系、纳米材料以及传感器等方面的研究中得到了广泛应用。其中 SERS 技术作为传感机制在生物、化学、药学方面的应用有:

(1) SERS与单分子检测

在单分子检测方面,首先将SERS技术用于单分子科学研究的是美国的聂叔明^[128]和德国的Kneipp^[139],前者代表检测干燥银胶膜层中分子的共振SERS 光谱的单分子检测方法,而后者代表检测液体环境中分子的SERS光谱的单分子检测方法。1997年,聂叔明等^[128]在Science上报道了利用SERRS检测到干燥膜层中吸附在单个金属银纳米颗粒上的单分子,将共振条件下的SERS推进到了单纳米颗粒—单分子的水平上,并观察到了单分子拉曼光谱的强烈偏振现象。1999年,Kneipp等^[232]以金、银溶胶团簇为基底,同时得到了结晶紫单分子的SERS光谱和反斯托克斯拉曼散射谱,并在以银溶胶为基底的表面增强超拉曼散射中得到了约 10^{20} 左右的增强因子。Meixner 等^[187]观测到了吸附在单个银胶团簇上的单个R6G分子的谱色散、谱线分裂和呼吸效应引起的光谱强度周期性波动。胡家文等^[188]测量了水汽界面二维银颗粒表面上的单分子拉曼光谱,所需激光功率比溶胶所需的功率低10~100 倍。周增会等^[189]研究了不同偏振光激发条件下的R6g 单分子SERRS偏振光谱,给出了准确测定单分子拉曼光谱的新方法。另外,在活细胞和生物大分子层面,在组织层面及活体检测中,SERS技术都得到了广泛的应用^[200]。

将SERS技术提高为新兴的单分子科学的研究手段之一是SERS的最为重要的进展,它在全面拓宽SERS领域的应用和提高单分子研究水平上起到了十分重要的作用。

(2) SERS与中草药药物成分分析

各种中草药因所含化学成分的不同而反映出拉曼光谱的差异,拉曼光谱在中草药研究中的应用包括中草药化学成分分析、中草药的无损鉴别、中草药的稳定性研究以及中药的优化。在中草药化学成分分析方面,高效薄层色谱(TLC)能对中草药进行有效分离但无法获得各组份化合物的结构信息,而表面增强拉曼光谱(SERS)具有峰形窄、灵敏度高、选择性好的优点,可对中草药化学成分进行高灵敏度的检测。利用TLC的分离技术和SERS的指纹性鉴定结合,是一种在TLC原位分析中草药成分的新方法。汪瑗等^[191]应用表面增强技术特薄层色谱(TLC)与傅立叶变换拉曼光谱(TLC-Raman)联用,获得了中草药钩藤中的钩藤碱光谱研究的新方法,研究表明在薄层原位2.5 μ g钩藤总碱,即可很好的分离出钩藤碱等多种钩藤生物碱,应用薄层原位表面增强(TLC-SERS)技术,获得钩藤碱分子的特征振动谱带,进而阐述样品分子在表面增强基底银胶表面的吸附模式,展示了TLC—SERS结合对中草药化学成分进行高灵敏度示踪指纹检测的可靠性和优越性,随后汪瑗等^[192]又将薄层色谱与近红外傅立叶变换拉曼光谱(TLC-FT-SERS)联用,获得了中草药罗芙木生物碱中主要有效成分育亨宾在薄层原位的傅立叶变换表面增强拉曼光谱,从而获得了中草药罗芙木中主要有效成分育亨宾分离与高灵敏度指纹检测可靠的新方法;臧永丽等^[193]结合利用高效薄层色谱(TLC)分离技术和表面增强拉曼散射技术(SERS),建立了分析中草药有效成分槲皮素的新方法,该方法通过薄层色谱将中草药化学成分进行有效的分离,在其原位应用表面增强技术高灵敏度地检测各化学成分的精细结构信息。另外,拉曼光谱在中草药研究中的应用还有:拉曼光谱可用于动态跟踪中草药的变质过程,对中草药的稳定性预测、药材质量的监控具有直接的指导作用;对于中草药及中成药和复方这一复杂的混合物体系,不需任何成分分离提取直接与细菌和细胞作用,利用拉曼光谱无损采集细菌和细胞的光谱图,观察细菌和细胞的损伤程度,研究其药理作用,可进行中药材、中成药和方剂的优化研究。

(3) SERS技术在医学、生物、化学领域的应用

在生物医学上,美国 Rice大学 Halas及West^[59]领导的研究小组在电介质材料壳包裹金属材料核的核壳结构纳米粒子基础上,利用表面增强拉曼光谱技术及纳米粒子的红外热效应将其用于癌症的早期无创性诊断及治疗,该项工作已通过了初步的动物实验,如果以后能进一步发展对肿瘤癌细胞定位技术及核壳纳米粒子对癌细胞的识别技术,将对癌症的小型化医疗介入提供重大的机会。在药物分析方面, SERS技术被用于唾液分析抗癌药物5-Fluorouracil在代谢过程中的剂量变化^[194],在疾病检测方面, SERS在监视药物在活细胞内的分布情况、探测血液中葡萄糖浓度、对乙肝病毒的免疫检测等^[99,114]方面也取得相当大的进展。

尤其值得关注的是在危险品的探测方面, SERS被用作探测炭疽杆菌、芥子气、掩埋地雷、G类神经毒剂等危险物质的新技术和新手段,在该领域目前的主要研究团队有:美国西北大学、美国EIC实验室和美国RTA公司等。其中西北大学^[99,100,124]采用MFON(metal film over nanosphere)结构作为SERS基底开展了实时葡萄糖生物传感器、芥子气化学传感器和炭疽生物传感器的研究;Lawrence Livermore实验室^[147]利用SERS探测细胞中溶液的PH值;EIC实验室^[140]开展了与国防相关的包括化学战剂、生物战剂和爆炸物探测的研究;RTA公司^[194,233-234]开展了与国防安全、工业监控、医疗相关的包括药物分析、燃料分析、化学战剂探测的研究。国内利用SERS作为传感机制直接探测生物/化学分子的尚少,但吉林大学的徐抒平^[114]开展了利用SERS间接测定生物分子的研究,如采用免疫反应测定乙肝病毒等;厦门大学的田中群等^[118]用纳米组装方法在空心光纤内壁进行修饰,构成内壁具有表面增强拉曼散射活性层的液芯光纤制作光纤传感器。以下重点介绍几个主要团队在危险品SERS探测方面展开的研究:

A. EIC实验室研究情况

生物化学战剂通常通过污染源达到目的,因此快速、持续、有效地监测水源是水源污染预警的重要途径。这就要求研制能长期工作、高灵敏、高选择性、定量分析、无假阳性、与环境无关(温度、PH)的传感器。要求实现从离子化合物(如氰化物)到非极性有机化合物(如VX)、缩氨酸链(如毒素),以及到病毒、细菌等的识别。

在化学战剂方面, EIC实验室已经利用SERS技术探测了维埃克斯(VX)、索曼(Soman, GD)神经毒剂、芥子气(mustard, HD)糜烂剂以及氰化氢(AC)等血液毒剂; 探测达到ppb(parts per billion, $\mu\text{g/L}$)级^[140], 如对Soman降解物甲基磷酸频哪基酯(pinacolyl methyl phosphonic acid, PMPA)的探测达到1ppb; 对HD的探测达到1ppm(1mg/L); 对氰化物的探测达到1ppb。

在生物战剂方面, EIC实验室研究了利用SERS技术对生物毒素(如T2)、细菌(如炭疽)、杀虫剂(如malathion)的探测^[143]。在毒素方面, EIC首先对T2进行了探测。T2毒素是由多种真菌, 主要是三线镰刀菌产生的单端孢霉烯族化合物(trichothecenes, TS)之一组成, 为白色针状晶体, 在室温条件下相当稳定, 放置6~7年或在(100~120)℃保持1小时后仍毒性不减。EIC对1ppm的T2溶液进行了探测, 但获得的SERS谱信号很弱, 需待进一步的研究。目前EIC已将由海藻类产生的氰化毒素(Cyanotoxin)列为探测对象, 先前许多用生物/毒物学方法探测这类毒素的方法不仅耗时、需要专业人员操作, 而且是基于实验室的探测, 另一方面对这类毒素的探测要求快速, 因而EIC着手于采用SERS技术探测鱼腥藻(如水华鱼腥藻)、颤藻等藻类体中的变性毒素(anatoxins), 以及微囊藻体中的破坏肝蛋白导致肿瘤的微囊藻毒素、Cylindrospermum raciborskii产生的导致肾破坏的Cylindrospermopsin毒素, 并期望达到最终实现用SERS技术同时探测多种毒素、快速探测毒素的目标。在细菌方面, EIC在革兰氏菌分离、细菌区别、细胞生存能力等方面开展了研究, 通过获得DPA(dipicolinic acid)的SERS谱实现对炭疽杆菌的检测, 并预期探测限可望达到10ppb。

另外, EIC在地雷、脏弹等爆炸物探测方面也有一定的研究^[142]。传统的地雷探测法采用地下雷达、前向红外探测定位雷区, 核四极共振探测地雷, 这种方法不具有便携性, 而人造鼻、选择性荧光等气相探测法虽然能够达到ppb级的探测限, 却对环境(如温度、湿度)敏感, 需要经常校准, EIC实验室通过对TNT、2, 4-DNT等爆炸物质的蒸汽相探测, 成功地探测了地雷, 探测灵敏度达到1ppb; 通过对蒸汽相磷酸三丁酯(tributyl phosphate)的探测达到了对脏弹的探测目的。

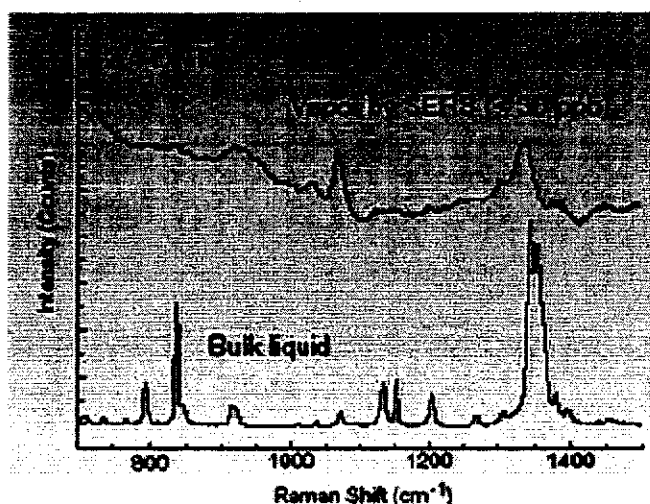


图 2-9 EIC 实验室所测:浓度 30ppb 的 2, 4-DNT 溶液的 SERS 谱和对应液体的 RS 谱^[142].

B. RTA实验室研究情况

近年来,美国Real-time Analyzers(RTA)公司研究了GA、GB、VX及其相应水解产物、HD及其水解物TDG的SERS谱,并于2005年实现了1ppmTDG的SERS探测^[233];在药物分析方面,传统方法通过血液或尿液采样,检测药物在血液中的变化,血液分析方法每次需要约(10~20)ml血液样品,对病人身体有一定伤害,而且血液采集可能导致HIV病毒感染,科学研究发现唾液分析同样能够达到血液分析的效果;但是唾液中有99.5%的成分是水,对如此低浓度的溶液进行检测,传统方法很难实现。RTA公司于2005年通过SERS技术唾液分析抗癌药物5-Fluorouracil在代谢过程中的剂量变化,在2ppm浓度获得了较强的探测信号,并估计其探测限(LOD)可达到150ppb,从而可实现对1ml唾液样品在5分钟内的快速探测^[194]。在神经毒剂方面,由于VX是剧毒物质,其半数致死剂量LD₅₀仅为0.012mg/kg,即0.012ppm,同时具有150 g/L的高溶解度,EA2192是VX的一种致命的水解物,在水中持续存活期超过VX,约为21天左右,因此快速、高灵敏探测VX和EA2192是十分必要的。RTA公司于2005年初步获得了VX及其水解产物EA2192、EMPA、DIASH、MPA的表面增强拉曼光谱,但没能实现定量检测,也没有获得探测限^[234]。在G类神经毒剂方面,该公司2004年采用Ag纳米粒子包埋的溶胶-凝胶基底探测了沙林GB、索曼GD、GF及其对应的中间态水解产物LMPA、PMPA、CMPA的SERS谱,并探测了终态水解物MPA的SERS谱,但也没能实现定量探测以及探测限LOD的获得^[233]。