

氧化还原处理银衬底核酸碱基的表面增强喇曼散射效应

张建生^{1,2,3} 何俊华³

(1 西安工业学院,西安 710032)

(2 陕西师范大学,西安 710062)

(3 中国科学院西安光学精密机械研究所,西安 710068)

摘 要 利用天线共振子模型对银的表面增强喇曼散射(SERS)特性进行了计算和分析.结果显示,银增强因子在近红外的 1.38 eV 处为最大,达 140 以上;近紫外 3.35 eV、3.90 eV、4.30 eV 位置处依次减小,分别为 60、48、45;而在可见光区,银增强因子的最大值为 70. 在经氧化还原过程(ORC)处理的银片上做了核酸碱基腺嘌呤、尿嘧啶的 SERS 谱,腺嘌呤的 SERS 谱虽然存在荧光的影响,但 SERS 效应明显.尿嘧啶的 SERS 谱出现 4 个明锐的峰值,1035 cm^{-1} 是所出现的最强的模式,该模式应是尿嘧啶在核酸中存在的 SERS 环呼吸模式,可作为检测尿嘧啶存在的判定依据.

关键词 ORC;腺嘌呤;尿嘧啶;SERS

中图分类号 O439 **文献标识码** A

0 引言

脱氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA)是链状的大分子,它们具有贮存和传递遗传信息的功能,也是所有细胞的重要组成部分.细胞内的 RNA 分子长度在数十至数千个核苷酸之间,一个 DNA 分子则可能包含数百万个核苷酸.核苷酸由三部分组成:戊糖、碱基和磷酸根.核苷酸的碱基共有五种:腺嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶、鸟嘌呤及尿嘧啶.

核酸在生命过程中复杂功能的主要部分是其链式结构上各碱基的行为,这包括它们在链上的排列次序以及它们本身的完整性.碱基的性质一直是生物学、化学、物理学工作者十分重视的研究内容之一^[1].当前,克隆技术的广泛研究及应用进一步说明这类研究的巨大潜力和应用前景.

表面增强喇曼散射(Surface Enhanced Raman Scattering, SERS) 可用来标识很多有机和无机分子,这是由其显著的特性所决定的. SERS 效应的发现同时又激发了许多问题的活性,如静电和电磁理论在小粒子中的应用,粒子光学和表面等离子体的产生等问题^[2]. SERS 的发展使得很多现象都统一于一个研究领域,如由光栅引起的增强光发射、从非弹性电子隧道激发的金属粒子的光发射、在岛膜上的吸附和表面等离子体的激发等^[3].

SERS 的特点不仅表现在其有极高的探测灵敏度,而且反映在具有 SERS 活性的金属表面,可称之

为 SERS 活性系统.极大的增强赋予其以高的灵敏度,高分辨率和极低的检测极限.利用这项技术,还可以对介面的物理化学性质进行研究^[4~6].

随着研究的深入,SERS 的应用已十分广泛,同时,对其机理的探索也在不断地进行着. SERS 研究对象是吸附于固体表面的物质,因而对具有 SERS 活性吸附载体的研究便成为这项研究中的一个基本话题.因此,对 SERS 活性载体的研究受到了分析研究者的极大关注.

1 天线共振子模型对银的计算结果

有关 SERS 的理论模型可分为物理类和化学类两类,此外还有将物理和化学结合起来的理论.天线共振子理论^[7]认为具有粗糙度金属表面的颗粒或突起可看作是一定形状、能用于光波耦合的天线振子.由于“振子”的存在,当入射光满足共振条件时,其共振效应使金属突起表面的局域电场大大增强,从而使吸附于表面的分子喇曼散射谱也大大增强.同时,分子发射的喇曼散射光子不断得到增强.

分别用 d 、 λ_i 表示粒子的尺度和入射光波在粒子中的波长,共振条件为

$$d = \lambda_i / 4 \quad (1)$$

此时,粒子和入射强光场发生共振,强烈耦合,使得粒子表面的电磁场变强.因为自由电子没有回复力,对介电常量的贡献很小.用 λ_0 和 ϵ_a 表示入射光波在真空中的波长、粒子中束缚电子介电常量的实部,有

$$\lambda_i = \lambda_0 / \sqrt{\epsilon_a} \quad (2)$$

且可把共振条件写为

$$d = \frac{\lambda_0}{4\sqrt{\epsilon_a}} \quad (3)$$

用 ω_s, ω_i 表示喇曼散射频率和入射光的频率, 当满足

$$|\omega_i - \omega_s| \ll \omega_i \quad (4)$$

时, 总的 SERS 增强因子为

$$E_t \approx 1 + \left(\frac{\epsilon_a(\omega_i)\epsilon_a(\omega_s)}{\epsilon_b(\omega_i)\epsilon_b(\omega_s)} \right)^2 \quad (5)$$

式中 ϵ_a, ϵ_b 分别为束缚电子介电常量的实部和虚部.

对于非共振情形, 增强因子可表示为

$$E_t \approx 1 + \frac{Q_0^2}{(1-d/d_0)^2 Q_0^2 + 1} \cdot \frac{Q_0'^2}{(1-d/d_0')^2 Q_0'^2 + 1} \quad (6)$$

式中

$$Q_0^2 = \left(\frac{\epsilon_a(\omega_i)}{\epsilon_b(\omega_i)} \right)^2 \quad (7)$$

$$Q_0'^2 = \left(\frac{\epsilon_a(\omega_s)}{\epsilon_b(\omega_s)} \right)^2 \quad (8)$$

$$d_0 = \frac{\lambda_i}{4\sqrt{\epsilon_a(\omega_i)}} \quad (9)$$

$$d_0' = \frac{\lambda_s}{4\sqrt{\epsilon_a(\omega_s)}} \quad (10)$$

式中 λ_s 为散射光波长.

利用天线共振子模型对银的计算结果如图 1. 图中 E, d, ω_i 分别表示增强因子、粒子尺度及入射光能量. 在共振条件下, 计算结果显示银增强随入射光波长(能量)的变化曲线如图 1(a). 在 0.60 eV ~ 5.00 eV 范围内, 银的增强有四个极大值. 其中近红外的 1.38 eV 处为最大, 达 140 以上; 近紫外 3.35 eV、3.90 eV、4.30 eV 位置处依次减小, 分别为 60、48、45; 而在可见光区, 银增强因子的最大值为 70. 相应的粒子共振尺寸如图 1(b). 图 1(c) 给出 $\omega_i = 1.38$ eV 情况下计算得到的增强因子随粒子大小变化的关系. 由图可以看出, 对应于入射光能量 1.38 eV, 其共振尺寸为 50 nm 左右. 当粒子尺寸偏离这一值时, 增强因子在两侧基本对称地迅速减小. 取粒子大小为 50 nm 计算出银的激发曲线如图 1(d), 显然, 对应于 50 nm 的情况, 该激发曲线与共振时的曲线十分相似.

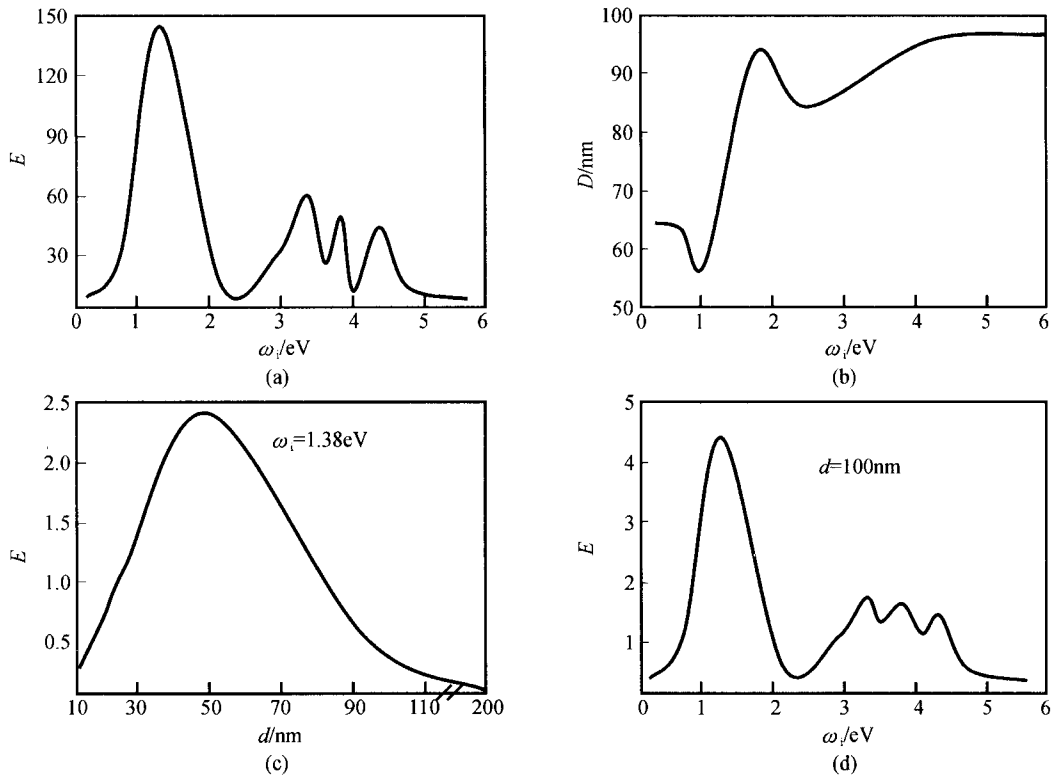


图 1 银的计算结果

Fig. 1 Results from calculation on argentine

2 实验设备及方法

实验采用的主要光路配置、光源、单色仪、微机系统(控制扫描、采集数据和分析处理有关信息)、检测器如图 2. 其中 PMT 为双光栅单色仪的光电倍增管, 用 45°背散射进行测量. 光源为 Spectra-Physics

171 型氩离子激光器, 输出波长 514.5 nm; 单色仪为 Spex-1403 双光栅单色仪, 探测器为 RCA31034/76 型光电倍增管.

SERS 衬底采用 ORC (Oxidation-Reduction Cycles, 简称 ORC) 过程处理的银片. 利用 ORC 处理的银片, 在红光 632.8 nm 的激发下, 对于酞菁钴

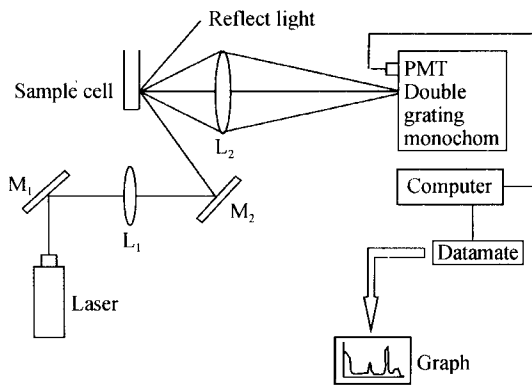


图 2 实验系统框图

Fig. 2 Scheme of the experiment

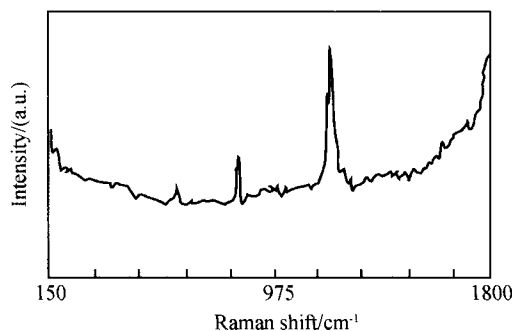
(CoTsPc) 的特征模 1342 cm^{-1} (C-C pyrrole stretch) 进行研究. 实验发现, 当改变 ORC 过程的参量时, 所得到的增强因子变化明显, 实验得到的最大增强在 230 以上.

实验所用样品为分析纯. 实验采用 514.5 nm 氩离子激光线, 激光输出功率约 300 mW , 在样品处功率约为 40 mW . 实验中采用圆柱面镜聚焦, 以补偿可能的衬底和样品分布的不均匀, 同时还可减少点光的高强度辐射对衬底和样品分子的影响. 在样品处, 线光的面积估计为 $0.1 \times 4\text{ mm}^2$.

3 核酸碱基腺嘌呤、尿嘧啶的 SERS 效应

3.1 腺嘌呤的 SERS 效应

腺嘌呤(6-氨基嘌呤, $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5$)是 DNA(RNA)中的一种碱基, 在脱氧核糖核酸中, 它与胸腺嘧啶配对; 在核糖核酸中, 它与尿嘧啶配对. 图 3 是 ORC 处理银衬底上腺嘌呤的 SERS 谱, 激发波长 514.5 nm , 实验样品是溶解在 0.1 M HCl 中的, 浓度为 5 mM . 从腺嘌呤的 SERS 谱不难看出, 在谱线的长短波两端存在荧光效应的影响, 在 832 cm^{-1} 、 1215 cm^{-1} 出现明显峰值, 以 1215 cm^{-1} 位置峰值为最强, 该模式

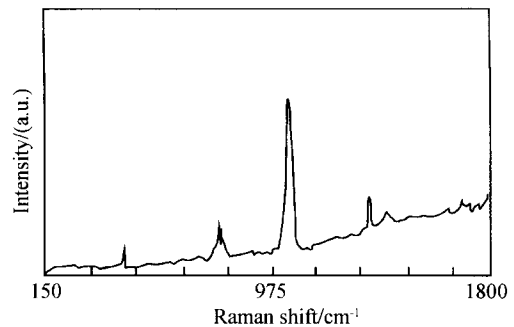
图 3 ORC 处理银衬底上腺嘌呤的 SERS 谱 (514.5 nm , 40 mW)Fig. 3 SERS spectrum, excited by Ar^+ laser of 514.5 nm with power 40 mW , of adenine on piece of argentine treated by ORC

应是腺嘌呤在核酸中存在的 SERS 环呼吸模式.

3.2 尿嘧啶的 SERS 效应

嘧啶是含有二个氮原子的六员杂环化合物. 它的碳环是一个苯环, 在 1,3 位有 2 个氮原子, 具有 $-\text{N}=\text{基团}$, 因而有弱碱性. 由于存在共轭双键, 故在 $250\sim 280\text{ nm}$ 处有紫外吸收光谱(最大吸收峰在 260 nm 处). 环中的 N 原子电负性较大, 使得 2,4,5,6 位的电子云密度低(缺少电子), 故这些位置上容易发生亲核反应(易与带负电的基团发生反应), 所以嘧啶的衍生物中主要在 2,4,5 位发生取代反应. 嘧啶衍生物中最重要的还是核酸分子中的几种嘧啶. 在 DNA 和 RNA 分子中最常见的有三种, 即胞嘧啶、尿嘧啶和胸腺嘧啶.

图 4 是 ORC 处理银衬底上尿嘧啶的 SERS 谱, 激发波长 514.5 nm , 谱线基本无荧光的影响, $300\sim 1800\text{ cm}^{-1}$ 喇曼频移区, 表现出 4 个明锐的峰值, 分别为 468 cm^{-1} 、 793 cm^{-1} 、 1035 cm^{-1} 、 1328 cm^{-1} , 1035 cm^{-1} 是所出现的最强的模式, 该模式应是尿嘧啶在核酸中存在的 SERS 环呼吸模式, 可作为检测尿嘧啶存在的判定依据.

图 4 ORC 处理银衬底上尿嘧啶的 SERS 谱 (514.5 nm , 40 mW)Fig. 4 SERS spectrum, excited by Ar^+ laser of 514.5 nm with power 40 mW , of uracil on piece of argentine treated by ORC

4 结论

利用天线共振子模型对银的 SERS 计算结果显示, 银增强因子在近红外的 1.38 eV 处为最大, 达 140 以上; 经氧化还原过程处理的银片上核酸碱基腺嘌呤的 SERS 谱虽然存在荧光的影响, SERS 效应明显. 尿嘧啶的 SERS 谱出现 4 个明锐的峰值, 1035 cm^{-1} 是所出现的最强的模式.

参考文献

- 曹晓卫, 杨海峰, 王浙苏, 等. 生物活性分子的拉曼光谱电化学研究. 电化学, 2001, 7(1): 52~54
Cao X W, Yang H F, Wang Z S, et al. Electro-chemistry, 2001, 7(1): 52~54
- Cao X W, Meng X Y, Wang G H, et al. In-situ Raman

- spectroscopic study on electrode. *Chinese Journal of Light Scattering*, 1999, **11**(4):316~321
- 3 张建生,陈良益. 钴铂钨的表面增强喇曼散射效应研究. 光子学报, 2005, **34**(2):288~292
Zhang J S, Chen L Y. *Acta Photonica Sinica*, 2005, **34**(2):288~292
- 4 Zhang J S, Sun C D, Lu D, *et al.* Sers effect from medicinal calcium locatate. *Acta Photonica Sinica*, 2000, **29**(3):264~266
- 5 张建生,孙传东,卢笛,等. 锌的表面增强喇曼散射效应. 光子学报, 1999, **28**(6):551~554
Zhang J S, Sun C D, Lu D, *et al.* *Acta Photonica Sinica*, 1999, **28**(6):551~554
- 6 张建生,孙传东,卢笛,等. 银片上茜素的表面增强共振喇曼散射效应及模式识别. 光子学报, 1999, **28**(9):811~813
Zhang J S, Sun C D, Lu D, *et al.* *Acta Photonica Sinica*, 1999, **28**(9):811~813
- 7 Mo Y J. Antenna resonance model on surface enhanced Raman scattering. *Sol State Comm*, 1988, **127**(2):66~73

SERS Effect of Nucleic Acid Alkaline Groups on Argentine Piece Treated by ORC

Zhang Jiansheng^{1,2,3}, He Junhua³

1 Xi'an Institute of Technology, Xi'an 710032

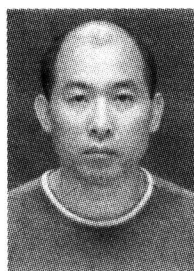
2 Shaanxi Normal University, Xi'an 710062

3 Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics, CAS, Xi'an 710068

Received date: 2005-07-06

Abstract SERS effect of argentine is calculated and analyzed by use of Antenna Resonance Model. The results show that a maximum enhanced factor is greater than 140 at 1.38eV near infrared, factors are about 60, 48 and 45 at 3.35 eV, 3.90 eV and 4.30 eV near ultraviolet zone. It is predicted that a maximum enhanced factor is 70 in visible light zone. SERS spectrum of adenine and uracil are got from argentine piece treated by ORC. Adenine has distinct SERS effect with the presence of fluorescence. Four specific peak values are of SERS spectrum of uracil which has a maximum model, SERS ring breathing model, of four, at 1035 cm^{-1} affording the foundation.

Keywords ORC; Adenine; Uracil; SERS



Zhang Jiansheng was born in 1966. He graduated from Shaanxi Normal University (SNNU) in 1988 and received his master's degree from Physics Department of SNNU in 1991 and got his PhD from Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics, Chinese Academy of Sciences in 2001. He is currently a professor in Xi'an Institute of Technology, and postdoctor of SNNU. His research interests include acoustics, magnetic material, SERS and optical engineering.