



石英晶体微天平的新进展

何建安^①, 付龙^②, 黄沫^②, 卢煜东^②, 吕贝尔^②, 朱志强^②, 方佳节^②, 马宏伟^{②*}

① 北京大学工学院生物医学工程系, 北京 100871

② 中国科学院苏州纳米技术与纳米仿生研究所, 苏州 215123

*通讯作者, E-mail: hwma2008@sinano.ac.cn

收稿日期: 2011-06-14; 接受日期: 2011-07-01; 网络版发表日期: 2011-09-01

doi: 10.1360/032011-381

摘要 石英晶体微天平(quartz crystal microbalance, QCM)是一种对界面变化敏感的仪器, 它已经在物理、化学、生物学、药理学、临床医学、环境科学等学科的界面问题研究中得到了一定的应用. 然而, QCM 在液相下的应用和推广一直受限于 QCM 数据定量解释的困难. 为此, 科研工作者发展了多种高级的 QCM, 比如带阻抗分析功能的 QCM (impedance QCM, *i*-QCM)或带能量耗散监测功能的 QCM (QCM with dissipation, QCM-D), 同时还发展了许多相应的理论模型. 但是, 对于多数生物、化学工作者来说, 这些理论过于复杂. 这极大地限制了 QCM 的推广和潜力发挥. 本文以我们小组在 QCM 方面的研究作为线索, 对已报道的分析方法、模型和方程按 5 类应用条件进行了整理, 给出了明确的界定标准: 它们是: 1, 固-气界面; 2, 牛顿流体; 3, 固-液界面的薄膜; 4, 固-液界面厚膜; 5, 固-液界面超厚膜. 对于每一类情况, 我们将用通俗易懂的语言描述如何对 QCM 数据进行简化却又保证研究精度需要的定量分析. 对于液态环境下的 QCM 数据的分析, 我们着重介绍了“固化水层”模型, 该模型允许 QCM 在一定的条件下成为一把“分子尺”, 工作范围从几个纳米到数百纳米. 该分子尺在多个创新界面问题研究中得到很好的应用. 最后, 我们从理论上分析了 QCM 作为生物传感器的先天缺陷——因基于面均质量检测的原理, QCM 技术对溶液中蛋白的检测下限仅在 $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ 数量级. 进一步, 我们探索了 QCM 的发展方向 and 潜在应用领域, 希望籍此能进一步推广 QCM 在各个学科界面问题中的研究应用.

关键词

石英晶体微天平
“固化水层”模型
表面引发聚合反应
生物传感器

1 引言

Curie 兄弟^[1]于 1880 年发现: 当石英晶体沿一定方向受到外力的作用而变形时, 其内部会产生极化现象; 同时在它的两个相对表面上出现正负相反的电荷. Lippman^[2]在同一年提出了“反压电效应”的假设, 该假设在次年被 Curie 兄弟实验证实. 石英晶体微天平(quartz crystal microbalance, QCM)的广泛应用得益于柏林工业大学物理研究所的 Guenter Sauerbrey 教授的研究工作, 他用简单的语言描述了

石英共振频率与吸附质量的关系, 即著名的 Sauerbrey 公式^[3](见公式(1)). 该式奠定了 QCM 作为传感器应用的基础.

$$\Delta f = \frac{-2f_0^2 \Delta m}{A\sqrt{\mu_q \rho_q}} \quad (1)$$

式中 Δf 为频率变化, f_0 为芯片基频, A 为芯片的有效面积 (即为两个电极共同覆盖的面积), μ_q 和 ρ_q 分别为芯片的剪切模量和密度.

QCM 在真空镀膜厚度监测中的成功应用极大地

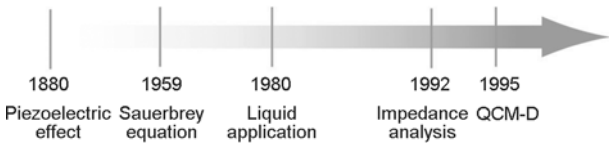


示意图 1 QCM 的发展历程

推动了它在其他领域作为传感器应用, 比如在包括二氧化硫、甲醛、氮氧化物、一氧化碳、硫化氢、氰化氢、二噁英等在内的大气与环境污染物的监测^[4]、金属腐蚀与防护^[5]、高分子相变^[6]、气相反应动力学等. 相关工作已经有若干文献综述报道^[7, 8], 其中较为著名的实例是火星大气成分的监测: 美国国家航空和宇宙航行局将该仪器安装于“火星漫步者号”卫星系统中, 成功分析了火星大气层的成分.

然而, 研究人员在发展液相中应用的 QCM 时遇到了极大的困难. 最初的原因是 QCM 在液体环境中损耗过大而未获得稳定的振动方式. 1980 年, Nomura 等人^[9]实现了在液体环境中稳定振荡的 QCM. 随后, 研究人员发现黏性阻尼增加了定量分析 QCM 数据的复杂性^[10, 11], 即在溶液环境中, QCM 频率响应不仅依赖于表面与分析物相互作用引起的质量变化, 同时与周围溶液的作用密不可分. 简单地说, 同晶片一起振动的物质的质量增加会引起频率的下降, 但是振动物质的黏弹性变大则表现为频率的上升. 该 QCM 数据定量分析的复杂性造成了到目前为止液相 QCM 的应用仅仅限于学术研究而非商业(工业)应用的现状(示意图 1 为 QCM 的发展历程). 据文献统计, 液相 QCM 的商业应用推广远落后于其他同期发展的传感器, 例如表面等离子共振仪(surface plasmon resonance, SPR)和椭圆偏振仪 (ellipsometry).

对液相中获得的 QCM 数据, 即频率变化(Δf),

采用 Sauerbrey 方程推算的实验值往往偏离真实值. 许多研究人员尝试寻求单一的转化因子, 对 Sauerbrey 方程进行校正 (表 1), 但至今没有获得简单、统一的转化关系式. 为了解决溶液的黏弹性问题, 科研工作者一方面就溶液的影响在理论和规律上作了探讨, 提出了频率变化和溶液黏弹性、密度、电导率、介电常数等参数相关的公式^[12-15], 另一方面则是对 QCM 硬件设备进行了优化改进. 在理论方面, Kanazawa 和 Bruckenstein 从流体力学原理分析, 讨论振荡频率与溶液黏弹性、密度之间的关系, 理论导出频率变化 (Δf) 与 $(\eta\rho)^{1/2}$ 的简单线性关系^[15]. 这一结论已经得到许多研究工作的证实^[12]. 为了获取更多关于 QCM 振荡原理性的信息, 人们进一步从电学、声学的原理发展了等效电路模型^[16, 17]、流体力学模型^[18, 19]、有限元法等方法. 这些方法从不同程度上加深了我们对 QCM 数据的理解, 但由于过于复杂, 并没有能够推动 QCM 的商业应用. 在硬件方面, QCM 发展了振荡器法和阻抗网络法 (QCM with impedance analysis, *i*-QCM)^[16, 20]等检测模式, 分别提供振荡阻抗、振荡频率、振幅和半峰宽等信息, 这些测量参量一般都与液相特征参量相关, 从而实现分离质量和溶液性质对检测参数的影响. Bruckenstein 等人则通过仪器的创新, 采用双振荡电路的方式, 分离出黏弹性的贡献^[21]. Dunham 等人采用双石英晶体芯片, 自动扣除电导率、黏弹性、温度等参数的影响^[22]. Rodahl 等人则提出了能量耗散 (dissipation factor, ΔD) 的概念, 用于表征吸附物质的黏弹性^[23]. Hook 小组同时监测频率变化和能量耗散因子, 并借助 Voigt model 开始尝试表征生物膜层的黏弹性特性, 比如蛋白质^[24, 25]、DNA 单链以及杂交信息^[26, 27]. 进一步研

表 1 QCM 和其他技术联用情况总结

No.	Tech.	Subject	Substrate	Conversion factor	References
1	QCM/I ¹²⁵ labelization	anti-HAS	gold	2.0	[35]
		HAS		3.9	
2	QCM (Network analysis)/P ³² labelization	DNA	gold	18	[36]
3	QCM/SPR	surfactant C ₁₂ E ₈	gold	1.8	[37]
4	QCM/SPR	organic films ZDOL	silver	—	[38]
5	QCM/SPR	phospholipid/protein	gold	1.5~3.5	[39]
6	QCM/ellipsometry/SPR (independently)	protein	gold	10.7 (before cross-linking) 4 (after cross-linking)	[25]
7	QCM/SAW/SPR/AFM (QCM simultaneously with AFM, SAW with SPR)	protein	gold	1.2~1.5	[40]
8	QCM/anomalous reflection	proteins	gold	1.4~3.8	[41]

究表明,许多与外界相关的物理、化学参数对于频率的变化存在不同程度的影响. 这些因素包括: 表面粗糙度^[28-31]、温度^[32]、压力^[32]、导电率^[33, 34]等. 但由于这些影响因素往往属于极端的实例,在现实的应用中,这些因素对于实验结果多数可以忽略不计或者经过特殊处理减小对结果的影响,因此,在下文讨论中不再赘述.

如前所述, QCM 的推广没有如 SPR 那样广泛,主要是 QCM 数据处理的复杂性,它要求研究人员具有扎实的数学、物理的理论背景. 相比之下, SPR 已经能够运用简单的语言描述信号变化与质量之间的关系: $1 \Delta RU \propto 6.5 \times 10^{-2} \text{ ng cm}^{-2}$ ^[25]. 对于大多数化学和生物工作者来说, QCM 仅是一种研究工具,并非研究对象. 他们更希望用简单通俗的语言来描述 QCM 实验结果. 在前人的工作基础上,联合了 *i*-QCM 和 QCM-D 的优势,我们和浙江大学杜滨阳教授一起推导出一系列的公式,关联了阻抗和耗散因子,从而有效分离出溶剂黏弹性对频率的贡献^[42]. 最近,我们又进一步提出了“固化水层”模型,使得简便实现 QCM 数据定量分析成为可能.

本综述主要基于厚度剪切模型 (thickness-shear mode, TSM) 的 QCM^[10], 根据 QCM 应用的对象划分为

五个条件,每个条件下我们给出简单、严格的定量关系式. 但具体的数学推导公式我们不详细讨论,感兴趣的读者可以阅读相关的文献. 我们针对每个定量的关系式用简单通俗的语言加以描述,并结合我们小组的工作以及文献报道的成果展开讨论,目的是使不具备数学、物理理论背景的化学和生物工作者能够容易掌握 QCM 这门工具,从而拓展 QCM 的应用范围.

2 QCM 的应用类型和基础方程

2.1 QCM 应用概述

在过去的三十年里, QCM 技术在理论、方法和应用上均取得了较大的进展,同时推动了化学、生命科学、医学等诸多相关领域的发展. 尤其在生物医学、高分子等领域的应用, QCM 有着不俗的表现,读者可以参考诸多的综述^[43-47]. 表 2 列举了部分活跃于 QCM 在生物医学领域应用的研究小组. 本综述并非对所有文献进行完全统计,只是列举部分典型的例子,旨在让读者进一步了解 QCM 的应用.

如示意图 2 所示,液相中 QCM 的研究对象可被分为两部分, layer I 为溶液环境层,主要的特征参数包括溶液密度(ρ_L)和溶液剪切黏度系数(η_L); layer

表 2 QCM 应用于生物医用领域的部分实例

Groups	Application examples	References
Kasemo B	metal hydride kinetics, gas adsorption kinetics and catalytic reactions	[48, 49]
Du BY	biosensor based on functional polymer thin film	[47]
Otzen DE	kinetics of protein fibrillation	[50]
Johannsmann D	the theory of QCM	[16, 51~53]
Besenbacher F	cell adhesion	[54~56]
Caruso F	polyelectrolyte multilayer	[57~59]
Dickert FL	chemical sensors	[60, 61]
Hook F	viscoelastic properties, lipid, the theory of QCM	[25, 62~66]
Zhang GZ	conformation change (DNA, polymer, lipid)	[67~73]
Shen GL	immunosensors	[74, 75]
Elwing H	protein adsorption	[76~79]
Ma HW	surface initiated polymerization, surface tethered polymers, biosensor	[42, 80~85]
Johal MS	lipid membranes, immobilization of biomolecules	[86~88]
Ayad MM	sensor (vapours, ions, dye)	[89~91]
Kurosawa S & Aizawa H	immunosensors	[92, 93]
Yao SZ	liquid effect, immunosensors, cell agglutination	[94~96]
Peterson SB	lipase mediated lipid degradation mechanism	[97, 98]
Nakamoto T	odor sensors	[99~101]
Huck WTS	polymer brushes	[102, 103]
Su XD	plasmonic biosensors, biomolecular interactions	[104, 105]
Jiang YD	sensor (chemical vapor)	[106, 107]
Okahata Y	biomolecules interaction	[108~110]

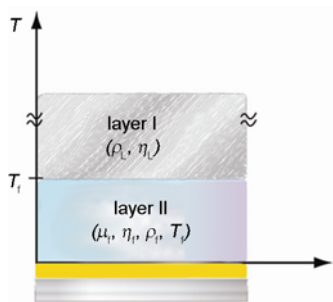


示意图 2 QCM 在液相环境中工作的物理模型

II 为功能化膜层, 主要的特征参数包括薄膜的剪切黏系数度(η_f), 剪切弹性模量(μ_f), 密度(ρ_f)和厚度(T_f). 根据连续体力学模型, 即 Kelvin-Voight 模型^[18, 33, 84], 研究人员推导出了频率变化和能量耗散因子的通用公式(公式(2)~(11)), 但是这些通用公式过于复杂, 参数过多, 不易被化学、生物工作者所接受和使用. 因此, 我们根据研究的对象不同, 将 QCM 的使用范围划分为几种情况, 并在特定的条件下, 合理地简化 QCM 的定量分析公式.

$$\Delta f = \text{Im}\left(\frac{\beta}{2\pi\rho_q h_q}\right) \quad (2)$$

$$\Delta D = -\text{Re}\left(\frac{\beta}{\pi f \rho_q h_q}\right) \quad (3)$$

$$\beta = \kappa_f \xi_f \frac{1 - A \exp(2\xi_f h_f)}{1 + A \exp(2\xi_f h_f)} \quad (4)$$

$$A = \frac{\kappa_f \xi_f + \kappa_l \xi_l \tanh(\xi_l h_l)}{\kappa_f \xi_f - \kappa_l \xi_l \tanh(\xi_l h_l)} \quad (5)$$

$$\xi = \sqrt{-\frac{\rho\omega^2}{\mu + i\eta\omega}} = \alpha + ik \quad (6)$$

$$\kappa = \frac{\mu + i\eta\omega}{i\omega} \quad (7)$$

$$\alpha = \frac{1}{\delta} \sqrt{\frac{\sqrt{1+\chi^2} - \chi}{1+\chi^2}} \quad (8)$$

$$k = \frac{1}{\delta} \sqrt{\frac{\sqrt{1+\chi^2} + \chi}{1+\chi^2}} \quad (9)$$

$$\chi = \frac{\mu}{\eta\omega} \quad (10)$$

$$\delta = \sqrt{\frac{2\eta}{\rho\omega}} \quad (11)$$



示意图 3 固-气界面吸附刚性物质

式中下角标 q, l, f 分别代表石英晶体, 溶液和功能膜, ω 为角频率; χ 为粘弹性比例, 即为复合剪切模量等式($G = G' + iG'' = \mu + i\eta\omega$)中实部(储能模量)和虚部(损耗模量)的比值, δ 为穿透深度.

2.2 应用类型和基础方程

2.2.1 固-气界面

满足这种类型的边界条件是: (1) 不存在溶液环境层 (layer I); (2) 功能膜介质是一种刚性材料, 在振动过程中不发生相对滑动或者变形(示意图 3); (3) 负载量小于石英晶片本身质量的 2%. 我们将边界条件 $\rho_l = 0$, $\eta_l = 0$, $\eta_f = 0$ 代入式(2), 简化得到式(12), 这就是著名的 Sauerbrey 公式.

$$\Delta f = -\frac{h_f \rho_f \omega}{2\pi \rho_q h_q} = -\frac{f_0}{\rho_q h_q} \Delta m \quad (12)$$

$$\Delta D \approx 0 \quad (13)$$

$$f_n = \frac{n v_q}{2 h_q} \quad (14)$$

$$f_n = n f_0 \quad (15)$$

$$\omega = 2\pi f_0 \quad (16)$$

将式(14), (15)代入 (12)化简得到:

$$\Delta m = -\frac{\nu_q \rho}{2 f_0^2} \frac{\Delta f_n}{n} = -C \frac{\Delta f_n}{n} \quad (17a)$$

$$h_f = -\frac{C}{\rho_f} \Delta f \quad (17b)$$

$$C = -\frac{\nu_q \rho}{2 f_0^2} = -\frac{2 t_q^2 \rho}{\nu_q} \quad (18)$$

式(18)中常数 C 的数值与晶体的厚度以及切割的性质有关.

下面讨论 QCM 理论灵敏度的问题: 对于 $f_0 = 5$ MHz 的 QCM 芯片(具体参数见表 3, 典型的芯片形状见示意图 4)而言, 产生 1 Hz 的响应需要的质量为 20 ng, 即它的理论质量灵敏度 > 20 ng. 而对于 $f_0 =$

27 MHz 的芯片, 产生 1 Hz 的响应需要的质量为 0.7 ng. 显而易见, 27 MHz 比 5 MHz 具有更高的灵敏度, 提高了 29 倍. 从表 4 可知, 其前提条件是芯片厚度变得更薄. 虽然“降低芯片的厚度, 提高芯片的基频”是提高 QCM 灵敏度的方法之一, 但这对芯片的制备工艺要求极高, 目前仅有日本 Okahata 小组在使用. 主流还是基频为 5 MHz 的 QCM 芯片.

基于上述简单的线性关系($\Delta f \sim \Delta m$, $\Delta f \sim \Delta h_f$), QCM 已经被发展成为有效的质量传感器和厚度监测器. 主要的应用体现在以下几个方面.

2.2.1.1 电子鼻: 气体分子检测

随着现代工业的快速发展以及人们对大气环境的关注, 迫切要求发展相关大气污染物的实时监测工具. 研究人员将 QCM 技术与表面修饰策略有效地结合, 发展了多种气体传感器“电子鼻”. 1964 年, King 小组较早地开发出基于 QCM 的气体传感器^[111]. 自此以后, QCM 在湿度传感^[112, 113]、空气污染物监测^[114]及芳香族气体检测^[115]等方面都有应用. QCM 传感器的性能主要取决于传感器器件和检测电路这两个因素. 研究人员在 QCM 芯片表面修饰聚合物^[116]、短肽^[117]、离子液体^[118-120]和纳米材料^[113, 121-123], 从而提高 QCM 气体传感器的灵敏度和选择性. 例如:

表 3 QCM 芯片的主要参数

ρ_q	2.648 g cm ⁻³	Size	14 mm
μ_q	2.947×10 ⁶ N cm ⁻²	$S_{\text{upper,electrode}}$	1.131 cm ²
h_q	0.33 mm	$S_{\text{lower,electrode}}$	0.196 cm ²
Z_q	8.8×10 ⁶ kg m ⁻² s ⁻¹	mass_q	1.56 × 10 ⁻² g
ν_q	3340 m s ⁻¹	f_0	5 MHz

表 4 对于 AT-cut 芯片, 不同基频对应的常数 C 值

基频 f_0 (MHz)	5	10	27
C 值 (ng cm ⁻² Hz ⁻¹)	17.7	4.5	0.6
芯片厚度 (mm)	0.334	0.167	0.062

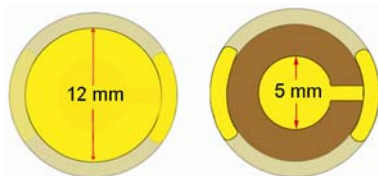


示意图 4 典型的 QCM 芯片形状和尺寸

Kunitake 小组构建了基于纳米薄膜的 QCM 气体传感器^[124, 125]及相对湿度检测装置^[126]. Gong 等人在 QCM 芯片表面固定 ITO 薄膜, 实现了 NO 的检测^[127, 128]. Shiratori 等人通过电沉积纳米纤维膜构建了 NH₃ 传感器^[128]. 另外, 研究人员开发了多通道及阵列 QCM 传感器, 用于有机混合气体的多元检测^[112, 119, 129-131], 待测的化合物能很好地被区分开. 遗憾的是这方面的工作只限于学术研究, 还没有形成一定的市场规模. 气体检测的主要手段还是依赖于电化学方法、紫外、红外吸收等成熟的手段.

2.2.1.2 气体相关性质的研究

早在 20 世纪 80 年代, Krim 等人利用 QCM 研究金属与吸附的气体薄膜的界面摩擦^[132]. 随后发表了一系列关于超导材料的界面摩擦的相关工作^[133-137], 发现在超导临界温度附近界面摩擦骤减. 该工作开拓了 QCM 在超导材料摩擦力学性能方面的研究领域. 此外利用气体的性质研究相关基质材料的结构和性能也有报道. 例如: Zybaylo 等人将金属-有机复合物沉积于 QCM 芯片表面, 分析噻啉在该复合物中的扩散系数^[138]. Aoki 等人则利用 QCM 研究孔径复合材料的比表面积和内部孔径结构^[124]. 他们通过监测 N₂、Ar 等气体在金属/高分子的复合材料中的吸附等温曲线, 从而能够精确计算出该复合材料的总比表面积和孔体积分数. 李海洋小组则利用自制的 QCM 装置, 将离子液体作为涂层, 测定了挥发性有机物与离子液体的相互作用, 建立了一种大气压下快速测定挥发性有机物在离子液体中的亨利常数的方法^[139].

2.2.1.3 沉积物的检测

QCM 作为一枝独秀的膜厚监测技术手段, 在真空镀膜等领域得到了广泛的应用. 日本造纸工业公司尝试应用 QCM-D 技术研究建立测定微细胶黏物沉积的方法及观察到的在工厂生产过程中微细胶黏物的沉积现象^[140, 141]. 这个方法可以作为评估沉积问题的测定方法.

最近, 我们在 QCM 上进行了原位表面引发原子转移自由基聚合反应(surface initiated-atom transfer radical polymerization, SI-ATRP), 发现了频率的变化值(Δf)和相应干态下的膜厚(h_f , 由椭圆偏振光谱仪测定)之间存在一个简单的线性关系($\Delta f = k_{2, \text{dry}} h_f$)^[83, 84]. 研究发现单体种类、高分子链密度和聚合速率对线性

系数 $k_{2,\text{dry}}$ 有着不同程度的影响(表 5). 基于频率-膜厚 (Δf - Δh_f) 的线性关系和 QCM 的实时在线监测能力, 我们能够将石英晶体的频率变化直接转化为干状态下膜的厚度, 实现纳米水平上对膜厚的精确控制. 同时该简单线性公式从实验上证明了上述公式((12)~(16)) 在监测高分子涂层方面的适用性.

对于广大的生物、化学工作者而言, 溶液环境中的研究和应用是最为重要的领域. 然而与气体不同, 液体环境中剪切波的衰减更快, 即其传播的距离更短. 为了方便地说明, 研究人员引入了穿透深度 (penetration depth, δ) 的概念, 它是指剪切波从固体表面向溶液中传递, 振幅衰减到初始值的 $1/e$ ($e \approx 2.7$) 时的距离, 具体计算公式见式(11). 为了便于讨论, 我们根据功能化膜厚度 (h_f) 与 δ 的关系, 将固-液表面的石英晶体微天平应用分为四类(见示意图 5). 下文我们将分别谈论这四种情况下的 QCM 的应用.

2.2.2 牛顿流体 ($h_f = 0$)

QCM 芯片直接接触溶液为牛顿流体介质(均质

表 5 线性系数 k 值依赖于单体的种类

Monomers	MMA ^{a)}	OEGMA ^{b)}			HEMA ^{c)}	NIPAM ^{d)}	FMA ^{e)}
		300	475	526			
$k_{2,\text{dry}}$	8.8	7.2	7.6	7.2	7.6	6.2	13
$\rho_{f,\text{dry}}$ (g cm ⁻³)	1.6	1.3	1.4	1.3	1.4	1.1	1.6

a) 甲基丙烯酸甲酯(methyl methacrylate); b) 甲基丙烯酸寡聚乙二醇酯 (oligo(ethylene glycol) methacrylate); c) 甲基丙烯酸-2-羟乙酯(2-hydroxyethyl methacrylate); d) *N*-异丙基丙烯酰胺(*N*-isopropyl acrylamide); e) 1*H*,1*H*,2*H*,2*H*-全氟癸基丙烯酸酯(1*H*,1*H*,2*H*,2*H*-perfluorodecyl methacrylate).

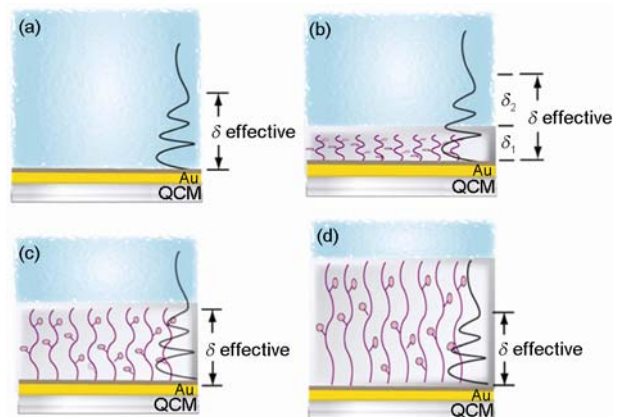


示意图 5 四种情况下剪切波的穿透深度. (a) $h_f = 0$; (b) $\delta \gg h_f$; (c) $\delta \approx h_f$; (d) $\delta \ll h_f$

液体, 黏滞度不随切率的变化而改变)时 (如示意图 6 所示), 满足以下条件: ($h_f, \rho_f, \eta_f, \mu_f$) = 0, 简化等式 (2)、(3)得:

$$\Delta f \approx -\frac{1}{2\pi\rho_q h_q} \sqrt{\frac{\rho_f \eta_f \omega}{2}} \quad (19)$$

$$\Delta D \approx \frac{2}{\rho_q h_q} \sqrt{\frac{\rho_f \eta_f}{2\omega}} \quad (20)$$

公式(19)、(20)表明 QCM 频率的变化与溶液的密度和黏度有关, 这为将 QCM 发展成为密度计、黏度计奠定了理论基础. 基于公式(19)、(20), Kanazawa 等人测量出部分牛顿流体的密度和黏度^[13], Saluja 小组同样利用该公式测量流体在微升体积下的黏弹性 (图 1)^[142]. 根据上述公式可知 $\frac{\Delta f}{\Delta D}$ 比值为常数, 即牛顿流体引起的频率变化与损耗因子的比值为常数. 在实际应用中, 可以根据 $\frac{\Delta f}{\Delta D}$ 的比值与该常数之间的关系, 判断是否为牛顿流体. McHale 等人正是利用该

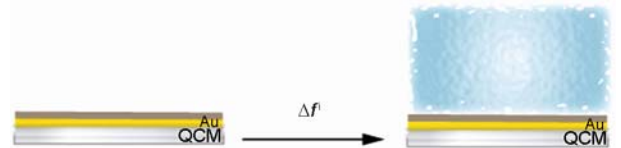


示意图 6 QCM 芯片周围环境为牛顿流体的情况

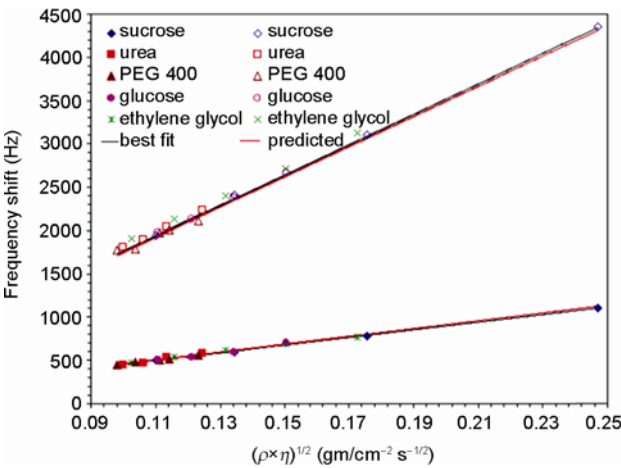


图 1 QCM 的频率变化与密度和黏度乘积之间的关系 (25 °C), 其中实心的符号为 Q2 芯片(5 MHz, 0.201 inch/0.391 inch 的电极)测量的结果; 空心的符号为 Q3 芯片(10 MHz, 0.201 inch/0.391 inch 的电极)测量的结果. 直线为对实验数据和理论数据进行的线性拟合^[142]

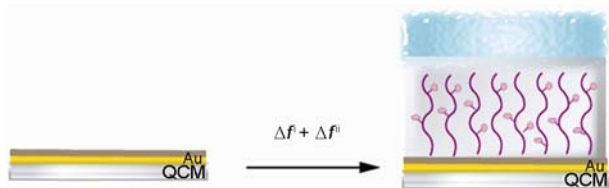


示意图 7 黏弹性高分子修饰的 QCM 芯片在液体环境中的情况

原理评估离子液体在常温下是否为牛顿流体,并发展了微体积测定牛顿流体的黏弹性的方法^[143]. 我们研究小组则利用已知密度和黏度的牛顿流体反过来评估芯片本身的质量^[84].

2.2.3 固-液界面—薄膜的研究($\delta \gg h_f$)

2.2.3.1 黏弹性高分子薄膜

在穿透深度(δ)远大于功能膜的厚度(h_f)前提下,满足: $h_f k_f \ll 1$ 和 $h_f \alpha_f \ll 1$, 简化公式(2)、(3)得:

$$\Delta f \approx -\frac{1}{2\pi\rho_q h_q} \left[h_f \rho_f \omega + \frac{\eta_f}{\delta_f} - 2h_f \left(\frac{\eta_f}{\delta_f} \right)^2 \frac{\eta_f \omega^2}{\mu_f^2 + \eta_f^2 \omega^2} \right] \quad (21)$$

$$\Delta D \approx \frac{1}{\pi f \rho_q h_q} \left[\frac{\eta_f}{\delta_f} + 2h_f \left(\frac{\eta_f}{\delta_f} \right)^2 \frac{\eta_f \omega^2}{\mu_f^2 + \eta_f^2 \omega^2} \right] \quad (22)$$

由式(21)可知,液相中 QCM 的频率变化主要包含三个部分(如示意图 7 所示): (1) 功能高分子层(包括高分子和埋藏的溶剂)的贡献 (Δf_f); (2) 表层牛顿流体的贡献 (Δf_i); (3) 黏弹性的贡献 (Δf_{fi}), 因此 QCM 频率变化的实验观测值可表示为^[84]:

$$\Delta f = \Delta f_f + \Delta f_i + \Delta f_{fi} \quad (23)$$

由此可见, QCM 在液相中应用存在很多的干扰因素,这些干扰因素可能掩盖了正确的实验结果,也可能蕴含新的信息. 如果能够合理地解析出干扰因素的影响,这将能够为描述和理解固-液界面上高分子薄膜结构提供有效的信息. 例如损耗因子等参数引入后, QCM-D 就由刚性膜的研究拓展到黏弹性薄膜的研究应用.

(1) 支撑磷脂双层膜

生物膜是生物体中一个最基本的结构,在现阶段,要实现人工完全复制生物膜的目标尚不现实. 因此,只能在分子水平上对生物膜的结构与功能进行

模拟. 支撑磷脂双层膜用于模拟细胞膜的研究模型已经普遍被接受. McConnell 等人首次报道利用脂质体吸附,融合于亲水性材料表面制备支撑磷脂双层膜,但他们缺乏成膜的动力学过程,只能通过荧光漂白技术证实磷脂双层膜是连续的^[144]. QCM 不仅能够实时监测脂质体的吸附、融合、降解的过程,还可以监测后续脂质体与蛋白质、DNA 等生物分子的相互作用的过程^[63]. 例如 Keller 等利用 QCM 研究脂质体在表面的吸附动力学,研究指出脂质体吸附到表面后能够形成三种结构:单层膜、双层膜、囊泡结构,这些结构的形成依赖于表面的性质(例如亲疏水性等)^[145]. Seantier 小组等则利用 QCM-D 研究实验参数,包括温度、离子浓度及成分、pH 等,对形成磷脂双层膜的动力学影响^[146, 147]. 尽管如此, QCM-D 实时监测的数据分析起来仍然困难重重,尤其在定量分析时. 这是因为 QCM-D 技术只提供了频率变化和能量损耗这两个参数,却包含着丰富的结构信息. 换句话说,研究对象的质量、形态、结构、黏弹性、含水量等因素都会影响测量的结果. 所以,目前 QCM-D 的大部分应用是利用其实时监测能力进行定性或者半定量分析.

(2) 生物传感器

在实际应用中,半定量的分析可以满足部分科研或者临床应用的要求. 再者, QCM 与其他免疫技术(例如荧光标记,同位素标记的方法)相比,具有无需标记、实时监测等优势. 因此,20 世纪 80 年代起陆续涌现出了在溶液状态下用 QCM 实时监测免疫反应的例子,但当时只能根据频率的变化辨别出特异性结合发生与否,却难以根据方程精确估算出待测物质的含量. 自 20 世纪 90 年代初起研究者开始用同位素标记法对 QCM 的信号进行标定,试图测定在溶液

中各种分子的 $\frac{\Delta f_n}{\Delta m_s}$ 常数. 例如,1993 年, Muratsugu 和同事利用 125 标记 HSA 和 anti-HAS 研究质量变化和频率变化的关联性,结果发现固定第一层抗体时,质量变化和频率变化具有较好的关联性. 但结合抗原时,发现频率变化与质量变化不相符,结果对于 QCM 在溶液中研究蛋白质相互作用时,数据需要谨慎处理^[35]. 类似的标定工作往往针对不同类型的分子得到不同的 $\frac{\Delta f_n}{\Delta m_s}$ 常数,甚至针对同一类型的分子

子, 更改溶液状态或者拟合方式, 都可能得出不同的常数^[148]. 这归因于 $\frac{\Delta f_n}{\Delta m_s}$ 常数受生物大分子的黏弹性、含水量和溶液的离子强度等许多因素影响. 可见黏弹性等因素对频率的影响仍然是制约 QCM 推广工作的关键因素. 在实际应用中主要依赖经验公式对 QCM 数据的处理. 我们利用 QCM 研究 SI-ATRP 过程, 实验设计如示意图 8 所示, 分别检测不同状态下(如: ① 裸片在空气中; ② 裸片在溶液中; ③ 高分子在空气中; ④ 高分子在溶液中) 的频率变化, 并通过椭圆偏振仪交叉验证, 结果发现频率变化 (Δf^{iii} ; Δf^{iv}) 与椭圆厚度之间在一定的厚度范围内满足简单的线性关系 ($\Delta f^{\text{i}} \approx k_2 T_{\text{dry}}$; $\Delta f^{\text{iv}} \approx k_4 T_{\text{dry}}$), 这一发现实现了在溶液状态中对高分子的厚度进行实时监测的半定量分析^[84]. 许多研究小组也报道了类似的线性经验公式^[148~150]: $\Delta f \sim X$, 其中 X 为研究系统的参量, 例如: L-B-L 膜的层.

概括地说, QCM 作为生物传感器在研究生物活性分子相互作用的领域逐渐引起广泛的关注, 但 QCM 作为生物传感器的推广和发展道路依然曲折. 目前, QCM 在生物传感器领域亟待解决以下的问题:

(1) QCM 数据的定量解释: QCM 频率变化量与吸附物质质量之间关系的信息丢失, 注定通过 QCM 所获取的生物分子的相互作用的结合常数无法获得 SPR 那样的可信度. 在已有的文献报道中, 只有很少默认 Sauerbrey 等式的有效性, 即建立频率变化与吸附质量的线性关系, 从而解析出蛋白相互作用的亲和常数^[151, 152], 但结果有待验证. 对于复杂的粘弹性体系, 我们小组和杜滨阳教授进行了广泛、深入的合作, 对 QCM-D 和阻抗分析方法这两种不同实验仪器

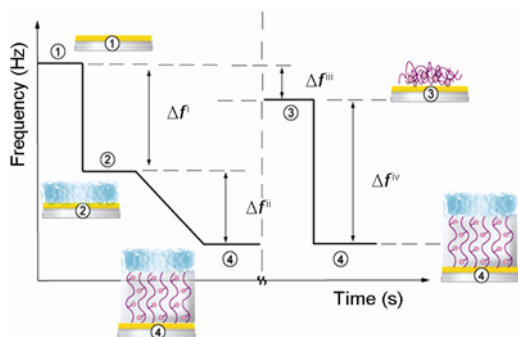


示意图 8 实验设计示意图

得到的实验数据进行了系统的比较分析, 发现基于阻抗分析的系列方程和模型完全可以应用于 QCM-D 实验数据的定量分析, 由此推导出了一组分析方程, 并从实验上证明了方程组的正确性. 利用阻抗分析方法与能量损耗因子相结合, 联合求解出黏弹性对频率变化的贡献^[42]. 该分析方程组使得 QCM 在生物传感器领域的应用前景更为开阔, 对于昂贵的生物样品, 只需一个数据点就能得到定量的结果. 同时, 我们提出了“固化水层”模型, 直接将石英晶体微天平监测的频率变化与相应的厚度变化进行关联, 方便地实现了 QCM 数据的定量解释. 这方面的内容在下文中将会做详细的介绍.

$$\frac{\Delta f_n^*}{f_0} = \frac{\Delta f_n + i \Delta \Gamma_n}{f_0} \approx \frac{-2nf_0 d_f \rho_f}{Z_q} \times \left(1 + \frac{2\pi n f_0 \rho_f \eta_1}{\rho_f} J_f'' - \frac{i 2\pi n f_0 \rho_f \eta_1}{\rho_f} J_f' \right) \quad (24)$$

$$-\Delta f_n = \frac{2f_0^2 d_f}{Z_q} (\rho_f n - 2\pi f_0 \rho_f \eta_1 J_f'' n^2) = A \cdot n + B \cdot n^2 \quad (25)$$

式中

$$A = \frac{2f_0^2 \rho_f d_f}{Z_q} \quad (26)$$

$$B = \frac{-4\pi f_0^3 \rho_f \eta_1 d_f J_f''}{Z_q} \quad (27)$$

$$\Delta \Gamma_n = \frac{4\pi f_0^3 \rho_f \eta_1 d_f J_f' n^2}{Z_q} \quad (28)$$

(2) 灵敏度

现在, 我们以蛋白结合模型为例, 即考察固定 IgG 检测 anti-IgG (示意图 9), 来理论分析液相中的 QCM 其最低检测灵敏度的问题.

$$[L] + [P] \rightleftharpoons [L-P] \quad (29)$$

蛋白质 anti-IgG 分子量 (M_w) 为 146 KDa^[153], 在自组装单层上致密堆积的面密度为 1.47 ng mm^{-2} , 结合平衡常数 $K_A = 10^7 \text{ M}^{-1}$. 则产生 1 Hz 的信号需要最小

$$[P]_{\text{LOD}} = \frac{[L-P]}{K_A [L]} \quad (30)$$

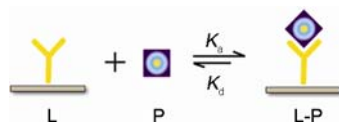


示意图 9 假设抗原-抗体之间结合符合 1:1 的模型

的蛋白浓度 $[P]_{\text{LOD}}$ 为:

$$[P]_{\text{LOD}} = 1.75 \mu\text{g mL}^{-1}$$

可见在上述的体系中, 检测极限是 $1.75 \mu\text{g mL}^{-1}$, 没有达到临床检测或检验检疫项目所需的 10 ng mL^{-1} 灵敏度. 许多研究小组尝试构筑 3D 基质的方法来提高探针密度, 从而提高灵敏度. 我们研究小组也致力这方面的研究, 将 SIP 技术与 QCM 相结合, 开发出具有“抗污”效果和较高蛋白固定能力的 QCM 传感器基质, 有效降低背景噪音, 从而达到提高信噪比的目的^[154]. 但遗憾的是, 我们的理论分析和实验证据都表明这也是行不通的. 为了解决 QCM 生物传感器的灵敏度瓶颈问题, 科学工作者发展了多种信号放大方法, 包括生物素-亲和素体系的信号放大、金纳米颗粒的信号放大、免疫化学发光以及酶催化沉淀放大等技术. 然而, 由于信号放大存在先天性的缺陷, 即将信号的放大的同时也将背景噪音放大, 造成灵敏度的提高有限. 我们小组设计了 Poly(OEGMA) 作为生物传感器基质, 具有降低、防止蛋白质的非特异性吸附能力, 从而达到降低背景噪音的目的, 从本质上解决信号放大的面临技术难题. 借助酶生物催化产生沉淀放大信号, 最佳条件下信号可以放大 30 倍, 延长酶催化反应时间, 信号放大的倍数更可观. 在一定意义上说, 该酶催化沉淀技术确实可以提高 QCM 的灵敏度. 但在实际应用中还存在一些问题. 首先, 需要建立标准曲线, 实验过程相对复杂; 其次, 由于芯片不能重复利用, 要求芯片之间差异较小, 而实验的误差伴随着信号的放大而放大. 所以将 QCM 发展成一种操作简易、灵敏度高、低成本的生物传感器的道路漫长.

2.2.3.2 刚性高分子薄膜

高分子在不良溶剂中时, 溶剂分子和高分子链单元之间的相互作用不如链单元自身的相互作用强, 有相互分离的倾向, 这种分离倾向进一步抵消链单

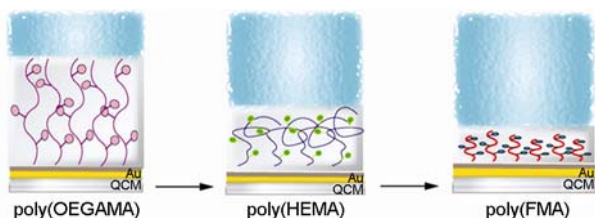


示意图 10 高分子修饰的芯片在不良溶剂中的情况

元之间体积排斥作用导致高分子变得刚性(如示意图 10 所示). 这时对应的频率变化方程为:

$$\Delta f \approx -\frac{\rho_f h_f}{\rho_q h_q} n f_0 \left(1 - \frac{\rho_l}{\rho_f} \frac{\eta_f \eta_l \omega^2}{\mu_f^2 + \eta_f^2 \omega^2}\right) \quad (31)$$

随着高分子层的刚性增强, 高分子层与溶液层的复合剪切模量差异变大, 即: $\mu_f^2 + \eta_f^2 \omega^2 \gg \eta_f \eta_l \omega^2$ 或者表示为: $\frac{\eta_f \eta_l \omega^2}{\mu_f^2 + \eta_f^2 \omega^2} \ll 1$, 则式(31)可简化为:

$$\Delta f \approx -\frac{\rho_f h_f}{\rho_q h_q} n f_0 \quad (32)$$

通过式(31)、(32)可以有效判断高分子膜的黏弹性对于 QCM 频率变化的影响. 当高分子膜为刚性时, 各阶的频率变化经过泛数 n 归一化后完全相等(即 $\frac{\Delta f_n}{n} = \text{常数}$), 可以利用 Sauerbrey 方程对 QCM 数据的定量分析. 在此基础上, QCM 逐渐发展为实时监测液态条件下动力学的主要研究工具.

(1) 生物降解

可生物降解材料是人们关注的一个热点课题, 文章和报道很多, 但是多为新品种开发、合成制造方法和应用. 对生物降解材料的降解性能的测试目前还没有制订统一的标准. 然而降解性能、降解动力学过程的研究有重要的科学和实际意义, 能为新材料的开发提供指导意见. QCM 逐渐涉及这方面的研究. Yamashita 等人研究无定形左旋聚乳酸 poly(L-lactide) 薄膜在蛋白酶 K (proteinase K) 存在下的降解动力学过程^[155]. 此外, 他们还研究了各种脂肪族高分子膜和聚烯烃高分子膜对降解酶 (polyhydroxybutyrate, PHB) 的选择依赖性, 指出降解酶吸附到膜表面的作用力除了氢键以外, 还存在共价键的作用^[156], 进一步揭晓降解的机理. 张广照小组则利用 QCM 实时监测了聚己内酯薄膜在酶 Lipase PS 作用下的降解过程, 结果发现聚己内酯薄膜的结晶度对其降解行为有重要的影响, 结晶度高的薄膜降解比较慢^[157].

(2) 表面引发聚合反应动力学

表面引发聚合反应是一种新兴的表面修饰技术, 它的出现给相关领域的科学和技术发展带来很大的促进. 然而, 在众多的 SIP 报道中, 只有少数的小组尝试了 SIP 动力学方面的研究, 主要原因是缺乏有效的监测手段. 随着 SIP 深入发展, 这一分析“瓶颈”的制约副作用愈加明显. 过去研究 SIP 的动力学过程

通常采取非原位表征手段进行离线监测. Huck 小组和我们都报道了运用 QCM 进行 SIP 实时监测^[103, 82, 83]. 我们小组最终实现了应用 QCM 研究 SIP 动力学的目标. 首先, 我们发现了三个状态下, 频率与干态厚度的线性关系^[84]. 随后, 我们实现了 SIP 的动力学过程的定量分析并确定了引发剂效率^[80]. 其他的研究者分别研究了引发剂覆盖率^[158]、催化剂种类^[159]、pH 和聚合物浓度^[160]对多层膜结构聚合反应动力学和吸附动力学的影响.

2.2.3.3 “固化水层”模型

根据连续流体力学模型, 主要研究的对象分为两部分, layer I 和 layer II 功能化膜层. 对于 layer II 层我们提出假设^[85]: (1) layer II 中生物分子(蛋白质、DNA、高分子)视为“桩”, 在高频振动下能够带动周围的溶液一起振动, 形成一层“固化水层”, 类似的观点也曾有文章报道^[161]; (2) 频率的变化取决于“固化水层”的厚度和密度. 在“固化水层”模型的基础上, 我们报道了一种基于 QCM 的分子尺技术^[85], 并选用不同尺寸的生物分子作为模型来检验该生物分子尺技术的可行性: 例如我们选择了具有茎环结构的 DNA 分子作为模型研究. 之所以选择具有茎环结构的 DNA 分子作为模型研究是因为该 DNA 的序列结构已经得到充分的研究, 并且该 DNA 分子上加入互补链后, 茎环打开的结构变化也有定量的表征. 我们在 QCM 芯片上自组装具有茎环结构的 DNA 以及巯基己醇(6-mercapo-1-hexanol, MCH)(巯基己醇可以提高茎环结构的有序度, 提高 DNA 的杂交效率), 然后加入 DNA 互补链(图 2). 利用 QCM 实时监测 DNA 的固定以及杂交过程. 互补链的杂交导致 DNA 的茎环结构打开, 整个 DNA 分子层(称为“固化水层”)的厚度增加. 虽然机理不同, 但是 DNA 的固定以及互补链杂交的过程均能引起固化层的有效厚度的改变, 该有效厚度与文献报道中利用中子散射等方法得到的茎环结构 DNA

以及双链 DNA 的厚度一致. 并且, 我们研究发现在 DNA 的固定以及互补链杂交的过程中, QCM 监测的频率变化与相应的厚度变化之间的直接关联, 也证实了我们的观点: QCM 的响应主要取决于“固化水层”的厚度, 因此, 通过频率的变化可以转化为有效厚度的变化, 进而得到 DNA 双链的水合长度. 我们认为该技术的建立将能极大地帮助化学和生物工作者在常规表征中更好地利用 QCM.

“固化水层”模型合理地处理了溶剂和黏弹性的影响, 简化 QCM 定量分析模型, 从而使得 QCM 成为研究界面高分子的理想工具. 我们将“固化水层”模型拓展到高分子基质中, 研究高分子基质在不同的环境下的溶胀行为. 我们利用 SIP 技术制备了一系列高分子基质, 变量包括系列密度、厚度、成分, 并通过 QCM 对这一系列高分子基质的溶胀行为进行了研究. 实验结果如 Figure 3 所示, 在低盐条件下, 随着盐离子的浓度(以下简称为 $[\text{Na}^+]$)的增加, 羧基化的高分子在溶液中溶胀程度显著增加. 根据“固化水层”模型, 可以将频率的变化转化为有效厚度(T_{eff}). 当 $[\text{Na}^+]=15 \text{ mM}$ 时溶胀达到最大值, 而继续增加 $[\text{Na}^+]$ 时链长开始有降低的趋势, 可能原因是盐浓度的增加, 电荷屏蔽作用增强, 从而减低静电排斥作用. 从中还可以看出, 随着 HEMA 的含量的增多, 高分子共聚物的溶胀程度增加. 凭借“固化水层”模型, 我们系统地研究影响高分子膜溶胀的因素, 这对我们理解聚电解质有现实的推动作用.

虽然, “固化水层”模型以及相应发展的生物分子尺在简单的模型中已经得到初步的验证, 但是该技术还不够成熟, 例如: 当“固化水层”层中的密度远大于溶剂的密度时, 如何简化定量分析实验数据还是个挑战. 再者, 对于厚度较大的柔性高分子而言如何利用“固化水层”模型进行合理的简化等也都不是问题. 为了方便读者应用“固化水层”模型解决 QCM 的定量分析问题, 我们在附录中简单介绍了“固化水

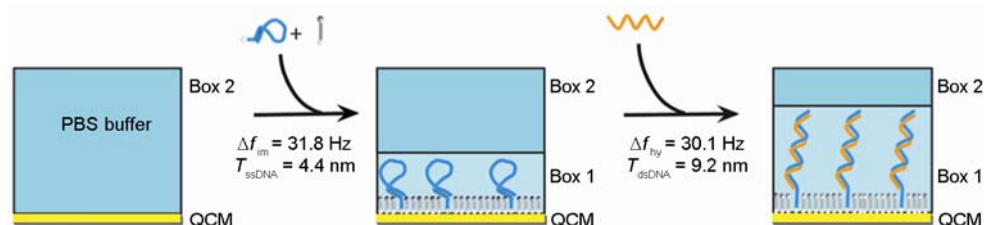


图 2 基于 QCM 的生物分子尺研究 DNA 的尺寸变化^[85]

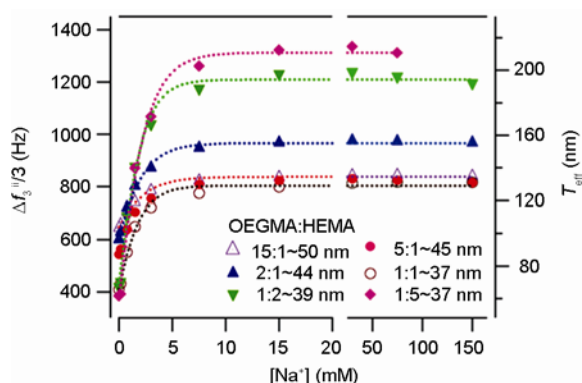


图 3 利用 QCM 研究一系列高分子基质的溶胀行为, 并根据“固化水层”模型, 计算高分子在溶液中的有效厚度

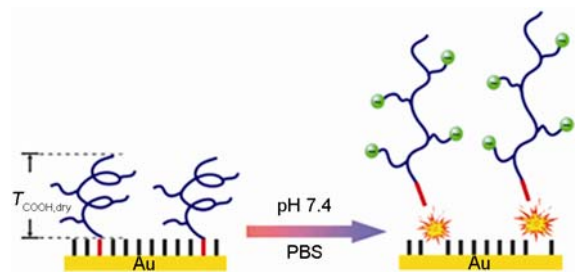


图 4 利用 QCM 技术原位实时监测 Au-S 的断键现象^[162]

层”模型的标准程序和注意事项。

2.2.3.4 共价键断裂的原位实时观测

我们小组通过 SIP 可控地制备各种不同的高分子膜: 包括纳米级别的厚度变化、不同的密度和不同的亲疏水性等, 为深入了解 QCM 理论提供各种探针。同时, 通过 QCM 对聚电解质刷的溶胀行为进行实时监测, 分析一系列不同厚度的聚电解质刷在不同盐离子浓度下的溶胀行为以及溶胀导致的断键行为, 我们发现可以通过聚电解质刷的湿态厚度(T_{eff})的大小来预测断键现象的发生。 T_{eff} 由聚电解质刷的干态厚度和盐离子浓度共同决定, 当 T_{eff} 超过一临界值时, 金属-S 键发生断裂进而导致聚电解质刷脱附(如图 4 所示)。这一发现有望对控制释放、聚电解质的溶液行为等研究产生积极的影响^[162]。

2.2.3.5 固-液界面的高分子链构象变化

响应性高分子、生物大分子、凝胶作为一类重要的软材料, 凭借其卓越的环境响应性能在生物医学等高新技术领域将获得广泛的应用, 但可以预期在

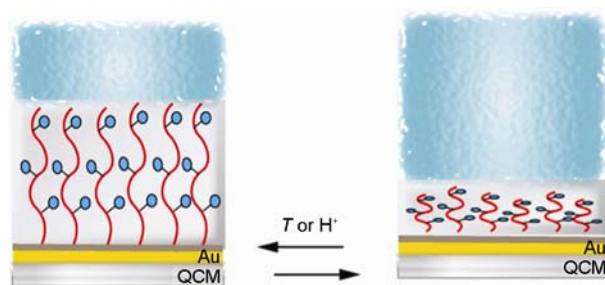


示意图 11 QCM 研究高分子链的构象变化

智能型生物材料的实际工业应用之前, 围绕生物材料性能的改善仍有大量工作要做。其中, 聚(*N*-异丙基丙烯酰胺)(poly(*N*-isopropylacrylamide), pNIPAM) 作为一种典型的温度敏感性高分子, 无论是在药物控制体系, 还是在柔性执行元件、人造肌肉、微机械、分离膜、生物材料等领域均有着诱人的应用前景。到目前为止, 已经有多种方法和手段用来研究其最低临界溶解温度(水溶液中自由的 pNIPAM 链在 32 °C 附近会有一个明显的相变化, 即 32 °C 以下聚合物链以伸展的无规线团形式存在, 高于 32 °C 聚合物链则会卷曲成塌缩的小球, 此温度被称为低临界溶液温度(Lower Critical Solution Temperature, LCST)). 但是如何通过实验来定量检测超薄 pNIPAM 高分子刷经温度诱导坍塌相变后含水量的变化仍然是个较大的挑战。QCM 的膜厚敏感性和实时监测能力为研究高分子膜的结构状态变化提供有用的信息(示意图 11)。我们通过 SIP 在 QCM 芯片表面制备了超薄的 pNIPAM 高分子刷, 通过测量不同温度状态下石英芯片的绝对共振频率变化, 实现了超薄 pNIPAM 高分子刷经温度诱导坍塌相变后脱水量的原位实时检测(实验过程如图 5 所示)^[81], 结果表明液体环境中的 QCM 在温敏高分子处于坍塌状态时具有处于真空或空气中的灵敏度。这一研究结果表明我们可以通过利用 QCM 的阻抗分析结果来推测其他生物学事件中含水量的变化, 而且该研究中的实验设计方案还可以用于其他智能材料和超吸收材料的表征和评估等相关研究工作。

关于这方面的研究, 张广照课题组则利用 QCM 研究 pH 诱导 DNA 在界面折叠的过程^[73]。DNA 在 pH 值较低(pH 4.5)的时候呈现 *i*-motif 结构, 在 pH 4.5 的时候则完全伸展。作者联合 QCM 和 SPR 两种技术研究链密度对 DNA 折叠的影响。发现在较低密度下

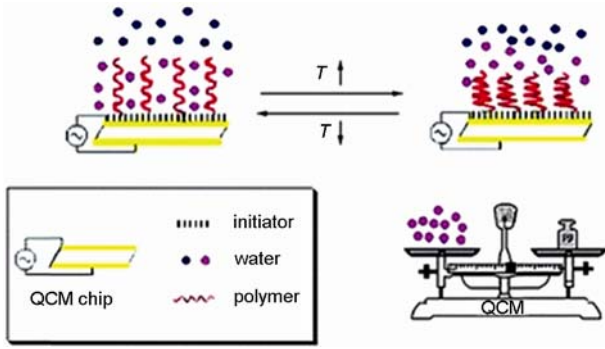


图 5 超薄聚(*N*-异丙基丙烯酰胺) 高分子刷经温度诱导坍塌相变后脱水量的 QCM 原位实时检测^[81]

pH 4.5 时形成 *i*-motif 结构, 而在高密度下, 由于空间位阻的影响, DNA 只是部分折叠. 该研究小组还开展了利用 QCM-D 对表面接枝的聚丙烯酰胺高分子刷在温度诱导下坍塌-溶胀过程的研究.

2.2.4 厚度与穿透深度相当的薄膜 ($\delta \sim h_f$)

当功能膜的厚度接近于穿透深度时, 在溶液和功能膜的界面处的剪切波的振幅变得非常小, 从而导致在该界面处的灵敏度明显降低. 由于溶液的影响变得更加复杂, 无法像上述一样对公式进一步简化, 无法求解出高分子膜的剪切黏系数度(η_f), 剪切弹性模量(μ_f), 密度(ρ_f)和厚度(T_f)等参数, 只能通过数值计算, 求出高分子膜的质量($\Delta m_f = \rho_f h_f$)以及密度与剪切弹性模量的乘积($\rho_f \mu_f$) 对于式(1), (2)中

$$A = \frac{\sqrt{\rho_f \mu_f} + \sqrt{i\omega \rho_f \eta_f}}{\sqrt{\rho_f \mu_f} - \sqrt{i\omega \rho_f \eta_f}}.$$

QCM 在这个条件下灵敏度明显降低, 在应用领域主要是关于细胞相关行为作定性的探究. 细胞在它的整个生命过程中发出不同的化学和物理信号, 如产生特定的物质和蛋白质. 考虑到这些细胞一般体积较大, 选用具有较广的探测厚度的 QCM 方法, 研究细胞行为的是一个理想的选择^[163-166]. Matsuda 等装配了第一个可以在体外持续性监测血小板细胞吸附的过程的装置^[167]. 在 Matsuda 及其合作者的工作之后, QCM 广泛应用于研究特殊类型细胞的吸附、连接、生长和增殖等过程. 此外, QCM 技术应用于药物筛选也有不少的报道. Marx 等^[168]用 QCM 来研究诺考达唑, 一种已知的结合微管并可以改变活细胞

中细胞骨架的特性的结合药物, 对活的内皮细胞的影响. 实验结果说明了诺考达唑对活细胞中微管的解聚作用是和用量正相关的. Braunschuet 等用 QCM 技术来研究人类乳腺癌细胞对紫杉烷的反应^[169].

2.2.5 厚度远大于穿透深度的薄膜 ($\delta \ll h_f$)

如果功能膜 layer II 足够厚, 以至于剪切波不能穿透, 进入溶液中. 则溶液的影响可以忽略, 而且满足以下条件: $\alpha_f h_f \gg 1$, $k_f h_f \gg 1$, $\exp(2\xi_f h_f) \sim 1$

$$\beta = -\kappa_f \xi_f = -\sqrt{\rho_f (\mu_f + i\eta_f \omega)} \quad (33)$$

简化式(2)、(3)得

$$\Delta f \approx -\frac{1}{2\pi\rho_q h_q} \sqrt{\frac{\rho_f}{2}} \left\{ \eta_f \omega \sqrt{\frac{\mu_f^2 + \eta_f^2 \omega^2 + \mu_f}{\mu_f^2 + \eta_f^2 \omega^2}} - \mu_f \sqrt{\frac{\mu_f^2 + \eta_f^2 \omega^2 - \mu_f}{\mu_f^2 + \eta_f^2 \omega^2}} \right\} \quad (34)$$

$$\Delta D \approx \frac{1}{\pi f \rho_q h_q} \sqrt{\frac{\rho_f}{2}} \left\{ \eta_f \omega \sqrt{\frac{\mu_f^2 + \eta_f^2 \omega^2 - \mu_f}{\mu_f^2 + \eta_f^2 \omega^2}} + \mu_f \sqrt{\frac{\mu_f^2 + \eta_f^2 \omega^2 + \mu_f}{\mu_f^2 + \eta_f^2 \omega^2}} \right\} \quad (35)$$

$$\Delta f \approx -\frac{1}{2\sqrt{2}\pi\rho_q h_q} \left\{ (\rho_f \eta_f) \omega \sqrt{\frac{(\rho_f \mu_f)^2 + (\rho_f \eta_f)^2 \omega^2 + (\rho_f \mu_f)}{(\rho_f \mu_f)^2 + (\rho_f \eta_f)^2 \omega^2}} - (\rho_f \mu_f) \sqrt{\frac{(\rho_f \mu_f)^2 + (\rho_f \eta_f)^2 \omega^2 - (\rho_f \mu_f)}{(\rho_f \mu_f)^2 + (\rho_f \eta_f)^2 \omega^2}} \right\} \quad (36)$$

$$\Delta D \approx \frac{1}{\sqrt{2}\pi f \rho_q h_q} \left\{ (\rho_f \eta_f) \omega \sqrt{\frac{(\rho_f \mu_f)^2 + (\rho_f \eta_f)^2 \omega^2 - (\rho_f \mu_f)}{(\rho_f \mu_f)^2 + (\rho_f \eta_f)^2 \omega^2}} + (\rho_f \mu_f) \sqrt{\frac{(\rho_f \mu_f)^2 + (\rho_f \eta_f)^2 \omega^2 + (\rho_f \mu_f)}{(\rho_f \mu_f)^2 + (\rho_f \eta_f)^2 \omega^2}} \right\} \quad (37)$$

可见频率变化和损耗因子取决于功能膜的声学参数, 与溶液的性质无关. 如果能够借助其他现代工具确定高分子膜的密度, 则通过式(34)、(35)能够确定出高分子膜的剪切黏系数度(η_f)和剪切弹性模量(μ_f),

如果密度不能确定, 则可以将公式变形为(36)、(37), 从而获取 $\rho_f \eta_f$ 和 $\rho_f \mu_f$.

当高分子剪切弹性模量 $\mu_f \rightarrow 0$ 时, 上述公式可以简化为:

$$\Delta f \approx -\frac{1}{2\pi\rho_q h_q} \sqrt{\frac{\rho_f \eta_f \omega}{2}} \quad (38)$$

$$\Delta D \approx \frac{1}{\rho_q h_q} \sqrt{\frac{2\rho_f \eta_f}{\omega}} \quad (39)$$

这与等式(19)、(20)相似, 说明当高分子足够厚时, 可以将高分子层可以当作牛顿流体处理, 从而可以获得高分子的密度和黏度. 但在实际应用, QCM 在该领域的研究很少有报道.

3 结论和展望

科研工作者经过多年的不懈努力, 发展了一套相对完整的分析方程, 实现了 QCM 数据的定量描述.

这使得 QCM 的研究工作又重新活跃并受到广泛重视, 特别是在高分子科学中的应用, 包括对高分子生长的实时监测, 高分子性质、构型的研究以及高分子作为基质在生物医学上的应用. 目前 QCM 的应用已涉及生物、化学、医学、物理等众多领域, 其应用前景被广泛看好. 但是缺点在于方程过于复杂, 参数很多, 不适合于推广使用. 目前 QCM 的相关研究仍然停留在科研实验室阶段, 而在商业上的应用没有被普遍推广. 希望通过本文的综述, 读者能掌握 QCM 的研究现状, 了解存在的问题和发展趋势. 相信伴随着理论研究的深入, QCM 存在的问题可得到逐渐解决, 并迅速被推广. QCM 在各方面研究中潜在应用将得到逐步的发掘: (1) 催化剂的快速筛选以及功能特殊材料的高通量筛选; (2) 仪器、芯片基质结构的优化, 以提高 QCM 的灵敏度, 并最终在微量物质的快速检测中得到应用; (3) QCM 与其他学科的交叉发展, 实现技术的创新, 比如 QCM 对化学反应的原位监测等.

致谢 感谢蔡桂鑫博士、邵瑜博士和李玮对本工作给予的帮助! 本工作得到中国科学院百人计划(08BM031001)、中国科学院院长基金、国家自然科学基金(21074148)、国家高技术研究发展计划(2009AA04Z125)和国家重点基础研究发展规划项目(2009CB320300)的资助, 特此致谢!

参考文献

- Curie P, Curie J. Development by pressure of polar electricity in hemihedral crystals with inclined faces. *Bulletin Soc Min de France*, 1880, 3: 90–93
- Lippmann G. On the principle of energy conservation. *Ann Chem and Phys*, 1881, 24: 145–178
- Sauerbrey G. Verwendung von schwingquarzen zur wagung dünner schichten und zur mikrowagung. *Z Angew Phys*, 1959, 155: 206–222
- Zuo B, Li W, Zhang T, Zhang HX, Liu GH. Detection of sarin with a fluorinated polymer-coated quartz crystal microbalance sensor. *S Afr J Chem-S-Afr*, 2007, 60: 118–124
- Bruckenstein S, Shay M. Experimental aspects of use of the quartz crystal microbalance in solution. *Electrochim Acta*, 1985, 30: 1295–1300
- James D, Thiel DV, Bushell GR, Busfield WK, Mackaysim A. Phase-change and viscosity effects on a quartz-crystal microbalance. *Analyst*, 1994, 119: 2005–2007
- Alder JF, McCallum JJ. Piezoelectric-crystals for mass and chemical measurements—A review. *Analyst*, 1983, 108: 1169–1189
- Guilbault GG, Jordan JM. Analytical uses of piezoelectric-crystals—A review. *Crit Rev Anal Chem*, 1988, 19: 1–28
- Nomura T, Hattori O. Determination of micromolar concentrations of cyanide in solution with a piezoelectric detector. *Anal Chim Acta*, 1980, 115: 323–326
- Ward MD, Buttry DA. *In-situ* interfacial mass detection with piezoelectric transducers. *Science*, 1990, 249: 1000–1007
- White CC, Schrag JL. Theoretical predictions for the mechanical response of a model quartz crystal microbalance to two viscoelastic media: A thin sample layer and surrounding bath medium. *J Chem Phys*, 1999, 111: 11192–11206
- Shana ZA, Radtke DE, Kelkar UR, Josse F, Haworth DT. Theory and application of a quartz resonator as a sensor for viscous-liquids. *Anal Chim Acta*, 1990, 231: 317–320
- Reed CE, Kanazawa KK, Kaufman JH. Physical description of a viscoelastically loaded at-cut quartz resonator. *J Appl Phys*, 1990, 68:

- 1993–2001
- 14 Martin SJ, Spates JJ, Wessendorf KO, Schneider TW, Huber RJ. Resonator oscillator response to liquid loading. *Anal Chem*, 1997, 69: 2050–2054
- 15 Kanazawa K, K Gordon JG. Frequency of a quartz microbalance in contact with liquid. *Anal Chem*, 1985, 57: 1770–1771
- 16 Johannsmann D, Mathauer K, Wegner G, Knoll W. Viscoelastic properties of thin-films probed with a quartz-crystal resonator. *Phys Rev B*, 1992, 46: 7808–7815
- 17 Auge J, Hauptmann P, Hartmann J, Rosler S, Lucklum R. New design for qcm sensors in liquids. *Sensor Actuat B-Chem*, 1995, 24: 43–48
- 18 Voinova MV, Rodahl M, Jonson M, Kasemo B. Viscoelastic acoustic response of layered polymer films at fluid-solid interfaces: Continuum mechanics approach. *Phys Scr*, 1999, 59: 391–396
- 19 Voinova MV, Jonson M, Kasemo B. “Missing mass” effect in biosensor’s QCM applications. *Biosens Bioelectron*, 2002, 17: 835–841
- 20 Kipling AL, Thompson M. Network analysis method applied to liquid-phase acoustic-wave sensors. *Anal Chem*, 1990, 62: 1514–1519
- 21 Bruckenstein S, Michalski M, Fensore A, Li ZF, Hillman AR. Dual quartz-crystal microbalance oscillator circuit - minimizing effects due to liquid viscosity, density, and temperature. *Anal Chem*, 1994, 66: 1847–1852
- 22 Dunham GC, Benson NH, Petelenz D, Janata J. Dual quartz-crystal microbalance. *Anal Chem*, 1995, 67: 267–272
- 23 Rodahl M, Hook F, Fredriksson C, Keller CA, Krozer A, Brzezinski P, Voinova M, Kasemo B. Simultaneous frequency and dissipation factor QCM measurements of biomolecular adsorption and cell adhesion. *Faraday Discuss*, 1997, 107: 229–246
- 24 Hook F, Rodahl M, Brzezinski P, Kasemo B. Energy dissipation kinetics for protein and antibody-antigen adsorption under shear oscillation on a quartz crystal microbalance. *Langmuir*, 1998, 14: 729–734
- 25 Hook F, Kasemo B, Nylander T, Fant C, Sott K, Elwing H. Variations in coupled water, viscoelastic properties, and film thickness of a Mefp-1 protein film during adsorption and cross-linking: A quartz crystal microbalance with dissipation monitoring, ellipsometry, and surface plasmon resonance study. *Anal Chem*, 2001, 73: 5796–5804
- 26 Hook F, Ray A, Norden B, Kasemo B. Characterization of PNA and DNA immobilization and subsequent hybridization with DNA using acoustic-shear-wave attenuation measurements. *Langmuir*, 2001, 17: 8305–8312
- 27 Larsson C, Rodahl M, Hook F. Characterization of DNA immobilization and subsequent hybridization on a 2D arrangement of streptavidin on a biotin-modified lipid bilayer supported on SiO₂. *Anal Chem*, 2003, 75: 5080–5087
- 28 Urbakh M, Daikhin L. Influence of the surface-morphology on the quartz-crystal microbalance response in a fluid. *Langmuir*, 1994, 10: 2836–2841
- 29 Daikhin L, Gileadi E, Katz G, Tsionsky V, Urbakh M, Zagidulin D. Influence of roughness on the admittance of the quartz crystal microbalance immersed in liquids. *Anal Chem*, 2002, 74: 554–561
- 30 Theisen LA, Martin SJ, Hillman AR. A model for the quartz crystal microbalance frequency response to wetting characteristics of corrugated surfaces. *Anal Chem*, 2004, 76: 796–804
- 31 Rechendorff K, Hovgaard MB, Foss M, Besenbacher F. Influence of surface roughness on quartz crystal microbalance measurements in liquids. *J Appl Phys*, 2007, 101: 114502–114507
- 32 Tsionsky V, Gileadi E. Use of the quartz-crystal microbalance for the study of adsorption from the gas-phase. *Langmuir*, 1994, 10: 2830–2835
- 33 Rodahl M, Hook F, Kasemo B. QCM operation in liquids: An explanation of measured variations in frequency and *Q* factor with liquid conductivity. *Anal Chem*, 1996, 68: 2219–2227
- 34 Yoshimoto M, Tokimura S, Kurosawa S. Characteristics of the series resonant-frequency shift of a quartz crystal microbalance in electrolyte solutions. *Analyst*, 2006, 131: 1175–1182
- 35 Muratsugu M, Ohta F, Miya Y, Hosokawa T, Kurosawa S, Kamo N, Ikeda H. Quartz-crystal microbalance for the detection of microgram quantities of human serum-albumin-relationship between the frequency change and the mass of protein adsorbed. *Anal Chem*, 1993, 65: 2933–2937
- 36 Su HB, Kallury KMR, Thompson M, Roach A. Interfacial nucleic-acid hybridization studied by random primer p-32 labeling and liquid-phase acoustic network analysis. *Anal Chem*, 1994, 66: 769–777
- 37 Caruso F, Serizawa T, Furlong DN, Okahata Y. Quartz-crystal microbalance and surface-plasmon resonance study of surfactant adsorption onto gold and chromium-oxide surfaces. *Langmuir*, 1995, 11: 1546–1552
- 38 Bailey LE, Kambhampati D, Kanazawa KK, Knoll W, Frank CW. Using surface plasmon resonance and the quartz crystal microbalance to monitor *in situ* the interfacial behavior of thin organic films. *Langmuir*, 2002, 18: 479–489
- 39 Reimhult E, Larsson C, Kasemo B, Hook F. Simultaneous surface plasmon resonance and quartz crystal microbalance with dissipation

- monitoring measurements of biomolecular adsorption events involving structural transformations and variations in coupled water. *Anal Chem*, 2004, 76: 7211–7220
- 40 Zhou C, Friedt JM, Angelova A, Choi KH, Laureyn W, Frederix F, Francis LA, Campitelli A, Engelborghs Y, Borghs G. Human immunoglobulin adsorption investigated by means of quartz crystal microbalance dissipation, atomic force microscopy, surface acoustic wave, and surface plasmon resonance techniques. *Langmuir*, 2004, 20: 5870–5878
 - 41 Manaka Y, Kudo Y, Yoshimine H, Kawasaki T, Kajikawa K, Okahata Y. Simultaneous anomalous reflection and quartz-crystal microbalance measurements of protein bindings on a gold surface. *Chem Commun*, 2007: 3574–3576
 - 42 Zhang YZ, Du BY, Chen XN, Ma HW. Convergence of dissipation and impedance analysis of quartz crystal microbalance studies. *Anal Chem*, 2009, 81: 642–648
 - 43 Cooper MA, Singleton VT. A survey of the 2001 to 2005 quartz crystal microbalance biosensor literature: applications of acoustic physics to the analysis of biomolecular interactions. *J Mol Recognit*, 2007, 20: 154–184
 - 44 Bunde RL, Jarvi EJ, Rosentreter JJ. Piezoelectric quartz crystal biosensors. *Talanta*, 1998, 46: 1223–1236
 - 45 Buttry DA, Ward MD. Measurement of interfacial processes at electrode surfaces with the electrochemical quartz crystal microbalance. *Chem Rev*, 1992, 92: 1355–1379
 - 46 Marx KA. Quartz crystal microbalance: A useful tool for studying thin polymer films and complex biomolecular systems at the solution-surface interface. *Biomacromolecules*, 2003, 4: 1099–1120
 - 47 Du BY, Fan XA, Cao Z, Guo XL. Applications and outlooks of quartz crystal microbalance in studies of polymer thin films. *Chin J Anal Chem*, 2010, 38: 752–759
 - 48 Edvardsson M, Svedhem S, Wang G, Richter R, Rodahl M, Kasemo B. QCM-D and reflectometry instrument: Applications to supported lipid structures and their biomolecular interactions. *Anal Chem*, 2009, 81: 349–361
 - 49 Briand E, Humblot V, Pradier CM, Kasemo B, Svedhem S. An OEGylated thiol monolayer for the tethering of liposomes and the study of liposome interactions. *Talanta*, 2010, 81: 1153–1161
 - 50 Hovgaard MB, Dong MD, Otzen DE, Besenbacher F. Quartz crystal microbalance studies of multilayer glucagon fibrillation at the solid-liquid interface. *Biophys J*, 2007, 93: 2162–2169
 - 51 Johannsmann D, Reviakine I, Richter RP. Dissipation in films of adsorbed nanospheres studied by quartz crystal microbalance (QCM). *Anal Chem*, 2009, 81: 8167–8176
 - 52 Pomorska A, Shchukin D, Hammond R, Cooper MA, Grundmeier G, Johannsmann D. Positive frequency shifts observed upon adsorbing micron-sized solid objects to a quartz crystal microbalance from the liquid phase. *Anal Chem*, 2010, 82: 2237–2242
 - 53 Johannsmann D, Reviakine I, Rojas E, Gallego M. Effect of sample heterogeneity on the interpretation of qcm(-d) data: Comparison of combined quartz crystal microbalance/atomic force microscopy measurements with finite element method modeling. *Anal Chem*, 2008, 80: 8891–8899
 - 54 Lord MS, Modin C, Foss M, Duch M, Simmons A, Pedersen FS, Milthorpe BK, Besenbacher F. Monitoring cell adhesion on tantalum and oxidised polystyrene using a quartz crystal microbalance with dissipation. *Biomaterials*, 2006, 27: 4529–4537
 - 55 Jensen T, Dolatshahi-Pirouz A, Foss M, Baas J, Lovmand J, Duch M, Pedersen FS, Kassem M, Bunker C, Soballe K, Besenbacher F. Interaction of human mesenchymal stem cells with osteopontin coated hydroxyapatite surfaces. *Coll Surf B-Biointerf*, 2010, 75: 186–193
 - 56 Lord MS, Modin C, Foss M, Duch M, Simmons A, Pedersen FS, Besenbacher F, Milthorpe BK. Extracellular matrix remodelling during cell adhesion monitored by the quartz crystal microbalance. *Biomaterials*, 2008, 29: 2581–2587
 - 57 Cortez C, Quinn JF, Hao XJ, Gudipati CS, Stenzel MH, Davis TP, Caruso F. Multilayer buildup and biofouling characteristics of PSS-b-PEG containing films. *Langmuir*, 2010, 26: 9720–9727
 - 58 Katagiri K, Matsuda A, Caruso F. Effect of UV-irradiation on polyelectrolyte multilayered films and hollow capsules prepared by layer-by-layer assembly. *Macromolecules*, 2006, 39: 8067–8074
 - 59 Poptoshev E, Schoeler B, Caruso F. Influence of solvent quality on the growth of polyelectrolyte multilayers. *Langmuir*, 2004, 20: 829–834
 - 60 Lieberzeit PA, Rehman A, Iqbal N, Najafi B, Dickert FL. QCM sensor array for monitoring terpene emissions from odoriferous plants. *Monatsh Chem*, 2009, 140: 947–952
 - 61 Dickert FL, Hayden O, Bindeus R, Mann KJ, Blaas D, Waigmann E. Bioimprinted QCM sensors for virus detection - screening of plant sap. *Anal Bioanal Chem*, 2004, 378: 1929–1934
 - 62 Ainalem ML, Kristen N, Edler KJ, Hook F, Sparr E, Nylander T. DNA binding to zwitterionic model membranes. *Langmuir*, 2010, 26: 4965–4976
 - 63 Cho NJ, Frank CW, Kasemo B, Hook F. Quartz crystal microbalance with dissipation monitoring of supported lipid bilayers on various

- substrates. *Nat Protoc*, 2010, 5: 1096–1106
- 64 Hook F, Brzezinski P. Light-induced voltage changes associated with electron and proton-transfer in photosystem-II core complexes reconstituted in phospholipid monolayers. *Biophys J*, 1994, 66: 2066–2072
- 65 Rodahl M, Hook F, Krozer A, Brzezinski P, Kasemo B. Quartz-crystal microbalance setup for frequency and q -factor measurements in gaseous and liquid environments. *Rev Sci Instrum*, 1995, 66: 3924–3930
- 66 Edvardsson M, Rodahl M, Kasemo B, Hook F. A dual-frequency QCM-D setup operating at elevated oscillation amplitudes. *Anal Chem*, 2005, 77: 4918–4926
- 67 Zhao F, Cheng XX, Liu GM, Zhang GZ. Interaction of hydrophobically end-capped poly(ethylene glycol) with phospholipid vesicles: The hydrocarbon end-chain length dependence. *J Phys Chem B*, 2010, 114: 1271–1276
- 68 Liu GM, Fu L, Zhang GZ. Role of hydrophobic interactions in the adsorption of poly(ethylene glycol) chains on phospholipid membranes investigated with a quartz crystal microbalance. *J Phys Chem B*, 2009, 113: 3365–3369
- 69 Yan YF, Zhou XC, Ji J, Yan LF, Zhang GZ. Adsorption of polymeric micelles and vesicles on a surface investigated by quartz crystal microbalance. *J Phys Chem B*, 2006, 110: 21055–21059
- 70 Zhang GZ. Study on conformation change of thermally sensitive linear grafted poly(*N*-isopropylacrylamide) chains by quartz crystal microbalance. *Macromolecules*, 2004, 37: 6553–6557
- 71 Liu GM, Zhang GZ. Collapse and swelling of thermally sensitive poly(*N*-isopropylacrylamide) brushes monitored with a quartz crystal microbalance. *J Phys Chem B*, 2005, 109: 743–747
- 72 Zhang GZ, Wu C. Quartz crystal microbalance studies on conformational change of polymer chains at interface. *Macromol Rapid Commun*, 2009, 30: 328–335
- 73 Xia HW, Hou Y, Ngai T, Zhang GZ. pH induced DNA folding at interface. *J Phys Chem B*, 2010, 114: 775–779
- 74 Jin XF, Jin XY, Liu XP, Chen LG, Jiang JH, Shen GL, Yu RQ. Biocatalyzed deposition amplification for detection of aflatoxin B-1 based on quartz crystal microbalance. *Anal Chim Acta*, 2009, 645: 92–97
- 75 Wang H, Zhang Y, Yan B, Liu L, Wang SP, Shen GL, Yu RQ. Rapid, simple, and sensitive immunoagglutination assay with SiO₂ particles and quartz crystal microbalance for quantifying *Schistosoma japonicum* antibodies. *Clin Chem*, 2006, 52: 2065–2071
- 76 Olofsson AC, Hermansson M, Elwing H. Use of a quartz crystal microbalance to investigate the antiadhesive potential of *N*-acetyl-L-cysteine. *Appl Environ Microbio*, 2005, 71: 2705–2712
- 77 Andersson M, Andersson J, Sellborn A, Berglin M, Nilsson B, Elwing H. Quartz crystal microbalance-with dissipation monitoring (QCM-D) for real time measurements of blood coagulation density and immune complement activation on artificial surfaces. *Biosens Bioelectron*, 2005, 21: 79–86
- 78 Fant C, Hedlund J, Hook F, Berglin M, Fridell E, Elwing H. Investigation of adsorption and cross-linking of a mussel adhesive protein using attenuated total internal reflection fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR). *J Adhes*, 2010, 86: 25–38
- 79 Berglin M, Pinori E, Sellborn A, Andersson M, Hulander M, Elwing H. Fibrinogen adsorption and conformational change on model polymers: novel aspects of mutual molecular rearrangement. *Langmuir*, 2009, 25: 5602–5608
- 80 Chen XA, Zhang YZ, He JA, Xiong CY, Meng YH, Jin G, Ma HW. Quartz crystal microbalance study of the kinetics of surface initiated polymerization. *Sci China Ser B-Chem*, 2009, 52: 2307–2322
- 81 Ma HW, Fu L, Li W, Zhang YZ, Li MW. Real-time measurement of the mass of water expelled by poly(*N*-isopropylacrylamide) brushes upon thermo-induced collapse. *Chem Commun*, 2009: 3428–3430
- 82 Ma H, Textor M, Clark RL, Chilkoti A. Monitoring kinetics of surface initiated atom transfer radical polymerization by quartz crystal microbalance with dissipation. *Biointerphases*, 2006, 1: 35–39
- 83 He J, Wu YZ, Wu J, Mao X, Fu L, Qian TC, Fang J, Xiong CY, Xie JL, Ma HW. Study and application of a linear frequency-thickness relation for surface-initiated atom transfer radical polymerization in a quartz crystal microbalance. *Macromolecules*, 2007, 40: 3090–3096
- 84 Fu L, Chen XN, He JN, Xiong CY, Ma HW. Study viscoelasticity of ultrathin poly(oligo(ethylene glycol) methacrylate) brushes by a quartz crystal microbalance with dissipation. *Langmuir*, 2008, 24: 6100–6106
- 85 Ma HW, He JA, Zhu ZQ, Lv BE, Li D, Fan CH, Fang J. A quartz crystal microbalance-based molecular ruler for biopolymers. *Chem Commun*, 2010, 46: 949–951
- 86 Dixon M, Gormally M, Johal M. Real-time characterization of polymer film degradation with quartz crystal microbalance with dissipation monitoring. *Nanotech Conference & Expo*, 2009, 1, *Technical Proceedings*, 2009. 364–367
- 87 Yang AY, Rawle RJ, Selassie CRD, Johal MS. A quartz crystal microbalance study of polycation-supported single and double stranded DNA surfaces. *Biomacromolecules*, 2008, 9: 3416–3421

- 88 Rawle RJ, Johal MS, Selassie CRD. A real-time QCM-D approach to monitoring mammalian DNA damage using DNA adsorbed to a polyelectrolyte surface. *Biomacromolecules*, 2008, 9: 9–12
- 89 Ayad MM, El-Hefnawey G, Torad NL. A sensor of alcohol vapours based on thin polyaniline base film and quartz crystal microbalance. *J Hazard Mater*, 2009, 168: 85–88
- 90 Ayad MM, Torad NL. Quartz crystal microbalance sensor for detection of aliphatic amines vapours. *Sensor Actuat B-Chem* 2010, 147: 481–487
- 91 Ayad MM, Salahuddin NA, Abou-Seif AK, Alghaysh MO. pH sensor based on polyaniline and aniline-anthranilic acid copolymer films using quartz crystal microbalance and electronic absorption spectroscopy. *Polym Adv Technol*, 2008, 19: 1142–1148
- 92 Kurosawa S, Park JW, Aizawa H, Wakida SI, Tao H, Ishihara K. Quartz crystal microbalance immunosensors for environmental monitoring. *Biosens Bioelectron*, 2006, 22: 473–481
- 93 Kurosawa S, Aizawa H, Tozuka M, Nakamura M, Park JW. Immunosenors using a quartz crystal microbalance. *Meas Sci Technol*, 2003, 14: 1882–1887
- 94 Tan L, Jia X, Jiang XF, Zhang YY, Tang H, Yao SZ, Xie QJ. Real-time monitoring of the cell agglutination process with a quartz crystal microbalance. *Anal Biochem*, 2008, 383: 130–136
- 95 Wong YY, Ng SP, Ng MH, Si SH, Yao SZ, Fung YS. Immunosensor for the differentiation and detection of Salmonella species based on a quartz crystal microbalance. *Biosens Bioelectron*, 2002, 17: 676–684
- 96 Chen K, Tan Z, Nie LH, Yao SZ. Principal component analysis applied to admittance spectra of a quartz-crystal microbalance in contact with a liquid-phase. *Analyst*, 1995, 120: 1885–1889
- 97 Snabe T, Petersen SB. Lag phase and hydrolysis mechanisms of triacylglycerol film lipolysis. *Chem Phys Lipids*, 2003, 125: 69–82
- 98 Snabe T, Neves-Petersen MT, Petersen SB. Enzymatic lipid removal from surfaces-lipid desorption by a pH-induced “electrostatic explosion”. *Chem Phys Lipids*, 2005, 133: 37–49
- 99 Wyszynski B, Nakamoto T. Linking biological and artificial olfaction: Biomimetic quartz crystal microbalance odor sensors. *Ieee T Electr Electr*, 2009, 4: 334–338
- 100 Nimsuk N, Nakamoto T. Improvement of capability for classifying odors in dynamically changing concentration using QCM sensor array and short-time Fourier transform. *Sensor Actuat B-Chem*, 2007, 127: 491–496
- 101 Nakamoto T, Sukegawa K, Sumitomo E. Higher order sensing using QCM sensor array and preconcentrator with variable temperature. *IEEE Sens J*, 2005, 5: 68–74
- 102 Laloyaux X, Mathy B, Nysten B, Jonas AM. Surface and bulk collapse transitions of thermo responsive polymer brushes. *Langmuir*, 2010, 26: 838–847
- 103 Moya SE, Brown AA, Azzaroni O, Huck WTS. Following polymer brush growth using the quartz crystal microbalance technique. *Macromol. Rapid Commun*, 2005, 26: 1117–1121
- 104 Lao AIK, Su XD, Aung KMM. SPR study of DNA hybridization with DNA and PNA probes under stringent conditions. *Biosens Bioelectron*, 2009, 24: 1717–1722
- 105 Zong Y, Xu F, Su XD, Knoll W. Quartz crystal microbalance with integrated surface plasmon grating coupler. *Anal Chem*, 2008, 80: 5246–5250
- 106 Huang J, Jiang YD, Du XS, Bi J. A new siloxane polymer for chemical vapor sensor. *Sensor Actuat B-Chem*, 2010, 146: 388–394
- 107 Sun P, Jiang YD, Xie GZ, Du XS, Hu J. A room temperature supramolecular-based quartz crystal microbalance (QCM) methane gas sensor. *Sensor Actuat B-Chem*, 2009, 141: 104–108
- 108 Mori T, Ohtsuka T, Okahata Y. Kinetic analyses of bindings of shiga-like toxin to clustered and dispersed gb(3) glyco-arrays on a quartz-crystal microbalance. *Langmuir*, 2010, 26: 14118–14125
- 109 Takahashi S, Iida M, Furusawa H, Shimizu Y, Ueda T, Okahata Y. Real-time monitoring of cell-free translation on a quartz-crystal microbalance. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 9326–9332
- 110 Furusawa H, Ozeki T, Morita M, Okahata Y. Added mass effect on immobilizations of proteins on a 27 mhz quartz crystal microbalance in aqueous solution. *Anal Chem*, 2009, 81: 2268–2273
- 111 King WH. Piezoelectric sorption detector. *Anal Chem*, 1964, 36: 1735–1739
- 112 Grate JW. Acoustic wave microsensor arrays for vapor sensing. *Chem Rev*, 2000, 100: 2627–2647
- 113 Zhou XF, Zhang J, Jiang T, Wang XH, Zhu ZQ. Humidity detection by nanostructured ZnO: A wireless quartz crystal microbalance investigation. *Sens Actuators, B*, 2007, 135: 209–214
- 114 Rajakovic LV, Strbac S. Surface-morphology and the response of piezoelectric gas sensors. *Anal Chim Acta*, 1995, 315: 83–91

- 115 Kurosawa S, Kamo N, Matsui D, Kobatake Y. Gas sorption to plasma-polymerized copper phthalocyanine film formed on a piezoelectric crystal. *Anal Chem*, 1990, 62: 353–359
- 116 Bai HShi GQ. Gas sensors based on conducting polymers. *Sensors-Basel*, 2007, 7: 267–307
- 117 Mascini M, Macagnano A, Monti D, Del Carlo M, Paolesse R, Chen B, Warner P, D'Amico A, Di Natale C, Compagnone D. In: Piezoelectric sensors for dioxins: A biomimetic approach. *Biosens Bioelectron*, 2004, 20: 1203–1210
- 118 Mineo PG, Livoti L, Giannetto M, Gulino A, Lo Schiavo S, Cardiano P. Very fast CO₂ response and hydrophobic properties of novel poly(ionic liquid)s. *J Mater Chem*, 2009, 19: 8861–8870
- 119 Xu XM, Cang HW, Li CZ, Zhao ZBK, Li HY. Quartz crystal microbalance sensor array for the detection of volatile organic compounds. *Talanta*, 2009, 78: 711–716
- 120 Liang CD, Yuan CY, Warmack RJ, Barnes CE, Dai S. Ionic liquids: A new class of sensing materials for detection of organic vapors based on the use of a quartz crystal microbalance. *Anal Chem*, 2002, 74: 2172–2176
- 121 Si SH, Fung YS, Zhu DR. Improvement of piezoelectric crystal sensor for the detection of organic vapors using nanocrystalline TiO₂ films. *Sensor Actuat B-Chem*, 2005, 108: 165–171
- 122 Yuan YK, Xiao XL, Wang YS, Xue JH, Li GR, Kang RH, Zhang JQ, Shi LF. Quartz crystal microbalance with beta-cyclodextrin/TiO₂ composite films coupled with chemometrics for the simultaneous determination of urinary 1-and 2-naphthol. *Sensor Actuat B-Chem*, 2010, 145: 348–354
- 123 Shinar R, Liu GJ, Porter MD. Graphite microparticles as coatings for quartz crystal microbalance-based gas sensors. *Anal Chem*, 2000, 72: 5981–5987
- 124 Aoki Y, Hashizume M, Onoue S, Kunitake T. Determination of surface area and porosity of small, nanometer-thick films by quartz crystal microbalance measurement of gas adsorption. *J Phys Chem B*, 2008, 112: 14578–14582
- 125 Lee SW, Takahara N, Korposh S, Yang DH, Toko K, Kunitake T. Nanoassembled thin film gas sensors. iii. Sensitive detection of amine odors using TiO₂/poly(acrylic acid) ultrathin film quartz crystal microbalance sensors. *Anal Chem*, 2010, 82: 2228–2236
- 126 Korposh S, Selyanchyn R, Lee SW. Nano-assembled thin film gas sensors. IV. Mass-sensitive monitoring of humidity using quartz crystal microbalance (QCM) electrodes. *Sensor Actuat B-Chem*, 2010, 147: 599–606
- 127 Hu JQ, Zhu FR, Zhang J, Gong H. A room temperature indium tin oxide/quartz crystal microbalance gas sensor for nitric oxide. *Sensor Actuat B-Chem*, 2003, 93: 175–180
- 128 Ding B, Kim JH, Miyazaki Y, Shiratori SM. Electrospun nanofibrous membranes coated quartz crystal microbalance as gas sensor for NH₃ detection. *Sensor Actuat B-Chem*, 2004, 101: 373–380
- 129 Hsu HP, Shih JS. Multi-channel surface acoustic wave sensors based on principal component analysis (PCA) and linear discriminate analysis (LDA) for organic vapors. *J Chin Chem Soc*, 2006, 53: 815–824
- 130 Ogi H, Nagai H, Fukunishi Y, Yanagida T, Hirao M, Nishiyama M. Multichannel wireless-electrodeless quartz-crystal microbalance immunosensor. *Anal Chem*, 2010, 82: 3957–3962
- 131 Jin XX, Huang Y, Mason A, Zeng XQ. Multichannel monolithic quartz crystal microbalance gas sensor array. *Anal Chem*, 2009, 81: 595–603
- 132 Krim J, Solina DH, Chiarello R. Nanotribology of a Kr monolayer —A quartz-crystal microbalance study of atomic-scale friction. *Phys Rev Lett*, 1991, 66: 181–184
- 133 Dayo A, Alnasrallah W, Krim J. Superconductivity-dependent sliding friction. *Phys Rev Lett*, 1998, 80: 1690–1693
- 134 Mason BL, Winder SM, Krim J. On the current status of quartz crystal microbalance studies of superconductivity-dependent sliding friction. *Tribol Lett*, 2001, 10: 59–65
- 135 Krim J. Quartz microbalance studies of superconductivity-dependent sliding friction. Reply *Phys Rev Lett*, 1999, 83: 1262–1262
- 136 Krim J. Surface science and the atomic-scale origins of friction: what once was old is new again. *Surf Sci*, 2002, 500: 741–758
- 137 Renner RL, Rutledge JE, Taborek P. Quartz microbalance studies of superconductivity-dependent sliding friction. *Phys Rev Lett*, 1999, 83: 1261–1261
- 138 Zybalyo O, Shekhah O, Wang H, Tafipolsky M, Schmid R, Johannsmann D, Woll C. A novel method to measure diffusion coefficients in porous metal-organic frameworks. *PCCP*, 2010, 12: 8092–8097
- 139 Xu XM, Li CZ, Zhao ZB, Wang JD, Li HY. Molecular interactions between imidazole-based ionic liquids and gases using quartz crystal microbalance. *Chem J Chinese U*, 2009, 30: 1322–1325
- 140 Shisei Goto HT, Takeshi I. In: *8th Research Forum on Recycling*. Ontario, Canada, 2007
- 141 Kallio T, Kekkonen J, Stenius P. The formation of deposits on polymer surfaces in paper machine wet end. *J Adhes*, 2004, 80: 933–969

- 142 Saluja A, Kalonia DS. Measurement of fluid viscosity at microliter volumes using quartz impedance analysis. *Aaps Pharmscitech*, 2004, 5: article 47
- 143 Doy N, McHale G, Newton MI, Hardacre C, Ge R, MacInnes JM, Kuvshinov D, Allen RW. Small volume laboratory on a chip measurements incorporating the quartz crystal microbalance to measure the viscosity-density product of room temperature ionic liquids. *Biomicrofluidics*, 2010, 4: 014107–014114
- 144 Tamm LK, McConnell HM. Supported phospholipid-bilayers. *Biophys J*, 1985, 47: 105–113
- 145 Keller CA, Kasemo B. Surface specific kinetics of lipid vesicle adsorption measured with a quartz crystal microbalance. *Biophys J*, 1998, 75: 1397–1402
- 146 Seantier B, Breffa C, Felix O, Decher G. Dissipation-enhanced quartz crystal microbalance studies on the experimental parameters controlling the formation of supported lipid bilayers. *J Phys Chem B*, 2005, 109: 21755–21765
- 147 Boudard S, Seantier B, Breffa C, Decher G, Felix O. Controlling the pathway of formation of supported lipid bilayers of DMPC by varying the sodium chloride concentration. *Thin Solid Films*, 2006, 495: 246–251
- 148 Fawcett NC, Craven RD, Zhang P, Evans JA. QCM response to solvated, tethered macromolecules. *Anal Chem*, 1998, 70: 2876–2880
- 149 Rickert J, Brecht A, Gopel W. Quartz crystal microbalances for quantitative biosensing and characterizing protein multilayers. *Biosens Bioelectron*, 1997, 12: 567–575
- 150 Lvov Y, Ariga K, Ichinose I, Kunitake T. Assembly of multicomponent protein films by means of electrostatic layer-by-layer adsorption. *J Am Chem Soc*, 1995, 117: 6117–6123
- 151 Liu Y, Yu X, Zhao R, Shangguan DH, Bo ZY, Liu GQ. Quartz crystal biosensor for real-time monitoring of molecular recognition between protein and small molecular medicinal agents. *Biosens Bioelectron*, 2003, 19: 9–19
- 152 Liu Y, Zhang W, Yu X, Zhang HW, Zhao R, Shangguan D, Li Y, Shen BF, Liu GQ. Quartz crystal biosensor for real-time kinetic analysis of interaction between human TNF- α and monoclonal antibodies. *Sensor Actuat B-Chem*, 2004, 99: 416–424
- 153 Muguruma H, Nagata R, Nakamura R, Sato K, Uchiyama S, Karube I. Sensor chip using a plasma-polymerized film for surface plasmon resonance biosensors: Reliable analysis of binding kinetics. *Anal Sci*, 2000, 16: 347–348
- 154 Ma H, He J, Liu X, Gan J, Jin G, Zhou J. Surface initiated polymerization from substrates of low initiator density and its applications in biosensors. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 2010, 2: 3223–3230
- 155 Yamashita K, Kikkawa Y, Kurokawa K, Doi Y. Enzymatic degradation of poly(L-lactide) film by proteinase K: Quartz crystal microbalance and atomic force microscopy study. *Biomacromolecules*, 2005, 6: 850–857
- 156 Yamashita K, Aoyagi Y, Abe H, Doi Y. Analysis of adsorption function of polyhydroxybutyrate depolymerase from *Alcaligenes faecalis* T1 by using a quartz crystal microbalance. *Biomacromolecules*, 2001, 2: 25–28
- 157 Hou Y, Chen J, Sun PJ, Gan ZZ, Zhang GZ. *In situ* investigations on enzymatic degradation of poly(ϵ -caprolactone). *Polymer*, 2007, 48: 6348–6353
- 158 Benetti EM, Reimhult E, de Bruin J, Zapotoczny S, Textor M, Vancso GJ. Poly(methacrylic acid) grafts grown from designer surfaces: The effect of initiator coverage on polymerization kinetics, morphology, and properties. *Macromolecules*, 2009, 42: 1640–1647
- 159 Cheng N, Azzaroni O, Moya S, Huck WTS. The effect of [Cu-I]/[Cu-II] ratio on the kinetics and conformation of polyelectrolyte brushes by atom transfer radical polymerization. *Macromol Rapid Commun*, 2006, 27: 1632–1636
- 160 Garg A, Heflin JR, Gibson HW, Davis RM. Study of film structure and adsorption kinetics of polyelectrolyte multilayer films: Effect of pH and polymer concentration. *Langmuir*, 2008, 24: 10887–10894
- 161 Bingen P, Wang G, Steinmetz NF, Rodahl M, Richter RP. Solvation effects in the quartz crystal microbalance with dissipation monitoring response to biomolecular adsorption. A phenomenological approach. *Anal Chem*, 2008, 80: 8880–8890
- 162 Zhang Y, He J, Zhu Y, Chen H, Ma H. Directly observed Au-S bond breakage due to swelling of the anchored polyelectrolyte. *Chem Commun*, 2011, 47: 1190–1192
- 163 Gryte DM, Ward MD, Hu WS. Real-time measurement of anchorage-dependent cell-adhesion using a quartz crystal microbalance. *Biotechnol Progr*, 1993, 9: 105–108
- 164 Nivens DE, Chambers JQ, Anderson TR, White DC. Long-term, online monitoring of microbial biofilms using a quartz crystal microbalance. *Anal Chem*, 1993, 65: 65–69
- 165 Muratsugu M, Romaschin AD, Thompson M. Adhesion of human platelets to collagen detected by Cr-51 labelling and acoustic wave sensor. *Anal Chim Acta*, 1997, 342: 23–29
- 166 Fredriksson C, Kihlman S, Rodahl M, Kasemo B. The piezoelectric quartz crystal mass and dissipation sensor: A means of studying cell adhesion. *Langmuir*, 1998, 14: 248–251

- 167 Matsuda T, Kishida A, Ebato H, Okahata Y. Novel instrumentation monitoring *in situ* platelet adhesivity with a quartz crystal microbalance. *Asaio J*, 1992, 38: M171–173
- 168 Marx KA, Zhou TA, Montrone A, Schulze H, Braunhut SJ. A quartz crystal microbalance cell biosensor: detection of microtubule alterations in living cells at nM nocodazole concentrations. *Biosens Bioelectron*, 2001, 16: 773–782
- 169 Braunhut SJ, McIntosh D, Vorotnikova E, Zhou T, Marx KA. Detection of apoptosis and drug resistance of human breast cancer cells to taxane treatments using quartz crystal microbalance biosensor technology. *Assay and Drug Development Technologies*, 2005, 3: 77–88

The development of quartz crystal microbalance

HE Jian'An¹, FU Long², HUANG Mo², LU YuDong², LV Bei'Er², ZHU ZhiQiang², FANG JiaJie² & MA HongWei²

1 Department of Biomedical Engineering, College of Engineering, Peking University, Beijing 100871, China

2 Suzhou Institute of Nano-Tech and Nano-Bionics, Chinese Academy of Sciences, Suzhou 215123, China

Abstract: Quartz crystal microbalance (QCM), which is a sensitive and practical tool for measurement of the changes of interface, has got certain applications in the study of interface problems in physical, chemical, biological, pharmaceutical, clinical medicine and environmental science. However, the application and promotion of QCM in liquid phase has been limited by the difficulties of quantitative interpretation of QCM data. To solve this problem, researchers have developed a variety of advanced QCM, such as the QCM with the impedance analysis (impedance QCM, *i*-QCM) or the QCM that can monitor the energy dissipation (QCM with dissipation, QCM-D). At the same time, many corresponding theoretical models also have been developed. However, for most biological and chemical researchers, these theories are too complicated, which greatly limits the potential of QCM study. This review classified the reported methods, models and equations of QCM into five categories by application conditions with a clue of our group's research work in the QCM and provided a clear definition of criteria: i) solid-gas interface; ii) Newtonian fluid; iii) solid-liquid interface of thin film studies; iv) solid-liquid interface of thick film studies; v) solid-liquid interface of ultra-thick film studies. For each type of situation, we will describe how to simplify the QCM data and ensure the accuracy of quantitative analysis in simple language that chemists and biologist can understand. For QCM data analysis in liquid environment, we emphatically introduce the “solidified liquid” model, which allows QCM become a molecular ruler under certain conditions with the working range from nanometers to micrometers. The molecular ruler has a good application in some innovative interface researches. Finally, we theoretically analyze the defects of QCM as a biosensor—the sensitivity of protein concentration detection is limited by the “detection of surface average mass” at only 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Furthermore, we propose the development direction and potential applications of QCM, and hope that QCM can be extended in various problems of the interface application.

Keywords: quartz crystal microbalance, “solidified liquid layer” model, surface initiated polymerization, biosensor