

文章编号 1004-924X(2014)01-0044-06

对称型长程表面等离子体共振分析系统

黄 强¹, 王 敏¹, 李 昂¹, 韩西达², 何永红^{1*}

(1. 清华大学 深圳研究生院 光学检测与成像实验室, 广东 深圳 518055;

2. 哈尔滨工业大学 深圳研究生院 机电工程与自动化学院, 广东 深圳 518055)

摘要:表面等离子体共振 (SPR) 技术中的长程 SPR 技术的实际应用受其特殊的膜层匹配条件 (待测物和第一层缓冲层折射率需相近) 限制而很难扩展。为了解决这一问题, 本文提出了一种对称型长程 SPR (LRSPR) 技术来提高传统 LRSPR 技术的适用性。设计了一种“缓冲介质层+金属膜+缓冲介质层”的对称型膜层结构, 用于打破传统 LRSPR 折射率匹配条件的制约, 并进一步提高电磁场穿透深度和共振峰深度。理论模拟分析了对称型膜层结构, 并且自行搭建了基于 LED 光源的角度谱 SPR 检测系统。利用该系统进行了不同糖浓度溶液下的折射率分辨率实验, 并对数据处理的算法进行了优化。实验测得系统的折射率分辨率达到 6.1×10^{-7} RIU, 灵敏度可达 1.22×10^5 pixel/RIU, 并且在一定折射率测量范围内具有较好的线性度。

关键词:表面等离子体共振 (SPR); 折射率; 对称型长程 SPR; 膜层匹配

中图分类号: O539 **文献标识码:** A **doi:** 10.3788/OPE.20142201.0044

Symmetrical long range surface plasmon resonance sensing system

HUANG Qiang¹, WANG Min¹, LI Ang¹, HAN Xi-da², HE Yong-hong^{1*}

(1. *Laboratory of Optical Imaging and Sensing, Graduate School in Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China;*

2. *School of Mechanical Engineering and Automation, Graduate School in Shenzhen, Harbin Institute of Technology, Shenzhen 518055, China)*

* *Corresponding author, E-mail: heyh@sz.tsinghua.edu.cn*

Abstract: Applications of the Long Range Surface Plasmon Resonance (LRSPR) technology from the SPRs are hard to be popularized because of its special film matching conditions, namely, the refractive index of the buffer layer must be similar to that of the tested sample. To improve the applicability of the traditional LRSPR technology, a symmetric LRSPR technology was proposed. A symmetric film structure (buffer dielectric layer + metal film + buffer dielectric layer) was designed to break the limitations of the matching conditions and to further improve the penetration depth of electromagnetic field and the resonance peak depth. The symmetric film structure was analyzed theoretically, and an angular spectrum SPR detection system was built by using a Light Emitting Diode (LED) as the light source. The measuring system was used to measure the refractivity resolution of different glucose so-

收稿日期: 2013-05-15; 修订日期: 2013-06-07.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 61275188, No. 81171375); 深圳市杰出青年基金资助项目; 清华大学深圳研究生院光学检测与成像实验室开放基金资助项目 (No. 12K05ESPCT)

lutions, and the algorithm proposed was optimized. The results show that the refractivity resolution of the system can reach 6.1×10^{-7} RIU, the sensitivity is 1.22×10^5 pixel/RIU and a better linearity is obtained in a refractivity measuring range.

Key words: Surface Plasmon Resonance (SPR); refractive index; symmetrical Long Range SPR (LR-SPR); film matching

1 引言

表面等离子体共振 (Surface Plasmon Resonance, SPR) 表示在入射的波矢与金属表面等离子体波达到能量守恒和动量守恒的条件时,发生的入射光波里的能量向表面等离子体波发生转移的现象。它的明显表现为反射率的振幅降到最小,这时待测物的折射率、入射光的波长及入射角发生匹配。通过固定入射波长检测共振角,或者固定入射角和出射角检测共振波长都可以达到检测折射率的目的。SPR 可以用于检测阵列样品^[1]和微流道。大多数成分检测方法都需要标记分子,而 SPR 技术在不需标记分子的情况下就可以进行分子间相互作用的高灵敏度检测^[2],是一种不需标记,高灵敏度、高分辨率的检测技术,特别是在检测分子与分子相互作用的方面拥有极好的检测能力,因此该技术被广泛应用于生物化学、材料、医药等领域^[3-4]。

传统的 SPR 结构由单层金属膜层构成,一般选取金。1981 年 Sarid 提出了长程 SPR 结构 (Long Range SPR, LRSPR)^[5],预期可以达到一种 LRSPR 共振模式,其结构为“电介质+金属”。因此,LRSPR 相对于传统 SPR 结构具有更高的灵敏度、分辨率和穿透深度。

对于传统的 LRSPR,要实现共振模式必须要

求待测物的折射率尽量接近缓冲层(一般选取氟化镁),这就大大限制了待测物的选择范围,导致其测量的折射率只能在一个很小范围内。在待测物的折射率较大或较小时,反射率曲线的半高宽会急剧增大,导致系统的分辨率急剧下降,大大阻碍了 LRSPR 的应用。因此,本文提出了一种“缓冲介质层+金属膜+缓冲介质层”的对称型膜层结构,在提高 SPR 的共振峰深度和电磁场穿透深度的同时,降低了 LRSPR 的激发难度。

2 实验装置

2.1 SPR 激发装置

本文选取的 SPR 激发装置是基于 Kretschmann^[6]结构的棱镜型 SPR 传感器。激发过程中,反射率可表达为这 3 个参量的函数 $R = R(\theta, \lambda, n)$,其中 θ 为入射角, λ 为入射波长, n 为待测物的折射率。分析时,固定入射波长和待测物折射率,通过入射角变化获得棱镜型 SPR 传感器的反射率曲线。

传统 SPR 结构由单层金属膜层构成,结构如图 1(a)所示。传统 LRSPR 膜层结构为“电介质+金属”,如图 1(b)所示。本文提出的对称型 LRSPR 膜层结构为“电介质+金属+电介质”,第二层电介质外侧即为待测物,如图 1(c)所示。

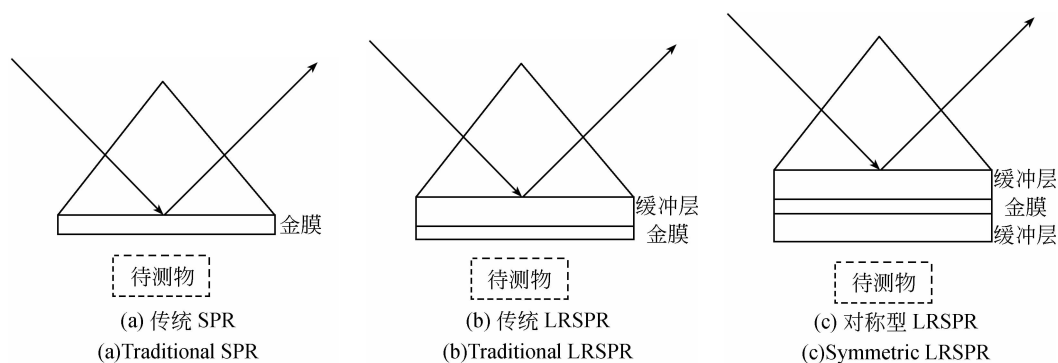


图1 SPR 激发结构示意图

Fig. 1 Schematic illustration of SPR excitation mechanism

2.2 实验光路

本文采用基于发光二极管(LED)光源的角度谱 SPR 检测方法,光路系统结构如图 2 所示。从 LED 发出的光经过物镜汇聚到小孔上,由透镜准直后经滤光片滤光,再通过偏振片得到 p 偏振光,最后经过柱透镜聚焦成线光斑入射到棱镜 SPR 激发装置中,由 CCD 直接接收角度谱。各元件参数为:LED 选择欧司朗的 W5AP 大功率系列,中心波长为 634 nm,半高全宽约为 28 nm,物镜倍数为 25×,小孔直径为 0.3 mm,消色差凸透镜的焦距为 38 mm,窄带滤光片的带宽为 3 nm,平凸柱透镜的焦距为 30 mm,偏振片消光比为 500:1。

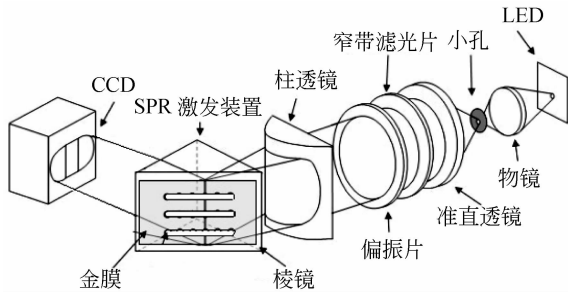


图 2 角度谱 SPR 原理示意图

Fig. 2 Schematic diagram of angular spectrum SPR

3 结果分析

本文依据多层膜反射理论建立计算模型^[7-8]。考虑在多层膜中的电场分布情况,多层膜结构模型如图 3 所示。由于各层介质为各向同性、理学均匀的非磁性介质,入射光为单色平面波,则介质的介电常数 ϵ 仅是光波角频率 ω 的函数。选择入射面为 xz 平面,介质层的界面垂直于 z 轴。其

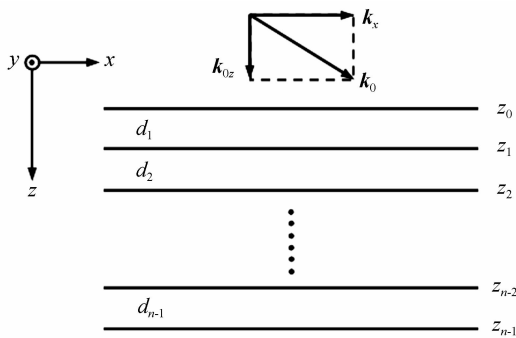


图 3 多层膜结构模型示意图

Fig. 3 Schematic illustration of multilayer model

中, z_j 所在平面为介质层 j 和 $j+1$ 的分界面, d_j 为第 j 层介质的厚度, $k_{jz} = \sqrt{\epsilon^{(j)}(\omega/c)^2 - k_x^2}$, k_x 为波矢 k 在 x 方向上的分量。对于 SPR 传感,研究最关心的是 p 偏振光在第一层界面上的反射率,即为:

$$R = \left| \frac{r_{01} + r_{1n} \exp(2ik_{1z}d_1)}{1 + r_{01}r_{1n} \exp(2ik_{1z}d_1)} \right|^2 \quad (1)$$

$$r_{1n} = \frac{r_{12} + r_{2n} \exp(2ik_{2z}d_2)}{1 + r_{12}r_{2n} \exp(2ik_{2z}d_2)}$$

式(1)给出了反射系数的递推关系,可一直递推至总的介质层数,最终求得反射率 R 。在递推过程中,最终用到 $r_{n-1,n}$ 的表达式,如式(2)所示。由此得到了 SPR 传感结构的反射率大小,并可依照反射率特性,比较不同的 SPR 实现方式。

$$r_{n-1,n} = \frac{X_{n-1}^p - X_n^p}{X_{n-1}^p + X_n^p} \quad (2)$$

$$X_j^p = \frac{\epsilon^{(j)}}{k_{jz}}, j = 0, 1, \dots, n-1, n. \quad (3)$$

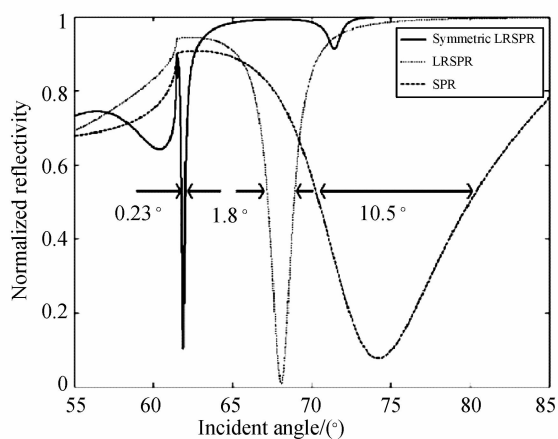
本文模拟分析了 3 种膜层结构(传统 SPR,传统 LRSPR,对称型 LRSPR)的反射率曲线,电场穿透深度,灵敏度等指标。缓冲层介质的材料采用 MgF_2 。氟离子的单电荷导致氯化物折射率较低,而 SPR 测量的生物和化学溶液一般折射率接近水,容易产生 LRSPR。金属膜层的选择金。

首先对比反射率曲线,如图 4(a)所示,单层金膜的厚度取 40 nm,第一层氟化镁厚度取 900 nm,第二层氟化镁厚度为 660 nm,氟化镁的折射率为 1.38,玻璃材料为 BK7,其折射率为 1.515,金的介电常数为 $0.197 + 3.09i$ 。

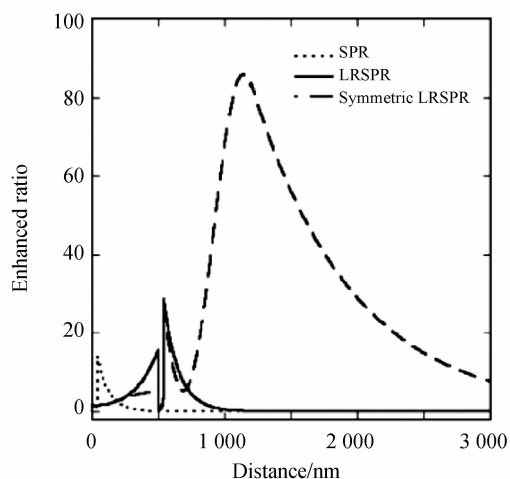
由图 4 可知,三种情况下,传统 LRSPR 共振曲线半高全宽明显小于传统型 SPR(约为 10.5°),而对称型 LRSPR 约为 0.23° ,明显小于传统长程 SPR 1.8° 。共振峰宽度的减小有利于更好地定位共振角,这说明对称型 LRSPR 有助于提高 SPR 检测指标。

图 4(b)为传感膜层表面等离子体增强的模拟结构。纵坐标表示各个膜层中相对于入射光的电磁场放大倍数,起点均为第一层膜层和玻璃的分界面。对于对称型 LRSPR,待测物在 MgF_2 的另一侧,所以传感膜层为氟化镁,而传统 SPR 和 LRSPR 传感膜层为金膜。由图 4(b)可见,对称型 LRSPR 的穿透深度明显优于传统 SPR 和 LRSPR,可达几微米的量级,并且电场强度也有了显

著提高。穿透深度的提高对生物检测的意义是重大的,可以将 SPR 的检测范围拓宽到细胞和高分子等领域。



(a) 反射率曲线比较
(a) Contrast of reflectivity curves



(b) 表面电场增强的比较
(b) Contrast of enhanced ratio of EMF

图 4 对称型 LRSPR、传统 SPR 及传统 LRSPR 对比

Fig. 4 Contrast among three kinds of SPR films

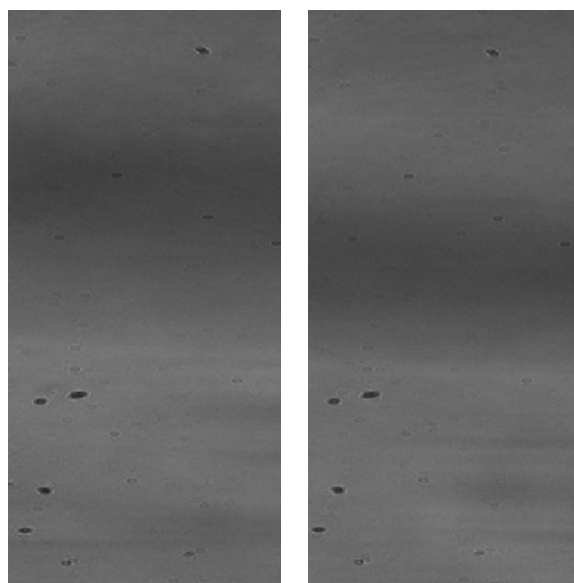
文中对搭建好的系统性能进行了测试。首先确定数据处理流程,SPR 传感系统的折射率分辨率为^[9]:

$$\delta n = \frac{\sigma}{S_n}, \quad (4)$$

其中: δn 为折射率分辨率; σ 为噪声水平,对于本系统,测量值为共振曲线在 CCD 相面上的位置; S_n 为系统检测的灵敏度,表示单位折射率变化对应的测量值改变。同一样品多次测量的均方差值为噪声,折射率分辨率指的是系统可以分辨的最小的折射率改变,常作为表征 SPR 系统传感能力

的核心指标。

由此可见,提高系统分辨率的途径一是提高灵敏度,二是降低噪声水平,而算法的首要要求就是降低计算值的噪声水平。角度谱型 SPR 传感器读取的原始图片如图 5 所示。其中,图 5(b)为 10 g/L 葡萄糖溶液信号。黑线即为一种样品下的共振峰,可以看到共振峰位置的偏移是非常明显的,而探测的关键是如何更精确地确定曲线最小值的位置。由于 CCD 存在噪声,每次读取的同一折射率的角度谱最小值都不同。目前,在众多谱型 SPR 算法中,计算速度最快、使用最为广泛的是多项式拟合法和重心法^[10],本文选取拟合法。



(a) 纯水信号
(a) Signal from pure water
(b) 葡萄糖溶液信号
(b) Signal from glucose solution

图 5 CCD 读取的原始图片

Fig. 5 Original pictures captured by CCD

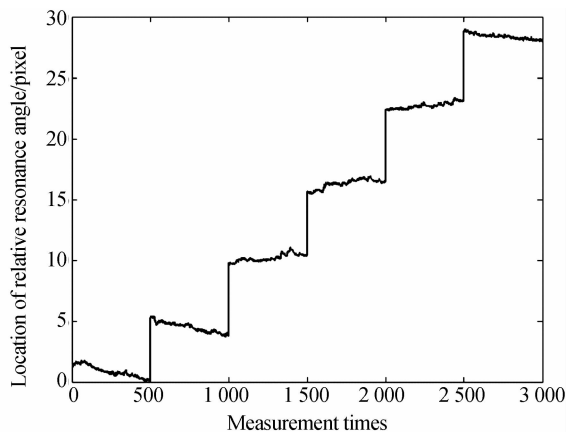
首先确定拟合的阶数和拟合的数据宽度。本文对纯水进行了多次测量,通过比较不同拟合阶数和拟合数据宽度下的拟合结果发现,多项式拟合的阶数越大,噪声越大,但曲线的符合度越好。综合考虑选择 10 阶作为拟合阶数。另外,宽度越大,噪声越小,实验时拟合宽度应尽量大。

由以上分析,最终确定的数据处理流程如下:

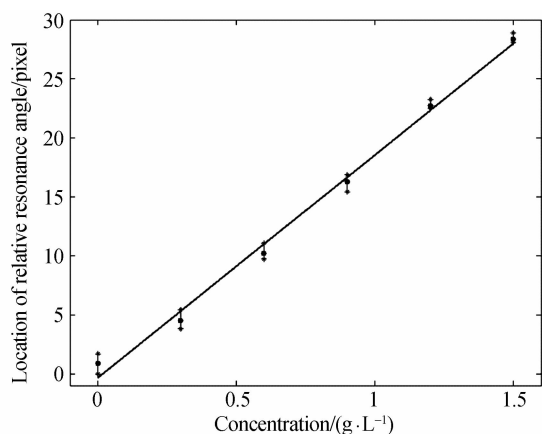
- (1) 纵向即垂直角度谱方向每 5 行进行平均;
- (2) 平均后的每条谱线进行高阶多项式拟合以确定共振峰位置;
- (3) 多条角度谱平均后的结果为本次测量共

振峰对应的位置;

(4)对多次测量结果进行平均(一般选 5 次)后得出最终的共振峰位置。



(a)葡萄糖浓度梯度曲线
(a)Gradient curves of glucose concentration



(b)浓度与共振角线性度
(b)Linearity of concentration and resonance angle

图 6 灵敏度实验结果

Fig. 6 Results of sensitivity experiment

为了测试系统的灵敏度,本文配制了不同浓

度下的葡萄糖溶液,葡萄糖溶液的折射率与浓度的关系为 $n=1.325+1.515\times 10^{-4}\times C^{[11]}$ 。由公式可知,对应的折射率梯度为 4.545×10^{-5} PIU,以 0.3 g/L 浓度梯度间隔通入流道测量葡萄糖溶液共振峰对应像素位置的变化,以纯水测量值为基准,起始测量物为纯水,如图 6(a)所示。处理后可知:对应相同的浓度变化,共振角变化平均为 5.58 pixel,系统灵敏度为 1.22×10^5 pixel/PIU。图 6(b)为共振峰位置相对于浓度的线性关系,图中散点为特定浓度下的测量平均值,竖线为测量浮动。由图可知,测量物折射率在水附近时,系统可以保证较好的线性范围。

通过折射率梯度实验测得系统的灵敏度为 1.22×10^5 pixel/RIU。然后对同一折射率溶液反复测量,每 5 次测量结果进行一次平均,得到信号噪声水平为 0.075 pixel。由式(4)可得,系统的分辨率为 6.1×10^{-7} PIU,优于传统 SPR 技术的分辨率指标(一般在 10^{-6} RIU 量级^[12-13])。

4 结 论

本文提出了一种对称型 LRSPR 膜层结构,即“缓冲层+金膜+缓冲层”,打破了传统 LRSPR 折射率匹配条件的制约。首先进行了理论模拟分析,并自行搭建了基于 LED 光源的角度谱检测系统,使用多项式拟合算法进行数据处理以确定共振峰位置。实验测试显示,对于折射率在水附近的待测物,系统灵敏度可达 1.22×10^5 pixel/RIU,分辨率为 6.1×10^{-7} RIU,并且在一定折射率测量范围内具有较好的线性度。与已报道的 SPR 传感器分辨率(一般在 10^{-6} RIU 量级^[12-13])相比,该系统已经达到了领先水平。

参考文献:

- [1] 齐攀,李莹,冯明创,等. 用于阵列样品检测的扫描式表面等离子体共振生物传感器[J]. 光学 精密工程, 2012, 20(11):2365-2372.
QI P, LI Y, FENG M CH, *et al.*. Scanning surface plasmon resonance biosensor for array sample detection[J]. *Opt. Precision Eng.*, 2012, 20(11): 2365-2372. (in Chinese)
- [2] HOMOLA J. Surface plasmon resonance sensors for

- detection of chemical and biological species [J]. *Chemical Reviews*, 2008, 108(2): 462.
- [3] GORDON I J G, ERNST S. Surface plasmons as a probe of the electrochemical interface[J]. *Surface Science*, 1980, 101(1): 499-506.
- [4] NYLANDER C, LIEDBERG B, LIND T. Gas detection by means of surface plasmon resonance[J]. *Sensors and Actuators*, 1983, 3: 79-88.
- [5] SARID D. Long-range surface-plasma waves on very thin metal films [J]. *Physical Review Letters*, 1981,

- 47(26):1927-1930.
- [6] RAETHER H, KRETSCHMANN E. Radiative decay of non radiative surface plasmons excited by light [J]. *Z. Naturforsch.*, 1968, 23:2135-2136.
- [7] BAKER L R. Electromagnetic surface modes [J]. *Journal of Modern Optics*, 1983, 30(3): 257-257.
- [8] RAETHER H. *Surface Plasmons on Smooth and Rough Surfaces and on Gratings* [M]. Springer Tracts in Modern Physics, 1988: 111.
- [9] HOMOLA J. On the sensitivity of surface plasmon resonance sensors with spectral interrogation [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1997, 41(1): 207-211.
- [10] 郝鹏, 吴一辉. 基于噪声分析的波长表面等离子体共振分析仪的数据处理 [J]. *光学精密工程*, 2009, 17(9): 2159-2164.
- HAO P, WU Y H. Data process of spectroscopic surface plasmon resonance analyzer based on noise analysis [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2009, 17(9): 2159-2164. (in Chinese)
- [11] MAIER J S. Possible correlation between blood glucose concentration and the reduced scattering coefficient of tissues in the near infrared [J]. *Optics Letters*, 1994, 19(24): 2062-2064.
- [12] LIU Z Y, YANG L, LIU L, *et al.*. Parallel-scan based microarray imager capable of simultaneous surface plasmon resonance and hyperspectral fluorescence imaging [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2011, 30:180-187.
- [13] LIU L, HE Y H, ZHANG Y, *et al.*. Parallel scan spectral surface plasmon resonance imaging [J]. *Applied Optics*, 2008, 47(30):5616-5621.

作者简介:



黄 强(1988—),男,安徽马鞍山人,主要从事光机系统设计,图像处理算法的研究。E-mail:huang-q10@mails.tsinghua.edu.cn

导师简介:



何永红(1971—),男,安徽安庆人,博士,教授,1994年于安徽医科大学获得学士学位,1999年、2002年于华南师范大学分别获得硕士、博士学位,现任清华大学深圳研究生院光学检测与成像实验室主任,主要研究方向为生物光子学、光学检测、光学成像等。E-mail:heyh@sz.tsinghua.edu.cn

(版权所有 未经许可 不得转载)