

基于马赫-曾德尔结构的相差表面等离子体共振传感器

王弋嘉¹ 张崇磊¹ 王 蓉¹ 朱思伟² 袁小聪¹

(¹南开大学信息技术科学学院现代光学研究所, 天津 300071; ²南开大学人民医院, 天津 300121)

摘要 研究了一种基于马赫-曾德尔结构的相差表面等离子体共振(SPR)传感器系统。和传统的相位型 SPR 传感系统相比,该系统采用了 p 偏振光与 s 偏振光各自干涉后再相位相减来提取样品折射率信息的方法,从而显著降低了环境噪声的影响,提高了分辨率。系统最小可区分 0.01° 的相差,对应的分辨率为 10^{-5} RIU(折射率单位)。应用此系统进行了生物大分子结合反应的测量,分辨率可达每平方微米 160 个 IgG 分子。研究结果为表面等离子体共振传感器在生物医学的应用提供了一定的参考。

关键词 传感器; 表面等离子体共振; 相差; 差分干涉; 分辨率

中图分类号 O436 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/CJL201340.0714003

Phase Difference Surface Plasmon Resonance Sensor Based on Mach-Zehnder Configuration

Wang Yijia¹ Zhang Chonglei¹ Wang Rong¹ Zhu Siwei² Yuan Xiaocong¹

(¹Institute of Modern Optics, College of Information Technical Science, Nankai University, Tianjin 300071, China)

²Nankai University Affiliated Hospital, Tianjin 300121, China

Abstract A phase-modulation surface plasmon resonance (SPR) sensor based on Mach-Zehnder configuration is presented and studied. Refractive index information of sample is extracted by phase subtraction between the respective interference results of p-polarized and s-polarized light. Compared with the traditional phase-modulation SPR sensors, this design reduces the influence of environment noise and therefore greatly improves resolution. The system can distinguish 0.01° phase difference at least, which is equivalent to 10^{-5} RIU (refractive index unit). This system is employed to detect the reaction of biological molecules, and a resolution as high as 160 molecules (IgG) per square microns is obtained. This study provides a certain reference to phase-modulation SPR sensors in application of bio-medical research.

Key words sensors; surface plasmon resonance; phase difference; differential interferometry; resolution

OCIS codes 240.6680; 240.6690; 240.4350

1 引 言

由于表面等离子体共振(SPR)传感器具有实时性、无需标记物、高分辨率以及无背景干扰等优点,可定量检测生物分子之间的相互作用,近年来已经广泛应用于生物及化学传感领域^[1-2]。随着医学和食品安全检测需求的不断提升,往往需要对低浓度或小分子物质进行检测,这就对 SPR 传感器的灵敏度提出了更高的要求^[3-4]。传统的 SPR 传感技术

是通过分析反射光的波长^[5]或反射光强度^[6]提取信息的,虽易于检测但灵敏度不高。目前相位调制型 SPR 传感器已成为研究热点之一,这是由于在 SPR 角附近 p 偏振光的相位变化很大,利用相位检测技术可以使 SPR 传感器对于折射率单位(RIU)的检测灵敏度比传统 SPR 传感技术提高 1~2 个数量级^[7]。近年来提出的相位检测技术有旋转检偏法^[8]、光弹调制^[9]等。

收稿日期: 2013-01-23; 收到修改稿日期: 2013-02-28

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(61036013)

作者简介: 王弋嘉(1980—),男,博士研究生,主要从事表面等离子体共振传感器方面的研究。

E-mail: wyjwyjwyjl@yahoo.com.cn

导师简介: 袁小聪(1963—),男,教授,博士生导师,主要从事微纳光学、信息光学、表面等离子体光学等方面的研究。

E-mail: xcyuan@nankai.edu.cn

目前基于相位调制的 SPR 传感器还处于起步阶段, 在应用领域远没有达到其理论精度水平^[10-11]。主要原因是相位调制型 SPR 传感器具有极高的灵敏度, 对于周围环境所引起的微小变化非常敏感, 从而导致相位测量中的误差^[12]。

为了加强相位调制 SPR 传感器对环境噪声的抗干扰能力, 研究了一套以马赫-曾德尔干涉仪为基础的差分干涉相位调制 SPR 传感系统, 具有高灵敏度、抗干扰的优点。分析了该系统的工作原理, 进行了分辨率的标定, 并应用于生物反应的实时检测, 对生物大分子结合密度的检测能力进行了分析。

2 实验原理

目前 SPR 传感器所使用的激发结构有多种^[12-13], 实验采用使用较多的 Kretschmann 结构^[14], 如图 1 所示。

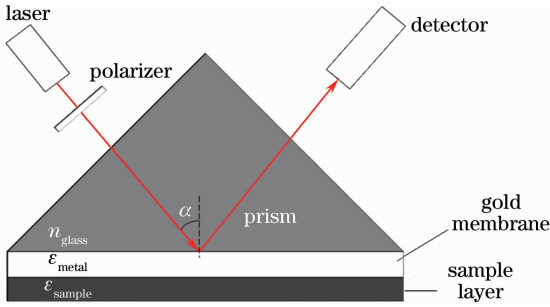


图 1 Kretschmann 模型结构简图

Fig. 1 Schematic diagram of Kretschmann mode configuration

电磁波发生共振的条件是两者具有相同的频率和波矢, 且传播方向一致。若倏逝波与表面等离子体的频率和波矢相同, 则二者将发生共振, 即表面等离子体共振。根据金属膜理论^[15], 表面等离子体波 (SPW) 与金属和电介质特性的关系为

$$k_{sp} = k_0 \left(\frac{\epsilon_m \epsilon_s}{\epsilon_m + \epsilon_s} \right)^{1/2}, \quad (1)$$

式中 k_{sp} 为 SPW 的波矢, k_0 为自由空间的入射波波矢, ϵ_m 和 ϵ_s 分别为金属和样品的复介电常数。调解入射角 α , 当入射条件满足 $k_x = k_0 n_{\text{glass}} \sin \theta_{\text{inc}} = k_{sp}$ 时, 产生的 SPW 达到最强, 其中 n_{glass} 为棱镜折射率, k_x 为 k_0 在界面平行方向的分量, θ_{inc} 为入射角。菲涅耳公式中 p 偏振光与 s 偏振光的反射系数 (r_p 和 r_s) 可表达为 $r_p = |r_p| \exp(i\phi_p)$ 和 $r_s = |r_s| \exp(i\phi_s)$, 其中 ϕ_p 和 ϕ_s 分别为反射光中 p 与 s 偏振光的相位。p 与 s 偏振态之间的相位差 $\Delta\phi = (\phi_p - \phi_s)$ 。对于图 1 所示系统使用的玻璃棱镜/金

属/样品的三层膜结构, 复反射系数

$$r_{p(s)} = \frac{r_{12} + r_{23} \exp(2ik_{z2}d)}{1 + r_{12}r_{23} \exp(2ik_{z2}d)}, \quad (2)$$

式中 d 为金属膜的厚度, r_{ij} ($i=1, 2, j=2, 3, i \neq j$) 为 p(或 s) 偏振光在玻璃棱镜(第 1 层)/金属(第 2 层)/样品(第 3 层)结构中的第 i 层和第 j 层之间的菲涅耳反射系数, 可表示为

$$r_{ij} = \frac{Z_i - Z_j}{Z_i + Z_j}, \quad i = 1, 2, j = 2, 3, \quad (3)$$

式中 Z_i, Z_j 为阻抗系数, p 偏振光的 $Z_i = \epsilon_i/k_{zi}$, s 偏振光的 $Z_i = k_{zi}, k_{zi} = k_0(\epsilon_i - \epsilon_1 \sin^2 \theta_{\text{inc}})^{1/2}$ 为第 i 层垂直于金属膜的波矢分量, ϵ_i 为第 i 层的复介电常数。由分子吸附于金属膜表面而导致的 ϵ_s 微小变化, 将会体现在两种偏振光 r_{ij} 的变化上, 也等同于一个相移 $\Delta\phi$ 。在输出端加入 Wollaston 棱镜的马赫-曾德尔干涉仪, 可使 p 偏振光及 s 偏振光各自干涉, 从而可以探测到相位差 $\Delta\phi$ 。该系统等同于两个独立工作的并行的干涉仪, p 偏振光及 s 偏振光相应的干涉公式为

$$I_p = I_{p,\text{ref}} + I_{p,\text{sig}} + 2(I_{p,\text{ref}} I_{p,\text{sig}})^{1/2} \cos(\phi_m + \phi_n + \phi_p), \quad (4)$$

$$I_s = I_{s,\text{ref}} + I_{s,\text{sig}} + 2(I_{s,\text{ref}} I_{s,\text{sig}})^{1/2} \cos(\phi_m + \phi_n + \phi_s), \quad (5)$$

式中 $I_p, I_{p,\text{ref}}, I_{p,\text{sig}}, I_s, I_{s,\text{ref}}, I_{s,\text{sig}}$ 分别为 p 偏振光, p 偏振参考光, p 偏振信号光, s 偏振光, s 偏振参考光, s 偏振信号光的光强; ϕ_m 为压电陶瓷 (PZT) 移动造成的相位调制。随着 PZT 周期性的移动, ϕ_m 随时间线性变化, 使得两个光电探测器所接收到的两种偏振光信号为正弦波。通过对多个周期正弦波取平均的方法去除系统噪声, 最终求得相移 $\Delta\phi = \phi_p - \phi_s$, 环境噪声 ϕ_n 由相位相减而消去。

3 实验系统

所使用的实验系统如图 2 所示。光源为 $\lambda = 633 \text{ nm}$ 的氦氖激光器, 通过调节起偏器, 使 p 偏振光和 s 偏振光光强各为 50% (针对棱镜斜面为入射面); 之后光线由分束器 1 分为信号光和参考光。信号光以 SPR 角入射传感芯片 (结构如图 1 所示), 产生 SPR 现象。将棱镜安装在可以精确调节角度的旋转台上, 从而可以根据样品情况, 对入射角度进行微小调节。芯片上金膜表面制作有微流槽, 可使用微流泵控制液体流速, 以便加入样品从而调节在传感芯片上进行的生物学反应。微流槽封闭的环境以及微流泵恒定的流速降低了外界因素对于测量的影

响。参考光入射到安装在 PZT 上的反射镜上,通过 PZT 的移动,可以对参考光与信号光之间的光程差进行线性调节。之后参考光与信号光通过分束器 2 进行合束,合束后的光线通过 Wollaston 棱镜,将 p 光与 s 光分开,分别经透镜聚焦后进入光电探测器接收,这样就得到了由两种不同偏振态的光线各自干涉的信号。探测器接收到的光强随着 PZT 的移

动,即随着时间的变化而成正弦曲线变化,由此可以计算出 p 光及 s 光通过传感器头之后的相位变化。由于 SPR 现象只影响 p 偏振光,而不影响 s 偏振光,因此通过计算 p 偏振光(信号)和 s 偏振光(参考光)之间的相位差,将 p 与 s 光的相位进行时间轴上的点对点相减,就可以得到 SPR 的相位信息,从而计算得到所测样品的折射率变化。

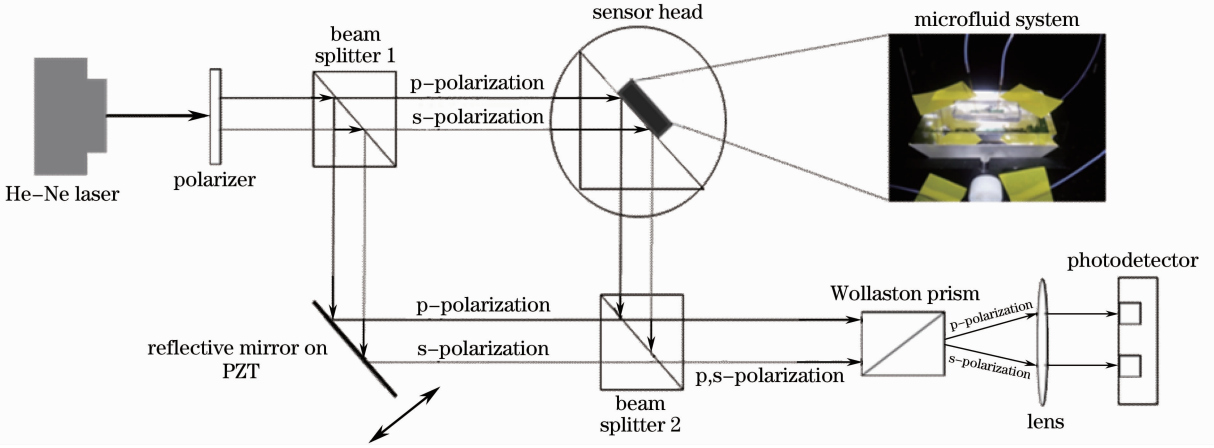


图 2 基于马赫-曾德尔结构的相位调制 SPR 传感器

Fig. 2 Phase modulation SPR sensor based on Mach-Zehnder configuration

4 实验系统的标定

由于系统目标是应用于生物分子的结合测量,因此需标定其应答单位(RU)与所测量的折射率单位变化的关系。由于系统的 RU 值即为 p 光与 s 光的相位差,因此首先对相位差与折射率的关系作一理论模拟,如图 3 所示。根据模拟结果,系统 1° RU 对应 10^{-5} RIU。

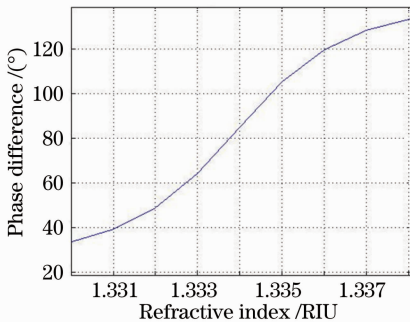


图 3 相位调制 SPR 传感器相位差与折射率的关系

Fig. 3 Relationship between phase difference and refractive index of phase modulation SPR sensors

根据氯化钠溶液折射率经验公式 $n = 1.3331 + 0.00185 \times c$,其中 n 为溶液折射率, c 为氯化钠的质量分数,配置了一系列不同折射率的氯化钠溶液,之后对系统进行了测量标定,如图 4 所示。由图 4 可

知, 10^{-5} RIU 的变化对应于 0.1° RU,因此在实际测量中,系统 $1 \text{ RU} = 10^{-4} \text{ RIU}$,这说明环境噪声的影响使得分辨率比理论灵敏度低了一个数量级。综合考虑系统所使用的各仪器性能,以及环境噪声、温度细微变化等因素的影响,本系统的分辨率可稳定保持在 10^{-5} RIU。

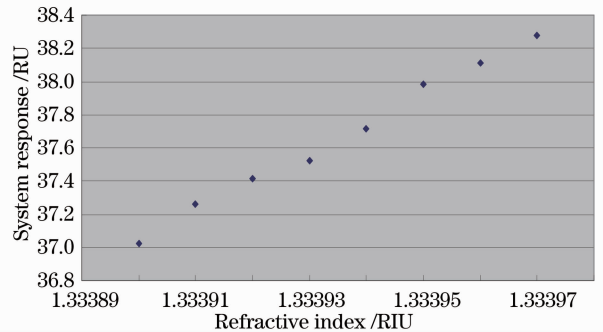


图 4 系统 RIU 与 RU 的关系

Fig. 4 Relationship between RIU and RU of the system

5 生物大分子结合反应的测量

使用自组装膜技术^[16],将牛血清白蛋白(BSA)分子定向固定于金片上,具体步骤为:先使用溶液[质量分数为 30% 的过氧化氢和质量分数为 96% 的硫酸,以 1:3(体积比)混合]对金片进行清洗;之后

使用 11-MUA 溶液(含有辛烷硫醇 1-OT 和含氢硫基的十一醇酸的乙醇溶液,两者的浓度均为 1~3 mmol/L)处理 4 h,11-MUA 的巯基能够共价结合金表面,其羧基末端能够结合抗原^[17];之后具有羧基末端的金片被此溶液激活;EDC[1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐,200 mmol],NHS(N-羟基琥珀酰亚胺,50 mmol)以及 50 mmol 浓度的 BSA 抗原,反应至少 15 min;最后用乙醇胺冲洗。这样就得到了表面包被有 BSA 的传感芯片。

使用微流控系统,将 0.1 μg/mL 的 EGF 抗体(非特异性抗体)及 BSA 抗体(特异性抗体)以 100 μL/min 的速度导入微流槽中,与 BSA 进行反应,反应结果如图 5 所示。在测量时间的前 20 min,由于刚刚注入抗体时,含有抗体的溶液仍在导管中,没有进入微流槽,因此没有和芯片上的抗原发生反应,所以图中两组数据结果相近。20 min 后,抗体溶液逐渐接触芯片,特异性抗体与 BSA 发生了反应,而非特异性抗体无反应,因此图中两组结果差距逐渐增大,并在测量时间 80 min 以后达到稳定,此时抗原基本都结合上了抗体,反应达到平衡,因此 RU 不再增加。

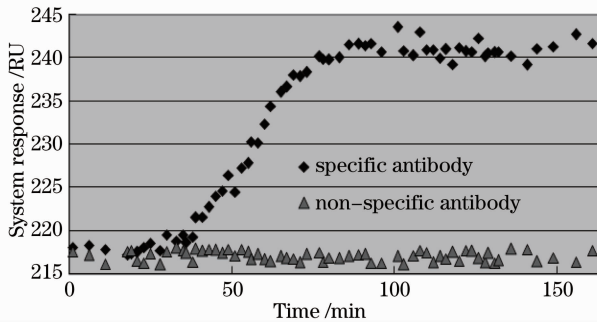


图 5 实时测量 BSA 与抗体的反应结果

Fig. 5 Results of real-time measurement of the reaction between BSA and antibody

SPR 传感器芯片上结合蛋白的质量与 RIU 的变化对应关系为:1 ng/μm² 对应 2.5RIU。从反应开始,直至进入平台期(达到反应平衡),系统应答值一共增加了约 25 RU。

系统 1 RU 对应 10⁻⁴ RIU,系统应答的变化量为 25 RU 时,对应的 RIU 一共变化了 2.5×10⁻³,因此整个测量过程中,芯片上免疫球蛋白 G(IgG)结合密度为 10⁻³ ng/μm²。由于 IgG 分子量约为 150 kD(即一个分子的质量为 2.5×10⁻¹⁸ g),因此芯片上每平方微米面积结合 IgG 分子个数为 4×10⁵ 个。系统的分辨率为 0.1 RU,经计算,对应

于 IgG 结合密度为每平方微米 160 个。

相对于传统的生物学检测技术,SPR 传感技术的最大优势在于能够对样品进行实时、无需标记物的检测,但分辨率往往是限制该技术应用的重要因素之一。采取相位调制型 SPR 传感器是提高分辨率的有效方法之一,研究中所使用的马赫-曾德尔结构有效降低了环境噪声的影响,进一步提高了系统分辨率。使用该系统实时测量了生物大分子的结合反应,为进一步将相位调制型 SPR 传感器应用于生物医学检测奠定了基础。

6 结 论

搭建了基于马赫-曾德尔结构的差分干涉 SPR 传感器,分析了该系统的工作原理;对系统 RU 值与所测量的 RIU 值之间的关系进行分析,并标定了系统的分辨率;最后使用该系统对生物大分子的结合反应进行了实时测量,将系统分辨率与生物大分子的结合密度相关联。研究结果为 SPR 传感器在生物医学研究中的应用提供了一定的参考。

参 考 文 献

- 1 K Park, J Ahn, S Y Yi, *et al.*. SPR imaging-based monitoring of caspase-3 activation[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2008, 368(3): 684-689.
- 2 T Mori, K Inamori, Y Inoue, *et al.*. Evaluation of protein kinase activities of cell lysates using peptide microarrays based on surface plasmon resonance imaging[J]. *Analytical Biochemistry*, 2008, 375(2): 223-231.
- 3 A M P B Seneviratne, M Burroughs, E Giralt, *et al.*. Direct-reversible binding of small molecules to G protein βγ subunits[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011, 1814(9): 1210-1218.
- 4 R G Hamilton, S S Saini, D MacGlashan. Surface plasmon resonance analysis of free IgE in allergic patients receiving omalizumab (Xolair) [J]. *J Immunological Methods*, 2012, 383(1-2): 54-59.
- 5 Zhang Bingxin, Chen Shufen, Fu Lei, *et al.*. A temperature-controlled tunable plasmonic dual-band absorber[J]. *Acta Optica Sinica*, 2012, 32(7): 0723005.
张兵心,陈淑芬,付雷,等.一种温控的可调表面等离子体光学器件[J]. *光学学报*, 2012, 32(7): 0723005.
- 6 Li Juan, Wang Bingyan, Xue Wenrui. Propagation properties of Y-splitters based on MIM surface plasmonic waveguides[J]. *Acta Optica Sinica*, 2012, 32(1): 0124002.
李娟,王冰艳,薛文瑞.基于 MIM 型表面等离子体光波导的 Y 形分束器的传输性能研究[J]. *光学学报*, 2012, 32(1): 0124002.
- 7 X L Yu, D X Wang, Z B Yan. Simulation and analysis of surface plasmon resonance biosensor based on phase detection [J]. *Sensors and Actuators B*, 2003, 91(1-3): 285-290.
- 8 R Naraoka, K Kajikawa. Phase detection of surface plasmon resonance using rotating analyzer method [J]. *Sensors and Actuators B*, 2005, 107(2): 952-956.
- 9 H P Ho, W C Law, S Y Wu, *et al.*. Phase-sensitive surface plasmon resonance biosensor using the photoelastic modulation

- technique[J]. *Sensors and Actuators B*, 2006, 114(1): 80–84.
- 10 Y H Huang, H P Ho, S Y Wu, *et al.*. Detecting phase shifts in surface plasmon resonance: a review[J]. *Advances in Optical Technologies*, 2012, 2012: 471957.
- 11 H P Ho, W W Lam, S Y Wu. Surface plasmon resonance sensor based on the measurement of differential phase [J]. *Rev Sci Instrum*, 2002, 73(10): 3534–3539.
- 12 Liu Chang, Zou Zhengfeng, Chen Shufen, *et al.*. Surface plasmon resonance sensor based on compact disk grating [J]. *Chinese J Lasers*, 2012, 39(3): 0314001.
刘畅, 邹正峰, 陈淑芬, 等. 基于光盘光栅的表面等离子体共振传感器[J]. *中国激光*, 2012, 39(3): 0314001.
- 13 Chen Qianghua, Luo Huifu, Wang Sumei, *et al.*. Gas refractive index measurement system based on a surface plasmon resonance sensor with self-adaptive structure for angle shift and phase detection[J]. *Acta Optica Sinica*, 2012, 32(12): 1212003.
陈强华, 罗会甫, 王素梅, 等. 基于相位测量的角漂移自适应结构表面等离子体共振气体折射率测量系统[J]. *光学学报*, 2012, 32(12): 1212003.
- 14 E Kretschmann. Die bestimmung optischer konstanten von metallen durch anregung von oberflächenplasmaschwingungen [J]. *Z Physik*, 1971, 241(4): 313–324.
- 15 Makos Born, Emir Wolf. *Principle of Optics, Eletromagnetic Theory of Propagation, Interference and Diffraction of Light* [M]. Beijing: Science Press, 1978.
马科斯·波恩, 埃米尔·沃耳夫. *光学原理, 光的传播、干涉和衍射的电磁理论* [M]. 北京: 科学出版社, 1978.
- 16 D Käfer, G Witte, P Cyganik, *et al.*. A comprehensive study of self-assembled monolayers of anthracenethiol on gold: solvent effects, structure, and stability[J]. *J Am Chem Soc*, 2006, 128(5): 1723–1732.
- 17 F S Damos, R Luz, L T Kubota. Electrochemical properties of self-assembled monolayer based on mono-(6-deoxy-6-mercapto)- β -cyclodextrin toward controlled molecular recognition [J]. *Electrochimica Acta*, 2006, 53(4): 1945–1953.

栏目编辑: 张 腾