

太赫兹超材料类 EIT 谐振无标记生物传感

孙雅茹 史同璐 刘建军 洪 治

中国计量学院太赫兹技术与应用研究所, 浙江 杭州 310018

摘要 设计并制备了一种太赫兹波段的类电磁诱导透明(EIT)超材料谐振器,用于链霉亲和素-琼脂糖的特异性传感。利用有限差分法设计两个正方形开口谐振环嵌套构成的超材料谐振器实现类EIT高 Q 谐振,并对其传感特性进行了仿真分析。将生物素和十八硫醇固化在制备的超材料表面形成特异性膜对不同浓度链霉亲和素-琼脂糖进行传感实验,利用基于返波振荡器(BWO)的高分辨太赫兹谱进行了谐振特性测量。结果表明设计的类EIT超材料传感器 Q 值为34,灵敏度为24.7 GHz/RIU,链霉亲和素-琼脂糖单位质量浓度变化引起的频移量为0.65 GHz,为太赫兹器件应用于生物化学领域的无标记微量检测提供一定的参考。

关键词 传感器; 太赫兹; 类电磁诱导透明; 超材料

中图分类号 O436

文献标识码 A

doi: 10.3788/AOS201636.0328001

Terahertz Label-Free Bio-Sensing with EIT-Like Metamaterials

Sun Yaru Shi Tonglu Liu Jianjun Hong Zhi

Centre for Terahertz Research, China Jiliang University, Hangzhou, Zhejiang 310018, China

Abstract A kind of terahertz metamaterial with electromagnetically induced transparency (EIT) like resonance and its application in streptavidin-agarose (SA) specific sensing are demonstrated. Finite element method is used to analyze the high Q EIT-like resonance and its sensing performance. The label-free specific biosensor is composed of metamaterials functionalized by biotins and octadecanethiols for SA biorecognition experiments. The transmission properties are measured by a high-resolution backward-wave oscillator (BWO) spectral system. The results show that the EIT-like resonance of the metamaterial sensor has a high Q factor of 34 and a sensitivity of 24.7 GHz/RIU. Sensitivity of the resonance frequency shift to SA concentration is 0.65 GHz/(mg/mL). The results provide references for applying terahertz devices to label-free biological and chemical sensing.

Key words sensors; terahertz; electromagnetically induced transparency-like; metamaterials

OCIS codes 280.1415; 160.5320; 300.6495; 160.3918

1 引 言

太赫兹光谱具有检测分子构型和识别化学组分的能力,在生命科学、制药等领域有着重要的应用。在无标记生物分子的检测方面,Mickan等^[1]于2002年采用太赫兹波差分透射谱法实现了对生物素的特异性识别。两年后,Menikh等^[2]利用同样的方法并通过引入琼脂糖大分子将检测限降低了一个数量级。随后,Ogawa等^[3]将反射谱成像的方法应用到了生物素的微量检测实验中,结果显示该方法的灵敏度优于一般的荧光标记法。然而,对于依靠太赫兹波强度检测的方法而言,提高灵敏度的难度很大,可靠性不高。2007年,Yoshida等^[4]提出利用镍质的金属网格,根据谐振频率移动对辣根过氧化物酶进行检测,取得了明显效果。这种方法备受关注,研究者们开始将一些表面等离子体及超材料引入传感器件。因为超材料结构可设计且具有不同谐振模式,有利于实现高精度传感。研究发现超材料中谐振模式对折射率变化较为敏感,已有一些

收稿日期: 2015-10-09; 收到修改稿日期: 2015-11-06

基金项目: 国家自然科学基金(61377108)

作者简介: 孙雅茹(1990—),女,硕士研究生,主要从事太赫兹器件方面的研究。E-mail: sunyr13@163.com

导师简介: 洪 治(1964—),男,博士,教授,博士生导师,主要从事太赫兹技术方面的研究。

E-mail: hongzhi@cjlu.edu.cn(通信联系人)

将超材料谐振器应用于微波^[5-6]、太赫兹^[7-8]及光波段^[9]实现生化传感的报道。在平面超材料传感器的研究中, Q 值是一个影响检测精度的重要因素^[10-11]。目前应用在生物传感中的平面超材料传感器主要依赖于LC谐振模式或偶极谐振模式,谐振峰 Q 值一般在10以下。而且谐振峰频移量较小,一般为几吉赫兹,用于实验测量的太赫兹时域光谱系统(THz-TDS)的频谱分辨率较低,影响了传感检测精度^[8]。平面超材料类电磁感应透明(EIT)效应^[12-18]是由两种不同谐振模式(明模和暗模)^[12,15-16]或者两个低 Q 和高 Q 模式^[17-18]的相互作用形成,能够产生电磁场的局部集聚,进而形成高 Q 谐振峰,可有效提高传感检测精度。

本文设计了一种具有类EIT效应的高 Q 太赫兹波平面超材料器件,用于特异性生物传感。该传感器的结构单元由内外嵌套的两个尺寸不同的开口谐振环(DSRR)组成。利用有限差分法对类EIT谐振生物传感性能进行了仿真分析,通过高分辨率返波振荡器(BWO)频谱系统对链霉亲和素-琼脂糖(SA)进行了特异性传感实验,并进行了频移测量。结果表明这种类EIT超材料生物传感器具有优越的特异性传感性能,可用于生物样品分析。

2 类EIT平面超材料设计

图1(a)为用于生物测量的类EIT超材料的谐振单元结构图,由典型的两个嵌套正方形开口谐振环(DSRR)组成^[19]。其中,参数 a 和 b 分别为外环和内环边长, w 为金属线宽, g 为开口宽度。谐振单元以周期 p 沿 x 轴和 y 轴周期性排列。设计中选择生物相容性较好的金属金(Au)作为金属材料。基底材料设计为低折射率的石英晶体,因为低折射率基底材料能够获得更高的传感灵敏度^[18,20]。图1(b)是利用传统光刻技术及电子束蒸镀方法在500 μm 厚的石英基底上制备的DSRR平面超材料样品光学显微照片,样品尺寸为1.2 cm \times 1.2 cm。

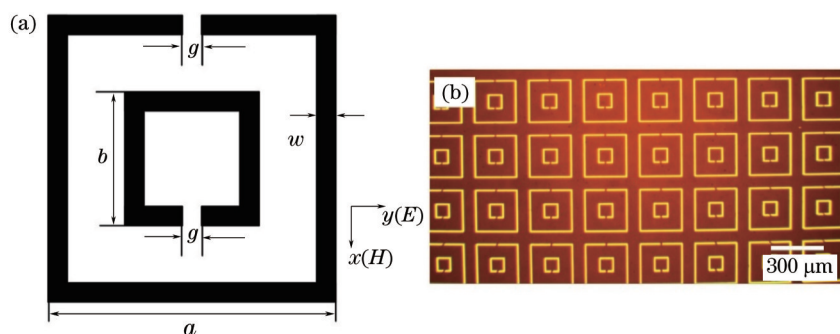


图1 (a) DSRR结构单元示意图; (b) DSRR传感器的光学显微照片

Fig.1 (a) Schematic of the DSRR unit; (b) optical micrograph of the DSRR sensor

采用有限差分法(CST三维电磁场仿真软件)对类EIT超材料进行仿真设计和分析。基底材料的介电常数设为4.49,金的厚度为150 nm,电导率设为 4.56×10^7 S/m。根据实验室现有高分辨光谱系统的频率测试范围,将谐振频率设计在230~370 GHz范围内,设计的尺寸参数为 $p=300 \mu\text{m}$, $a=230 \mu\text{m}$, $b=80 \mu\text{m}$, $w=10 \mu\text{m}$, $g=10 \mu\text{m}$ 。当太赫兹波垂直入射到平面超材料,偏振方向平行于开口方向(沿 x 轴)时,得到的仿真透射谱如图2所示。显然,两个开口谐振环均有各自的LC谐振和偶极谐振模式。独立仿真单个外环的偶极谐振中心频率为0.310 THz,单个内环的LC谐振频率为0.329 THz,可见外环的偶极谐振频率和内环的LC谐振频率非常接近,且一个为低 Q 谐振,一个为高 Q 谐振。当内外环嵌套组合后,由于模式间相互作用,在这两个谐振中心频率之间(0.325 THz)产生了一个尖锐的类EIT谐振峰,其半峰全宽为9.6 GHz,计算得到 Q 值为34。

分别采用太赫兹时域光谱技术(THz-TDS)和基于BWO频域的分析系统对DSRR超材料传感器的透射特性进行了测试,其中THz-TDS系统的频谱分辨率为10 GHz,BWO系统的频谱分辨率优于10 MHz,测试结果如图2(a)、(b)所示。从图2可知,由BWO系统测得的谐振峰强度接近0.4,半峰全宽为12 GHz, Q 值为27,与仿真结果非常接近。而由THz-TDS测得的EIT谐振峰强度小于0.2,半峰全宽约为16.5 GHz, Q 值为20,与仿真结果相差较大,这主要是由于其分辨率低造成的。实验 Q 值(27)比仿真结果(34)略低的原因是石英晶体存在一定的损耗。而文献[8]报道的应用于生物测量的单个开口谐振环(SRR)的LC谐振和偶极谐振 Q 值分别为6和4。

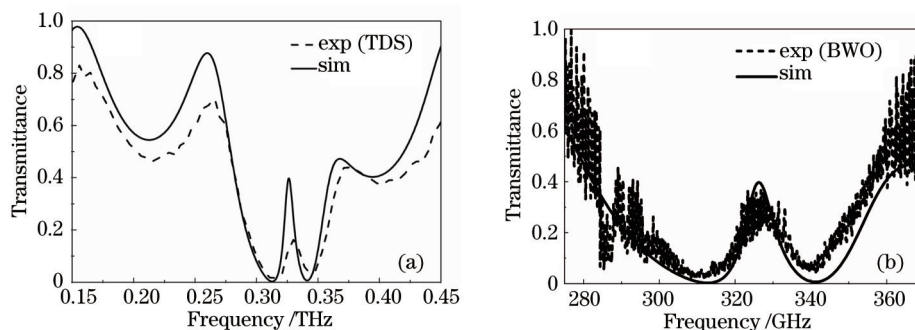


图2 DSRR传感器仿真和测试透射谱。(a) THz-TDS测试结果; (b) BWO测试结果

Fig.2 Simulated and measured transmission spectra of the DSRR sensor. (a) By THz-TDS; (b) by BWO system

3 类EIT超材料传感应用

3.1 传感性能仿真

当附着于DSRR平面超材料表面的待测生物样品浓度变化引起其折射率变化时,超材料传感器的谐振频率会发生移动,根据频率偏移量可实现生物样品的浓度检测。假设附着在DSRR平面超材料表面待测物的厚度为 $3\ \mu\text{m}$,对器件透射特性进行仿真,计算得到不同折射率待测物的透射谱如图3(a)所示。显然,待测物折射率增加时,EIT谐振峰发生明显红移。计算该传感器的灵敏度(DSRR平面超材料的EIT谐振峰频率偏移量与被测物折射率变化的关系)为 $24.7\ \text{GHz}/\text{RIU}$ 。采用同样的方法仿真计算了单个SRR平面超材料在同样谐振频率下LC谐振、偶极谐振的传感灵敏度,如图3(b)所示。可见LC谐振的传感灵敏度与EIT谐振非常接近,而偶极谐振的传感灵敏度明显偏低,与文献[21]结论一致。

另外,品质因数(FOM)值也是传感的重要指标之一。FOM值定义为单位折射率变化引起的谐振峰频移量与 $3\ \text{dB}$ 带宽的比值。FOM值考虑了带宽对传感性能的影响,能更好地评价传感性能。当传感灵敏度相当时,FOM值(或谐振 Q 值)高者传感精度更优越。经计算,在相同谐振频率位置DSRR-EIT、SRR-LC和SRR偶极结构超材料传感器的FOM值分别为 2.57 、 1.72 和 0.31 。结果表明,类EIT谐振的传感FOM值明显高于LC谐振模式和偶极谐振模式。所设计的DSRR类EIT超材料传感器较单个SRR平面超材料传感器具有更好的传感性能。

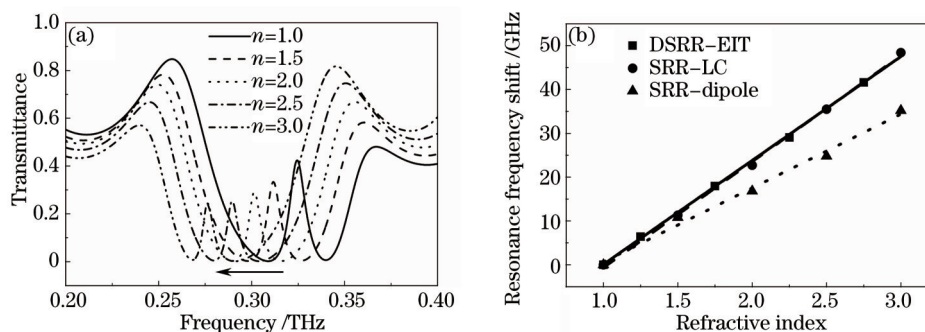
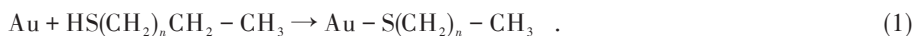


图3 (a) DSRR的传感性能仿真; (b) EIT谐振频移与被测物折射率的关系

Fig.3 (a) Simulated sensing performance of DSRR; (b) frequency shift of the EIT resonance versus refractive index of the sample

3.2 生物素-亲和素传感实验设计

实验所需生物样品生物素、链霉亲和素-琼脂糖、1-十八硫醇 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_2\text{SH}]$,简称ODT]及 α -乳糖-水合物购买于Sigma-Aldrich贸易有限公司(中国上海)。链霉亲和素-琼脂糖冻干粉的保存体系为 $5\ \text{mmol/L}$ PB (NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4), pH值为 7.4 , SA的比活为 $15\ \text{U}/\text{mg}$ 。链霉亲和素是链霉菌的分泌物,利用太赫兹波透射谱进行微量检测时,琼脂糖的引入可以大大提高传感检测的精度^[21]。ODT的硫原子与金表面之间存在非常强的结合力,可使ODT在金表面完成稳定的自组装反应,在常温下可保持一个月之久^[22],反应为



同时在 DSRR 平面超材料传感器表面引入甲基(-CH₃),使生物素样品通过共价偶合的方式吸附在 DSRR 平面超材料传感器表面。

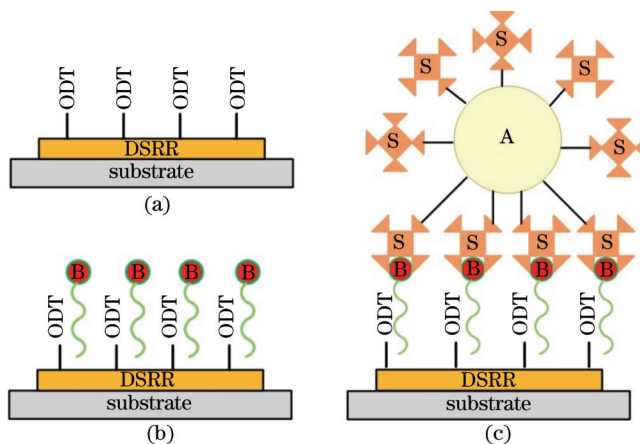


图4 生物样品附着过程示意图。(a) DSRR 与 ODT 结合; (b) 生物素吸附在 DSRR 和 ODT 表面; (c) 特异性识别 SA
Fig.4 Schematic of the recognition process of the biological sample. (a) Combination of DSRR and ODT;

(b) biotins attached on the surface of DSRR and ODT; (c) specific recognition of SA

在生物素与 SA 特异性绑定过程中, 1 mol SA 分子可与 4 mol 生物素分子相结合, 生物传感样品附着过程如图 4 所示, 利用生物素、十八硫醇作为生物传感器的特异性敏感膜, 特异性传感实验步骤如下: 1) 将 DSRR 平面超材料传感器置于 1%(体积分数)的 HCl 溶液中, 用超声波清洗 3~5 min; 2) 利用共价耦合使 ODT 与超材料表面的金结合。将器件置于质量浓度为 2 mg/mL 的 ODT 溶液中, 常温密封浸泡 24 h, 用乙醇冲洗后氮气干燥; 3) 将生物素固化于超材料表面, 制备生物敏感膜, 如图 4(b) 所示。在已处理过的超材料传感器表面滴 200 μ L 质量浓度为 0.5 mg/mL 的生物素溶液, 常温条件下密封 2 h, 之后用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗, 去掉未被固化的生物素, 氮气干燥。至此, 完成了生物敏感膜的制备, 该膜的质量是检测 SA 的关键; 4) 完成待测样品 SA 与生物素的特异性绑定, 如图 4(c) 所示。在超材料生物传感器表面滴 50 μ L SA 溶液, 常温密封保存 2 h, 通过特异性反应固化被测物 SA, 用 PBS 冲洗去除未绑定的 SA, 用氮气干燥; 5) 采用高分辨 BWO 频谱测试系统测量生物样品的透射特性。

3.3 生物素-亲和素传感实验及结果分析

DSRR 平面超材料生物传感器识别 SA 时, 以未附着被测物的 DSRR 平面超材料生物传感器作为参考。因此, 实验中用 BWO 频谱系统分别测试了生物传感器以及附着有饱和 SA 溶液(对应质量浓度为 1 mg/mL, 为 SA 在双蒸水中的最大溶解量)的生物传感器的太赫兹透射谱, 经滤波后如图 5 所示。附着饱和 SA 溶液之后, EIT 谐振峰产生 1.10 GHz 的频移。

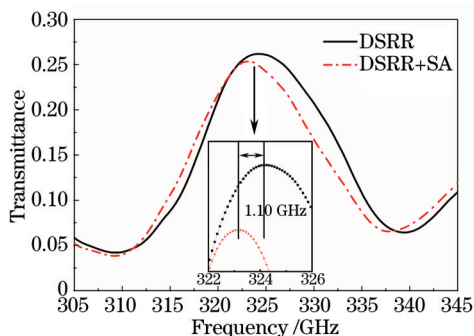


图5 DSRR 结构链霉菌亲和素的检测结果

Fig.5 Transmission spectra of DSRR without and with streptavidin-agarose molecules

在生物实验过程中, DSRR 平面超材料传感器表面固化被测物 SA 时, 先后还经过了表面处理、制备生物敏感膜的步骤。为了验证链霉菌亲和素传感的特异性, 利用 DSRR 平面超材料传感器单独检测 ODT 和生物

素。实验显示,DSRR平面超材料表面只附着有ODT时(DSRR平面超材料+ODT),其EIT谐振的频率移动小于0.10 GHz;只附着有生物素时(DSRR平面超材料+生物素),其EIT谐振的频率移动约为0.10 GHz。表明生物传感实验中,EIT谐振的频率移动主要来自SA与生物素的特异性反应。另外,利用DSRR平面超材料单独检测了SA(DSRR平面超材料+SA),谐振基本没有发生移动,进一步说明了特异性反应过程是引起EIT谐振移动的根本原因。

为了进一步说明SA检测中特异性反应对EIT谐振频率移动的贡献,实验中增加了一个对照组——滴加质量浓度为12 mg/mL的饱和 α -乳糖溶液(与生物素无特异性绑定反应)。实验中采用DSRR平面超材料+ODT+生物素+ α -乳糖溶液。测试结果显示高浓度 α -乳糖使谐振峰向低频方向仅移动了0.30 GHz,与SA引起的谐振频率移动量(1.10 GHz)相比低了一个数量级,可充分体现特异性反应过程的优势。

利用DSRR平面超材料传感器对链霉亲和素进行浓度检测实验。生物素-亲和素特异性反应中,二者的特异性识别是一个动态平衡的过程。当生物传感器浸于不同浓度的SA溶液中时,因特异性反应附着在生物传感器表面的SA的量是不同的。根据这一特点,可利用DSRR平面超材料生物传感器检测不同浓度的SA溶液。实验中配制了5组质量浓度分别为0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL的SA溶液,频谱测量获得的不同浓度SA溶液的EIT谐振峰频率移动如图6所示,图中将12 mg/mL α -乳糖溶液测量结果作为对照。

检测结果显示,EIT谐振的频率移动与SA溶液浓度呈正相关。图6中虚线为线性拟合结果,单位质量浓度变化引起的频移量为0.65 GHz。当SA质量浓度为0.2 mg/mL时,频率移动量约为0.60 GHz,相当于SA检测量10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。另外,生物素-亲和素特异性反应系统较一般的非特异性反应(生物素- α -乳糖的反应)更容易引起DSRR平面超材料生物传感器谐振频率移动,因此,也更容易实现微量检测。

根据超材料传感器灵敏度仿真计算,附着在超材料传感器表面的单层链霉亲和素分子介电常数近似为1.2,计算被测物介电特性变化的频移量为2.36 GHz。实验测得的频移量偏小,这可能是由于实际生物膜厚度小于仿真设定值所致。另外,文献[8]中报道的SRR超材料生物传感器,其LC谐振(0.76 THz)和偶极谐振(2 THz)单位质量浓度变化引起的频移量约为2 GHz。推测谐振频率对EIT超材料传感器灵敏度会有较大影响,为此设计了谐振频率分别为0.32、0.52、1.02 THz的三个EIT谐振DSRR超材料传感器, Q 值均在25以上。分别仿真计算各DSRR超材料传感器的传感性能,获得其EIT谐振的频率移动与被测物折射率的关系如图7所示。经计算,各EIT谐振的灵敏度分别为24.7、43.4、128.5 GHz/RIU,表明随着谐振频率的提高,传感灵敏度明显提高。

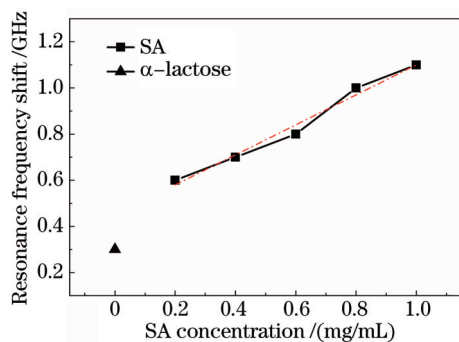


图6 不同SA浓度下超材料EIT谐振峰频率偏移量的测量结果

Fig.6 Measured EIT resonance frequency shift under different SA concentration

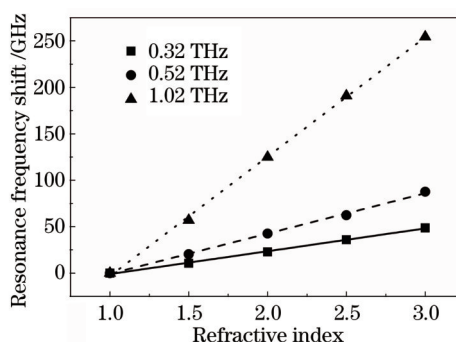


图7 不同谐振频率的类EIT谐振传感性能比较

Fig.7 Sensing performance of EIT-like sensor at different resonance frequency

4 结 论

设计并实验制备了一种类EIT效应高 Q 双开口环太赫兹波平面超材料生物传感器,仿真 Q 值为34,灵敏度为24.7 GHz/RIU。对生物素-亲和素特异反应系统中的链霉亲和素进行了识别,利用高分辨率BWO光谱系统进行了EIT谐振频移测量。实验结果表明,EIT谐振峰频率移动与链霉亲和素-琼脂糖浓度成线性关系,单位质量浓度变化引起的频移量为0.65 GHz。另外,提高EIT谐振频率可大大提高传感灵敏度。研究结果为超材料应用于高精度生化传感提供了一定的参考。

- 1 Mickan P S, Menikh A, Liu H, *et al.*. Label-free bioaffinity detection using terahertz technology[J]. *Phys Med Biol*, 2002, 47(21): 3789–3795.
- 2 Menikh A, Mickan P S, Liu H, *et al.*. Label-free amplified bioaffinity detection using terahertz wave technology[J]. *Biosens Bioelectron*, 2004, 20(3): 658–662.
- 3 Ogawa Y, Hayashi S, Oikawa M, *et al.*. Interference terahertz label-free imaging for protein detection on a membrane[J]. *Opt Express*, 2008, 16(26): 22083–22089.
- 4 Yoshida H, Ogawa Y, Kawai Y, *et al.*. Terahertz sensing method for protein detection using a thin metallic mesh[J]. *Appl Phys Lett*, 2007, 91(25): 253901.
- 5 Dragoman M, Cismaru A, Radoi A, *et al.*. DNA hybridization detection in a miniaturized electromagnetic band gap resonator[J]. *Appl Phys Lett*, 2011, 99(25): 253106.
- 6 Lee H J, Yook J G. Biosensing using split-ring resonators at microwave regime[J]. *Appl Phys Lett*, 2008, 92(25): 254103.
- 7 Debus C, Bolivar H P. Frequency selective surfaces for high sensitivity terahertz sensing[J]. *Appl Phys Lett*, 2007, 91(18): 184102.
- 8 Wu X J, Quan B G, Pan X C, *et al.*. Alkanethiol-functionalized terahertz metamaterial as label-free, highly-sensitive and specific biosensor [J]. *Biosens Bioelectron*, 2013, 42: 626–631.
- 9 Cubukcu E, Zhang S, Park Y S, *et al.*. Split ring resonator sensors for infrared detection of single molecular monolayers[J]. *Appl Phys Lett*, 2009, 95(4): 043113.
- 10 Hara F J, Singh R, Brener I, *et al.*. Thin-film sensing with planar terahertz metamaterials: Sensitivity and limitations[J]. *Opt Express*, 2008, 16(3): 1786–1795.
- 11 Cao W, Singh R, Al-Naib I A, *et al.*. Low-loss ultra-high- Q dark mode plasmonic Fano metamaterials[J]. *Opt Lett*, 2012, 37(16): 3366–3368.
- 12 Papasimakis N, Fedotov A V, Zheludev I N. Metamaterial analog of electromagnetically induced transparency[J]. *Phys Rev Lett*, 2008, 101(25): 253903.
- 13 Michael F, Atac I, Jonathan M P. Electromagnetically induced transparency: Optics in coherent media[J]. *Rev Mod Phys*, 2005, 77(2): 633–673.
- 14 Liu N, Langguth L, Weiss T, *et al.*. Plasmonic analogue of electromagnetically induced transparency at the Drude damping limit[J]. *Nat Mater*, 2009, 8(9): 758–762.
- 15 Gu J Q, Singh R, Liu X J, *et al.*. Active control of electromagnetically induced transparency analogue in terahertz metamaterials[J]. *Nat Commun*, 2012, 3(4): 1151.
- 16 Han Hao, Wu Dongwei, Liu Jianjun, *et al.*. A terahertz metamaterial analog of electromagnetically induced transparency[J]. *Acta Optica Sinica*, 2014, 34(4): 0423003.
韩昊, 吴东伟, 刘建军, 等. 一种太赫兹类电磁诱导透明超材料谐振器[J]. *光学学报*, 2014, 34(4): 0423003.
- 17 Chiam Y S, Singh R, Rockstuhl C, *et al.*. Analogue of electromagnetically induced transparency in a terahertz metamaterial[J]. *Phys Rev B*, 2009, 80(15): 153103.
- 18 Chen C Y, Un I W, Tai N H, *et al.*. Asymmetric coupling between subradiant and superradiant plasmonic resonances and its enhanced sensing performance[J]. *Opt Express*, 2009, 17(17): 15372–15380.
- 19 Azad A K, Dai J M, Zhang W L. Transmission properties of terahertz pulses through subwavelength double split-ring resonators[J]. *Opt Lett*, 2006, 31(5): 634–636.
- 20 Li Huayue, Liu Jianjun, Han Zhanghua, *et al.*. Terahertz metamaterial analog of electromagnetically induced transparency for a refractive-index-based sensor[J]. *Acta Optica Sinica*, 2014, 34(2): 0223003.
李化月, 刘建军, 韩张华, 等. 基于类电磁诱导透明效应的太赫兹折射率传感器[J]. *光学学报*, 2014, 34(2): 0223003.
- 21 Xu X L, Peng B, Li D H, *et al.*. Flexible visible-infrared metamaterials and their applications in highly sensitive chemical and biological sensing[J]. *Nano Lett*, 2011, 11(8): 3232–3238.
- 22 Schreiber F. Structure and growth of self-assembling monolayers[J]. *Prog Surf Sci*, 2000, 65(5): 151–256.

栏目编辑: 吴秀娟