

· 特邀综述 ·

# 基于光学表面波的折射率传感成像技术

张崇磊, 辛自强, 闵长俊, 袁小聪\*

深圳大学纳米光子学研究中心, 深圳市微尺度光信息技术重点实验室, 广东 深圳 518060

**摘要** 从表面波的原理、测量技术分类及关键性技术等多方面进行论述, 概括了基于全内反射、表面等离子体共振、石墨烯等多种光学表面波的折射率传感的历史发展, 进一步探讨了表面波折射率传感成像的技术优点。研究表明表面波传感成像作为一种高精度定量化的无标记显微成像技术, 在医学光学精准诊疗方面具有重要价值。

**关键词** 物理光学; 光学表面波; 传感成像; 表面等离子体共振; 石墨烯; 无标记显微成像

中图分类号 O439; O539

文献标识码 A

doi: 10.3788/AOS201939.0126009

## Refractive Index Sensing Imaging Technology Based on Optical Surface Wave

Zhang Chonglei, Xin Ziqiang, Min Changjun, Yuan Xiaocong\*

Nanophotonics Research Center, Shenzhen Key Laboratory of Micro-Scale Optical Information Technology,  
Shenzhen University, Shenzhen, Guangdong 518060, China

**Abstract** The principle of surface wave, classification of measurement technology and key technology are discussed. The historical developments of refractive index sensing based on total internal reflection, surface plasmon resonance, graphene and other optical surface waves is summarized. The technical advantages of surface wave refractive index sensing imaging are further discussed. The research results show that surface wave sensing imaging, as a high-precision quantitative label-free microscopic imaging technology, has important values in the accurate diagnosis and treatment of medical optics.

**Key words** physical optics; optical surface wave; sensor imaging; surface plasmon resonance; graphene; label-free imaging

**OCIS codes** 260.3910; 240.6690; 240.6680; 310.6845; 110.2970

## 1 引 言

可以将折射率定义为光在两介质中传播速率的比值, 它反映了光在介质中的传播特性, 一般分为相对折射率和绝对折射率。光的本质是电磁场, 当光在介质中传播时, 电磁场会引起材料电荷以相同频率振动(这一过程也被称为极化), 振动的电荷则辐射出相同频率的电磁波, 但和入射的电磁波有一定的相位差。相位差为 0 时, 光强增强, 表现为光的受激放大; 相位差为  $\pi/2$  时, 光波在介质中的传播减缓; 相位差为  $\pi$  时, 光强降低, 表现为光的吸收; 相位差为  $3\pi/2$  时, 光波在介质中的传播加快。相对于空

气或真空介质, 大多数材料的相位差在  $\pi/2 \sim \pi$  之间, 光波的传播速率减缓, 光强减弱, 也就对应材料的相对复折射率, 其实部大于等于 1, 其虚部不等于 0。因此, 光波是入射的电磁场波和电荷辐射的电磁波叠加的宏观表现, 折射率属于光传播的宏观参数特性, 极化是折射率产生的微观本质。

折射率作为材料的重要光学参数, 在研究光与物质相互作用, 光与结构相互作用的过程中, 具有重要的作用。当前折射率的测量方式多种多样, 总的可分为两大类: 折射率差值测量和折射率绝对测量。折射率差值测量法是通过测出被测折射率随某因素的改变或与标准参考件的折射率差。折射率的绝对

收稿日期: 2018-09-29; 修回日期: 2018-10-23; 录用日期: 2018-10-30

基金项目: 国家自然科学基金(61427819, 61422506, 61605118)、国家重点研发计划(2016YFC0102402)、国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2015CB352004)、深圳市科技创新委员会基础研究项目(JCYJ20160520161206020)、广东省“珠江人才项目计划”领军人才项目(00201505)

\* E-mail: xcyuan@szu.edu.cn

测量是通过高精度地测出某些参量来获得折射率。如 V 棱镜法<sup>[1]</sup>, 折射定律的测角法<sup>[2]</sup> (商用仪器有阿贝折射仪), 偏振差分法<sup>[3]</sup> (商用仪器有椭偏仪), 全内反射临界法<sup>[4-15]</sup> (本质上仍属于测角法), 光学干涉法<sup>[16-22]</sup>, 表面等离子体共振 (SPR) 法<sup>[23-27]</sup> 等。

在物理学中, 表面波是沿不同介质之间的界面传播的波场。光作为电磁波, 也可以作为“表面波”传播, 因为光可以被沿折射率梯度或沿具有不同介电常数的两种介质之间的界面引导, 表面波场中的电磁能不会转换成另一形式的能量 (除了泄漏或有损的表面波), 使得电磁表面波沿界面传播, 沿界面法线方向消逝。光学表面波的存在形式多种多样, 如全内反射界面的倏逝场, 贵金属薄膜表面的电子气与电磁场混合的振荡波 (即 SPR 表面波), 沿光折变介质表面自诱导传播的非线性光折变表面波<sup>[28-31]</sup>, 基于多层全介质多层膜结构截断面处的布洛赫表面波<sup>[32-36]</sup>。

基于光学表面波的折射率传感测量属于比较传统的高精度测量折射率方式。随着新型光学表面波的出现, 光学测量技术的不断进步, 基于光学表面波的折射率传感在灵敏度、带宽及速度测量等方面有较大提高。同时在技术不断融合的大背景下, 出现了大量将光学表面波扩展到成像技术或其他物理参量的联合测量技术中的研究。在生物医学中, 细胞折射率可以用来分析细胞核与核仁尺寸及空间分布, 标定或表征包括细胞固态质量、染色质含量、蛋白质浓度等, 还可用来研究特定的新陈代谢活动, 因此基于光学表面波的折射率测量在特定的研究中必不可少。本文重点介绍了基于光学表面波的折射率传感成像的研究进展, 突出光学表面波折射率传感测量作为一种无标记的显微成像手段, 可以充分应用于生物医学中, 并覆盖了从分子、细胞到组织的各个尺度<sup>[26]</sup>。

## 2 基础理论

先对光学表面波的基本特性、激发方式及传统光学表面波的成像原理进行介绍, 便于对光学表面波折射率传感成像技术进行更深层次的研究。

### 2.1 全内反射特性和倏逝场的基本理论

全内反射是一种非常重要的光学现象, 当一束光由光密介质进入光疏介质时, 如果入射角大于临界角, 就会发生全内反射现象, 即入射光全部被反射。发生全内反射时, 虽然透过光光强为零, 但在交界处仍有倏逝场分布, 沿交界面法线方向的场强呈指数衰减, 此倏逝场可以沿着交界面传播一段很

短的距离, 这段距离叫做 Goos-Hänchen 位移<sup>[37]</sup>。同时倏逝场仍具有以下特性: 1) 与入射电磁波的相速度相比, 倏逝场沿界面传播的相速度较小; 2) 入射角在临界角附近时穿透深度最大, 入射角越大穿透深度越小; 3) 倏逝波具有等相面和等幅面的特点, 同时倏逝场不是横波。

发生全内反射时, 不同偏振 (s 分量和 p 分量) 的相位变化不同, 其相位差  $\Delta\delta$  满足:

$$\Delta\delta = 2\arctan \frac{\cos \theta_1 \sqrt{\sin^2 \theta_1 - n^2}}{\sin^2 \theta_1}, \quad (1)$$

式中,  $\theta_1$  为入射角,  $n = \frac{n_2}{n_1}$  为光疏介质 ( $n_2$ ) 与光密介质 ( $n_1$ ) 的折射率比值。从 (1) 式可以看到, 在  $n$  一定的条件下, 适当地调节入射角度可以改变不同偏振光的相位, 从而起到改变反射光偏振状态的目的。同时, 通过固定入射角, 检测相位变化, 可以高精度地反推折射率的变化。

### 2.2 SPR 的基本理论

SPR 是一种倏逝的表面场, SPR 表面波是局限于金属表面的一种电磁振荡波。从麦克斯韦方程组可以推导出金属/介质分界面的表面等离子激元色散公式:

$$k_{\text{SP}} = k_0 \sqrt{\frac{\epsilon_1 \epsilon_2}{\epsilon_1 + \epsilon_2}} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_1 \epsilon_2}{\epsilon_1 + \epsilon_2}}, \quad (2)$$

式中  $k_{\text{SP}}$  为 SPR 表面波的波数,  $k_0$  为入射光场的波数,  $\epsilon_1$  为介质的介电系数,  $\epsilon_2$  为金属的介电系数,  $c$  为光速,  $\omega$  为光波的角频率。

金属介电常数的实部为负值, SPR 表面波的波数要大于自由空间入射光波数, 如图 1 所示, 因此入射光波无法直接在金属膜表面耦合激发 SPR。为了有效激发 SPR, 必须对激发光的波矢进行补偿, 满足激发所需的波矢匹配条件, 才能激发 SPR。SPR 激发有棱镜耦合<sup>[38-40]</sup>, 近场散射<sup>[41-42]</sup>, 波导耦合<sup>[43]</sup>, 光栅耦合<sup>[44]</sup>, 高数值孔径物镜激发<sup>[45-47]</sup> 等多种方式。基于 SPR 最为传统的应用就是生物医学传感, 通过检测折射率的微弱变化, 实现生物动力学过程的研究。现今广大研究者仍然从探测机制、提高灵敏度、动态范围、稳定性、成像分辨率、大通量等多个方面去改进去实现新型的 SPR 生物传感器。基于 SPR 的各种新应用也不断涌现, 如突破衍射极限的成像<sup>[48-50]</sup>、亚波长波导<sup>[51]</sup>、等离子激元刻蚀<sup>[52]</sup>、负折射率材料<sup>[53]</sup> 等。

### 2.3 石墨烯

石墨烯是单层碳原子呈蜂巢晶格排列而成的二

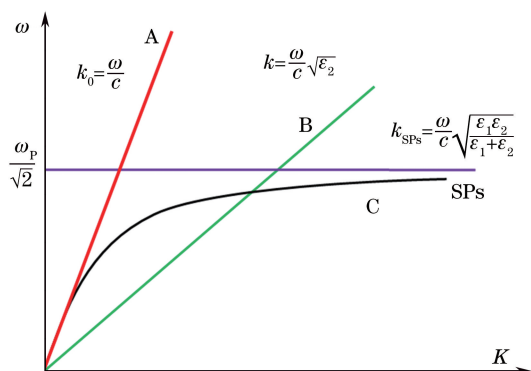


图 1 光在自由空间、电介质及表面等离子体波(SPs) 传输的色散关系曲线

Fig. 1 Dispersion relationship curves of light propagating in free space, dielectric and SPs

维新型材料<sup>[54]</sup>。目前石墨烯可以通过微机械剥离、液相剥离、还原氧化、化学气相沉积和化学合成等方法获得<sup>[55-59]</sup>。石墨烯具有独特的电学、光学、热学和机械特性,引起了研究人员的极大关注,各种各样的新型设计及应用相继出现。

石墨烯作为单原子层材料,具有高的光学吸收比例,可达到 2.3%,且这种吸收与入射光波长无关,特别在 300~2500 nm 波长范围内具有平滑的吸收,少层石墨烯对光的吸收具有线性叠加特性。进一步通过表面等离子体<sup>[60-62]</sup>、光学共振腔<sup>[63-64]</sup>和硅波导<sup>[65-66]</sup>等结构增强吸收,石墨烯在传感器件、光学器件和光电器件方面呈现优异特性<sup>[54]</sup>。

石墨烯在光的吸收过程中,表现出光偏振的选择吸收特性,即对 TM 波的吸收明显小于 TE 波。和 SPR 类似,这种现象主要是倏逝场-石墨烯-介质相互作用产生的结果。可以基于这一特性,将石墨烯应用于表面折射率的传感测量。与 SPR 传感检测相比,石墨烯材料是碳基材料,与生物的相容性更好。

### 3 表面波折射率传感的基本原理

表面波折射率传感可以采用多种机制实现信号检测,按探测光的物理参数可分为共振角度<sup>[67-68]</sup>、共振波长<sup>[69-70]</sup>、反射强度<sup>[71-72]</sup>和差分相位<sup>[73-75]</sup>4 类检测机制。表面波折射率传感的新技术都是基于传感单元的结构改进,再结合不同的检测机制,可实现更高灵敏度、更大动态范围的测量。

#### 3.1 强度检测机制

强度检测机制型表面波折射率传感是通过利用单色光激发表面波,同时测量某一固定角度处入射光波与表面波的耦合强度,并以光强作为传感器输出进行传感测量。具体实施过程如下:固定波长,且

将入射角固定为强度随入射角变化曲线中最大与最小之差的一半所对应的角度时,检测强度随传感器表面折射率的变化而变化,如图 2 所示。图 2 中  $n_s$  为初始测量折射率, $n_{s1}$  为测量折射率, $\Delta n$  为折射率变化量, $\Delta I$  为折射率变化引起的强度变化。这种强度调制装置结构简单,系统稳定,但同时受光源浮动的影响较大,灵敏度有限,在实际应用中可以通过差分探测的方式,降低光源浮动的影响。

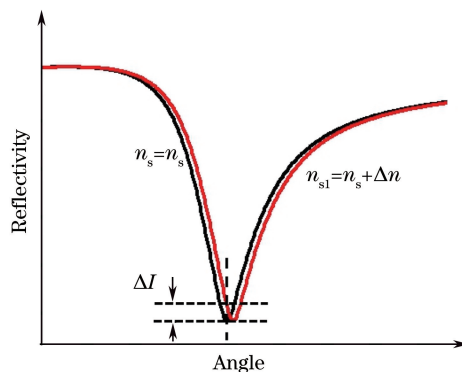


图 2 基于光学表面波的强度检测机制示意图

Fig. 2 Schematic of intensity detection mechanism based on optical surface wave

#### 3.2 角度检测机制

在现有的报道中,很多商用 SPR 测量仪器均采用角度检测机制,结构也主要是基于棱镜耦合的全内反射结构。其原理为当入射光以一定角度入射到高折射率介质界面时,倏逝场耦合可引起入射光的剧烈减弱。不同的入射角,会对应不同的能量耦合效率,如图 3 所示,其中在等离子体共振角处反射光强度最低, $\Delta\theta$  为折射率变化量  $\Delta n$  导致的共振角的变化量。改变表面样品的折射率,即 SPR 表面波的波数,反射光的强度分布也会发生变化。通过监测反射光分布中最弱强度对应角度的变化,反推出

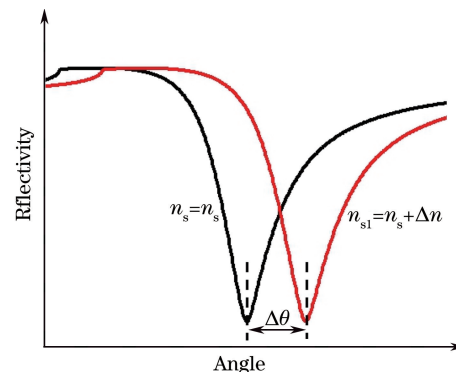


图 3 基于光学表面波的角度检测机制示意图

Fig. 3 Schematic of angle detection mechanism based on optical surface wave

样品的折射率。也可以采用多角度同时测量,采用圆柱透镜聚焦形成楔形光束再照射到金属薄膜来激发 SPR,此种方式可以增快测量速度,增大测量通量,但只能针对特定折射率范围进行测量。

### 3.3 波长检测机制

激发表面波需要波矢匹配条件,在相同角度入射,相同高折射率介质中,不同波长的入射光的波矢不同,因此可以采用波长调制来实现表面波的折射率传感。利用一束宽波段准直光束激发表面波,并保持固定角度入射到金属薄膜上。通过光谱仪测量不同波长与表面波的耦合强度,并以耦合效率最高的波长作为传感参数输出,如图 4 所示,从而由此波长反推出样品的折射率变化,  $\Delta\lambda$  为折射率变化量  $\Delta n$  导致的共振角的变化量。从传感单元出射的光经由光谱仪进行分析,光谱仪的分辨率同时也决定了系统的灵敏度极限。若以 0.02 nm 作为波长测量分辨率,模拟结果表明当谱窗为 630 nm 左右时,光谱型 SPR 传感系统的灵敏度极限为  $2 \times 10^{-5}$  RIU<sup>[25]</sup>,而更高的光谱分辨率可提供更好的测量灵敏度。

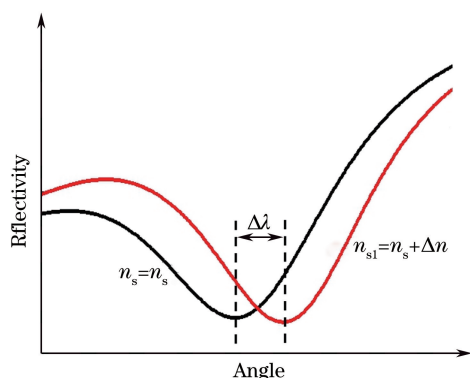


图 4 基于光学表面波的波长检测机制示意图

Fig. 4 Schematic of wavelength detection mechanism based on optical surface wave

### 3.4 相位检测机制

当表面波与入射光波矢匹配时,不仅光强变

化,其相位也会发生突变。对于 SPR 传感,其相位突变的梯度及大小取决于金属膜的种类及厚度。由于相位型 SPR 生物传感器在共振角附近会发生巨大的相位突变,该测量方法可得到比角度、光谱和强度调制型 SPR 生物传感器更高的测量灵敏度<sup>[76]</sup>,但由于其相位变化范围窄,即测量的动态范围较小,目前尚无商业的相位型 SPR 生物传感器。图 5 中,  $\Delta\varphi$  为折射率变化量  $\Delta n$  导致的共振角的变化量,反映 SPR 在等离子体共振角处的相位突变特性。

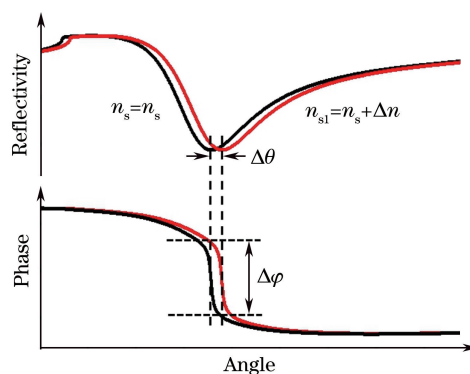


图 5 基于光学表面波的角度检测机制(上)和相位检测机制(下)对比示意图

Fig. 5 Contrast schematic of angle detection mechanism and phase detection mechanism based on optical surface wave

角度调制和光谱调制机制的相关商用仪器均已出现,且在生命医学领域得到广泛应用。但基于 4 种调制方式各自的原理,限制了彼此作为传感器的检测参数范围,表 1 所示为基于 SPR 不同检测机制的传感参数的比较。由表 1 可知:相位测量具有最大的测量灵敏度,但可测量的动态范围最小;光谱测量具有最大的测量动态范围,但测量灵敏度有限;将角度测量机制与相位测量机制相结合,可以进一步扩展测量仪器的工作范围。

表 1 基于不同检测机制的传感测量参数比较<sup>[77]</sup>

Table 1 Comparison of sensor measurement parameters based on different detection mechanisms<sup>[77]</sup>

Structure	Measurement parameter	Response unit	Multidata noise restraint	Minimum discernible signal	Refractive resolution / RIU	Dynamic range / RIU	Big flux measurements capacity
Intensity	Reflection luminous intensity		No		$10^{-5}$	0.05	Excellent
Angle	Angular depression position	$2 \times 10^2$ (°) /RIU	Yes	$10^{-4}$ °	$5 \times 10^{-7}$	0.1	Medium
Spectra	Wave crest depression location	$10^4$ nm /RIU	Yes	$10^{-2}$ nm	$10^{-6}$	$>0.1$	Medium
Angular spectral binding	Angular spectrum depression		Yes		$<10^{-5}$	0.1	Excellent
Phase	Phase change	$\sim 10^5$ (°) /RIU	Yes	$10^{-3}$ °	$\sim 10^{-8}$	0.0005 -0.05	Excellent

## 4 表面波折射率传感成像研究

作为一种高灵敏度、无接触的光学传感手段,基于表面波的折射率传感被广泛应用于分子偶联的检测,这对生物医学研究具有重要的价值。将基于单点的表面波传感进一步扩展实现扫描成像,可作为一种新型的无标记成像技术。

### 4.1 基于全内反射表面波的折射率传感研究

使用全内反射表面波进行折射率测量工作的历史很长。在 1984 年,Meeten 等<sup>[4]</sup>报道了基于全内反射临界角法测量各向异性材料吸收的研究。1991 年,Anderson 等<sup>[5]</sup>利用全内反射装置测量了温度变化的光反应单体的折射率变化。1994 年,Zhang 等<sup>[6]</sup>提出一个导数全内反射方法,即利用得到的反射率函数对入射角进行求导,其导数取最大值时对应的入射角度就是临界角,临界角对应反射率曲线变化最快的位置。利用这个方法测量出一种生物薄膜细菌视紫红质在多个波长下的折射率数值。1995 年,Mohammadi 等<sup>[7]</sup>使用导数全内反射法测量了全脂牛奶和匀质化奶油的折射率。同年,Meeten 等<sup>[8]</sup>用全内反射法测量了透明、吸收和弱散射物质的复折射率。1996 年,谢树森课题组<sup>[9-10]</sup>利用全反射方法测量了人体血液、猪肉、猪的脂肪及鸡蛋等生物组织的折射率,并提出了会聚光测量折射率的方法,在装置中使用了柱面镜和半圆柱透镜,测量了乙醇、新鲜的人体血液和不同型号玻璃的折射率。2005 年,南京理工大学的 Lai 等<sup>[12]</sup>用全内反射法测量了鸡肝、猪脂肪组织的折射率,并提出了估算不同浓度溶液折射率的经验公式。2017 年,Kevin 等<sup>[78]</sup>基于高数值孔径物镜实现了近表面细胞折射率分布显微成像,成像深度为 150 nm,横向分辨率为 1  $\mu\text{m}$ 。

### 4.2 基于 SPR 表面波的折射率传感成像研究

基于 SPR 的折射率传感实现了具有  $10^{-6} \sim 10^{-8}$  RIU 的超高精度折射率测量,结合生物医学特异性标记技术,为生物医学提供了超低的检出限(介于皮摩尔与飞摩尔之间),被认为是当今实用化最强、最有可能实现单分子检测的技术之一。在研究领域,主要是对创新型技术的探索,进一步提高传感器的灵敏度、动态范围及折射率成像的分辨率等参数,当然也在向集成化、联合应用方向发展,出现了多个技术研究方向。

#### 4.2.1 基于光纤的 SPR 折射率传感

SPR 传感器利用光纤技术,实现仪器小型化发展,同时具有光纤的强抗电磁干扰能力以及可实现

数据的远程采集和连续在线监控等特点。大多数光纤的包层为玻璃材料,通过光纤刻蚀、拉锥、侧抛及加工光栅等微纳加工手段,倏逝场可到达玻璃包层表面并激发 SPR。最早在 1993 年,Jogenson 等<sup>[24]</sup>就研究了 SPR 光纤传感器,折射率分辨率约为  $5 \times 10^{-5}$  RIU;2005 年,Chiu 等<sup>[79]</sup>设计了“D 型”光纤传感器,实现了外差干涉测量;2009 年,美国普渡大学的 Eum 等<sup>[80]</sup>设计了可变波长的 SPR 生物传感器,采用白色光源,多模光纤收集,被应用于沙门氏菌抗体-抗原反应的检测;2010 年,Sonia 等<sup>[81]</sup>利用一套波长检测型 SPR 传感器检测了水中的微囊藻毒素,采用四通道设计,4 个通道的折射光通过自聚焦透镜被收集到一个光纤检测单元中;2010 年,日本学者 Yanase 等<sup>[82]</sup>搭建了一个光纤 SPR 装置用于检测活细胞与蛋白质分子的相互作用。2012 年,Schuster 等<sup>[83]</sup>采用长周期光纤光栅制作了单一包层激发模式的 SPR 传感器;2015 年,Guo 等<sup>[84]</sup>采用倾斜光纤光栅制作了一种 SPR 传感器,并进行了大量的生化检测研究。

#### 4.2.2 多通道的 SPR 表面波折射率传感

在实验室,也可通过设计微流控芯片,实现多通道的测量,基于多通道的测量可以实现多组分同时的 SPR 传感测量,并可以进一步提高检测灵敏度。在 1988 年,Rothenhäusler 等<sup>[85]</sup>报道了基于 Kretschmann 机构的 SPR 多通道传感,并重新定名为 SPR 成像 (SPRI)。1999 年,Com 等<sup>[86]</sup>在研究 SPR 成像时,通过使用超连续光源和一个近红外 (NIR)窄通带滤光器,成功消除了 He-Ne 激光器所带来的寄生性干涉的干扰,并使用此 SPR 成像技术检测了浓度为 10 nmol/L 的 18 个碱基的寡核苷酸的杂交(折射率分辨率达到  $10^{-5}$  RIU);2003 年,Fu 等<sup>[87]</sup>研究的 SPR 成像装置是采用倾斜干涉滤光器来控制传感器的光源波长,波长为 853 nm,SPR 成像装置的折射率分辨率可达到  $3 \times 10^{-5}$  RIU;2005 年,Zybin 等<sup>[88]</sup>设计了一种双波长 SPR 成像装置,其折射率分辨率为  $2 \times 10^{-6}$  RIU;2004 年,Shumaker-Parry 等<sup>[89]</sup>利用高通量 SPR 成像装置研究固定到表面上的  $10 \times 2$  阵列的双链 DNA (Deoxyribonucleic acid)与其结合的蛋白质相互作用的情况,传感器的折射率测定分辨率达到  $2 \times 10^{-5}$  RIU。

#### 4.2.3 基于相位机制的 SPR 折射率传感

基于相位测量机制的 SPR 传感的检测灵敏度在理论上是多种测量机制中最高的,但其动态范围

较窄,所以诸多研究的重点在于扩展 SPR 相位检测的动态范围。由于光电探测器不能对相位进行探测,一般采用光外差技术或干涉测量进行相位检测。1996 年,Nelson 等<sup>[73]</sup>提出第一台相位调制型 SPR 生物传感系统,该系统主要基于外差相位测量技术;2005 年,Su 等<sup>[90]</sup>提出采用液晶调制的手段来实现共光路相移测量 SPR 相位,避免了环境的干扰;2007 年,Law 等<sup>[91]</sup>采用光弹性调制手段,从调制频率二次及三次谐波中检测出 SPR 相位变化。关于相位干涉测量的报道也有很多,如 1997 年,Kabashin 等<sup>[74,92]</sup>首次实现相位调制测量 SPR 相位,在光路中引入 Mach-Zehnder 干涉。2004 年,香港中文大学的 Wu 等<sup>[93]</sup>在基于 Mach-Zehnder 干涉的结构中引入沃拉斯顿棱镜,实现了偏振差分干涉技术并进一步提高了相位检测的灵敏度,实现了  $5.5 \times 10^{-8}$  RIU/ $0.01^\circ$  的高灵敏度,由于在光谱中同时具有 p 偏振和 s 偏振的分量,环境对于光路相位的影响会同时体现在两个分量上,通过差分测量,可以极大减少环境的干扰,严格得到 SPR 对于 p 偏振光引起的相位变化。Yuan 等<sup>[94]</sup>在多年关于表面等离子体相位传感研究的基础上进一步采用多通道测量的方法来提高系统的灵敏度,通过在光路中加入半透半反镜,其中探测的一路需要两次经过 SPR 传感单元,这样就使得单相位分辨率所对应的折射率变化值加倍,系统的灵敏度提高。2012 年,清华大学余兴龙课题组<sup>[95]</sup>建立了一套差分干涉成像的 SPR 传感器,采用双 CCD(Charge coupled device)进行干涉成像,得到超过 0.015 RIU 的动态监测范围,  $4.5 \times 10^{-7}$  RIU 的折射率分辨率。

相位检测机制也可与其他检测机制结合,从而扩展其动态范围。2010 年,Ng 等<sup>[96]</sup>采用光谱与相位结合进行 SPR 传感测量,采用白光光源,即大的动态测量范围,灵敏度达到  $2.2 \times 10^{-7}$  RIU。当然也可将角度测量与相位测量结合,进一步提高 SPR 相位测量的动态范围,2011 年,Huang 等<sup>[97]</sup>将两者

结合起来,扩大了 SPR 相位检测的动态范围,达到 0.06 RIU,在光路中引入了柱面透镜,将入射角由单一 SPR 激发角扩展至  $63.5^\circ \sim 78.5^\circ$ (涵盖 SPR 激发角),增大了相位机制测量折射率的测量动态范围。

#### 4.2.4 基于 SPR 折射率传感与其他设备联用

将 SPR 传感器与其他设备联用,可实现多维信息获取,提高检测能力。可以将 SPR 传感与普通显微技术、微流控技术、纳米粒子技术等结合,发挥各自优势,其应用范围覆盖了药学、化学、工程学和环境及生物学等热门领域。Arima 等<sup>[98]</sup>将 SPR 装置与一个全内反射荧光显微镜相结合,监测了整个细胞黏附过程,同时也获得了细胞黏附过程中基底与蛋白相互作用的动力学信息。Grigorenko 等<sup>[99]</sup>将 SPR 装置与暗场技术相结合,形成暗场的 SPR 显微技术,测量了阵列分布的样品。Kabashin 等<sup>[100]</sup>基于 Kretschman 结构在金属薄膜表面沉积纳米棒,采用角度测量方式,检测灵敏度达到 30000 nm/RIU。Ohlsson 等<sup>[101]</sup>将原子力显微镜与 SPR 传感结合在一起,原子力显微镜可以观察样品的表面形貌,而 SPR 传感能够进行实时检测,如实时和原位研究材料表面与蛋白质的相互作用,还可以进行吸附的动力学分析。中国科学院长春应用化学研究所 Kang 等<sup>[102]</sup>将电化学与 SPR 联用实现了对导电聚合物的生长过程及其掺杂和非掺杂行为苯胺的电聚合反应的研究。Yuk 等<sup>[103]</sup>搭建了以白光为主的扫描 SPR 显微镜,可对蛋白质阵列进行高空间分辨率分析,并可通过共振波长的改变来分析蛋白之间的相互作用。

#### 4.2.5 基于 SPR 折射率传感成像

SPR 传感由于具有高的灵敏度而得到广泛关注,在一般的传感应用中,SPR 探测的是大的样品区域的平均效应。2001 年,Dawson 等<sup>[104]</sup>报道了使用扫描隧道显微镜测量基于棱镜耦合的全内反射结构的 SPR 传输距离,采用 633 nm 激光激发,得到的传输距离为 13.8  $\mu\text{m}$ 。受限于 SPR 波在金属表面具有长的传播距离的特点,SPR 成像分辨率很难突破 1  $\mu\text{m}$ 。

表 2 基于全内反射结构的 SPR 成像分辨率

Table 2 SPR imaging resolutions based on total internal reflection structure

Reference	Experimental factor			Resolution
	Metal layer	Wavelength	Sample	
Ref.[105]	56 nm Ag	633 nm	Dielectric	25 $\mu\text{m}$
Ref.[85]	50 nm Ag	633 nm	CadA multilayer	Few microns
Ref.[106]	5.5 nm Cr/41 nmAg	633 nm	Lipid monolayer	5 $\mu\text{m}$
Ref.[107]	50 nm Ag	White light	CuPc film	Few microns
Ref.[103]	45 nm Au	White light	Protein array	54 $\mu\text{m}$
Ref.[108]	53 nm Ag	633 nm	Biological cells	40 $\mu\text{m}$

1998年, Kano等<sup>[45]</sup>提出利用高数值孔径物镜激发SPR, 由于此种结构的SPR表面波向内传播,

会发生干涉, 可减小SPR表面波的传播距离, 如图6所示。

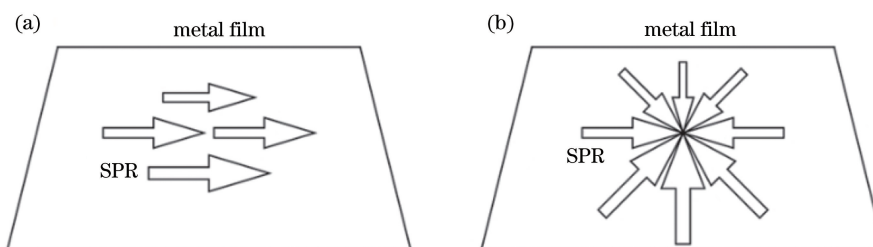


图6 不同SPR激发结构的SPR表面波的传播方向。(a) Kretschmann结构或Otto结构;(b)高数值孔径物镜聚焦结构  
Fig. 6 Propagation direction of SPR surface waves excited by different SPR. (a) Kretschmann structure or Otto structure;  
(b) focusing structure of high numerical aperture objective lens

2006年, Zhan等<sup>[109]</sup>从理论上计算得到径向偏振光在高数值孔径聚焦下, 可以在银膜表面实现SPR驻波干涉, 从而形成倏逝贝塞尔光, 其峰值半峰全宽约为 $0.343\lambda$  ( $\lambda = 633\text{ nm}$ ), 这一尺度已经小于衍射极限, 更小于SPR表面波的传输长度。因此, 采用高数值孔径物镜紧聚焦激发SPR可以提高SPR成像的分辨率。2008年, Moh等<sup>[46]</sup>基于显微聚焦结构激发SPR, 通过检测后焦面上暗环大小的变化, 实现了单点折射率测量, 并通过二维扫描实现了SPR成像, 如图7所示, 细胞具有清晰的轮廓, 并与普通光学显微镜的图像轮廓匹配, 说明基于显微聚焦结构的SPR成像的分辨率好于基于全内反射Kretschmann结构的SPR成像的分辨率, 成像分辨率小于 $1\ \mu\text{m}$ 。

术实现了基底表面单细胞的成像, 并调节渗透压作为可控机械刺激, 确定了细胞与基底的黏附部位。2014年, Peterson等<sup>[112]</sup>通过前置透镜将光源聚焦为单个点源以及部分填充Obj-SPM (Objective-surface plasmon microscopy) 物镜入瞳的方式, 提高激发效率, 观察到了黏着斑、细胞核和细胞分泌物等。图8为SPR成像示意图, 表明SPR成像具有更多的局域生物细节信息, 如在SPR图像中的线扫描可以被分离成4个不同的图像特征: 纤维连接蛋白(FN)涂层的基底、细胞外沉积材料(ECM)、基底细胞表面和局灶粘连。

2015年, Wang等<sup>[113]</sup>基于SPR表面波传感折射率探测, 利用不同声压在液体中引起折射率的微弱变化, 实现了 $5.2\ \text{kPa} \sim 2.1\ \text{MPa}$ 声压信号的检测, 频带宽度为 $680\ \text{kHz} \sim 126\ \text{MHz}$ , 并初步应用于黑色素瘤细胞的光声成像, 如图9所示。并进一步与多个不同中心频率与带宽的超声换能器在测量带宽上进行比较, 验证了基于SPR表面波的声信号测量具有百兆赫兹的带宽, 满足折射率响应与声信号强度的线性关系。

### 4.3 基于石墨烯表面波的折射率传感研究

#### 4.3.1 石墨烯表面波折射率传感

在2011年, Ang等<sup>[114]</sup>利用石墨烯的电学特性随待测电介质环境灵敏变化的性质, 通过测量细胞的表面电荷密度, 实现了基于电学测量方法的折射率传感。2011年, Bao等<sup>[115]</sup>发现了石墨具有光学偏振选择吸收特性, 即石墨烯对s偏振光的吸收远远大于对p偏振光的吸收。在2013年, 复旦大学资剑教授课题组<sup>[116]</sup>也报道了石墨烯基的这一偏振吸收增强效应。随后, Pirruccio等<sup>[117]</sup>验证, 当石墨烯基上层介质折射率与下层介质折射率相差 $0.02$ 时, 单层石墨烯基对s偏振光的吸收甚至超过了 $75\%$ 。

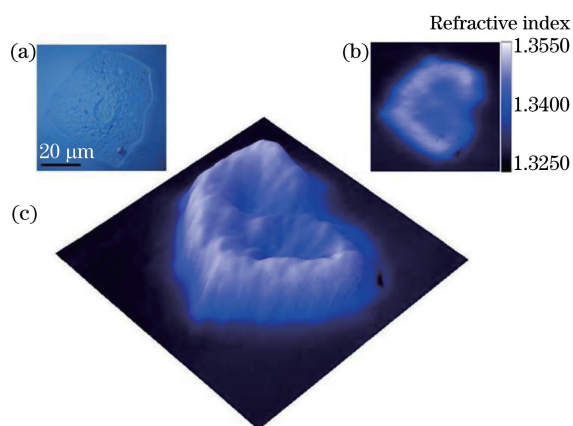


图7 表皮细胞的图像<sup>[46]</sup>。(a)利用普通光学显微镜得到的图像;(b)SPR成像得到的图像;(c)利用SPR成像得到的折射率分布的立体图像

Fig. 7 Images of epidermal cells<sup>[46]</sup>. (a) Images obtained by ordinary optical microscopy; (b) images obtained by SPR; (c) stereoscopic images of refractive index distribution obtained by SPR

2012年, 美国Wang等<sup>[110-111]</sup>利用SPR成像技

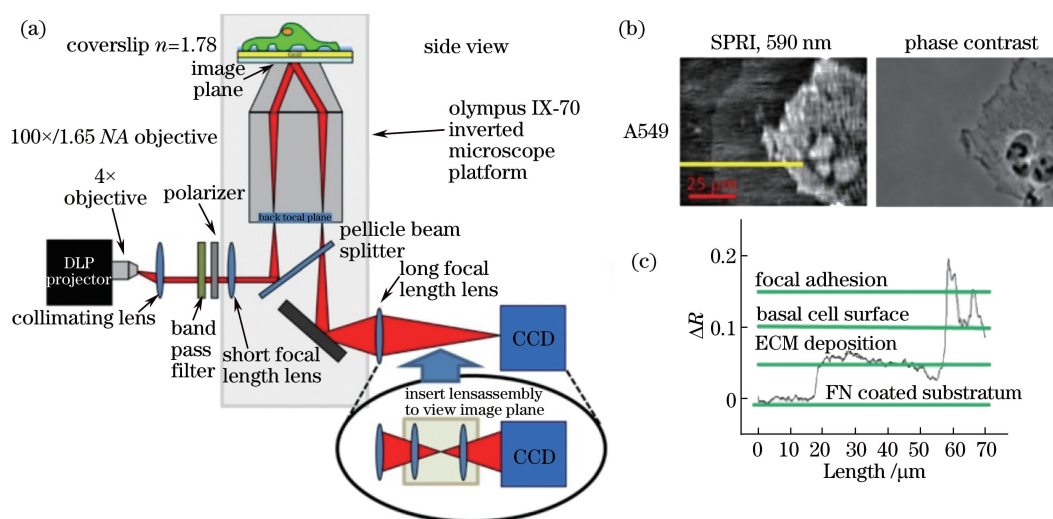


图 8 单细胞的 SPR 成像示意图<sup>[112]</sup>。(a)原理示意图;(b) SPR 图像与相衬图像;(c) SPR 图像的线扫描图  
 Fig. 8 SPR imaging of single cell<sup>[112]</sup>. (a) Schematic; (b) SPR image and phase contrast image;  
 (c) line scanning map of SPR images

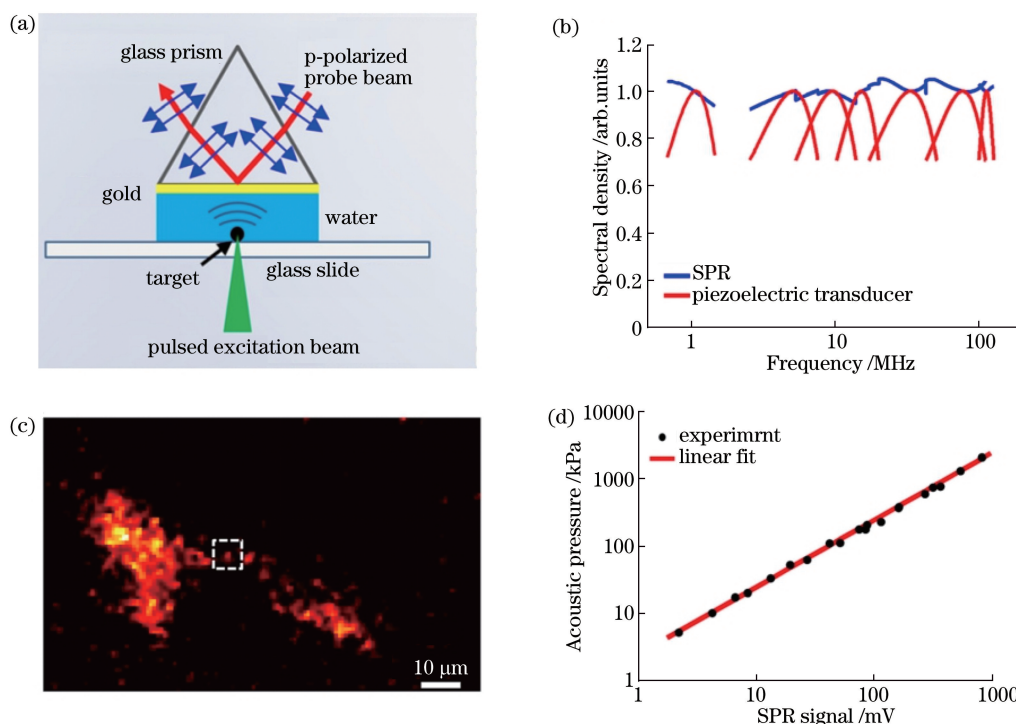


图 9 基于 SPR 传感的声信号检测系统<sup>[113]</sup>。(a)检测系统示意图;(b)所设计系统与不同超声换能器得带宽对比曲线图;  
 (c)黑色素瘤细胞的光声图像;(d)基于 SPR 的折射率响应与声压信号的关系图  
 Fig. 9 Acoustic signal detection system based on SPR sensing<sup>[113]</sup>. (a) Schematic of detection system; (b) contrast curves  
 of bandwidth between designed system and different ultrasonic transducers; (c) photoacoustic image of melanoma  
 cells; (d) relation diagram between refractive index response and sound pressure signal based on SPR

在 2014 年, Xing 等<sup>[118]</sup>将石墨烯的偏振选择吸收特性应用于细胞的折射率成像, 石墨烯三明治结构 ( $n_1$ /石墨烯/ $n_2$ )中, 石墨烯表现出偏振吸收效应, 对 p 偏振光的吸收明显小于对 s 偏振光的吸收。固定入射角度(大于全内反射角), 对于不同的折射率 ( $n_2$ )介质, 反射率中 p 偏振和 s 偏振的反射率的差

值不同, 介质折射率  $n_2$  越大, p 偏振与 s 偏振差值越大。深圳大学袁小聪课题组<sup>[119-120]</sup>在石墨烯基传感的应用方面做了一些研究工作, 将石墨烯基传感应用于  $\text{NO}_2$  气体检测、细胞折射率分布的测量、气体多参量的检测等研究中。图 10 为基于石墨烯测量气体流速的示意图, 图中  $P_0$ 、 $P_1$ 、 $P_2$  为不同区域



的声压值。改变检测单元两端气体的压力，即改变气体的流向和流速时，可以准确且迅速地实现测量。

在石墨烯基表面涂覆气体吸收介质，可进一步针对特定气体进行传感检测，如利用石墨烯基的碳

基易于与有机物结合的特点，将石墨烯基表面涂覆易于吸附  $\text{NO}_2$  的物质，如磺基化合物，进行  $\text{NO}_2$  的检测，还可实现微量气体的检测，检出限可达到  $2.8 \times 10^{-7}$ ，如图 11 所示。

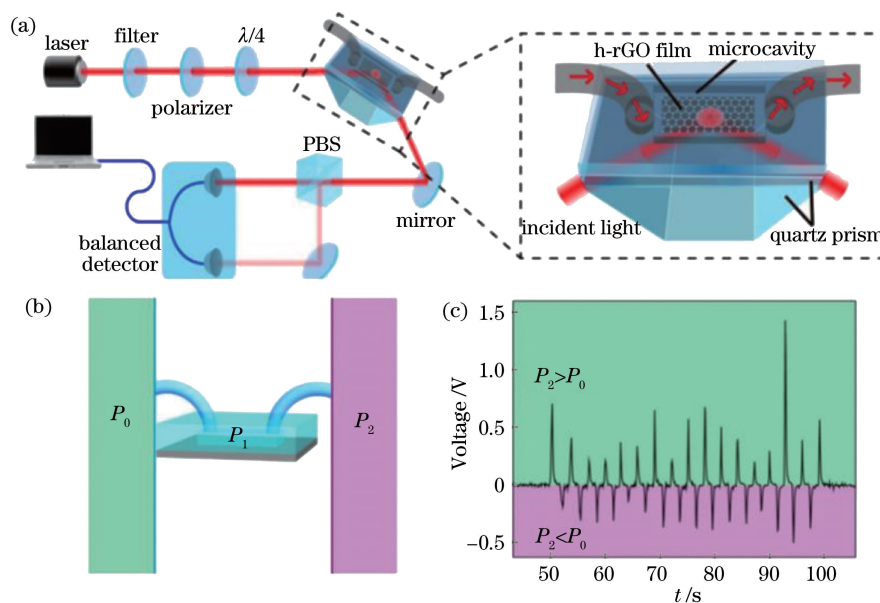


图 10 基于石墨烯表面波测量气体流速系统<sup>[119]</sup>。(a)测量系统示意图；(b)气体流向示意图；(c)气流方向的时间-电压信号曲线

Fig. 10 Gas flow velocity measurement system based on graphene surface wave<sup>[119]</sup>. (a) Schematic of measurement system; (b) flow direction diagram; (c) time-resolved voltage signals for gas flow direction

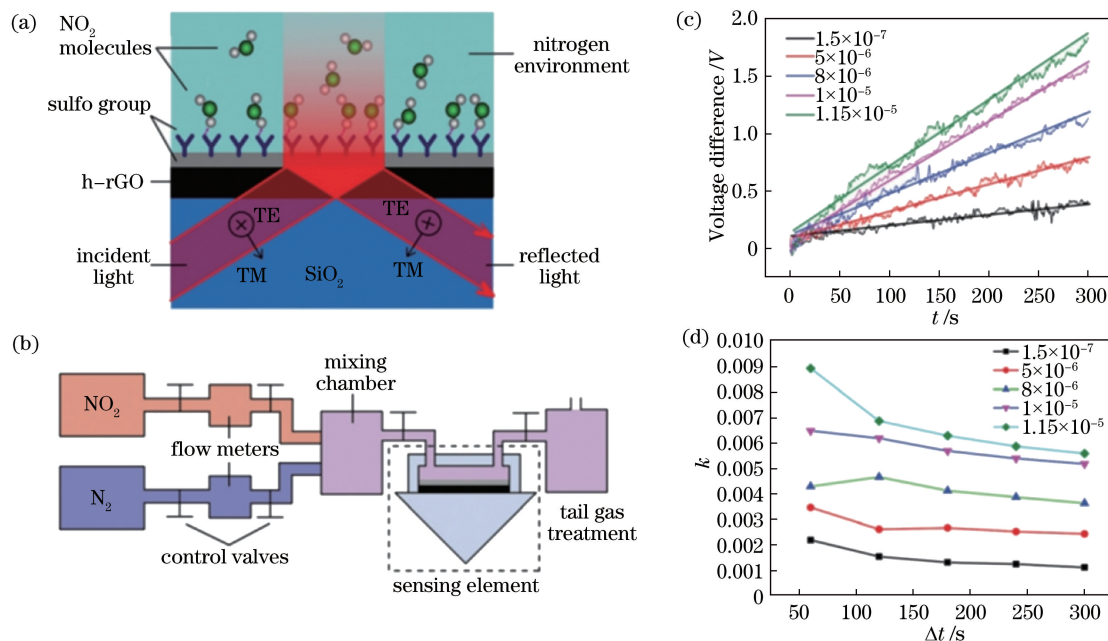


图 11 基于石墨烯表波结构吸附式测量  $\text{NO}_2$  系统示意图<sup>[120]</sup>。(a)光学气体传感器原理图；(b)用于  $\text{NO}_2$  传感的气体控制和传感单元测量系统结构示意图；(c)不同  $\text{NO}_2$  含量的检测结果；(d)不同时段不同浓度的斜率曲线图

Fig. 11 Schematic of  $\text{NO}_2$  content measurement based on graphene surface wave structure adsorption<sup>[120]</sup>. (a) Principle diagram of optical gas sensor; (b) schematic of gas control and sensor unit measurement system for  $\text{NO}_2$  sensing; (c) detection results of different  $\text{NO}_2$  contents; (d) slope curves of different concentrations in different periods

2014年,Zagorodko等<sup>[121]</sup>利用石墨烯修饰的SPR传感器实现了对DNA的埃摩尔级的检测。2015年,Singh等<sup>[122]</sup>将单层石墨烯转移至金膜表面,用于SPR的信号放大,并实现了石墨烯修饰的SPR传感器对抗霍乱毒素的灵敏检测。2017年,He等<sup>[123]</sup>利用光刻胶辅助实现了多层石墨烯向SPR传感器表面转移,实现了叶酸受体的测量。

#### 4.3.2 基于石墨烯表面波的折射率成像

将石墨烯的偏振选择吸收特性应用于光学聚焦显微结构中,基于共光路差分探测系统,实现了高空间分辨率和高折射率灵敏度的折射率成像。在可见光波段,石墨烯对s偏振光的吸收远大于对p偏振光的吸收。利用该性质,袁小聪课题

组<sup>[124-125]</sup>在光学显微系统中将一束线偏振完美光学旋涡(POV)光束紧聚焦于石墨烯表面,通过探测反射光斑上不同偏振区域的强度变化,如图12(a)和(b)所示,成功实现了对于附着在石墨烯表面的人体结肠细胞的无标记折射率成像。光学系统的成像空间分辨率和折射率灵敏度分别达到 $0.86\ \mu\text{m}$ 和 $9.25\times 10^{-4}$  RIU,可很好地区分出正常细胞与癌变细胞的折射率差异。该研究工作对临床上细胞分选、细胞癌变程度辨别、癌症早期诊断等工作具有潜在的应用价值。基于石墨烯表面波的折射率成像也可用于对活体细胞的动态监测,如图12(c<sub>0</sub>)~(c<sub>4</sub>)所示,实现了对细胞有丝分裂过程的动态监测。

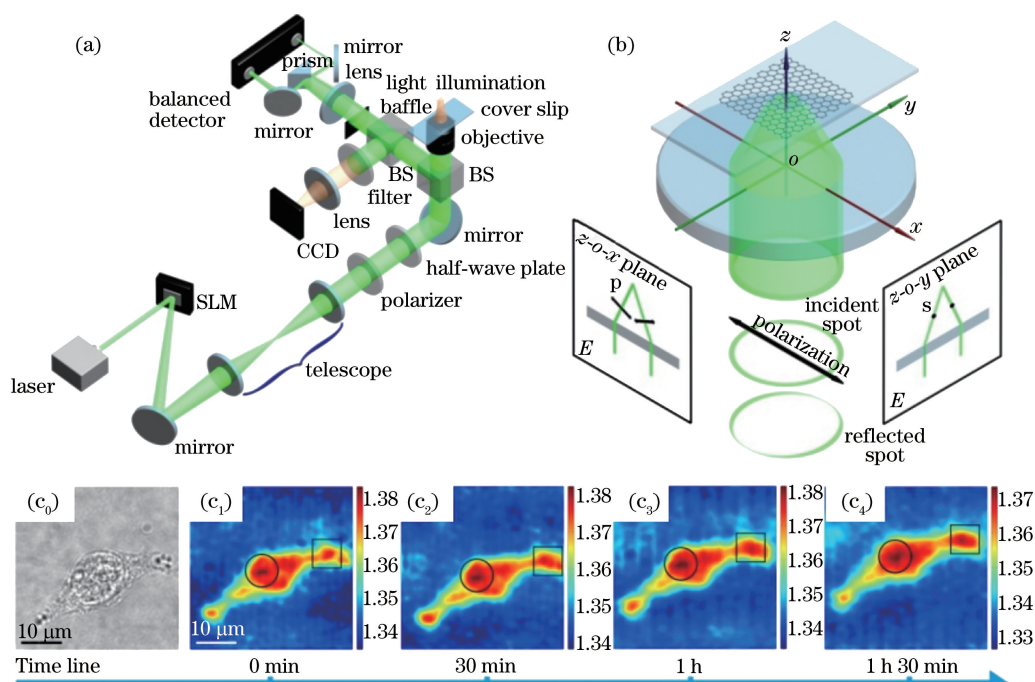


图 12 基于石墨烯表面波测量细胞表面折射率的系统<sup>[125]</sup>。(a)系统结构示意图;(b)偏振分析原理图;(c<sub>0</sub>)~(c<sub>4</sub>)细胞的有丝分裂过程

Fig. 12 System for measuring the refractive index of cell surface based on graphene surface wave<sup>[125]</sup>. (a) Schematic of the system structure; (b) schematic of polarization analysis; (c<sub>0</sub>)-(c<sub>4</sub>) mitosis process of cells

与SPR传感类似,基于石墨烯的折射率传感也可应用于光声成像领域,开展基于石墨烯表面波的新型超高灵敏度、超宽带光声显微成像研究。2013年,Sheng等<sup>[126]</sup>所在的研究组提出基于还原的氧化石墨烯的高集成化的光声成像,实现了对癌症小鼠病变部位的快速高质量的光声成像。袁小聪课题组<sup>[127]</sup>也进行了初步原理性实验,发现光声波确实会引起表面波附近溶液折射率的轻微变化,实现了微弱光声信号的检测,如图13(b)所示,

已初步实现0~195 MHz带宽光声信号的检测,以150 Pa水平的传感灵敏度,并将光声成像用于活体小鼠耳朵的血管成像,系统原理图如图13(a)所示;图13(c)给出了不同成像深度范围活体小鼠成像的信噪比曲线,小鼠耳朵血管网络的三维图像如图13(d)所示。根据理论预测,此方法有望实现超高灵敏度(~10 Pa水平)、超宽带(0~300 MHz带宽)、高空间分辨率(横向小于500 nm,纵向小于10 μm)及近乎实时的光声显微成像。

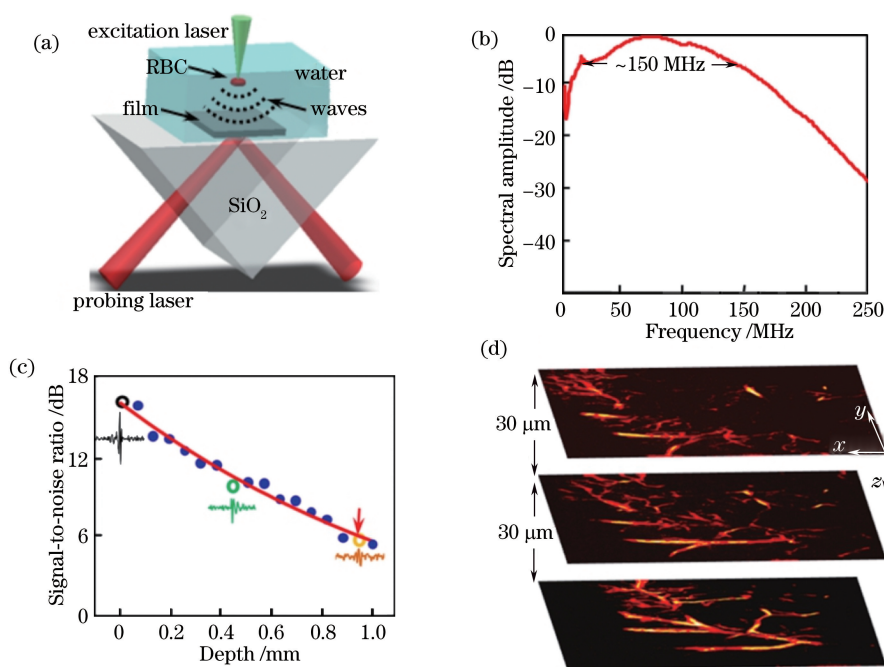


图 13 基于石墨烯表面波测量声信号的显微系统<sup>[127]</sup>。(a)基于石墨烯的光声波衰减全反射传感原理图;(b)光声压力瞬态过程的谱分布;(c)成像信噪比与穿透深度的关系曲线;(d)小鼠耳部的血管图像

Fig. 13 Microscopic system for measuring acoustic signals based on graphene surface wave<sup>[127]</sup>. (a) Principle diagram of photoacoustic attenuated total reflection sensing based on graphene; (b) spectral profiles of the photoacoustic pressure system; (c) relationship curve between imaging signal-to noise ratio and penetration depth; (d) angiograms of mouse ear

## 5 总结与展望

基于表面波的折射率传感由于具有免标记、无接触、灵敏度高优势,被充分应用于生物医学的相关研究中。按传感层和传感原理不同分为全内反射倏逝场传感、SPR 传感和石墨烯基传感检测技术。全内反射倏逝场传感结构简单,以测折射率为主。SPR 传感具有灵敏度高、无背景干扰、实时监测反应动态过程、分析样品不需要纯化及生物样品无需标记等优点,是较早发展并产业化应用的技术。经过数十年研究和发展,金膜作为 SPR 传感的传感层,对其表面修饰研究也非常充分,其表面几乎可以连接任意需要的检测分子和基团。因此,SPR 传感器非常适用于分子水平抗原-抗体反应测定,生物样品亲和力和测量、蛋白质及 DNA 相互作用分析,药物筛选及鉴定,环境检测及新药发现等技术领域。目前已有商用仪器出现,但商用仪器主要是基于棱镜结构和角度检测机制,进一步改进结构和检测机制,提高测量的灵敏度和动态范围仍是基于 SPR 传感研究的主要方向。石墨烯基传感检测技术是基于石墨烯偏振吸收增强及其灵敏折射率依赖效应,是近两年发展

起来的新型折射率传感技术。石墨烯基传感检测技术除了具有免标记、灵敏度高的优势外还具有传感深度大、生物无毒性等诸多优势。石墨烯基传感技术的传感深度可以达到  $2.5 \mu\text{m}$ , 这为细胞水平折射率传感检测,尤其是细胞内部结构和分子行为的研究提供了便利。

在细胞成像中,荧光显微镜得到广泛应用。然而荧光显微镜的发展面临两个棘手的问题:一是在保证荧光基团进入细胞的同时不会给细胞带来损伤;二是减少由于光致漂白效应引起的细胞光毒性<sup>[128-129]</sup>。因此,基于表面波的折射率传感成像作为一种免标记、非侵入式的细胞测量与成像方法在特定的研究中必不可少。细胞折射率可以用来分析细胞核与核仁尺寸及空间分布,标定或表征包括细胞固态质量、染色质含量、蛋白质浓度等或用来研究特定的新陈代谢活动。但同时由于折射率不具备特异性区分细胞的不同结构,如果将折射率成像技术与其他成像技术相结合,有助于更深一步地了解细胞工作机制。基于表面波的折射率成像将向更高空间分辨率和折射率灵敏度发展,还要向具有纵向分辨率的三维折射率重构发展。

## 参 考 文 献

- [1] Sardar D K, Levy L B. Optical properties of whole blood[J]. *Lasers in Medical Science*, 1998, 13(2): 106-111.
- [2] Heinemann H M. Measurement of the refractive index and dispersion of an unpolished sample on an abbe refractometer [J]. *Applied Optics*, 1970, 9 (11): 2586-2587.
- [3] Lai J C, Zhang Y Y, Li Z H, *et al.* Complex refractive index measurement of biological tissues by attenuated total reflection ellipsometry[J]. *Applied Optics*, 2010, 49(16): 3235-3238.
- [4] Meeten G H, North A N, Willmouth F M. Errors in critical-angle measurement of refractive index of optically absorbing materials[J]. *Journal of Physics E: Scientific Instruments*, 1984, 17(8): 642-643.
- [5] Anderson R E, Lightman A J. Measurements of the refractive-index variations with temperature of a photomonomer[J]. *Applied Optics*, 1991, 30(27): 3792-3793.
- [6] Zhang C P, Song Q W, Gross R B, *et al.* Determination of the refractive index of a bacteriorhodopsin film[J]. *Optics Letters*, 1994, 19 (18): 1409-1411.
- [7] Mohammadi M. Colloidal refractometry: meaning and measurement of refractive index for dispersions; the science that time forgot[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 1995, 62(1): 17-29.
- [8] Meeten G H, North A N. Refractive index measurement of absorbing and turbid fluids by reflection near the critical angle [J]. *Measurement Science and Technology*, 1995, 6(2): 214-221.
- [9] Li H, Xie S S. Measurement method of the refractive index of biotissue by total internal reflection[J]. *Applied Optics*, 1996, 35(10): 1793-1795.
- [10] Li H, Xie S S, Qiu Y S. Using tile focused light to determine the refractive index of materials by total internal reflection[J]. *Applied Laser*, 1996, 16(6): 258-260.  
李晖, 谢树森, 邱怡申. 会聚光全反射法测量物质折射率[J]. *应用激光*, 1996, 16(6): 258-260.
- [11] Rätty J A, Peiponen K E. Reflectance study of milk in the UV-visible range[J]. *Applied Spectroscopy*, 1999, 53(9): 1123-1127.
- [12] Lai J C, Li Z H, Wang C Y, *et al.* Experimental measurement of the refractive index of biological tissues by total internal reflection [J]. *Applied Optics*, 2005, 44(10): 1845-1849.
- [13] McClimans M, Laplante C, Bonner D, *et al.* Real-time differential refractometry without interferometry at a sensitivity level of  $10^{-6}$  [J]. *Applied Optics*, 2006, 45(25): 6477-6486.
- [14] Jin Y L, Chen J Y, Xu L, *et al.* Refractive index measurement for biomaterial samples by total internal reflection [J]. *Physics in Medicine and Biology*, 2006, 51(20): N371-N379.
- [15] Ye Q, Wang J, Deng Z C, *et al.* Measurement of the complex refractive index of tissue-mimicking phantoms and biotissue by extended differential total reflection method[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2011, 16(9): 097001.
- [16] Tearney G J, Brezinski M E, Bouma B E, *et al.* Determination of the refractive index of highly scattering human tissue by optical coherence tomography[J]. *Optics Letters*, 1995, 20 (21): 2258-2260.
- [17] Zvyagin A V, Dilusha Silva K K M B D, Alexandrov S A, *et al.* Refractive index tomography of turbid media by bifocal optical coherence refractometry[J]. *Optics Express*, 2003, 11(25): 3503-3517.
- [18] Alexandrov S A, Zvyagin A V, Dilusha Silva K K M B, *et al.* Bifocal optical coherence refractometry of turbid media[J]. *Optics Letters*, 2003, 28(2): 117-119.
- [19] Zysk A M, Marks D L, Liu D Y, *et al.* Needle-based reflection refractometry of scattering samples using coherence-gated detection [J]. *Optics Express*, 2007, 15(8): 4787-4794.
- [20] Kim S, Na J, Kim M J, *et al.* Simultaneous measurement of refractive index and thickness by combining low-coherence interferometry and confocal optics[J]. *Optics Express*, 2008, 16(8): 5516-5526.
- [21] Wang Z. Tissue refractive index as marker of disease[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2011, 16 (11): 116017.
- [22] Binding J, Ben Arous J, Léger J F, *et al.* Brain refractive index measured in vivo with high-NA defocus-corrected full-field OCT and consequences for two-photon microscopy [J]. *Optics Express*, 2011, 19(6): 4833-4847.
- [23] Jonsson U, Fagerstam L, Ivarsson B, *et al.* Real-time biospecific interaction analysis using surface plasmon resonance and a sensor chip technology[J]. *Biotechniques*, 1991, 11(5): 620-627.
- [24] Jorgenson R C, Yee S S. A fiber-optic chemical sensor based on surface plasmon resonance [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1993, 12(3): 213-220.
- [25] Homola J, Yee S S, Gauglitz G. Surface plasmon

- resonance sensors: review [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1999, 54(1/2): 3-15.
- [26] Homola J, Piliarik M. Surface plasmon resonance (SPR) sensors [M]//Homola J, Piliarik M. eds. *Springer Series on Chemical Sensors and Biosensors*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2006: 45-67.
- [27] Monzón-Hernández D, Villatoro J. High-resolution refractive index sensing by means of a multiple-peak surface plasmon resonance optical fiber sensor [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2006, 115(1): 227-231.
- [28] Cronin-Golomb M. Photorefractive surface waves [J]. *Optics Letters*, 1995, 20(20): 2075-2077.
- [29] Garcia Quirino G S, Sanchez-Mondragon J J, Stepanov S. Nonlinear surface optical waves in photorefractive crystals with a diffusion mechanism of nonlinearity [J]. *Physical Review A*, 1995, 51(2): 1571.
- [30] Zhang T H, Ren X K, Wang B H, *et al.* Surface waves with photorefractive nonlinearity [J]. *Physical Review A*, 2007, 76(1): 013827.
- [31] Zhang T H, Ren X K, Wang B H, *et al.* Modes of photorefractive surface waves [J]. *Journal of Modern Optics*, 2007, 54(10): 1445-1452.
- [32] Yablonovitch E. Inhibited spontaneous emission in solid-state physics and electronics [J]. *Physical Review Letters*, 1987, 58(20): 2059.
- [33] John S. Strong localization of photons in certain disordered dielectric superlattices [J]. *Physical Review Letters*, 1987, 58(23): 2486.
- [34] Sinibaldi A, Danz N, Descrovi E, *et al.* Direct comparison of the performance of Bloch surface wave and surface plasmon polariton sensors [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2012, 174: 292-298.
- [35] Paeder V, Musi V, Hvozدارa L, *et al.* Detection of protein aggregation with a Bloch surface wave based sensor [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2011, 157(1): 260-264.
- [36] Sinibaldi A, Fieramosca A, Rizzo R, *et al.* Combining label-free and fluorescence operation of Bloch surface wave optical sensors [J]. *Optics Letters*, 2014, 39(10): 2947-2950.
- [37] Snyder A W, Love J D. Goos-Hänchen shift [J]. *Applied Optics*, 1976, 15(1): 236-238.
- [38] Otto A. Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection [J]. *Zeitschrift Für Physik a Hadrons and Nuclei*, 1968, 216(4): 398-410.
- [39] Kretschmann E, Raether H. Notizen: radiative decay of non radiative surface plasmons excited by light [J]. *Zeitschrift Für Naturforschung a*, 1968, 23(12): 2135-2136.
- [40] Sarid D. Long-range surface-plasma waves on very thin metal films [J]. *Physical Review Letters*, 1981, 47(26): 1927-1930.
- [41] Hecht B, Bielefeldt H, Novotny L, *et al.* Local excitation, scattering, and interference of surface plasmons [J]. *Physical Review Letters*, 1996, 77(9): 1889.
- [42] Hornauer D, Kapitza H, Raether H. The dispersion relation of surface plasmons on rough surfaces [J]. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 1974, 7(9): L100-L102.
- [43] Harris R D, Wilkinson J S. Waveguide surface plasmon resonance sensors [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1995, 29(1/2/3): 261-267.
- [44] Nash D J, Cotter N P K, Wood E L, *et al.* Examination of the +1, -1 surface plasmon minigap on a gold grating [J]. *Journal of Modern Optics*, 1995, 42(1): 243-248.
- [45] Kano H, Mizuguchi S, Kawata S. Excitation of surface-plasmon polaritons by a focused laser beam [J]. *Journal of the Optical Society of America B*, 1998, 15(4): 1381-1386.
- [46] Tan P S, Yuan X C, Yuan G H, *et al.* High-resolution wide-field standing-wave surface plasmon resonance fluorescence microscopy with optical vortices [J]. *Applied Physics Letters*, 2010, 97(24): 241109.
- [47] Zhang C L, Min C J, Du L P, *et al.* Perfect optical vortex enhanced surface plasmon excitation for plasmonic structured illumination microscopy imaging [J]. *Applied Physics Letters*, 2016, 108(20): 201601.
- [48] Wei F F, Liu Z W. Plasmonic structured illumination microscopy [J]. *Nano Letters*, 2010, 10(7): 2531-2536.
- [49] Zhang X, Liu Z W. Superlenses to overcome the diffraction limit [J]. *Nature Materials*, 2008, 7(6): 435-441.
- [50] Liu Z, Lee H, Xiong Y, *et al.* Far-field optical hyperlens magnifying sub-diffraction-limited objects [J]. *Science*, 2007, 315(5819): 1686-1686.
- [51] Bozhevolnyi S I, Volkov V S, Devaux E, *et al.* Channel plasmon subwavelength waveguide components including interferometers and ring resonators [J]. *Nature*, 2006, 440(7083): 508-511.
- [52] Liu Z W, Wei Q H, Zhang X. Surface plasmon interference nanolithography [J]. *Nano Letters*, 2005, 5(5): 957-961.
- [53] Yao J, Liu Z, Liu Y, *et al.* Optical negative

- refraction in bulk metamaterials of nanowires [J]. *Science*, 2008, 321(5891): 930-930.
- [54] Geim A K, Novoselov K S. The rise of graphene [J]. *Nature Materials*, 2007, 6(3): 183-191.
- [55] Novoselov K S, Jiang D, Schedin F, *et al.* Two-dimensional atomic crystals [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, 102(30): 10451-10453.
- [56] Hernandez Y, Nicolosi V, Lotya M, *et al.* High-yield production of graphene by liquid-phase exfoliation of graphite [J]. *Nature Nanotechnology*, 2008, 3(9): 563-568.
- [57] Stankovich S, Dikin D A, Dommett G H B, *et al.* Graphene-based composite materials [J]. *Nature*, 2006, 442(7100): 282-286.
- [58] Mattevi C, Kim H, Chhowalla M. A review of chemical vapour deposition of graphene on copper [J]. *Journal of Material Chemistry*, 2011, 21(10): 3324-3334.
- [59] Choucair M, Thordarson P, Stride J A. Gram-scale production of graphene based on solvothermal synthesis and sonication [J]. *Nature Nanotechnology*, 2009, 4(1): 30-33.
- [60] Liu Y, Cheng R, Liao L, *et al.* Plasmon resonance enhanced multicolour photodetection by graphene [J]. *Nature Communications*, 2011, 2: 579.
- [61] Yan H G, Li X S, Chandra B, *et al.* Tunable infrared plasmonic devices using graphene/insulator stacks [J]. *Nature Nanotechnology*, 2012, 7(5): 330-334.
- [62] Chen J N, Badioli M, Alonso-González P, *et al.* Optical nano-imaging of gate-tunable graphene plasmons [J]. *Nature*, 2012, 487(7405): 77-81.
- [63] Furchi M, Urich A, Pospischil A, *et al.* Microcavity-integrated graphene photodetector [J]. *Nano Letters*, 2012, 12(6): 2773-2777.
- [64] Grigorenko A N, Polini M, Novoselov K S. Graphene plasmonics [J]. *Nature Photonics*, 2012, 6(11): 749-758.
- [65] Liu M, Yin X B, Ulin-Avila E, *et al.* A graphene-based broadband optical modulator [J]. *Nature*, 2011, 474(7349): 64-67.
- [66] Gan X T, Shiue R J, Gao Y D, *et al.* Chip-integrated ultrafast graphene photodetector with high responsivity [J]. *Nature Photonics*, 2013, 7(11): 883-887.
- [67] Matsubara K, Kawata S, Minami S. Optical chemical sensor based on surface plasmon measurement [J]. *Applied Optics*, 1988, 27(6): 1160-1163.
- [68] Liedberg B, Lundström I, Stenberg E. Principles of biosensing with an extended coupling matrix and surface plasmon resonance [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1993, 11(1/2/3): 63-72.
- [69] Ho H P, Wu S Y, Yang M, *et al.* Application of white light-emitting diode to surface plasmon resonance sensors [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2001, 80(2): 89-94.
- [70] Homola J. On the sensitivity of surface plasmon resonance sensors with spectral interrogation [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1997, 41(1/2/3): 207-211.
- [71] Nylander C, Liedberg B, Lind T. Gas detection by means of surface plasmon resonance [J]. *Sensors and Actuators*, 1982, 3: 79-88.
- [72] Liedberg B, Nylander C, Lunström I. Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing [J]. *Sensors and Actuators*, 1983, 4: 299-304.
- [73] Zhang C L, Wang R, Min C J, *et al.* Experimental approach to the microscopic phase-sensitive surface plasmon resonance biosensor [J]. *Applied Physics Letters*, 2013, 102(1): 011114.
- [74] Kabashin A V, Nikitin P I. Interferometer based on a surface-plasmon resonance for sensor applications [J]. *Quantum Electronics*, 1997, 27(7): 653-654.
- [75] Yee S S, Gauglitz G. Surface plasmon resonance sensors: review [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1999, 54(1/2): 3-15.
- [76] Yu X L, Wang D X, Yan Z B. Simulation and analysis of surface plasmon resonance biosensor based on phase detection [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2003, 91(1/2/3): 285-290.
- [77] Huang Y H, Ho H P, Kong S K, *et al.* Phase-sensitive surface plasmon resonance biosensors: methodology, instrumentation and applications [J]. *Annalen Der Physik*, 2012, 524(11): 637-662.
- [78] Bohannon K P, Holz R W, Axelrod D. Refractive index imaging of cells with variable-angle near-total internal reflection (TIR) microscopy [J]. *Microscopy and Microanalysis*, 2017, 23(5): 978-988.
- [79] Chiu M H, Wang S F, Chang R S. D-type fiber biosensor based on surface-plasmon resonance technology and heterodyne interferometry [J]. *Optics Letters*, 2005, 30(3): 233-235.
- [80] Kim D E, Yeom S H, Kang B H, *et al.* Variable wavelength surface plasmon resonance (SPR) in biosensing [J]. *Biosystems*, 2009, 98(1): 51-55.
- [81] Herranz S, Bocková M, Marazuela M D, *et al.* An SPR biosensor for the detection of microcystins in drinking water [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2010, 398(6): 2625-2634.
- [82] Yanase Y, Araki A, Suzuki H, *et al.* Development

- of an optical fiber SPR sensor for living cell activation[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2010, 25(5): 1244-1247.
- [83] Schuster T, Herschel R, Neumann N, *et al.* Miniaturized long-period fiber grating assisted surface plasmon resonance sensor [J]. *Journal of Lightwave Technology*, 2012, 30(8): 1003-1008.
- [84] Guo T, Liu F, Liang X, *et al.* Highly sensitive detection of urinary protein variations using tilted fiber grating sensors with plasmonic nanocoatings [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 78: 221-228.
- [85] Rothenhäusler B, Knoll W. Surface-plasmon microscopy[J]. *Nature*, 1988, 332(6165): 615-617.
- [86] Nelson B P, Frutos A G, Brockman J M, *et al.* Near-infrared surface plasmon resonance measurements of ultrathin films. 1. angle shift and SPR imaging experiments[J]. *Analytical Chemistry*, 1999, 71(18): 3928-3934.
- [87] Fu E, Foley J, Yager P. Wavelength-tunable surface plasmon resonance microscope [J]. *Review of Scientific Instruments*, 2003, 74(6): 3182-3184.
- [88] Zybin A, Grunwald C, Mirsky V M, *et al.* Double-wavelength technique for surface plasmon resonance measurements: basic concept and applications for single sensors and two-dimensional sensor arrays [J]. *Analytical Chemistry*, 2005, 77(8): 2393-2399.
- [89] Shumaker-Parry J S, Aebersold R, Campbell C T. Parallel, quantitative measurement of protein binding to a 120-element double-stranded DNA array in real time using surface plasmon resonance microscopy [J]. *Analytical Chemistry*, 2004, 76(7): 2071-2082.
- [90] Su Y D, Chen S J, Yeh T L. Common-path phase-shift interferometry surface plasmon resonance imaging system[J]. *Optics Letters*, 2005, 30(12): 1488-1490.
- [91] Law W C, Markowicz P, Yong K T, *et al.* Wide dynamic range phase-sensitive surface plasmon resonance biosensor based on measuring the modulation harmonics [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2007, 23(5): 627-632.
- [92] Kabashin A V, Nikitin P I. Surface plasmon resonance interferometer for bio- and chemical-sensors[J]. *Optics Communications*, 1998, 150: 5-8.
- [93] Wu S Y, Ho H P, Law W C, *et al.* Highly sensitive differential phase-sensitive surface plasmon resonance biosensor based on the Mach-Zehnder configuration[J]. *Optics Letters*, 2004, 29(20): 2378-2380.
- [94] Yuan W, Ho H P, Wong C L, *et al.* Surface plasmon resonance biosensor incorporated in a michelson interferometer with enhanced sensitivity [J]. *IEEE Sensors Journal*, 2007, 7(1): 70-73.
- [95] Wang D Q, Ding L L, Zhang W, *et al.* A high-throughput surface plasmon resonance biosensor based on differential interferometric imaging [J]. *Measurement Science and Technology*, 2012, 23(6): 065701.
- [96] Ng S P, Wu C M L, Wu S Y, *et al.* Differential spectral phase interferometry for wide dynamic range surface plasmon resonance biosensing [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2010, 26(4): 1593-1598.
- [97] Huang Y H, Ho H P, Wu S Y, *et al.* Phase sensitive SPR sensor for wide dynamic range detection[J]. *Optics Letters*, 2011, 36(20): 4092-4094.
- [98] Arima Y, Iwata H. Effects of surface functional groups on protein adsorption and subsequent cell adhesion using self-assembled monolayers [J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2007, 17(38): 4079-4087.
- [99] Grigorenko A N, Beloglazov A A, Nikitin P I, *et al.* Dark-field surface plasmon resonance microscopy [J]. *Optics Communications*, 2000, 174: 151-155.
- [100] Kabashin A V, Evans P, Pastkovsky S, *et al.* Plasmonic nanorod metamaterials for biosensing[J]. *Nature Materials*, 2009, 8(11): 867-871.
- [101] Ohlsson P Å, Tjärnhage T, Herbai E, *et al.* Liposome and proteoliposome fusion onto solid substrates, studied using atomic force microscopy, quartz crystal microbalance and surface plasmon resonance. Biological activities of incorporated components [J]. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 1995, 38(1): 137-148.
- [102] Kang X F, Jin Y D, Cheng G J, *et al.* Surface plasmon resonance studies on the electrochemical doping/dedoping processes of anions on polyaniline-modified electrode [J]. *Langmuir*, 2002, 18(26): 10305-10310.
- [103] Yuk J S, Jung J W, Hyun J, *et al.* Development of a scanning surface plasmon microscope based on white light for analysis of a wide range of protein arrays [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2008, 131(1): 241-246.
- [104] Dawson P, Puygranier B A F, Goudonnet J P. Surface plasmon polariton propagation length: a direct comparison using photon scanning tunneling microscopy and attenuated total reflection [J].

- Physical Review B, 2001, 63(20): 205410.
- [105] Yeatman E, Ash E A. Surface plasmon microscopy [J]. Electronics Letters, 1987, 23(20): 1091.
- [106] Hickel W, Knoll W. Surface plasmon optical characterization of lipid monolayers at 5  $\mu\text{m}$  lateral resolution[J]. Journal of Applied Physics, 1990, 67(8): 3572-3575.
- [107] Knobloch H, von Szada-Borrryszkowski G, Woigk S, *et al.* Dispersive surface plasmon microscopy for the characterization of ultrathin organic films [J]. Applied Physics Letters, 1996, 69(16): 2336-2337.
- [108] Giebel K F, Bechinger C, Herminghaus S, *et al.* Imaging of cell/substrate contacts of living cells with surface plasmon resonance microscopy [J]. Biophysical Journal, 1999, 76(1): 509-516.
- [109] Zhan Q W. Evanescent Bessel beam generation via surface plasmon resonance excitation by a radially polarized beam[J]. Optics Letters, 2006, 31(11): 1726-1728.
- [110] Wang W, Wang S P, Liu Q, *et al.* Mapping single-cell-substrate interactions by surface plasmon resonance microscopy [J]. Langmuir, 2012, 28(37): 13373-13379.
- [111] Wang W, Yang Y Z, Wang S P, *et al.* Label-free measuring and mapping of binding kinetics of membrane proteins in single living cells[J]. Nature Chemistry, 2012, 4(10): 846-853.
- [112] Peterson A W, Halter M, Tona A, *et al.* High resolution surface plasmon resonance imaging for single cells[J]. BMC Cell Biology, 2014, 15(1): 35.
- [113] Wang T X, Cao R, Ning B, *et al.* All-optical photoacoustic microscopy based on plasmonic detection of broadband ultrasound [J]. Applied Physics Letters, 2015, 107(15): 153702.
- [114] Ang P K, Li A, Jaiswal M, *et al.* Flow sensing of single cell by graphene transistor in a microfluidic channel[J]. Nano Letters, 2011, 11(12): 5240-5246.
- [115] Bao Q L, Zhang H, Wang B, *et al.* Broadband graphene polarizer[J]. Nature Photonics, 2011, 5(7): 411-415.
- [116] Zhan T R, Shi X, Dai Y Y, *et al.* Transfer matrix method for optics in graphene layers[J]. Journal of Physics: Condensed Matter, 2013, 25(21): 215301.
- [117] Pirruccio G, Martín Moreno L, Lozano G, *et al.* Coherent and broadband enhanced optical absorption in graphene[J]. ACS Nano, 2013, 7(6): 4810-4817.
- [118] Xing F, Meng G X, Zhang Q, *et al.* Ultrasensitive flow sensing of a single cell using graphene-based optical sensors[J]. Nano Letters, 2014, 14(6): 3563-3569.
- [119] Xing F, Yang Y, Shen J F, *et al.* Ultra-high sensitivity, multi-parameter monitoring of dynamical gas parameters using a reduced graphene oxide microcavity [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2016, 235: 474-480.
- [120] Xing F, Zhang S, Yang Y, *et al.* Chemically modified graphene films for high-performance optical NO<sub>2</sub> sensors [J]. The Analyst, 2016, 141(15): 4725-4732.
- [121] Zagorodko O, Spadavecchia J, Serrano A Y, *et al.* Highly sensitive detection of DNA hybridization on commercialized graphene-coated surface plasmon resonance interfaces [J]. Analytical Chemistry, 2014, 86(22): 11211-11216.
- [122] Singh M, Holzinger M, Tabrizian M, *et al.* Noncovalently functionalized monolayer graphene for sensitivity enhancement of surface plasmon resonance immunosensors[J]. Journal of the American Chemical Society, 2015, 137(8): 2800-2803.
- [123] He L J, Pagneux Q, Larroulet I, *et al.* Label-free femtomolar cancer biomarker detection in human serum using graphene-coated surface plasmon resonance chips [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2017, 89: 606-611.
- [124] Sun L X, Zhang Y Q, Wang Y J, *et al.* Refractive index mapping of single cells with a graphene-based optical sensor [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2017, 242: 41-46.
- [125] Sun L X, Zhang Y Q, Wang Y J, *et al.* Real-time subcellular imaging based on graphene biosensors [J]. Nanoscale, 2018, 10(4): 1759-1765.
- [126] Sheng Z H, Song L, Zheng J X, *et al.* Protein-assisted fabrication of nano-reduced graphene oxide for combined in vivo photoacoustic imaging and photothermal therapy [J]. Biomaterials, 2013, 34(21): 5236-5243.
- [127] Yang F, Song W, Zhang C L, *et al.* Broadband graphene-based photoacoustic microscopy with high sensitivity[J]. Nanoscale, 2018, 10(18): 8606-8614.
- [128] Dixit R, Cyr R. Cell damage and reactive oxygen species production induced by fluorescence microscopy: effect on mitosis and guidelines for non-invasive fluorescence microscopy[J]. The Plant Journal, 2003, 36(2): 280-290.
- [129] Hoebe R A, van Oven C H, Gadella T W J, *et al.* Controlled light-exposure microscopy reduces photobleaching and phototoxicity in fluorescence live-cell imaging [J]. Nature Biotechnology, 2007, 25(2): 249-253.