

УДК 535.016

Н. Д. СТРЕКАЛЬ

**РАЗМЕРНЫЙ ЭФФЕКТ В ФОРМИРОВАНИИ СПЕКТРОВ ВТОРИЧНОГО СВЕЧЕНИЯ ХРОМОФОРОВ ВБЛИЗИ ПОВЕРХНОСТИ С ПЛАЗМОННЫМИ СВОЙСТВАМИ***(Представлено членом-корреспондентом С. В. Гапоненко)**Гродненский государственный университет им. Янки Купалы**Поступило 10.02.2014*

**Введение.** Со времен изобретения конфокального микроскопа Марвином Минским в 1961 г. [1] прогресс в технике анализа биологических тканей вышел на новый уровень. Современные конфокальные микроскопы отличаются от оптических микроскопов не только более высокой контрастностью, но и возможностью сопряжения со спектрометром такого спектрального разрешения, которое позволяет картировать сигнал флуоресценции и комбинационного рассеяния (КР) света, т. е. получать спектрохимические изображения материала с высокой скоростью сканирования и при вариации длины волны лазерного возбуждения.

Прогресс, достигнутый в области нанофотоники, позволяет использовать в качестве флуоресцентных меток флуоресцирующие полупроводниковые наночастицы [2], а в качестве контрастирующих красителей – металлические наночастицы [3]. Оба типа наночастиц благодаря своим уникальным оптическим свойствам [4] обеспечивают ряд новых преимуществ в биоанализе, таких как, например, мультиплексный и многофотонный анализ при использовании единственного источника возбуждения.

Устройства, разрабатываемые в наноплазмонике, широко используются в химическом и биологическом анализах [5]. Это связано с тем, что явление усиления электромагнитного поля на интерфейсе благородный металл–диэлектрик является ответственным за некоторые эффекты. К таким явлениям относятся гигантское комбинационное рассеяние света, генерация второй гармоники, флуоресценция и т. д. [6]. Выделяют три основных типа наноплазмонных структур: плазмонные кристаллы [7], резонансные плазмонные частицы [8] и плазмонные пленки [9]. Плазмонные пленки представляют собой тонкие (по сравнению с длиной волны света) нанотекстурированные, квазипериодические пленки металлов, в которых под действием света могут быть возбуждены как поверхностные, так и локализованные плазмоны (ЛП). Этим свойством они отличаются от плазмонных кристаллов, представляющих собой периодические решетки на поверхности металла, на которых при специальных условиях могут быть возбуждены поверхностные плазмоны, и от плазмонных резонансных частиц, представляющих собой коллоидные наночастицы металлов, в которых могут резонансно возбуждаться локализованные плазмоны.

Корреляции между размерами и активностью, например, в усилении поля падающего света малыми металлическими частицами основываются на эмпирически полученных зависимостях [10]. Когда речь идет о влиянии размеров на свойства металлических частиц, то в первую очередь это касается не внутренних квантовых характеристик, обусловленных индивидуальными носителями заряда, а в большей мере тех характеристик, которые обусловлены коллективными возбуждениями и откликом проводящей частицы как целого. Такими характеристиками являются микроскопические сечения рассеяния и поглощения света [4].

Действительно, сечение экстинкции  $C_{\text{ext}}$  металлических наночастиц является суммой сечений поглощения  $C_{\text{abs}}$  и рассеяния:

$$C_{\text{ext}} = C_{\text{abs}} + C_{\text{scat}} \quad (1)$$

Сечения поглощения и рассеяния выражаются через поляризуемость  $\alpha$  металлической частицы [3]:

$$C_{\text{abs}} = k_1 \text{Im}(\alpha), \quad (2)$$

$$C_{\text{scat}} = \frac{k_1^4}{6\pi} |\alpha|^2. \quad (3)$$

Поскольку поляризуемость сферы прямо пропорциональна ее объему, очевидно, что сечение поглощения света увеличивается с увеличением радиуса  $r$  частиц по закону  $C_{\text{abs}} \approx r^3$ , а сечение рассеяния –  $C_{\text{scat}} \approx r^6$ . Для больших по размерам частиц преобладающим откликом на воздействие света является рассеяние, для малых же частиц характерно более эффективное поглощение излучения [4].

Цель работы – показать, как распределение «ролей» между большими и малыми металлическими наночастицами с плазмонными свойствами проявляется в селективных свойствах к усилению того или иного вида вторичного свечения хромофоров. Ранее этот эффект был продемонстрирован нами на примере плазмонных пленок золота [11; 12], а в этой работе – на примере плазмонных пленок серебра и плазмонных кристаллов золота.

**Материалы и методика эксперимента.** Плазмонные пленки серебра были получены методом напыления металла в вакууме на диэлектрические подложки в вакуумном посту ВУП-5. При напылении в рабочей камере ВУП-5 поддерживалось давление  $10^{-5}$  Торр и менее. Использовались тонкие подложки из слюды (мусковит) размером  $12 \times 24$  мм<sup>2</sup>.

Аналогичным образом производилось напыление золота на фасетированную поверхность коллоидного кристалла для формирования плазмонного кристалла. Двумерные коллоидные кристаллы, состоящие из упорядоченных наносфер (250–530 нм в диаметре), были получены в ОАО ЦНИИТИ «Техномаш» (Москва) кристаллизацией монодисперсных частиц SiO<sub>2</sub> из суспензии на стеклянную подложку.

Для возбуждения флуоресценции и гигантского резонансного комбинационного рассеяния (ГРКР) света использовался гелий-неоновый лазер с длиной волны 632,8 нм мощностью 10 мВт и аргоновый лазер с длиной волны 488 нм мощностью 10 мВт. При этом регистрация спектров осуществлялась на спектрометре ДФС-52 (ЛОМО, Россия). Изображения поверхности плазмонного кристалла были получены с помощью сканирующего электронного микроскопа S-806 (Hitachi, Япония, ускоряющее напряжение 20 кВ, увеличение до 100000, разрешение до 4 нм).

**Результаты и их обсуждение.** На рис. 1 и рис. 2 приведены изображения поверхности плазмонной пленки серебра (рис. 1) и плазмонного кристалла золота (рис. 2), а также спектры вторичного свечения хромофоров, осажденных на поверхности этих плазмонных образцов. Выбор хромофоров и длины волны возбуждения осуществлялся исходя из условий резонанса. Так эозин и плазмонные пленки серебра поглощают свет в сине-зеленой, а митоксантрон и плазмонные кристаллы золота – в красно-оранжевой области спектра. Поэтому в первом случае нами была выбрана линия аргонового лазера на 488 нм, а во втором – гелий-неонового лазера на 633 нм в качестве возбуждения. В отсутствие подложек с плазмонными свойствами такой подход в выборе резонансного возбуждения обеспечивает регистрацию резонансного комбинационного рассеяния (РКР), одним из недостатков которого является наличие в спектре РКР значительного флуоресцентного фона, затрудняющего идентификацию и отнесение колебательных полос хромофора.

С применением подложек серебра и золота, обладающих выраженными плазмонными свойствами, обеспечивается возможность селективно регистрировать качественно разные сигналы анализируемых адсорбированных хромо-

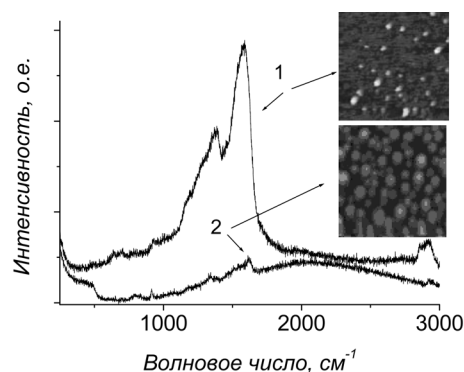


Рис. 1. Полученные с помощью АСМ изображения поверхности ( $1000 \times 1000$  нм<sup>2</sup>) плазмонных пленок серебра со среднестатистическими диаметрами частиц серебра 40 нм (1) и 105 нм (2) и спектры вторичного свечения эозина, осажденного на поверхности плазмонных пленок с меньшими (1) и большими (2) размерами зерен серебра;  $\lambda_{\text{ex}} = 488$  нм

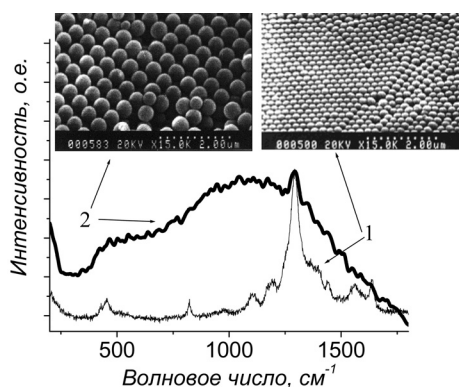


Рис. 2. Полученные с помощью сканирующего электронного микроскопа изображения поверхности плазмонного кристалла с диаметрами коллоидов 270 нм (1) и 530 нм (2) и спектры вторичного свечения митохондриона, осажденного на поверхность плазмонного кристалла с меньшими (1) и большими (2) размерами глобул;  $\lambda_{ex} = 633$  нм

частиц серебра и золота между собой очевидно связано с различием в величинах поляризуемости серебра и золота, а также поляризуемости сферических наночастиц и сферических наночастиц [13].

Важно отметить, спектры, приведенные на рис. 1 и 2, соответствуют вторичному свечению молекул, адсорбированных непосредственно на поверхность плазмонного образца. В связи с этим отсутствие флуоресцентного фона (рис. 1, спектр 1 и рис. 2, спектр 1) не может быть связано с эффектом тушения флуоресценции, поскольку наоборот проявление исключительно флуоресцентного сигнала (рис. 1, спектр 2 и рис. 2, спектр 2) имеет место при одинаковых условиях сорбции (I), одинаковых резонансных условиях возбуждения (II). И, наконец (III), разделение вкладов усиленной флуоресценции и ГРКР не может быть обусловлено конкуренцией процессов усиления и тушения, поскольку и флуоресценция, и ГРКР наблюдаются на рис. 1 и 2 для одних и тех же пар потенциального акцептора (плазмонная подложка) и донора (адсорбированный хромофор). Различаются только размеры зерен металла, как в случае плазмонных пленок серебра (рис. 1), так и в случае плазмонных кристаллов золота (рис. 2). Проявление выявленных корреляций распространяется также на флуоресцирующие наночастицы CdSe/ZnS, коллоидные пленки золота и другие системы [14; 15]. Механизмам селективного увеличения сечений КР или флуоресценции в резонансных условиях, представленных в этой работе, будет посвящена отдельная работа, основанная на вариации параметра спектральной отстройки между частотой 0–0 перехода в хромофоре и частотой максимума полосы резонансного возбуждения ЛПП.

Таким образом, зависимость свойств плазмонных систем к усилению поля падающей волны проявляется в селективном усилении разных видов вторичного свечения адсорбированных на их поверхности хромофоров – ГРКР или флуоресценции, что обусловлено различным вкладом сечений рассеяния и поглощения света в сечение экстинкции образцов. Данный размерный эффект можно отнести к разряду классического размерного эффекта, поскольку он обусловлен зависимостью от размеров макроскопических параметров, таких как сечение экстинкции и коэффициент поглощения света плазмонных образцов. Практическое применение полученной корреляции между размерами частиц благородных металлов и формой спектра адсорбированного аналита видится в возможности тюнинга морфологии и, следовательно, оптических свойств плазмонной подложки исключительно для использования вместо предметного и/или покровного стекла в конфокальной флуоресцентной или КР микроскопии для увеличения контрастности регистрируемых изображений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования Республики Беларусь в рамках государственных программ «Конвергенция», «Электроника», «Химфармсинтез»

форов (аналитов). Либо это ГРКР без флуоресцентного фона, но с хорошо выраженными колебательными полосами аналитов (рис. 1, спектр 1 и рис. 2, спектр 1). Либо это флуоресцентный сигнал с минимальным числом очень слабых колебательных полос (рис. 1, спектр 2 и рис. 2, спектр 2). Определяющим фактором в случае обоих типов используемых подложек является размер частиц благородного металла, а значит, относительный вклад сечений рассеяния или поглощения света, как это следует из выражений (1)–(3).

Действительно, среднестатистические размеры зерен серебра на плазмонных пленках (1 и 2 на рис. 1) различаются практически в 2,6 раза. При этом разброс частиц по размерам составляет 10 % для поверхности с меньшими частицами и 15 % для поверхности с большими частицами серебра. Размеры наночастиц золота на поверхности плазмонных кристаллов (1 и 2 на рис. 2) – в 1,9 раз. Несовпадение размеров флуоресцентно-активных частиц серебра и золота между собой, а также ГРКР-активных

и «Нанотех». Автор выражает благодарность сотрудникам лаборатории нанооптики Института физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси (зав. лабораторией С. В. Гапоненко) и сотрудникам кафедры общей физики ГрГУ (руководитель научной школы С. А. Маскевич) за многолетнее плодотворное сотрудничество. Образцы плазмонных кристаллов были любезно предоставлены М. И. Самойловичем. Атомно-силовой микроскоп (АСМ) Nanotechnology P4-SPM AFM/STM был использован для анализа размеров частиц на поверхности плазмонных пленок И. Ф. Свекло.

### Литература

1. Патент US 3013467.
2. Chan W. C. W., Nie S. // *Science*. 1998. Vol. 281. P. 2016–2018.
3. Sokolov K. et al. // *Technology in Cancer Research & Treatment*. 2003. Vol. 2, N 6. P. 491–504.
4. Gaponenko S. V. *Introduction to Nanophonics*. New York, 2010.
5. Boisdé G., Harmer A. *Chemical and Biochemical Sensing with Optical Fibers and Waveguides*. Boston, 1996. – 65 p.
6. Ponath H.-E. *Nonlinear Surface Electromagnetic Phenomena*. Amsterdam, 1991. – 654 p.
7. Stewart M. E. et al. // *PNAS*. 2006. Vol. 103. P. 17143–17148.
8. Shultz D. A. // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2003. Vol. 14. P. 13–22.
9. Strekal N. D., Kulakovich O. S., Askirka V. F. et al. // *Plasmonics*. 2008. Vol. 4. P. 1–7.
10. Emory S. R., Haskins W. E., Nie S. // *J. Am. Chem. Soc.* 1998. Vol. 120. P. 8009–8010.
11. Strekal N. D., Askirko V. F., Maskevich A. A. et al. // *Optics and spectroscopy*. 2000. Vol. 89, N 6. P. 872–875.
12. Strekal N., Maskevich A., Maskevich S. et al. // *Biospectroscopy/Biopolymers*. 2000. Vol. 57. P. 325–328.
13. Ponyavina A. N., Kachan S. M., Silvanovich N. I. // *J. of Optical Society of America B*. 2004. Vol. 21. P. 1866–1875.
14. Kulakovich O., Strekal N., Yaroshevich A. et al. // *Nano Letters*. 2002. Vol. 2, N 12. P. 1449–1452.
15. Ianoul A, Strekal N., Maskevich S. // *J. of nanoscience and nanotechnology*. 2006. Vol. 6. P. 1–5.

*N. D. STREKAL*

nat@grsu.by

### **DIMENSIONAL EFFECT IN THE FORMATION OF SECONDARY CHROMOPHORE FLUORESCENCE SPECTRA NEAR THE SURFACE WITH PLASMONIC PROPERTIES**

#### **Summary**

The selectivity of plasmonic substrates – plasmonic silver films and plasmonic gold crystals – is developed as selective enhancement of different secondary emission types (Raman or fluorescence) with the use of the same chromophores, excitation conditions, but different sizes of metallic grains at the plasmonic substrate surface. It is conditioned by a different contribution of absorption and scattering cross sections to the extinction cross section for small and large nanoparticles.