

УДК 535.394

БИОХИМИЧЕСКИЕ СЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ПОРИСТЫХ ПЛЕНОК ОКСИДА АЛЮМИНИЯ С НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА В УСЛОВИЯХ ПОЛНОГО ВНУТРЕННЕГО ОТРАЖЕНИЯ

*П. Н. Болтовец, Э. Г. Манойлов, А. А. Савченко,
Э. Б. Каганович, Б. А. Снопок*

Институт физики полупроводников им. В.Е. Лашкарева НАН Украины,
Проспект Науки, 41, Киев 03028, Украина,
тел.:(+380) 44 525 56 26,
pboltovec@mail.ru, silitech@ukr.net, Andrej.Savchenko@mail.ru,
dept_5@isp.kiev.ua, snopok@isp.kiev.ua

Аннотация

БИОХИМИЧЕСКИЕ СЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ПОРИСТЫХ ПЛЕНОК ОКСИДА АЛЮМИНИЯ С НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА В УСЛОВИЯХ ПОЛНОГО ВНУТРЕННЕГО ОТРАЖЕНИЯ

П. Н. Болтовец, Э. Г. Манойлов, А. А. Савченко, Э. Б. Каганович, Б. А. Снопок

Рассмотрена возможность разработки биохимических сенсорных систем на основе пленок с контролируемым уровнем спектрально селективного поглощения в условиях полного внутреннего отражения (ПВО). Показано, что пористые пленки Al_2O_3 с наночастицами Au, полученные импульсным лазерным осаждением, характеризуются наличием минимума на угловой зависимости коэффициента отражения в условиях ПВО. Проанализирована оптическая модель сенсорной системы в рамках макроскопической теории Максвелла. Эффективность использования предложенных преобразователей в качестве оптоэлектронных сенсорных элементов продемонстрирована на примере рефрактометрических измерений и мониторинга белок-белковых взаимодействий.

Ключевые слова: наночастицы золота, полное внутреннее отражение, оксид алюминия

Анотація

БІОХІМІЧНІ СЕНСОРНІ СИСТЕМИ НА ОСНОВІ ПОРИСТИХ ПЛІВОК ОКСИДУ АЛЮМІНІЮ З НАНОЧАСТКАМИ ЗОЛОТА В УМОВАХ ПОВНОГО ВНУТРІШНЬОГО ВІДБИТТЯ

П. М. Болтовець, Е. Г. Манойлов, А. А. Савченко, Е. Б. Каганович, Б. А. Снопок

Розглянуто можливість розробки біохімічних сенсорних систем на основі плівок з контрольованим рівнем спектрально селективного поглинання в умовах повного внутрішнього відбиття (ПВВ). Показано, що пористі плівки Al_2O_3 з наночастками Au, отримані імпульсним лазерним осадженням, характеризуються наявністю мінімуму на кутовій залежності коефіцієнту відбиття в умовах ПВВ. Проаналізовано оптичну модель сенсорної системи в рамках макроскопічної теорії Максвелла. Ефективність використання запропонованих перетворювачів як оптоелектронних сенсорних елементів продемонстрована на прикладі рефрактометричних вимірів і моніторингу білок-білкових взаємодій.

Ключові слова: наночастки золота, повне внутрішнє відбиття, оксид алюмінію

Abstract

BIOCHEMICAL SENSOR SYSTEMS ON THE BASE OF THE POROUS FILMS OF THE ALLUMINIUM OXIDE WITH GOLD NANOPARTICLES UNDER CONDITIONS OF THE TOTAL INTERNAL REFLECTANCE

P. M. Boltovets, E. G. Manoilov, A. A. Savchenko, E. B. Kaganovich, B. A. Snopok

The possibility of the development of the biochemical sensor systems on the base of the films with the controlled level of the spectral selective absorption under the total internal reflection (TIR) conditions. It was demonstrated that porous Al_2O_3 films with the Au nanoparticles obtained by the impulse laser deposition are characterize by the presence of the minimum at the angle dependence of the reflectance factor under TIR conditions. The optical model of the sensor system in the limits of the macroscopic Maxwell theory. The effectiveness of the use of introduced transducers was demonstrated on the case of the refractometric measurements and the monitoring of the protein-protein interactions.

Keywords: gold nanoparticles, total internal reflection, aluminium oxide

1. Вступление

Современные методы анализа биоспецифических взаимодействий в своем подавляющем большинстве основаны на физических преобразователях поверхностного типа, таких как волноводные структуры, на основе поверхностного плазмонного резонанса, поверхностных акустических волн и т.п. Несмотря на значительные успехи в применении этих преобразователей, принципиальные ограничения в разделении эффектов внешней среды, изменения поглощения и рефракции у границы раздела обуславливают поиск альтернативных подходов для создания мультипараметрических сенсорных систем. Для решения таких задач одним из наиболее перспективных направлений представляется дальнейшее развитие неструктурных оптических систем, в которых формирование информативного сигнала обусловлено особенностями распространения света в области чувствительной архитектуры на границе раздела в условиях полного внутреннего отражения (ПВО) [1].

Физической основой методов нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) для их использования в качестве физических преобразователей биохимических сенсорных систем является чувствительность условий ПВО к оптическим параметрам среды на границе раздела. Резкое изменение угловой зависимости коэффициента отражения $R(\alpha)$ при появлении очень малого поглощения в среде или наличия тонких органических пленок и выделяет данный метод из аналогичных оптических методик.

Цель данной работы — исследовать возможность использования физических преобразователей на основе пористых пленок оксида алюминия с наночастицами золота, полученных методом импульсного лазерного осаждения (ИЛО), для проведения рефрактометрических исследований и мониторинга биоспецифических взаимодействий.

2. Эксперимент

Среди различных методов получения наночастиц (НЧ) золота: химических, вакуумного осаждения островковых пленок золота, магнетронного распыления и др. лазерные методы имеют ряд преимуществ. Метод ИЛО обеспечивает конгруэнтность состава пленки по отношению к мишени, отличается высокой степенью контролируемости процесса, возможностью формирования НЧ Au в различных диэлектрических матрицах и др. В данной работе пористые пленки оксида алюминия с НЧ Au получали методом ИЛО из обратного потока частиц эрозионного факела на стеклянные подложки, расположенные в плоскости мишени [2]. Это позволило не только формировать пористые пленки, но и контролировать распределение НЧ Au по размеру. Вблизи оси эрозионного факела формируются НЧ с большими размерами, вдали — с меньшими. Пленки получали в вакуумной камере при давлении аргона 10-15 Па. Излучение лазера ИАГ: Nd^{3+} , работающего в режиме модулированной добротности (длина волны 1,06 мкм, энергия в им-

пульсе — 0,2 Дж, длительность импульса 10 нс, их частота — 25 Гц) направляли на мишень состава Al+Au. Варьировали плотность энергии облучения мишени (j) в диапазоне значений 2,5-20 Дж/см² и процентное содержание НЧ Au в пленке. Диапазон размеров НЧ Au составлял от 2 до 20 нм. Наблюдали как сферическую форму НЧ, так и сфероидальную. При больших концентрациях золота (20 — 30%) формировалась лабиринтная структура. Толщина пленок составляла от нескольких десятков (дальний край) до нескольких сотен нанометров вблизи оси эрозионного факела. По данным рентгенофазного анализа пленки содержали аморфную фазу Al₂O₃ и золото. Размеры НЧ оценивали методом атомной силовой микроскопии.

Спектры поглощения пленок измеряли на спектрофотометре Spesord M40 в диапазоне длин волн 300-900 нм. Угловую зависимость коэффициента отражения измеряли с помощью спектрометра поверхностного плазмонного резонанса BioNepreg с длиной волны излучения 650 нм [3]. На призму с показателем преломления $n=1,61$ помещали стеклянную подложку с тем же показателем преломления с полученной пленкой Al₂O₃, содержащей Au НЧ. Для исследования возможностей детектирования биологических взаимодействий использовали биоспецифическую реакцию соевого ингибитора трипсина (STI) (Sigma) с его комплементарным партнером трипсином (Tr) (Sigma). В качестве рабочего буфера использовали фосфатный буфер (PBS, pH 7,4).

3. Результаты и их обсуждение

В спектрах поглощения исследуемых пленок Al₂O₃ с НЧ Au толщиной 50 — 500 нм наблюдается сложносоставная полоса поглощения, характерная для суперпозиции НЧ Au и их кластеров [4]. Энергетическое положение элементарных полос в таком спектре зависит от распределения размеров НЧ Au, их формы, свойств Al₂O₃ матрицы. С уменьшением размеров НЧ Au максимум поглощения в наблюдаемой области спектра смещался в сторону меньших длин волн (см. рис. 1) в соответствии с литературными данными [4].

На рис.2 приведены измеренные угловые зависимости коэффициента отражения исследуемых систем в условиях ПВО для пленок Al₂O₃, полученных в различных технологичес-

ких условиях: не содержащей НЧ Au (1), содержащей 2% Au и полученной при $j=20$ Дж/см² (2), содержащей 10% Au и полученной при $j=2,5$ Дж/см² (3). Форма угловой зависимости для пленки Al₂O₃ в отсутствие НЧ Au свидетельствует об отсутствии волноводных мод или иных поверхностных возбуждений в данных условиях. Вместе с тем, наличие НЧ Au в пленке приводит к появлению в системе волноводных мод, обуславливая наличие минимумов отражения на угловой зависимости в условиях ПВО. Для исследованных пленок Al₂O₃ экстремум на $R(\alpha)$ наиболее четко проявляется для случая низкого содержания золота и высокой мощности лазерного излучения. Согласно [4] это соответствует формированию наночастиц золота малого размера и преимущественно сферической формы. Необходимо отметить, что зависимости, аналогичные приведенным на рис.2, были получены как для р-, так и для s-поляризации падающего излучения — этот факт свидетельствует о том, что наблюдаемая зависимость не связана с генерацией поверхностных плазмон-поляритонных возбуждений на границе раздела.

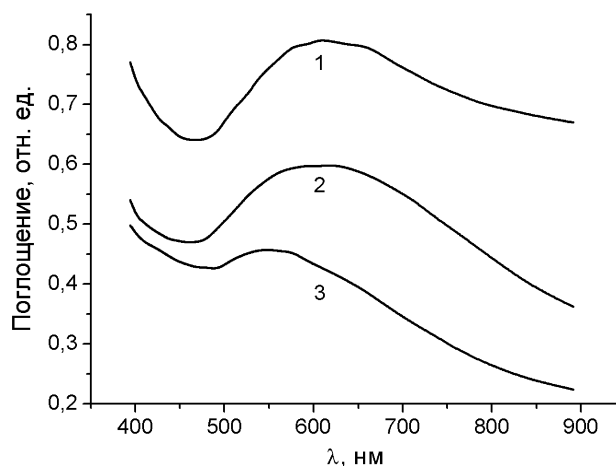


Рис.1. Спектры поглощения пористых пленок Al₂O₃ с НЧ Au, полученных ИЛО, отличающихся размером НЧ Au $l_1 > l_2 > l_3$ и толщиной пленок $d_1 > d_2 > d_3$

С целью выяснения причин возникновения особенностей на зависимостях, представленных на рис. 2 были проведены расчеты в рамках макроскопической теории Максвелла (Winspall 2.0) для системы, состоящей из цилиндрической линзы с коэффициентом преломления $n=1,61$ (стекло) пленки толщиной d с комплексным коэффициентом преломления $n_j + ik_j$ и полубесконечной внешней среды с $n=1,33$

(вода). На рис.3 приведены рассчитанные характерные угловые зависимости отражения в условиях ПВО для сенсорной модели, учитывающей наличие поглощающей диэлектрической пленки толщиной d с коэффициентом преломления $n_j=1.51$ и различными коэффициентами поглощения k_j (0, 0.01, 0.1) (зависимости 1, 2, 3 соответственно). Анализ особенностей системы в рамках данной модели позволяет выделить следующие основные особенности:

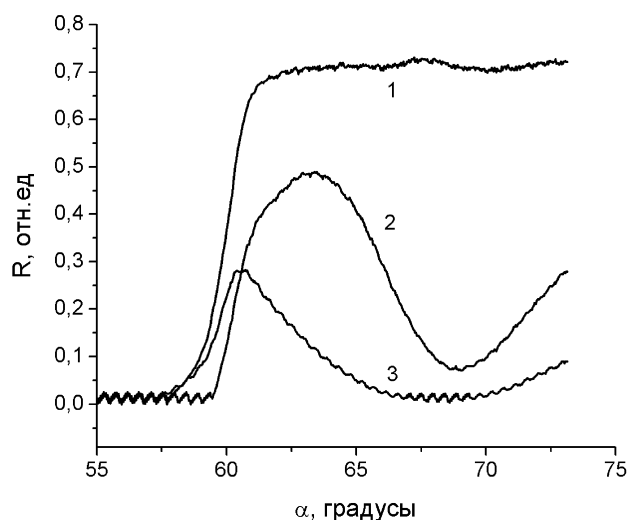


Рис.2. Угловые зависимости коэффициента отражения трех пленок: не содержащей НЧ Au (1), содержащей 2% Au и полученной при $j=20$ Дж/см² (2), содержащей 10% Au и полученной при $j=2,5$ Дж/см² (3)

1) угол ПВО (TIR* angle на рис. 3) преимущественно определяется величиной коэффициента преломления внешней среды (рабочего раствора, например, воды);

2) абсолютная величина коэффициента отражения в области ПВО (TIR* на рис. 3) зависит в основном от коэффициента поглощения пленки;

3) угловое положение минимума отражения (TIR* min на рис. 3) зависит от коэффициента преломления пленки при постоянстве остальных параметров системы.

Приведенные особенности свидетельствуют о потенциальных возможностях рассматриваемых структур для сенсорных применений. Действительно, мониторинг зависимости $R(\alpha)$ позволяет в одном цикле измерений определить i) изменение коэффициента преломления рабочего раствора и количество введенного аналита по эффективному коэффициенту преломления, а также ii) поглощение аналитов в пленке.

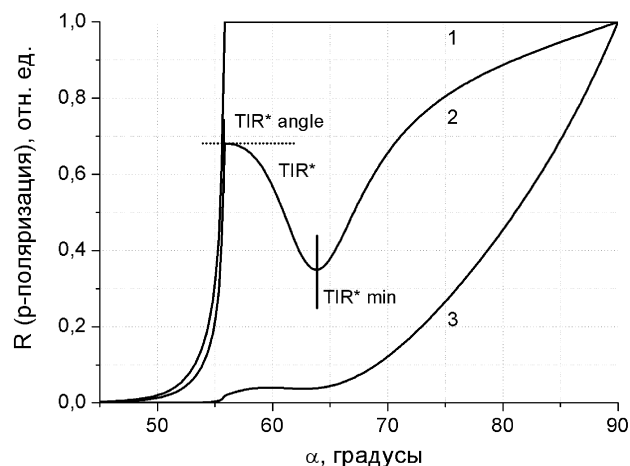


Рис.3. Угловые зависимости коэффициента отражения в условиях ПВО для трех пленок с коэффициентом преломления $n_j=1.51$ и различными коэффициентами поглощения k_j (0, 0.01, 0.1) (соответственно 1, 2, 3)

На рис.4 приведены зависимости угла, соответствующего минимуму функции $R(\alpha)$, при замене воды ($n=1,33$) на фосфатный буфер ($n=1,37$) (рис.4а) и при адсорбции соевого ингибитора трипсина на поверхности пленки с последующим его связыванием с трипсином (рис.4б). Эти результаты демонстрируют возможности использования рассмотренных физических преобразователей на основе пористых пленок в качестве сенсорных элементов.

Сложности в реализации такого подхода связаны с тем, что оптимальное для сенсорного применения поведение системы достигается в достаточно узком интервале параметров системы, особенно коэффициента поглощения пленки. Более того, для оптимального функционирования необходимо получить тонкую пористую пленку определенной толщины с эффективным коэффициентом преломления не менее 1,5. Использование наночастиц золота, введенных в прозрачные пленки Al_2O_3 с высоким коэффициентом преломления представляется наиболее перспективным способом создания таких функциональных оптоэлектронных структур. Взаимное влияние локальных плазмонных возбуждений в кластерах наночастиц золота приводит к появлению контролируемого технологическими приемами оптического поглощения в области $600 \div 700$ нм, что позволяет использовать в качестве системы детектирования стандартные спектрометры поверхностного плазмонного резонанса.

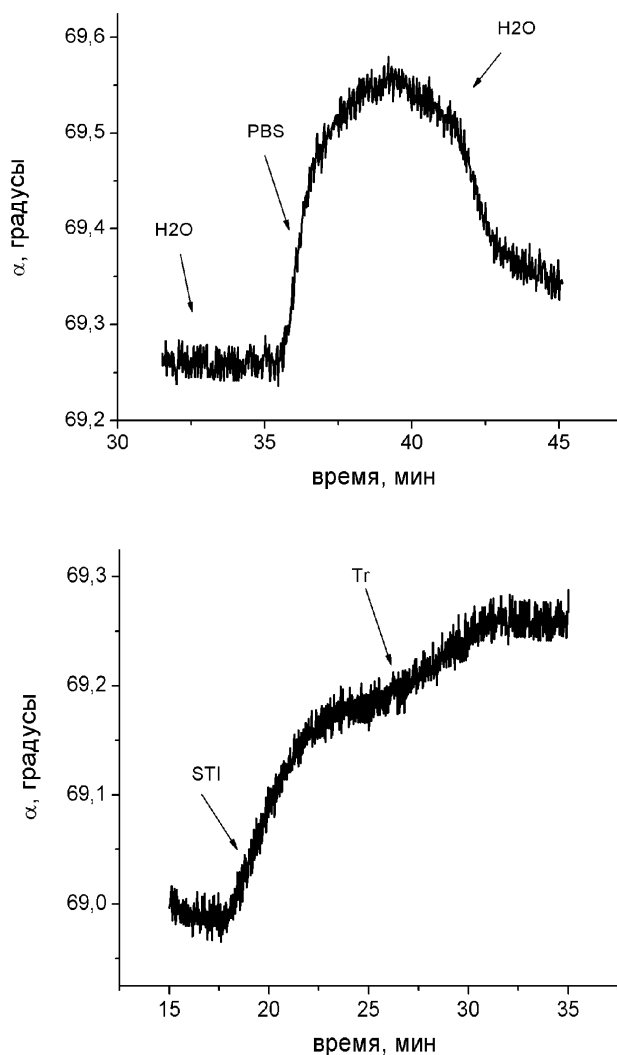


Рис.4. Зависимость угла НПВО при замене воды на фосфатный буферный раствор (PBS) (а) и при взаимодействии адсорбированного соевого ингибитора трипсина (STI) и трипсина (Tr) (б)

Выводы

Анализ угловых зависимостей отражения света в условиях полного внутреннего отражения для пористых пленок Al_2O_3 с наночастицами золота, полученных методом импульсного лазерного осаждения, в рамках макроскопической теории Максвелла свидетельствует о том, что, такие системы адекватно описываются моделью тонкой поглощающей пленки на диэлектрической подложке. Установлены режимы формирования методом ИЛО пленок Al_2O_3 с наночастицами золота, обладающими оптическими параметрами, необходимыми для возбуждения в них волноводных мод. Использование таких пленок в качестве физических преобразователей при проведении рефрактометрических измерений и мониторинга биоспецифических взаимодействий показало перспективность их применения для разработки биохимических оптоэлектронных сенсорных систем нового поколения.

Литература

1. Homola J. Present and future of surface plasmon resonance biosensors // *Anal Bioanal. Chem.* — 2003. — Vol.377, №3. — P.528-539.
2. Каганович Э.Б., Манойлов Э.Г., Бегун Е.В. Фотолуминесценция германиевых квантовых точек, сформированных импульсным лазерным осаждением // *ФТП.* — 2007. — Т.41, Вып. 2. — С.177-181.
3. Savchenko A, Kashuba E, Kashuba V, Snopok V. Imaging technique for the screening of protein-protein interactions using scattered light under surface plasmon resonance conditions // *Anal Chem.* — 2007. — Vol.79, №4. — P.1349-55.
4. Shipway A.N., Katz E., Willner I. Nanoparticle arrays on surfaces for electronic, optical, and sensor applications // *CHEMPHYSICHEM* 2000. — №1. — P.18-52.