

SPR 微型光纤光谱仪的研制及其传感界面信号放大体系的构建

摘要

杨昊华

(吉林大学化学学院, 长春, 130012)

在过去十几年里, 表面等离子体共振技术 (SPR) 的发展, 见证了光学传感的巨大进步。无标记、现场、实时动态检测等特点使 SPR 传感技术具有其他光学检测技术无法比拟的优势。同时测量具有异质性, 识别单元固定在界面上, 伴随不同结合单元的流动, 以实时监测浓度变化和结合动力学过程。

SPR 传感器可以分为波长型、角度型以及相位型。其中, 波长调制型的 SPR 传感器入射光谱范围宽, 角度固定的前提下调整波长范围。因此在物理体积、成像、检测参数等方面比另外两种更具有优势。波长调制型的 SPR 传感器, 也叫光谱 SPR 传感器, 可以使用光纤光谱仪作为检测器。光纤的核心由玻璃或塑料制成, 以此增加光的动量, 并允许一定范围的入射角在光纤内传播。但近年来, 对仪器小型化便携式的需求越来越大, 为了实现在恶劣环境或突发事件的环境中进行现场检测, 小型化便携式实验设备的研发得到广泛关注。本文重点研制了小型便携式 SPR 分析仪的核心部件——微型光纤光谱仪模块, 主要从光路、结构、电路、接口和软件五个方面进行设计。光路设计应用赛纳-特纳(Czerny-Turner)型光学结构, 研制了两种光路、三种焦距的微型光纤光谱仪模块。结构设计采用光学腔体和电学腔体的双腔结构设计方案。电路设计应用 ILX554B 型线阵 CCD 光电传感器。接口设计包括光学接口和电学接口。光学接口采用与 SMA905 型标准接口相匹配的接口形式, 并选用石英材质光纤跳线作为光输入接口, 使仪器的使用更加灵活, 同时减小了仪器的体积。电学接口则采用了即插即用的小型 USB 接口。最后进行软件设计, 实现了光谱参数、数据处理、寻峰和输出等功能。模块与 SPR 分析仪通过光学匹配、电子学匹配、接口匹配和软件匹配四个方面的匹配, 实现了微型光纤光谱仪模块与小型便携式 SPR 分析仪的有效匹配。

纳米杂化材料具有良好的生物相容性、催化性和吸附性, 能够催化、传导电子和放大响应信号, 在表面等离子体共振传感技术中发挥着重要作用。纳米杂化

材料的引入可以与 SPR 传感器的金膜产生电磁耦合效应，从而放大 SPR 响应信号，显著提高检测灵敏度。本文利用自行研制的小型便携式 SPR 分析仪及配套的微型光纤光谱仪构建了基于 PDA-ZnO@Au 纳米材料的传感界面。所合成的 ZnO@Au 纳米复合粒子即具有纳米复合材料和传统氧化锌的双重特性，又具有比表面积大、化学活性高等特点，且镀金纳米晶体提高了 ZnO 的光学性能，扩大了负载能力，具有更好的生物相容性。聚多巴胺(PDA)涂层可与抗体发生希夫碱反应，达到直接固定抗体的目的。同时，选择强亲和体系之一的链霉亲和素和生物素，构建了 GNRs -SA-biotin- Ab₂ (GSAB - Ab₂)以获得 SPR 信号的二次增强。对人免疫球蛋白 (hIgG)的检测范围是 0.0375 ~ 40 μg mL⁻¹，得到 hIgG 的最低检测浓度比传统的基于金膜的 SPR 传感器低约 67 倍，验证了所研制的微型光纤光谱仪在 SPR 传感技术的应用上具有良好的灵敏度和稳定性。同时纳米材料的引入二次放大了检测信号，进一步提高了与微型光纤光谱仪模块结合的小型便携式 SPR 传感器的灵敏度。

关键词：

微型光纤光谱仪，SPR 传感器，PDA-ZnO@Au 纳米复合材料，hIgG 检测，链霉亲和素-生物素

Development of SPR micro-optical fiber spectrometer and construction of signal amplification system of sensing interface

Abstract

Yang Haohua

(Jilin university college of chemistry, Changchun, 130012)

In the past decade, the development of surface plasmon resonance (SPR) technology has witnessed great progress in optical sensing. The characteristics of unmarked, on-site and real-time dynamic detection make SPR sensor technology have incomparable advantages over other optical detection technologies. At the same time, the measurement is heterogeneous, and the recognition unit is fixed at the interface with the flow of different binding units to monitor the concentration changes and binding dynamics in real time.

SPR sensors can be divided into wavelength type, angle type and phase type. Among them, the wavelength modulated SPR sensor has a wide incident spectrum range, and the wavelength range can be adjusted under the premise of fixed angle. Therefore, it has more advantages than the other two in terms of physical volume, imaging and detection parameters. Wavelength modulated SPR sensors, also known as spectral SPR sensors, can use fiber optic spectrometers as detectors. The core of the fiber is made of glass or plastic, which increases the momentum of light and allows a range of incident angles to travel through the fiber. However, in recent years, the demand for miniaturized portable instruments is increasing. In order to realize the field detection in harsh environment or emergency environment, the research and development of miniaturized portable experimental equipment has been widely concerned. This paper focuses on the development of a small portable SPR analyzer core component - micro optical fiber spectrometer module, mainly from the optical

path, structure, circuit, interface and software design five aspects. Using Czerny-Turner optical structure, a micro-optical fiber spectrometer module with two optical paths and three focal lengths was developed. The structure design adopts the optical cavity and the electrical cavity double cavity structure design. The circuit design uses ILX554B linear CCD photoelectric sensor. The interface design includes optical interface and electrical interface. The optical interface is matched with the SMA905 standard interface, and the quartz fiber jumper is used as the optical input interface, which makes the use of the instrument more flexible and reduces the volume of the instrument. The electrical interface uses a plug and play small USB interface. Finally, the software is designed to realize the functions of spectral parameters, data processing, peak finding and output. Through optical matching, electronic matching, interface matching and software matching, the micro-optical fiber spectrometer module and small portable SPR analyzer are effectively matched.

Nanohybrid materials have good biocompatibility, catalysis and adsorption, and can catalyze, conduct electrons and amplify response signals, so they play an important role in surface plasmon resonance sensing technology. The introduction of nanohybrid materials can produce electromagnetic coupling effect with the gold film of SPR sensor, thus amplifying the SPR response signal and significantly improving the detection sensitivity. In this paper, a self-developed small portable SPR analyzer and a miniature optical fiber spectrometer were used to construct the sensing interface based on PDA-ZnO@Au nanomaterials. The synthesized ZnO@Au nanocomposite particles not only have the dual characteristics of nanocomposite materials and traditional zinc oxide, but also have the characteristics of large specific surface area and high chemical activity. Moreover, the gold-coated nanocrystals improve the optical properties of ZnO, expand the loading capacity, and have better biocompatibility. The polydopamine (PDA) coating can react with the antibody with Schiff base to directly fix the antibody. At the same time, GNRs-SA-biotin-Ab₂ (GSAB-Ab₂) was constructed with Streptavidin and biotin, one of the strong affinity systems, to obtain the secondary enhancement of SPR signal. The detection range of human immunoglobulin (hIgG) is 0.0375-40 $\mu\text{g mL}^{-1}$. The minimum detection

concentration of hIgG obtained is about 67 times lower than that of the traditional SPR sensor based on gold film, which proves that the developed micro-optical fiber spectrometer has good sensitivity and stability in the application of SPR sensing technology. Meanwhile, the detection signal is amplified by the introduction of nanomaterials, which further improves the sensitivity of the small portable SPR sensor combined with the micro-optical fiber spectrometer module.

Keywords:

Micro-optical fiber spectrometer, SPR sensor, PDA-ZnO@Au Nanocomposites, HIgG detection, Streptavidin - Biotin

目录

第一章 前 言	1
1.1 SPR 生物传感器	2
1.1.1 SPR 生物传感器的基本原理	2
1.1.2 SPR 生物传感器识别元件的结合方式	4
1.2 SPR 传感设备	5
1.2.1 Kretschmann 构型设备	6
1.2.2 微型光纤光谱仪	7
1.2.3 便携式 SPR 传感设备	9
1.3 SPR 传感界面	10
1.3.1 自主装传感界面	11
1.3.2 多维度传感界面	11
1.3.3 防污表面化学传感界面	13
1.3.4 仿生传感界面	14
1.4 基于纳米材料修饰的 SPR 传感器	14
1.4.1 石墨烯和氧化石墨烯纳米材料	15
1.4.2 过渡金属纳米材料	16
1.4.3 金纳米材料	18
1.5 本论文研究的内容	19
第二章 SPR 微型光纤光谱仪的设计与构建	20
2.1 设计原理	20

2.2 传感器的总体设计	21
2.2.1 光路设计	21
2.2.2 结构设计	22
2.2.3 电路设计	25
2.2.4 接口设计	27
2.2.5 软件设计	27
2.3 微型光纤光谱仪模块与 SPR 分析仪匹配设计	27
2.4 小结	28
第三章 基于双重信号放大的 PDA-ZnO@Au 纳米复合材料—亲和素体系在 SPR 传感器中的应用	30
3.1 实验部分	31
3.1.1 实验装置	31
3.1.2 实验试剂	31
3.1.3 金纳米棒(GNRs)的合成	32
3.1.4 链霉亲和素-金棒的纳米功能化	32
3.1.5 Ab ₂ -生物素-XX-NHS 和 ZnO@Au 的制备	32
3.1.6 金膜的修饰和抗体的固定	32
3.1.7 免疫检测	33
3.2 结果讨论	34
3.2.1 GNRs、GNRs-SA、AuNPs 和 ZnO@Au 的表征	34
3.2.2 PDA-ZnO@Au 复合物基底的制备	37
3.2.3 抗体的固定和浓度的优化	38

3.2.4	GNRs-SA 的最佳结合量	38
3.2.5	SPR 二次信号放大器增强的免疫分析	39
3.2.6	传感器的特异性和稳定性	41
3.2.7	实际样品分析	43
3.3	小结	43
	参考文献	44
附 录	60
致 谢	61

第一章 前言

表面等离子体共振(surface plasma resonance, SPR)是金属-介质界面上的一种光电界面现象^[1]。表面等离子体共振现象伴随着金属表面自由电子的集体振荡^[2, 3], SPR 技术是近年来迅速发展的一个研究领域, 它串联起物理学、生物化学和医学等不同方向的研究^[4, 5]。最初 Ritchie^[6]在 20 世纪 50 年代从理论上提出了表面等离子体激元(SPs)。基于 SPs 的衰减全反射方法, Otto^[7]通过一个棱镜耦合结构成功激发了 SPR, 其中介电介质将棱镜与金属层分离。但由于在棱镜和金属层之间需要制造出具有空间隙的密封流道, 使得 Otto 配置在实际设备中实现非常具有挑战性。1968 年, Kretschmann^[8]和 Raether 改进了 Otto 结构, 将棱镜与金属层直接接触。当入射光的倏逝波与金属电子的振动频率相匹配时, 自由电子发生共振, 产生表面等离子体波(SPW), 沿金属和介电层之间的界面传播^[9, 10]。随后, Liedberg 首次将 SPR 与传感技术结合, 并将其应用于生物传感和气体检测领域^[11]。伴随着光纤的出现, Jorgenson^[12]于 1993 年提出了第一个基于光纤的 SPR 传感器, 得到了广泛的关注。

SPR 依赖于入射光源与棱镜或光栅密切接触的金属薄膜的相互作用, 在正确的实验条件下, 允许金属材料表面导电电子的传播振荡, 被称为表面等离子体激元^[13, 14]。这些振荡的电磁场对传感界面附近介质折射率的微小变化极其敏感, 在那里能够以极高的精度感知界面处交联事件的发生^[15, 16]。光源的发展和微加工技术的改进进一步提高了 SPR 的检测性能。作为光学传感器, SPR 是一种表面技术, 芯片的表面状态决定了其最终灵敏度^[17]。研究表明, SPR 灵敏度与芯片表面几十纳米范围内的激发电场密切相关, 电场强度和传播距离显著影响芯片的探测能力^[18, 19]。此外, 生物分子与芯片表面的结合能力和覆盖程度决定了待测靶点的捕获能力^[20]。通过优化 SPR 传感器的表面结构, 引入改性材料提高灵敏度, 有望实现对低丰度和小分子的检测^[21]。目前, SPR 传感器已广泛用于检测分析物和表征分子间的相互作用, 如大肠杆菌检测^[22, 23]、人 IgG 检测^[24, 25]、DNA 杂交检测^[26, 27]及炎症诊断^[28, 29]等, 从基础生化研究到病理检测等领域应用广泛, 取得了令人满意的结果。

1.1 SPR 生物传感器

1.1.1 SPR 生物传感器的基本原理

表面等离子体波是由入射光的光子激发金属表面自由电子集体振荡产生沿金属界面传播的电荷疏密波（图 1.1）。在衰减全反射(ATR)条件下，SPs 在界面处被激发，在相位匹配环境下，即平行于界面入射光的波矢 k_x 与沿横向传播的 SPs 的波矢 k_{SPR} 频率相同时（图 1.2），SPs 在传感界面产生表面等离子体共振现象，入射光束的能量被转移到 SPs 上，导致反射率显著降低，从而形成 SPR 响应曲线的急剧下降。

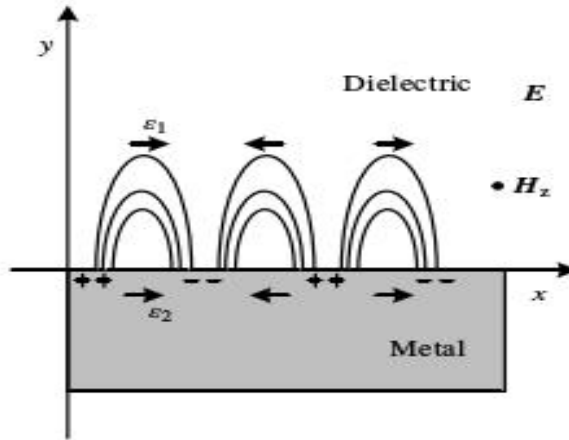


图 1.1 表面等离子体传播示意图

Fig. 1.1 Schematic diagram of surface plasma propagation

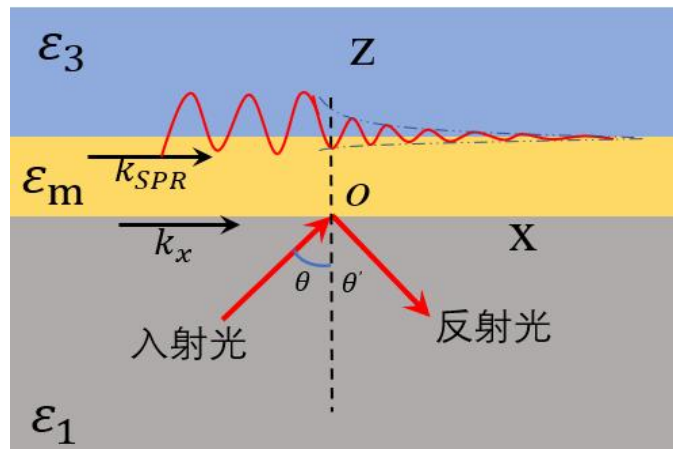


图 1.2 表面等离子体共振示意图

Fig. 1.2 Schematic diagram of surface plasmon resonance

常用的 SPR 耦合方式可分为波导、光栅和棱镜三种。波导 SPR 传感器由 SPR 与光波导结构组成，如图 1.3 所示。当导模在光波导 PCF 中传播时，倏逝波穿透金属层，当金属层表面的等离子体波的波矢 k_{sp} 与波导模式的波矢量频率相同时，则会出现 SPR 现象。

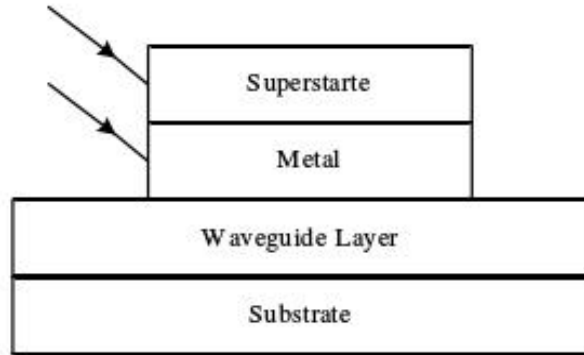


图 1.3 波导表面等离子体传感器结构示意图

Fig. 1.3 Structure diagram of waveguide surface plasma sensor

在光栅型 SPR 传感器中，当光栅产生的衍射光波在界面上的分量与 SPW 的波矢量相匹配时，监测得到光栅的反射光具有最小值。此时光传输中的能量扩散到 SPs 中，出现 SPR 现象，如图 1.4 所示。

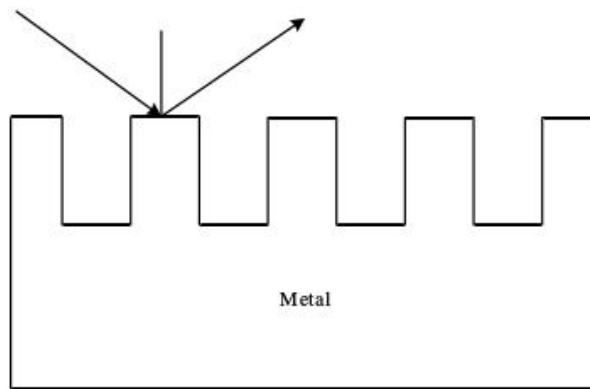


图 1.4 光栅表面等离子体传感器结构示意图

Fig. 1.4 Structure diagram of grating surface plasma sensor

相较于前两种，棱镜型 SPR 传感器运用的较为广泛(图 1.5)，分为 Otto 结构和 Kretschmann 结构，由于前者所需要的测定配置在实际应用中构建难度大，

后者在前者的基础上进行了结构优化。因此在实际研究中最常用的是 Kretschmann 结构，其原理是：入射光照射镀有金属层的三棱镜，并与金属层的自由电子产生表面等离子体共振现象，导致反射光被削弱。若用连续波长且角度固定的入射光照射，则能得到光强随波长变化的 SPR 光谱。（图 1.6）

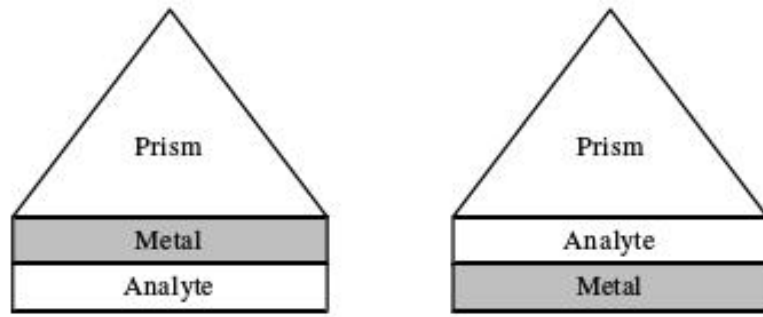


图 1.5 棱镜表面等离子体传感器原理图

Fig. 1.5 Schematic diagram of prismatic surface plasma sensor

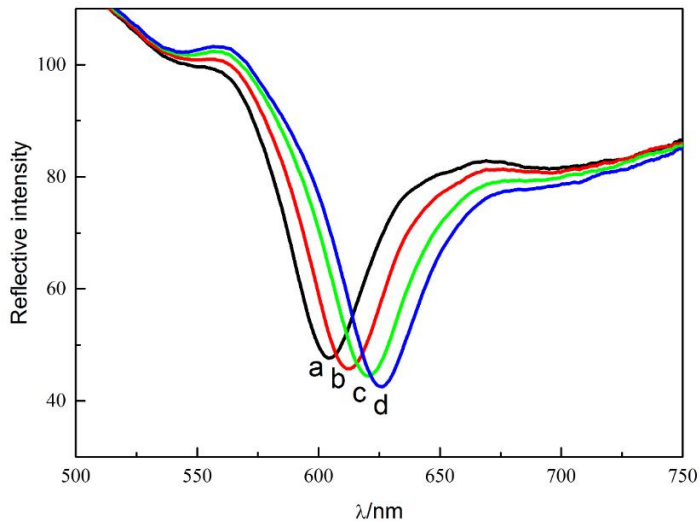


图 1.6 光强随波长变化的 SPR 光谱

Fig. 1.6 SPR spectrum of light intensity varying with wavelength

1.1.2 SPR 生物传感器识别元件的结合方式

生物传感界面由传感支撑表面和固定化生物分子识别元件组成^[30]。依据灵敏度、特异性和检测极限等因素，识别元件通常通过物理吸附、化学吸附、共价结

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/327104141154006046>