

利用微悬臂梁研究聚 N-异丙基丙烯酰胺 在金表面的自组装^{*}

黄 渊¹⁾ 刘 红^{2)†} 张青川¹⁾

1) 中国科学技术大学,中国科学院材料力学行为和设计重点实验室,合肥 230027)

2) 中国科学技术大学化学物理系,合肥 230026)

(2008 年 11 月 22 日收到,2009 年 2 月 9 日收到修改稿)

利用微悬臂梁传感技术研究了巯基化的聚 N-异丙基丙烯酰胺(HS-PNIPAM)在微悬臂梁金面上的自组装过程. 由于大分子的构象变化改变了分子间的相互作用,导致微悬臂梁的表面应力改变,使微悬臂梁发生弯曲. 通过光学方法实时读出微悬臂梁的弯曲信号,得到 HS-PNIPAM 的自组装动力学曲线. 通过对不同分子量 HS-PNIPAM 的实验结果分析表明,HS-PNIPAM 在自组装过程中存在三个阶段,分别对应不同的分子构象. 第一阶段为物理吸附阶段,第二、三阶段为伴随着分子构象变化的化学吸附阶段. 吸附曲线符合 Langmuir 等温吸附. 分析结果还显示 HS-PNIPAM 的表面吸附速率 κ 远小于小分子的吸附速率,并与分子量成负指数关系;HS-PNIPAM 的自组装时间远大于小分子的自组装时间,并与分子量成正比. 底物表面应力的改变与 HS-PNIPAM 的分子量成线性关系.

关键词:微悬臂梁,聚 N-异丙基丙烯酰胺,自组装,构象转变

PACC:3620C,8120S,8265

1. 引 言

微悬臂梁传感是在原子力显微镜和微机电系统出现后迅速发展起来的一种新的传感方法. 这种方法的基本原理是:当微悬臂梁的镀金表面有分子吸附或生化反应发生时,微悬臂梁的上下表面会产生应力差,从而导致微悬臂梁产生弯曲变形. 借助于光学读出方法,可以读出该变形并将其转化为相应的电信号输出. 输出的电信号与微悬臂梁的端部位移成正比^[1]. 微悬臂梁的上下表面应力差 $\Delta\sigma$ 与微悬臂梁的端部位移 Δz 之间遵循 Stoney 公式^[2]

$$\Delta z = \frac{3(1-\nu)L^2}{Et^2}\Delta\sigma, \quad (1)$$

式中 L , t , E , ν 分别代表微悬臂梁的长度、厚度、杨氏模量和泊松比. 近年来,微悬臂梁传感技术广泛应用于自组装、蛋白质分子构象转变、DNA 双链杂交、癌症检测等方面的研究^[3-7].

自组装膜(self-assembled monolayers, SAMs)是分子通过物理或化学吸附在固/液或气/固界面而形成

的热力学稳定和能量最低的有序膜. 由于分子链间强烈的相互作用(氢键、范德华力、静电力、疏水作用力等)使单分子膜具有结构紧密、稳定等优点,因此广泛用于控制金属表面润湿、摩擦、防腐、半导体钝化和光学二阶调谐发生器等领域^[8-13]. 由于 SAMs 可以连接不同的官能团,在化学和生物传感器方面也具有广阔的应用前景^[14,15]. 近年来,在表面物理、薄膜材料、超分子和生物化学等众多领域, SAMs 对底物表面应力的影响日益凸现,对小分子的吸附对底物表面应力的影响已有不少研究^[16-20].

与此同时,大分子在界面上的吸附对底物表面应力的影响正渐渐成为人们关注的问题. 与硫醇等小分子不同,大分子链在固体表面的自组装过程中会表现出构象的变化,在理论和实验都有不少的研究^[21-26]. 聚 N-异丙基丙烯酰胺是一种聚合大分子, Liu 等^[27]利用石英晶体微天平(QCM)技术对其在金面的自组装进行了研究,结果表明:聚 N-异丙基丙烯酰胺的分子构象会从“烤薄饼”变化到“蘑菇状”,最后形成“刷子状”,但是这种构象的变化对自组装时底物表面应力有何影响,目前尚无文献报道. 本文

^{*} 国家自然科学基金(批准号:10732080,20674078 和 10872191)资助的课题.

[†] E-mail: liuhong@ustc.edu.cn

以微悬臂梁传感技术为平台,研究了不同分子量的聚 N-异丙基丙烯酰胺分子在金面自组装过程中对底物表面应力的影响.

2. 材料与方

微悬臂梁传感实验装置如图 1 所示.实验所用的微悬臂梁是市贩的单侧镀金的氮化硅三角梁(长 200 μm ,宽 40 μm ,厚 0.5 μm ,如图 1 中微梁所示),微悬臂梁固定在盛有缓冲液的反应容器($\sim 0.5\text{ ml}$)内.激光器发出的激光束聚焦在微悬臂梁的端部,反射光束被位置敏感探测器(position sensitive detector , PSD)接收.微悬臂梁发生弯曲变形时,激光束随之偏转,PSD 感知此信号并转化为相应的电信号输出,即可实现对微悬臂梁变形的实时检测.本实验系统中微悬臂梁自由端部的最小可分辨位移可到亚纳米级.样品溶液由微流量蠕动泵控制进出容器,在本实验中均以 3 ml/h 的恒定速度流动.在容器底部用恒温器控制溶液温度,可精确控温至 0.01 $^{\circ}\text{C}$.整个实验装置放在光学防震实验平台上,实验温度为 20 $^{\circ}\text{C}$.

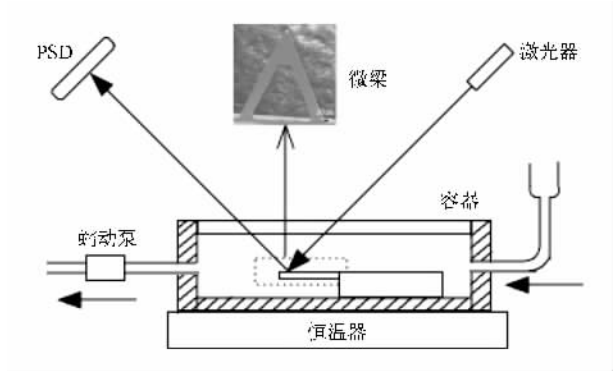


图 1 微悬臂梁传感实验系统示意图

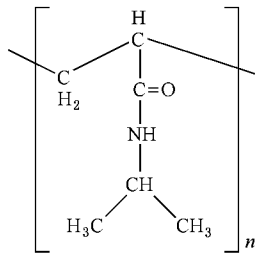


图 2 PNIPAM 分子结构式

聚 N-异丙基丙烯酰胺的分子结构式如图 2 所示.实验中使用的端巯基化的聚 N-异丙基丙烯酰胺

(HS-PNIPAM)的分子量分别为 $M_w = 5000, 10000, 15000, 17000, 20000\text{ g/mol}$,对应的分子量分布分别为 $M_w/M_n = 1.20, 1.10, 1.10, 1.07, 1.08$.自组装过程如下:首先,将单侧镀金的氮化硅微悬臂梁的表面浸入“piranha dip”($\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{SO}_4 = 1:3$)溶液中 30 min(室温),取出后用去离子水冲洗.然后将微悬臂梁固定在图 1 所示的装置中,驱动去离子水流动并进行监测.待信号稳定后加入 HS-PNIPAM 水溶液(浓度均为 1 mg/ml),实时监测微悬臂梁的弯曲信号,观察 HS-PNIPAM 在微悬臂梁表面的自组装过程.

3. 结果与讨论

图 3 显示的是不同分子量的 HS-PNIPAM 在微悬臂梁上自组装时,微悬臂梁端部位移和表面应力随时间变化的曲线.位移的符号规定:弯向金面一侧为负,背向金面一侧为正.点划线是根据 Langmuir 吸附等温线拟合的曲线.从图 3 可以看出,5 种不同分子量 HS-PNIPAM 的自组装曲线,都包含了三个阶段(图 3(a)),第一阶段出现了较小的负向位移.分子量越大,负向位移越大;第二阶段位移变为正向,且正向位移远大于负向位移.分子量越大,正向位移值越大,表明相应的表面应力的改变越大;第三阶段为一个具有平稳位移的平台.第二、三阶段的实验值和根据 Langmuir 吸附等温线拟合的曲线符合良好.从图中还可以看出,对于不同分子量的 HS-PNIPAM,自组装时间(从加入样品到信号恢复平稳)也不同,分子量越大,自组装时间越长.分子量为 5000 的 HS-PNIPAM 仅需 700 s,当分子量增加到 20000 时,自组装时间需要 10^4 s .

在自组装过程中,微悬臂梁的表面应力 σ 与分子在微悬臂梁表面的生长速率 κ 和时间 t 之间有如下关系^[28]:

$$\sigma \propto 1 - \exp(-\kappa t).$$

(2)

从图 3 的拟合值可以得到五种分子量的生长速率分别为 0.00683 s^{-1} , 0.00243 s^{-1} , 0.00043 s^{-1} , 0.00037 s^{-1} 和 0.00023 s^{-1} ,而硫醇在 Au 面自组装的生长速率为 0.19 s^{-1} ,自组装时间 $\sim 100\text{ s}$ ^[28],可以看出大分子在金表面的生长速率远远小于小分子,因此自组装时间远远大于小分子的自组装时间.

分子量 M_w 与生长速率 κ 之间的关系如图 4 所示,拟合曲线满足以下关系:

$$\kappa = -0.00024 + 0.0194 \times \exp(-2.04 \times 10^{-4} M_w),$$

(3)

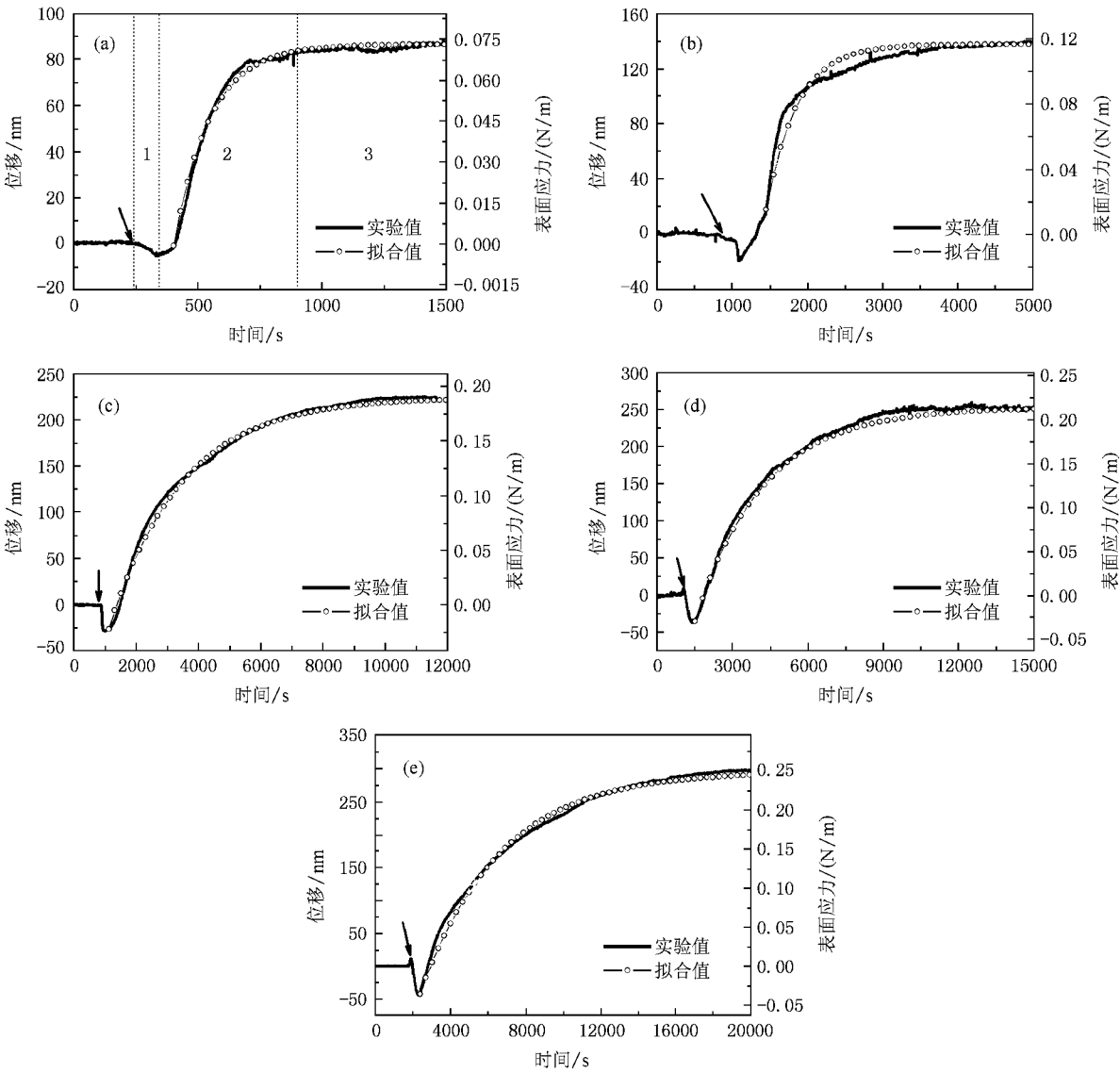


图3 不同分子量的 HS-PNIPAM 在微悬臂梁上自组装时,微悬臂梁端部位移以及表面应力随时间变化的曲线(箭头所指为加入样品的时间,点划线是根据 Langmuir 吸附等温线拟合的曲线)(a)5000 g/mol (b)10000 g/mol (c)15000 g/mol (d)17000 g/mol (e)20000 g/mol

即分子量 M_w 与表面生长速率 κ 之间呈负指数关系. 分子量 M_w 越大,生长速率 κ 越小. 当 $M_w < 15000$ g/mol 时,生长速率 κ 对分子量的变化很敏感;当 $M_w > 15000$ g/mol 时,分子量的变化对生长速率 κ 的影响变得很弱.

分子量 M_w 与表面应力 σ 之间的关系如图 5 所示,拟合曲线满足以下关系:

$$\sigma = 1.17 \times 10^{-5} M_w + 0.0092, \quad (4)$$

即分子量 M_w 与表面应力 σ 之间呈线性关系,分子量 M_w 越大,表面应力 σ 越大.

分子在微悬臂梁表面的自组装会使梁发生弯曲,导致微悬臂梁的弯曲变形可能的因素有:(1)吸附

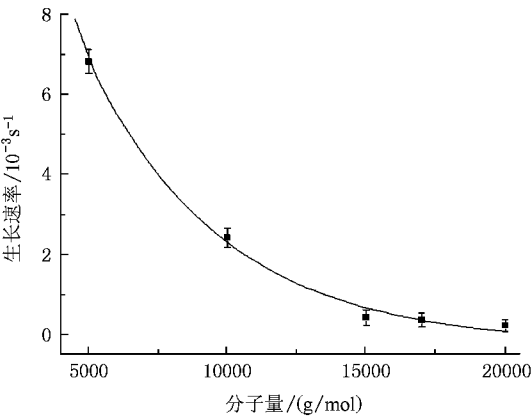


图4 生长速率与分子量之间的关系

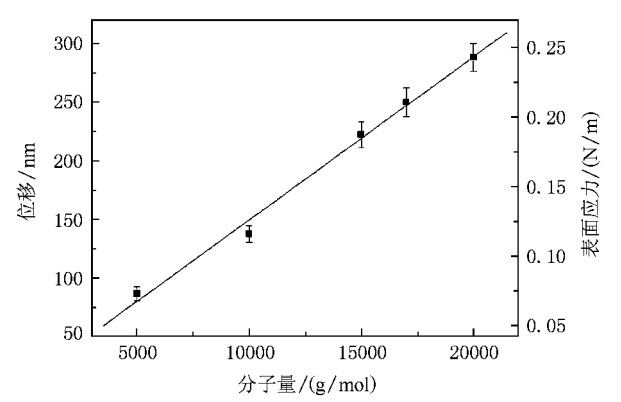


图5 微悬臂梁端部位移以及表面应力与分子量之间的关系

分子的自重因素. HS-PNIPAM 分子在 Au 表面形成分子刷时的间距为 1.7 nm^[27], 根据氮化硅的杨氏模量 $E = 180 \text{ GPa}$ 以及梁的几何尺寸, 可以推断吸附重量引起的微悬臂梁变形 $\sim 10^{-3} \text{ nm}$. 2) 热变形因素. 由于微悬臂梁双材料的不同热膨胀系数, 化学反应产生的热量会导致微悬臂梁弯曲. 假定—SH 与 Au 反应产生的热量 ($\Delta E = -150 \text{ kJ/mol}$ ^[3]) 全部用于微悬臂梁的温升, 可以估算微悬臂梁变形 $\sim 10^{-1} \text{ nm}$. 3) 分子间的相互作用以及分子与底物间的相互作用. 因素 1) 和 2) 的影响与实测结果相差几个数量级, 因此在自组装过程中引起微悬臂梁变形的因素被认为主要是因素 3). 通过检测微悬臂梁的弯曲变形, 计算出表面应力的变化, 可以知道分子在自组装过程中分子间相互作用力的变化.

基于前面的讨论, 我们可以解释 HS-PNIPAM 在自组装过程中三个阶段的变化. 刚加入 HS-PNIPAM 时, 由于 HS-PNIPAM 是两亲性分子, 长碳链的疏水作用促使 HS-PNIPAM 物理吸附到 Au 面上, 大分子“卧”在金面上, 呈现“烤薄饼”的构象(图 6(a)), 分子间的相互纠缠导致微悬臂梁的负向弯曲; 分子量越大, 相互纠缠就越复杂, 负向弯曲就越大. 当物理吸附趋于饱和, 并且 HS-PNIPAM 的巯基段与金表面产生足够的接触后, 自组装进入到第二阶段. HS-PNIPAM 在 Au 面开始化学吸附, 分子间的相互纠缠逐渐解开, 构象也慢慢调整为“蘑菇状”(图 6(b)). 相对于本体中的 Au 原子来说, 表面的 Au 原子处于非对称状态中: 由于外部 Au 原子的缺失, 使得电子云集中的分布在相邻的表面 Au 原子之间, 这就增强了表面原子间的 coulomb 吸引作用, 表面的 Au 原子间就存在一种张紧的表面应力(图 7(a)); 当—SH 与 Au 发生化学反应时, 由于 Au 的电负性小于 S 的

电负性, 导致表面 Au 原子之间的电子云被 S 原子吸引(图 7(b)), 从而使 Au 原子之间的 coulomb 势作用减小, 宏观上表现为 Au 原子之间产生排斥力, 使微悬臂梁正向弯曲^[26]. 当 HS-PNIPAM 分子量 $M_w < 15000 \text{ g/mol}$ 时, 分子链比较短, 其构象调整快, 表面生长速率 κ 大, 相应的自组装时间短; 当 HS-PNIPAM 分子量 $M_w > 15000 \text{ g/mol}$ 时, 由于分子链比

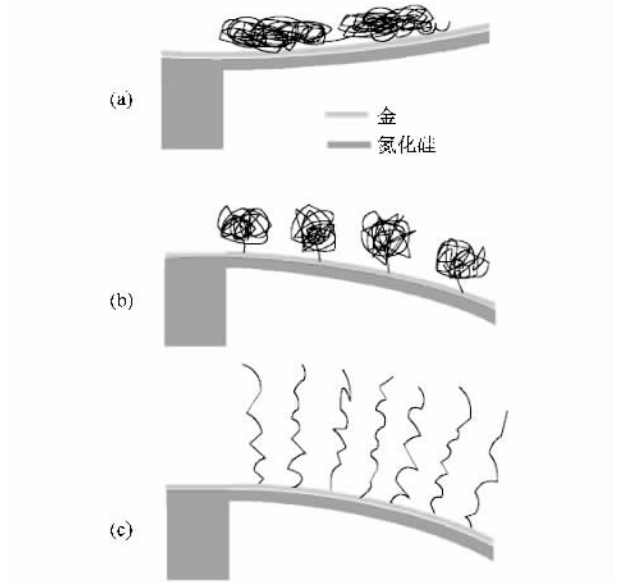


图6 HS-PNIPAM 在微悬臂梁 Au 表面自组装过程中各阶段构象示意图 (a) “烤薄饼”构象 (b) “蘑菇状”构象 (c) “刷子状”

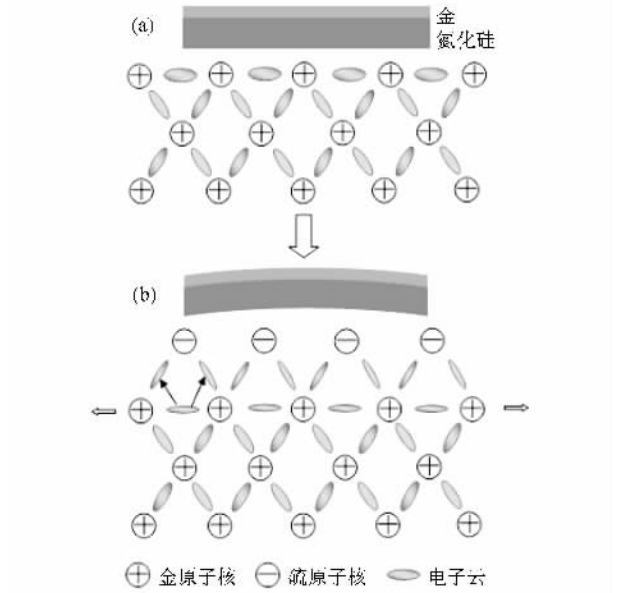


图7 —SH 与 Au 反应引起表面 Au 原子之间电子云的变化从而导致微悬臂梁弯曲的变形示意图

相应的自组装时间变长.当金表面达到化学吸附饱和时,表面形成高分子刷(图 6(c)),此时表面应力的变化达到稳定,自组装过程进入到第三个阶段.这种大分子构象从“烤薄饼”到“蘑菇状”,再到“刷子状”的转变的过程与 QCM 及原子力显微镜等的研究结果相符合^[27,30]. HS-PNIPAM 的构象从初始的“烤薄饼”到后来的“刷子状”,分子链的构象熵发生了改变,这需要分子链间的互相作用力来维持,分子量越大,分子链的构象熵改变就越大.维持平衡的互相作用力就越大,从而使微悬臂梁重新保持平稳时的位移增加,表面应力的改变也随之增加.

4. 结 论

本文利用微悬臂梁传感技术研究了不同分子量的聚 N-异丙基丙烯酰胺在金表面自组装的动力学过程.实验结果表明 HS-PNIPAM 的自组装动力学曲

线与 Langmuir 吸附等温线相符合.由于 HS-PNIPAM 在固体表面自组装过程中伴随着构象的变化,其对底物表面应力影响与小分子有所不同:1)初始阶段由于物理吸附会导致微悬臂梁产生负向弯曲,负向位移与分子量呈正比.2)HS-PNIPAM 在金表面的生长速率 κ 远小于小分子的生长速率,并与分子量呈负指数关系.分子量越大,生长速率越小.3)HS-PNIPAM 的自组装时间远大于小分子的自组装时间,并与分子量呈正比.4)底物表面应力的改变与 HS-PNIPAM 的分子量呈线性关系,分子量越大,表面应力的改变也越大.微悬臂梁传感技术可以实时监测分子在构象变化过程中的相互作用力的变化,与传统的实验方法如激光散射, QCM, SPR 等相配合,对于人们认识大分子自组装过程中构象转变的微观机理,建立理论模型都有深远意义.同时也为研究伴随有力学信号变化的生物、化学现象提供一个新的技术手段.

-
- [1] Butt H J 1996 *J. Colloid Interf. Sci.* **180** 251
- [2] Sadara J E 2001 *J. Appl. Phys.* **89** 8911
- [3] Berger R, Delamarche E, Lang H P, Gerber C, Gimzewski J K, Meyer E, Guntherodt H J 1997 *Science* **276** 2021
- [4] Moulin A M, O'Shea S J, Badley R A, Doyle P, Welland M E 1999 *Langmuir* **15** 8776
- [5] Hansen K M, Ji H F, Wu G H, Datar R, Cote R, Majumdar A, Thundat T 2001 *Anal. Chem.* **73** 1567
- [6] Wu G H, Datar R H, Hansen K M, Thundat T, Cote R J, Majumdar A 2001 *Nat. Biotechnol.* **19** 856
- [7] Li K, Liu H, Zhang Q C, Hou Y, Zhang G Z, Wu X P 2006 *Acta Phys. Sin.* **55** 4111 [in Chinese] 李 凯、刘 红、张青川、侯毅、张广照、伍小平 2006 物理学报 **55** 4111]
- [8] Evans S D, Urankar E, Ulman A, Ferris N 1991 *J. Am. Chem. Soc.* **113** 4121
- [9] Whitesides G M, Laibinis P E 1990 *Langmuir* **6** 87
- [10] Nuzzo R G, Dubois L H, Allara D L 1990 *J. Am. Chem. Soc.* **112** 558
- [11] Xia A G, Yang B, Jin J S, Zhang Y W, Tang F, Ye G X 2005 *Acta Phys. Sin.* **54** 302 [in Chinese] [夏阿根、杨 波、金进生、张亦文、汤 帆、叶高翔 2005 物理学报 **54** 302]
- [12] Hu H L, Zhang K, Wang Z X, Wang X P 2006 *Acta Phys. Sin.* **55** 1430 [in Chinese] 胡海龙、张 琨、王振兴、王晓平 2006 物理学报 **55** 1430]
- [13] Hu H L, Zhang K, Wang Z X, Kong T, Hu Y, Wang X P 2007 *Acta Phys. Sin.* **56** 1674 [in Chinese] 胡海龙、张 琨、王振兴、孔 涛、胡 颖、王晓平 2007 物理学报 **56** 1674]
- [14] Mandler D, Turyan I 1996 *Electroanalysis* **8** 207
- [15] Ghindilis A L, Atanasov P, Wilkins M, Wilkins E 1998 *Biosens. Bioelectron* **13** 113
- [16] Kidoaki S, Matsuda T 1999 *Langmuir* **15** 7639
- [17] Lu J, Eng L, Bennewitz R, Meyer E, Guntherodt H J, Delamarche E, Scandella L 1999 *Surf. Interface Anal.* **27** 368
- [18] Dannenberger O, Buck M, Grunze M 1999 *J. Phys. Chem. B* **103** 2202
- [19] Itakura A N, Berger R, Narushima T, Kitajima M 2002 *Appl. Phys. Lett.* **80** 3712
- [20] Kukta R V, Kouris D, Sieradzki K 2003 *J. Mech. Phys. Solids* **51** 1243
- [21] Alexander S 1977 *J. Phys. Fr.* **38** 983
- [22] Ligoure C 1993 *J. Phys. II Fr.* **3** 1607
- [23] Baekmark T R, Elender G, Lasic D D, Sackmann E 1995 *Langmuir* **11** 3975
- [24] Szleifer I 1998 *Europhys. Lett.* **44** 721
- [25] Gragson D E, Jensen J M, Baker S M 1999 *Langmuir* **15** 6127
- [26] Tsukanova V, Salesse C 2004 *J. Phys. Chem. B* **108** 10754
- [27] Liu G M, Cheng H, Yan L F, Zhang G Z 2005 *J. Phys. Chem. B* **109** 22603
- [28] Berger R, Delamarche E, Lang H P, Gerber C, Gimzewski J K, Meyer E, Guntherodt H J 1998 *Appl. Phys. A-Mater.* **66** S55
- [29] Ibach H 1997 *Surf. Sci. Rep.* **29** 195
- [30] Penn L S, Huang H, Sindkhedkar M D, Rankin S E, Chittenden K, Quirk R P, Mathers R P, Lee Y 2002 *Macromolecules* **35** 7054

Detection of the self-assembly of poly(N-isopropylacrylamide) on gold based on microcantilever sensor^{*}

Huang Yuan¹⁾ Liu Hong^{2)†} Zhang Qing-Chuan¹⁾

¹⁾ *Key Laboratory of Mechanical Behavior and Design of Material of Chinese Academy of Sciences ,
University of Science and Technology of China , Hefei 230027 , China)*

²⁾ *Department of Chemical Physics , University of Science and Technology of China , Hefei 230026 , China)*

(Received 22 November 2008 ; revised manuscript received 9 February 2009)

Abstract

A microcantilever sensor platform is used for detecting the self-assembly of poly(N-isopropylacrylamide)(HS-PNIPAM) on gold surface. The change of the interaction between molecules caused by conformation transition will change the surface stress of the microcantilever which causes its bending. The kinetic curves of self-assembly can be obtained by real-time monitoring the deflection of the microcantilever using the optical lever read-out technique. HS-PNIPAMs of different molecular weight were used to study the self-assembly process , and the results showed that the kinetic curves can be divided into three stages corresponding to different conformations , respectively. The first stage corresponds to physical adsorption of HS-PNIPAM on gold-coated side. The second and third stages correspond to chemical adsorption on gold-coated side with conformation transition. The kinetic curves fit Langmuir adsorption isotherm well. The results also show that the reaction rate κ of HS-PNIPAM is far less than that of small molecules and decreases exponentially with the molecular weight ; while the time of HS-PNIPAM 's self-assembly is far greater than that of small molecules and proportional to the molecular weight. The change of the surface stress is linear to the molecular weight of HS-PNIPAM.

Keywords : microcantilever , poly(N-isopropylacrylamide) , self-assembly , conformation transition

PACC : 3620C , 8120S , 8265

^{*} Project supported by the National Natural Science Foundation of China(Grant Nos. 10732080 , 20674078 and 10872191)

[†] E-mail : liuhong@ustc.edu.cn