

文章编号: 1004-5929(2009)04-0295-05

干净、均一的表面增强拉曼基底的制备和表征

徐燕慧¹, 崔 颜², 刘必聚², 任 斌^{2*}, 石 巍¹

(1. 厦门大学材料学院生物材料系/生物医学工程研究中心, 厦门 361005;

2. 厦门大学化学化工学院化学系/固体表面物理化学国家重点实验室, 厦门 361005)

摘 要: 采用盐酸羟胺种子生长法制备 60 nm 左右的粒径均一的金纳米粒子, 通过在 ITO 上修饰 3-氨基丙基三甲氧基硅烷 (APTMS) 对金纳米粒子进行组装, 得到组装密度较高、均一的表面增强拉曼光谱 (SERS) 基底; 采用等离子体清洗再用醋酸溶液浸泡除去氧化层的方法, 可获得干净的 SERS 基底, 这种方法与其它基底除杂方法相比更为简单、操作性强且信号只衰减了 20%。

关键词: 金纳米粒子; 表面增强拉曼光谱; 基底; 除杂

中图分类号: O647 文献标识码: A

Preparation and Characterization of Clean and Uniform Substrates for Surface Enhanced Raman Spectroscopy

XU Yanhui¹, CUI Yan², LIU Bijun², REN Bin^{2*}, SHI Wei¹

(1. *Research Center of Biomedical Engineering, Department of Biomaterials, College of Materials, Xiamen University, Xiamen 361005, China;*

2. *State Key Laboratory for Physical Chemistry of Solid Surfaces and Department of Chemistry, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)*

Abstract: Gold nanoparticles with uniform size and shape distribution were synthesized by hydroxylamine seed-mediated growing method. High density and uniform SERS (surface-enhanced Raman spectroscopy) substrates were obtained by assembling Au nanoparticles on the indium tin oxide (ITO) substrates which had been modified with (3-aminopropyl) trimethoxysilane (APTMS). Clean SERS substrates have been obtained by cleaning the assembled substrate in Plasma cleaner followed by immersion in acetic acid to remove the surface oxides. This method to remove the contaminants on the surface appears to be very simple, which only lead to a decrease of signal by 20%.

Key words: gold nanoparticles; surface-enhanced Raman spectroscopy; substrates; contaminants

收稿日期: 2009-05-30

基金项目: 973 项目(2009CB930703, 2007CB935603); 国家自然科学基金(20673086, 20825313, 20827003)

作者简介: 任斌, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事光谱电化学研究. E-mail: br en@xmu.edu.cn

1 引言

表面增强拉曼光谱(SERS),是一种基于纳米尺度的粗糙表面或颗粒体系的异常光学增强效应,由于具有很高的检测灵敏度,能检测吸附在金属表面的单层和亚单层分子,给出表面分子的结构信息,因此被认为是一种具有广泛应用前景的表面分析技术^[1]。然而SERS的应用很大程度上取决于如何获得信号均匀且具有较高SERS活性的基底。至今,人们已经发展了平板印刷法、电子刻蚀法和纳米粒子自组装^[2-4]等制备SERS基底的方法。平板印刷法和电子刻蚀法虽可以制备高度有序的SERS基底,但这些技术需要昂贵的仪器和苛刻的实验条件,制备得到的SERS基底由于缺乏有效的耦合,增强效应有限。纳米粒子自组装的方法由于简单、易操作,可批量、廉价制备规整的SERS基底^[5],因而得到了广泛的应用。通常理想的SERS基底应具备以下几个特点^[6-7]: 1. 基底具有较高的灵敏度; 2. 较好均匀性: 整个基底上各点的增强效应比较一致,不同点间的增强偏差一般小于20%,这就要求构成基底的纳米粒子排列有序,粒子大小、间距一致; 3. 较好的稳定性和重现性; 4. 基底较洁净,没有杂质的干扰: 合成纳米粒子时所用到的还原剂和表面活性剂会吸附在纳米粒子的表面,这样所研究的目标分子就无法吸附到基底的活性位点上,导致SERS信号明显降低,而对于弱吸附分子的体系、痕量物质的检测,这些杂质的干扰会更严重,因此发展合适的方法除去SERS基底表面的杂质对于SERS的实际应用就显得非常重要。

为解决基底的杂质干扰问题,人们进行了各种尝试。例如采用强吸附能力的 CN^- 除去银层,从而获得干净新鲜的表面,但是强吸附能力的 CN^- 会占据Ag表面活性位,影响进一步检测^[8]。若采用 Cl^- 离子也能够取代杂质达到除杂目的,然而很难除去特异性吸附在基底上的 Cl^- ^[9]。而在真空条件下用等离子体清洗基底,也可有效地除去杂质,但是当基底从真空转移到大气环境时,很容易再次被污染^[10]。我们组在前期的工作中利用柠檬酸还原法所制备的金纳米粒子在3-氨基丙基三甲氧基硅烷(APTMS)偶联下制备了较为均匀的SERS基底^[11],并采

用化学吸附碘离子,进而电化学氧化除杂的方式获得洁净的SERS基底用于细胞膜表面蛋白分析^[12],但是柠檬酸钠一步还原制备较大粒径的粒子时形状、大小不均一,且组装密度比较低,而采用化学吸附碘离子-电化学氧化除碘方法,在电化学氧化除碘时会使部分Au也被氧化,导致SERS信号衰减1/2-1/3。因此本文尝试用盐酸羟胺种子生长法合成60nm左右的粒径均一的金纳米粒子,通过在ITO上修饰APTMS再组装金纳米粒子,得到组装密度较高的、均一的SERS基底;由于合成和组装得到的金纳米粒子表面会吸附一些杂质,导致基底不干净,为除去基底上的杂质我们采用等离子体清洗基底,再用醋酸等溶液浸泡的方法,获得干净的SERS基底,这种方法比其它的基底除杂方法简单、可操作性强且信号只衰减了20%。

2 实验方法

2.1 仪器和试剂

3-氨基丙基三甲氧基硅烷(APTMS)(纯度97%)购自Aldrich公司;氯金酸($\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)、盐酸羟胺、柠檬酸三钠、氨水、双氧水、乙醇、丙酮、异丙醇、硫酸、盐酸、醋酸和氢氧化钠均为分析纯试剂(中国医药集团上海化学试剂公司);ITO(Indium Tin Oxide)导电玻璃(电阻 $90\Omega/\text{片}$)由厦门爱特欧公司提供。

电镜测试采用德国LEO公司的LEO 1530场发射扫描电镜;常规拉曼测试采用法国Jobin Yvon的LabRam I型共聚焦拉曼光谱仪;采谱用50倍的长焦物镜($\text{NA} = 0.55$),激光波长为632.8nm,激光斑点直径为 $2\mu\text{m}$ 左右,激光功率均采用0.6mW;等离子清洗仪(Diener Prep2)购自北京嘉润通力科技有限公司。

2.2 制备SERS活性的基底

盐酸羟胺种子生长法合成60nm左右的金溶胶^[13](以下简称羟胺法):先采用经典的柠檬酸钠还原氯金酸的方法^[14]制备出约30nm的金种,具体操作如下:向100mL沸腾的质量体积分数为1%的 $\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 的水溶液中迅速加入质量体积分数为1%的柠檬酸三钠水溶液1.2mL,在搅拌的情况下保持沸腾30min,继续搅拌直至自然冷却。取合成好的30nm金种50mL,加入41.2mL盐酸羟胺(25mmol/

L), 在搅拌的状态下, 向该混合溶液中逐滴加入 41.2 mL 氯金酸 (2.5 mmol/L), 搅拌反应 15 min 即可得到粒径约为 60 nm 的金溶胶。

柠檬酸钠一步还原法制备约 60 nm 的金溶胶(以下简称一步法): 向 100 mL 沸腾的质量体积分数为 1% 的 $\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 的水溶液中迅速加入质量体积分数为 1% 的柠檬酸三钠水溶液 0.65 mL, 在搅拌的情况下保持沸腾 30 min, 为了使制得的 Au 溶胶的浓度与羟胺法相同, 便于后面组装实验的比较, 采用加热蒸发 Au 溶胶的方法使纳米粒子浓缩 2.3 倍左右, 自然冷却, 备用。

ITO 基底的清洗、活化和化学修饰: ITO 片先用棉花蘸乙醇擦拭, 再分别用丙酮、异丙醇和超纯水超声清洗 20 min, 以除去表面的有机物, 然后用水-双氧水-氨水(体积比 5: 1: 1) 的混合溶液煮沸 30 min, 以活化 ITO 表面^[15]。将清洗好的 ITO 片置于 APTMS 水溶液[V (H₂O) : V (APTMS) = 1000: 1] 中浸泡 24 h^[16], 取出后用超纯水彻底清洗, 氮气吹干, 110 °C 恒温处理 30 min。为了提高组装密度, 将 ITO 自然冷却后浸入 0.2 mol/L HCl 10 min 进行质子化处理^[17], 取出后用超纯水冲洗, 氮气吹干备用。

SERS 基底的制备: 将组装上氨基硅烷并进行质子化处理的 ITO 片分别浸入一步法和羟胺法合成的金溶胶 16 h, 取出后用超纯水冲洗, 并保存于超纯水中以防止粒子聚集和被污染。基底用扫描电镜表征其形貌, 用拉曼来表征 SERS 活性的强弱。

2.3 SERS 基底除杂研究

将组装好的基底放入等离子体清洗仪中, 真空抽至 30 Pa, 待气压稳定后进行高频放电, 功率为 60 W, 产生等离子辉光后处理 90 s, 停止放电, 关闭电源。将处理好的基底立即浸入 1% V/V 醋酸、1 mol/L NaOH、0.5 mol/L H₂SO₄ 和 0.2 mol/L HCl 等不同的溶液 10 min, 取出, 超纯水冲洗, N₂ 吹干, 用拉曼表征 SERS 基底的除杂效果。

3 结果与讨论

3.1 SERS 活性基底的表征

要想得到比较理想的, 均匀性较好的 SERS

基底, 就要求组装的纳米粒子要粒径均一。因此, 我们分别尝试了盐酸羟胺种子生长法和柠檬

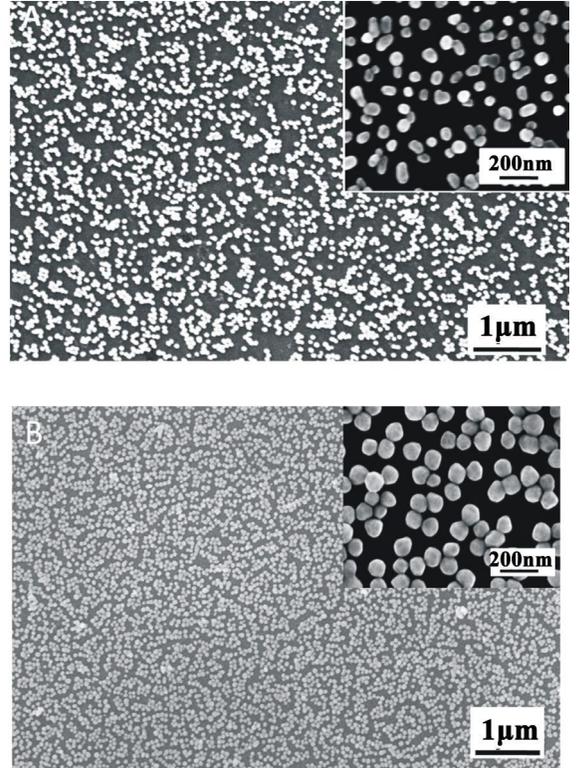


Fig. 1 SEM images of the assembled Au nanoparticles on ITO substrates: Au nanoparticles synthesized by (A) trisodium citrate reducing method and (B) hydroxylamine seed mediated growing method. The insets show the corresponding images at a higher magnification

酸钠一步还原法合成约 60 nm 的金溶胶, Fig. 1 给出了两种合成方法基底组装效果的 SEM 图, 可以看出羟胺法合成的纳米粒子粒径均一, 均在 60 nm 左右, 大小和形状一致, 均为圆形 (B 图), 而一步法得到的纳米粒子相对而言, 粒径分布范围较广 (40~70 nm), 形状也不一致 (A 图)。而且, 羟胺法得到的纳米粒子的组装密度 (B 图) 明显比一步法 (A 图) 高, 纳米粒子排列比较规整、紧密。特别指出, 为了提高基底的组装密度, 组装之前需将修饰了 APTMS 的 ITO 基底浸入盐酸进行质子化, 使 APTMS 分子的 $-\text{NH}_2$ 基团转变为 $-\text{NH}_3^+$ ^[17], 从而增加了 ITO 表面的正电性, 使带负电的金纳米粒子易通过静电作用更多地组装在基底上。在此基底上, 羟胺法合成的纳米粒子的组装密度比一步法高。为了探究其

原因我们测量了同样浓度的两种金溶胶的 Zeta 电位, 结果显示羟胺法合成的纳米粒子的 Zeta 电位的绝对值比一步法低 16mv 左右, 说明羟胺法合成的纳米粒子表面负电荷比一步法低, 纳米粒子间的静电斥力相对较小但又可以避免团聚, 从而组装密度较一步法高。此外, 羟胺法制备的粒子形状规则, 粒径均一也有助于提高其组装密度。

对于 SERS 基底来说, SERS 信号强弱是一个至关重要的因素。因此, 我们以 10 mM 的吡啶作为探针分子, 表征基底的 SERS 强度 (Fig. 2), 结果表明, 在相同的实验条件下, 羟胺法合成的纳米粒子组装的基底 SERS 信号比一步法得到的基底信号强约一倍, 说明基底的组装密度越高, 排列越紧密、有序, 它的 SERS 信号就越强。

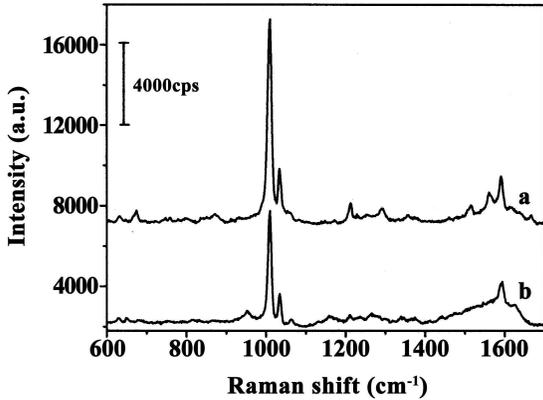


Fig. 2 SERS spectra obtained on the substrates using pyridine as the probe molecule: curve a and b were obtained from the substrates on which assembled Au nanoparticles were synthesized by hydroxylamine seed mediated growing and tri-sodium citrate reducing methods, respectively. The collection time was 1 s, and the laser power on the samples was 0.6 mW. The concentration of pyridine was 10 mM

从以上对两种 SERS 基底的比较和表征可以得出这样的结论: 要想得到较高灵敏度和较好均匀性的理想 SERS 基底, 采用羟胺法组装基底比一步法组装基底更好。所以, 以下实验所采用的基底均由羟胺法合成的粒子组装得到。

3.2 SERS 基底除杂研究

由于合成和组装得到的金纳米粒子表面会吸附一些杂质, 导致基底不干净, 而不干净的

SERS 基底会严重干扰弱吸附分子及痕量浓度的分子的检测。为了得到洁净的 SERS 基底, 我们利用等离子体清洗, 以除去基底表面的杂质, 获得比较干净的基底, 但是干净的基底由真空状态转移到大气环境时, 表面又很容易被污染, 而且等离子体清洗除去杂质的同时基底表层的 Au 也会被氧化, 导致 SERS 信号减弱。我们尝试将等离子体清洗后的基底用醋酸、NaOH、H₂SO₄ 和 HCl 等不同的溶液浸泡, 以便除去基底上的

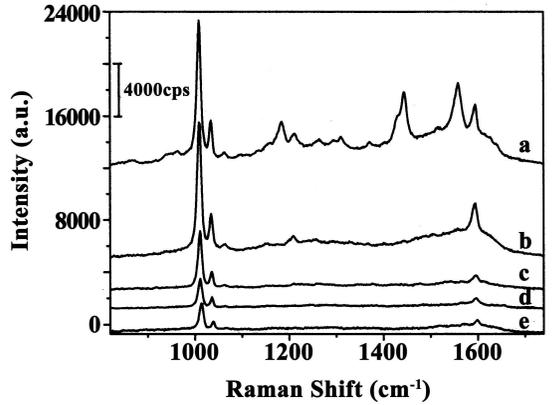


Fig. 3 SERS spectra of pyridine obtained on the substrates without further treatment (a), treated in plasma cleaner for 90 s and then immersed in acetic acid (b), NaOH (c), H₂SO₄ (d), and HCl (e) for 10 minutes. The collection time was 1 s. Solution: 10 mM pyridine

杂质及氧化层, 得到干净的 SERS 基底。Fig. 3 给出了除杂前后基底上吡啶的 SERS 谱峰, 可以看出, 未进行除杂前, 吡啶除了自身的特征性的谱峰 (1012、1036、1065、1208、1478、1595 cm⁻¹) 外, 在 1100–1600 cm⁻¹ 段有很多杂质的谱峰 (Fig. 3a), 而经过除杂处理 (Fig. 3 b– e), 即基底经等离子体清洗, 用醋酸、NaOH、H₂SO₄ 和 HCl 等不同的溶液浸泡后, 均只有吡啶的信号, 而没有出现杂质信号, 说明基底的杂质已经被处理干净。需指出的是醋酸溶液浸泡后, 基底 SERS 信号只衰减了 20%, 而 NaOH、H₂SO₄ 和 HCl 浸泡的基底 SERS 信号衰减均超过了 50%。这可能是因为 H₂SO₄ 和 HCl 是强酸, 而 NaOH 是强碱, 基底浸入这些强酸强碱溶液后, 会导致与基底作用较弱的 Au 纳米粒子发生脱落, 从而导致 SERS 信号减弱, 而醋酸是弱酸, 相对而言对基底的影响较小, 信号衰减较少。因

此, 采用醋酸作为除杂的浸泡溶液是最好的选择。

4 结论

综上所述, 我们比较并证实了利用盐酸羟胺种子生长法合成的粒径约 60 nm 的金比柠檬酸钠一步还原氯金酸的方法得到的金纳米粒子, 粒径更均一, 大小和形状更一致, 组装密度也更高, 具有更强的 SERS 活性, 是一种很好的制备高灵敏度 and 较好均匀性的 SERS 基底的方法。用等离子体清洗, 结合醋酸溶液浸泡基底可以获得 SERS 信号衰减最小的干净 SERS 基底。与其它的基底除杂方法相比该方法简单、操作性强且信号衰减较少。

参考文献:

- [1] Tian Z Q, Ren B, Wu D Y. Surface enhanced Raman scattering: from noble to transition metals and from rough surfaces to ordered nanostructures [J]. J. Phys. Chem. B, 2002, 106: 9463– 9483.
- [2] Yu Q M, Golden G. Probing the protein orientation on charged self assembled monolayers on gold nanohole arrays by SERS [J]. Langmuir, 2007, 23: 8659– 8662.
- [3] Alvarez Puebla R, Cui B, Bravo Vasquez J P, *et al.* Nanoimprinted SERS active substrates with tunable surface Plasmon resonances [J]. J. Phys. Chem. C, 2007, 111 (18) : 6720– 6723.
- [4] Freeman R G, Grabar K C, Natan M J, *et al.* Self assembled metal colloid monolayers: an approach to SERS substrates [J]. Science, 1995, 267 (5204) : 1627– 1632.
- [5] Santhanam V, Liu J, Agarwal R, *et al.* Self assembly of uniform monolayer arrays of nanoparticles [J]. Langmuir, 2003, 19: 7881– 7887.
- [6] Natan M J. Concluding remarks - surface enhanced Raman scattering [J]. Faraday Discuss., 2006, 132: 321– 328.
- [7] Lin X M, Ren B, Tian Z Q, *et al.* Surface enhanced Raman spectroscopy - substrate related issues [J]. Anal. Bioanal. Chem., 2009, 394: 1729 – 1745.
- [8] Otto A. Raman spectra of $(CN)^-$ adsorbed at a silver surface [J]. Surf. Sci., 1978, 75, (2) : L392– 396.
- [9] 蔡志鹏, 王波, 莫育俊, 等. 对 SERS 衬底表面杂质的处理研究 [J]. 光散射学报, 2007, 19 (2) : 124 – 127.
- [10] Taylor C E, Garvey S D, Pemberton J E. Carbon contamination at silver surfaces: surface preparation procedures evaluated by Raman spectroscopy and X-ray photoelectron spectroscopy [J]. Anal. Chem., 1996, 68 (14) : 2401– 2408.
- [11] 高敏侠, 林秀梅, 任斌. 结合化学组装和电沉积的 SERS 基底的制备方法 [J]. 高等学校化学学报, 2008, 29: 959– 962.
- [12] Li M D, Cui Y, Ren B, *et al.* Clean substrates prepared by chemical adsorption of iodide followed by electrochemical oxidation for surface enhanced Raman spectroscopic study of cell membrane [J]. Anal. Chem., 2008, 80: 5118– 5125.
- [13] Fang P P, Li J F, Tian Z Q, *et al.* Optimization of SERS activities of gold nanoparticles and gold core - palladium shell nanoparticles by controlling size and shell thickness [J]. J. Raman Spectrosc., 2008, 39: 1679– 1687.
- [14] Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold solutions [J]. Nature Phys. Sci., 1973, 241 (105) : 20– 22.
- [15] Luscombe C K, Li H W, Huck W T S, *et al.* Fluorinated silane self assembled monolayers as resists for patterning indium tin oxide [J]. Langmuir, 2003, 19 (13) : 5273– 5278.
- [16] 胡瑞省, 刘善堂, 朱梓华, 等. 金纳米粒子在平整硅基表面上的组装 [J]. 物理化学学报, 2000, 16 (3) : 202– 206.
- [17] Bhat R R, Fischer D A, Genzer J. Fabricating planar nanoparticle assemblies with number density gradients [J]. Langmuir, 2002, 18: 5640– 5643.
- [18] Zhu T, Fu X Y, Liu Z F, *et al.* pH dependent adsorption of gold nanoparticles on *p*-aminothiophenol modified gold substrates [J]. Langmuir, 1999, 15: 5197– 5199.