

doi: 10.3788/gzxb20134209.1113

基于显微物镜的表面等离子体共振

高来勛¹, 叶红安¹, 刘书钢¹, 蒋式弘²

(1 黑龙江大学 电子工程学院; 黑龙江省普通高等学校电子工程重点实验室, 哈尔滨 150080)

(2 伦敦大学学院 医学物理系, 伦敦 WC1E 6BT)

摘 要:利用高数值孔径显微物镜(油浸)并采用 Kretschmann 结构在 52.3 nm 金膜上激发了表面等离子体共振,从麦克斯韦方程和菲涅尔公式出发,建立了相应的数学模型,并对物镜后焦面的光强分布进行了数值模拟,由图像传感器采集了后焦面的光强分布,通过计算机处理并显示,与理论结果对比,实验得到的共振角与理论值相符.对数值模拟和检测结果的分析为金膜表面介质的表面等离子体共振成像应用和折射率检测提供了理论与实验依据.

关键词:物理光学; 表面等离子体共振; 近场显微术; 显微物镜

中图分类号: TN247

文献标识码: A

文章编号: 1004-4213(2013)09-1113-5

Surface Plasmon Resonance Based on Microobjective

GAO Lai-xu¹, YE Hong-an¹, LIU Shu-gang¹, JIANG Shi-hong²

(1 School of Electronic Engineering; The Key Laboratory of Electronics Engineering, Heilongjiang University, Harbin 150080, China)

(2 Department of Medical Physics and Bioengineering, University College London, London WC1E 6BT, UK)

Abstract: Surface plasmon resonance can be excited on 52.3 nm gold film through a large numerical aperture microscope objective lens (oil immersion) based on Kretschmann configuration. According to Maxwell's equations and Fresnel's formula, a mathematics model of the structure is established, and the intensity distribution at the back focal plane of the objective lens is simulated using Matlab and collected by imaging sensor and processed in computer. Experiment results agree well with theoretical result. The analysis of the numerical simulation and measuring result provide certain theoretical and experimental basis for the application of surface plasmon resonance imaging and refractive index detection of analyte attached to gold film.

Key words: Physical optics; Surface plasmon resonance; Near-field microscopy; Microobjective

0 引言

1968 年德国物理学家 Kretschmann 和 Otto 各自利用衰减全反射 (Attenuated Total Reflection, ATR) 的方法证实了光激发表面等离子体共振 (Surface Plasmon Resonance, SPR) 现象的存在^[1-2]. 此后, 光激发的 SPR 技术在检测介质折射率及实时检测金属表面反应方面的应用潜能引起广泛关注. 各种应用于物理、化学和生物领域的新的

SPR 传感结构设计纷纷出现^[3-4]. 1988 年, Nature 报道了表面等离子体共振显微方法^[5]. 表面等离子体共振成像方法 (SPR Imaging, SPRI) 是 SPR 方法结合电荷耦合元件 (Charge-Coupled Device, CCD) 摄谱的一种快速高通量分析方法. 虽然其分析通量大幅提升, 但仍属表面敏感型检测技术^[6-8]. 结合微点阵 (或芯片) 技术, SPRI 技术可同时、原位、实时观测成千上万个无标记样点及其与其他分子的识别作用, 特别适合于高通量筛选和动力学分析研究.

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 61177079)、黑龙江省自然科学基金重点项目 (No. ZD201103)、黑龙江省教育厅海外学人项目 (No. 1251HD2002)、黑龙江省教育厅电子工程重点实验室科学技术研究项目和黑龙江大学青年基金资助

第一作者: 高来勳 (1979-), 男, 讲师, 硕士, 主要研究方向为表面等离子体共振技术. Email: gaolaixu@hlju.edu.cn

导师 (通讯作者): 叶红安 (1950-), 男, 教授, 博士, 主要研究方向为光纤传感技术、光电检测技术. Email: yehonganhj@gmail.com

收稿日期: 2013-02-25; **录用日期:** 2013-04-08

国内外实验室大多采用棱镜激发 SPR 方式来建立成像系统. 通过 SPR 技术与显微镜结合, 用扫描近场光学显微镜技术研究金膜 SPR^[9]. 由于棱镜尺寸限制了光学系统的数值孔径和放大倍数, 所以空间分辨率受到限制. 为了提高空间分辨率, 1998 年 Kano 提出了使用大相对孔径显微物镜实现激发 SPR^[10], 为提高空间分辨率达到衍射极限提供了一种可行方法. 英国 Nottingham 大学光学工程组在 SPR 生物成像显微镜研究领域, 成功采用了高数值孔径显微物镜激发 SPR, 使分辨率高于使用棱镜激发的 SPR^[11-12].

本文中采用 Kretschmann 结构, 由高数值孔径 (NA=1.49) 显微物镜、BK7 玻璃盖玻片以及镀在盖玻片上的金膜构成. 通过高数值孔径物镜可以实现光的宽角度入射, 在金膜表面反射后成像在物镜后焦面, 发生 SPR 的入射光被吸收, 在后焦面上的像为暗点. 通过 CCD 对物镜后焦面像的采集, 可以进行实时观测. 通过 Matlab 软件对此结果进行理论计算, 并对后焦面像进行仿真. 与实验结果对比分析, 为下一步 SPRI 提供理论依据与指导.

1 SPR 基本理论

SPR 是一种沿金属与介电质交界面传播的电荷密度振荡^[13]. 利用光在玻璃界面处发生全内反射时的倏逝波, 引发金属表面的自由电子产生表面等离子体波. 按照麦克斯韦理论, 在一定的条件下, 可以出现沿着金属与电介质分界面上传播的平面电磁波, 其振幅随离开分界面的距离按指数衰减, 这种电子疏密波叫做表面等离子体波 (Surface Plasmon Wave, SPW). SPW 为非辐射波, 不能被光激发或者向外辐射能量, 只能通过激励光的倏逝波来激发. SPW 是一种横磁场电磁波, 它的传播方向平行于金属与电介质 (如空气) 的分界面^[14-15]. 入射光的电矢量 \mathbf{E} 在垂直于传播方向的平面内可以分解为垂直于入射面 S 偏振光的和平行于入射面的 P 偏振光两个分量. 由于 S 光的电场矢量与金属表面等离子体的极化波动方向相互正交, SPW 不能被 S 偏振光所激发. 而 P 偏振光的电场垂直于分界面, 可激励起表面电子密度起伏, 满足 SPR 产生的必要条件.

当入射光通过传输介质照射到金属表面时, 入射光波矢 \mathbf{k} 在 X 方向上的投影 k_x 为

$$k_x = \sqrt{\epsilon_0} \frac{\omega}{c} \sin \theta \quad (1)$$

式中 ϵ_0 是传输介质介电常量, ω 为角频率, c 为真空

中光速, θ 是入射角.

通过麦克斯韦方程, 对于半无限金属 ($\epsilon_1 = \epsilon_1' + i\epsilon_1''$) 表面, SPW 的传播常量可表示为

$$\beta = k_{sp} = \frac{\omega}{c} \left(\frac{\epsilon_1 \epsilon_2}{\epsilon_1 + \epsilon_2} \right)^{1/2} \quad (2)$$

ϵ_1, ϵ_2 分别为金属和金属膜外介质的介电常量.

由 SPW 的色散曲线分析可知: 在同一频率下, SPW 的波矢比真空中平面波的波矢大, 当 P 偏振光直接从空气或者真空中入射到金属层表面时, 并不能直接激发表面等离子体. 可以通过提高 ϵ_0 来增大 k_x , 常见的方法是利用棱镜作为传输介质, 使入射光波矢和表面等离子体的波矢相匹配.

通过选择棱镜的介电常量, 调整合适的入射角 θ 和入射光波长 λ , 使入射光波矢 \mathbf{k} 在 X 方向上的投影 k_x 等于 SPW 波矢 k_{sp} , 即

$$k_x = \text{Re}(\beta) \quad (3)$$

此时, 入射光波就会在金属表面引起 SPW 的共振, 入射光波的大部分能量被 SPW 吸收.

光反射率可根据菲涅耳 (Fresnel) 公式计算出来. 棱镜/金膜/待测介质三层结构时 P 偏振光和 S 偏振光的反射率计算公式分别为^[16]

$$R_P = |r_{012P}|^2 = \left| \frac{r_{01P} + r_{12P} e^{2ik_{z1}d}}{1 + r_{01P} r_{12P} e^{2ik_{z1}d}} \right|^2 \quad (4)$$

$$R_S = |r_{012S}|^2 = \left| \frac{r_{01S} + r_{12S} e^{2ik_{z1}d}}{1 + r_{01S} r_{12S} e^{2ik_{z1}d}} \right|^2 \quad (5)$$

式中

$$r_{ijP} = \frac{\epsilon_j k_{zi} - \epsilon_i k_{zj}}{\epsilon_j k_{zi} + \epsilon_i k_{zj}} \quad (6)$$

$$r_{ijS} = \frac{k_{zi} - k_{zj}}{k_{zi} + k_{zj}} \quad (7)$$

$$k_{zi} = \left[\left(\frac{2\pi}{\lambda} \right) \cdot \epsilon_i - k_{x0} \right]^{1/2} \quad (8)$$

$$k_{zj} = \left[\left(\frac{2\pi}{\lambda} \right) \cdot \epsilon_j - k_{x0} \right]^{1/2} \quad (9)$$

$$k_{x0} = \frac{2\pi}{\lambda} \cdot \sqrt{\epsilon_0} \cdot \sin \theta \quad (10)$$

式中 ϵ_i, ϵ_j 分别为第 i 层和第 j 层介质的介电常量, k_{zi}, k_{zj} 分别为第 i 层和第 j 层介质中透射光波矢在垂直于界面方向上的分量, d 为金属膜厚度, r_{ij} 为相邻 i 和 j 层两个介质界面处的反射系数.

对于显微物镜结构的 SPRI 系统, 式 (4)~(10) 同样适用. 初始入射光为线偏振光, 经过物镜光学系统会聚后, 会聚光束对于会聚点的偏振方向发生改变. 如图 1 所示, 入射光为 P 偏振光, 方向竖直, 在入瞳面上各方位角上的光线会有各自的 P 和 S 偏振分量, 关系为

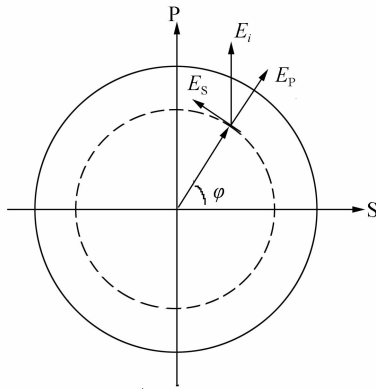


图 1 物镜入瞳面上 P 和 S 偏振分量关系示意图
Fig. 1 Incident polarization at the pupil plane of the objective lens

$$E_p = E_i \sin \varphi \quad E_s = E_i \cos \varphi \quad (11)$$

在入瞳面上,对 SPR 起作用的 P 偏振光分量,随着方位角 φ 变化而变化. 例如竖直方向上完全为 P 偏振光时,在水平方向上 P 偏振分量为 0. 考虑 P 偏振光随方位角 φ 变化的因素,再根据傅里叶物镜变换关系:后焦面上的像高与入射角的关系为 $y' = f' \sin \theta$, f' 是物镜的焦距. 线偏振光入射,通过对空气和水作为待测介质的 SPR 理论模型进行模拟,得到物镜后焦面的图样,如图 2. 图中,入射波长 632.8 nm, BK7 盖玻片折射率 1.515,金折射率 $0.1726 + i3.4218$,金膜厚度 52.3 nm,灰度对应于反射率.

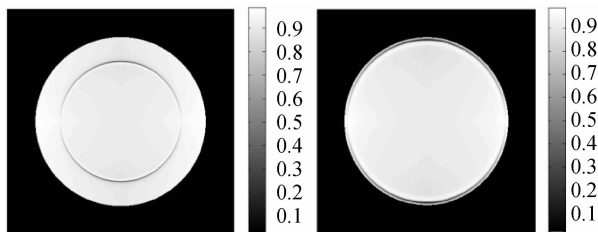


图 2 物镜(NA=1.49)后焦面的理论模拟图
Fig. 2 Theoretical back focal plane distribution for a 1.49 NA objective illuminated with polarized light

后焦面的像是两个相对的暗弧,而且随着 P 偏振分量的减小,暗弧的灰度逐渐变淡. 由于水平方向上 P 偏振分量为 0,所以这个位置上的光没有发生 SPR 现象,没有被吸收,从而后焦面处没有暗点. 当紧靠在金属薄膜表面的介质介电常数不同时,暗弧的半径将不同. 因此,暗弧的半径将反映与金属膜表面接触的介质的变化.

在相同条件下,对于BK7盖玻片/金膜(52.3 nm)结构进行 SPR 理论计算,得到反射率随入射角变化的 SPR 曲线,如图 3. 图 3(a)为待测介质为空气时的 SPR 曲线,共振角为 43.8° ,图 3(b)为待测介质为蒸馏水时的 SPR 曲线,共振角为 72.2° .

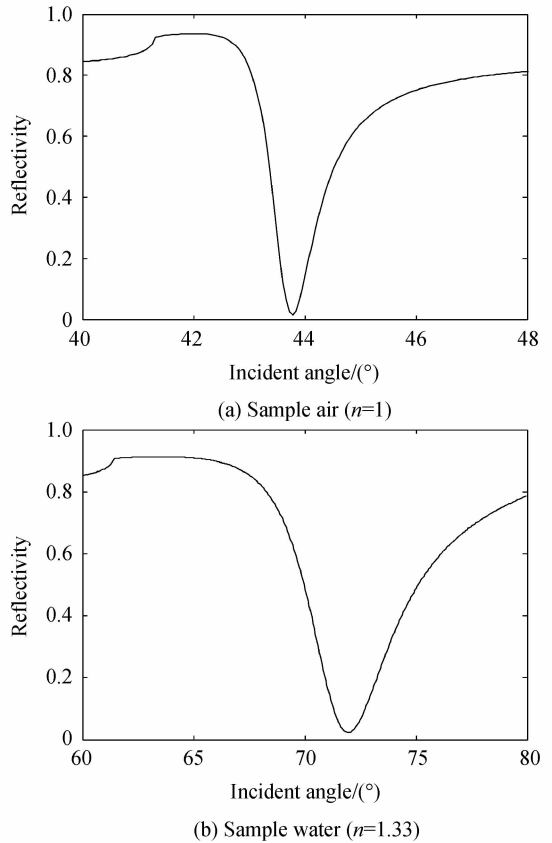


图 3 不同待测介质的 SPR 理论曲线
Fig. 3 Theoretical SPR curves for the sensor chip assuming different samples

2 实验系统及测量结果

2.1 实验系统结构

实验中采用的结构如图 4 所示,以 Nikon MRD01691 型油浸显微物镜(NA=1.49)作为耦合元件,使用镀上金膜的 BK7 标准玻璃盖玻片作为传感芯片. 将纯度为 99.999% 的金,通过电子束真空蒸镀的方法在盖玻片上沉积了金膜,用于激发 SPR. 在 EasyScan 2 型原子力显微镜下实测金膜厚度为 52.3 nm. 再将盖玻片玻璃一面通过折射率为

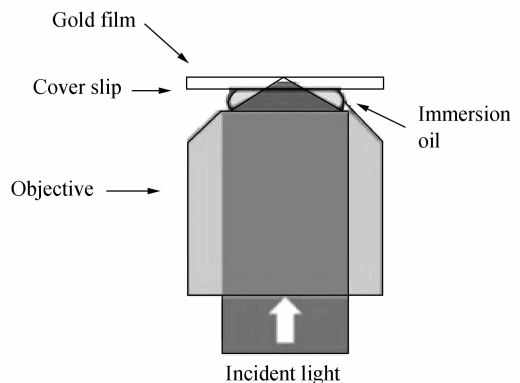


图 4 激发 SPR 的光学装置
Fig. 4 Optical arrangement to excite SPR

1.515的折射率匹配液粘合在物镜表面构成入射光的传输介质. 盖玻片与金膜构成的传感芯片由一个夹具夹持, 可进行微位移移动, 也方便更换传感芯片和待测介质, 如图5(a).

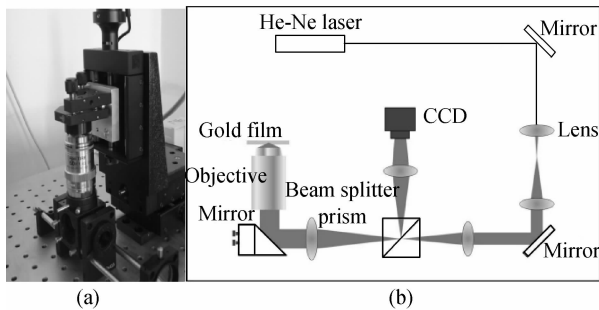


图5 (a)高数值孔径物镜;(b)实验系统光路
Fig. 5 The high numerical aperture (NA=1.49) microobjective; (b) the optical systems

整个实验系统的光路如图5(b)所示, 激发光源是波长为632.8 nm的He-Ne激光, 经扩束准直后入射到物镜中在传感芯片上激发SPR. 沿原路返回时经分光棱镜反射向edmund CCD相机(Basler A641f, pixel size $4.4 \times 4.4 \mu\text{m}^2$), 调整CCD相机及其前透镜的位置, 使得物镜后焦面与CCD传感面阵共轭, 将后焦面成像到CCD相机, 由计算机读取分析.

2.2 实验结果及分析

SPR所应用的领域中, 大多是进行气体检测, 或是生物化学方面的液体样品检测. 因此, 实验选择空气和蒸馏水这两种常见的气体、液体作为待测介质, 在常温常压下分别进行了测试, 测试结果如图6.

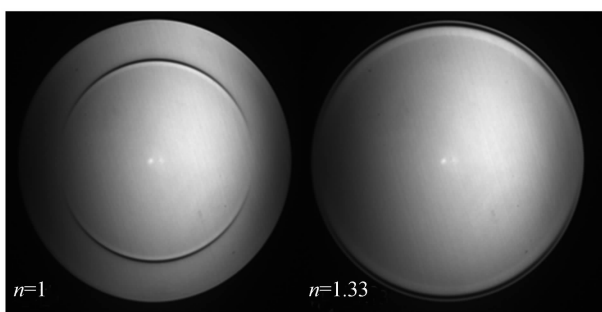


图6 待测介质为空气($n=1$)和蒸馏水($n=1.33$)时, CCD相机采集的物镜后焦面图像
Fig. 6 Experimental back focal plane distributions detected by CCD for the objective corresponding to air and water

由于入射光偏振方向的原因, 图像中形成了两个相对的暗弧, 待测介质不同, 暗弧的直径也发生变化, 其直径方向即对应着激光的入射角. 对图像进行读取, 可以得到灰度值随角度变化的SPR曲线, 如图7. 分别对SPR曲线的吸收峰处进行多项式拟合, 得到吸收峰最小值所对应的角度(共振角)分别为 44.1° 和 72.0° , 与理论值 43.8° 和 72.2° 比较接

近. 经计算, 对应的空气和蒸馏水的折射率值分别为1.005 177和1.329 957. 由于金膜厚度误差对共振角的影响比较小, 金膜介电常量对共振角的影响比较大. 因此, 可以认为误差产生的主要原因是理论计算时选取的金膜介电常量和实际值的误差.

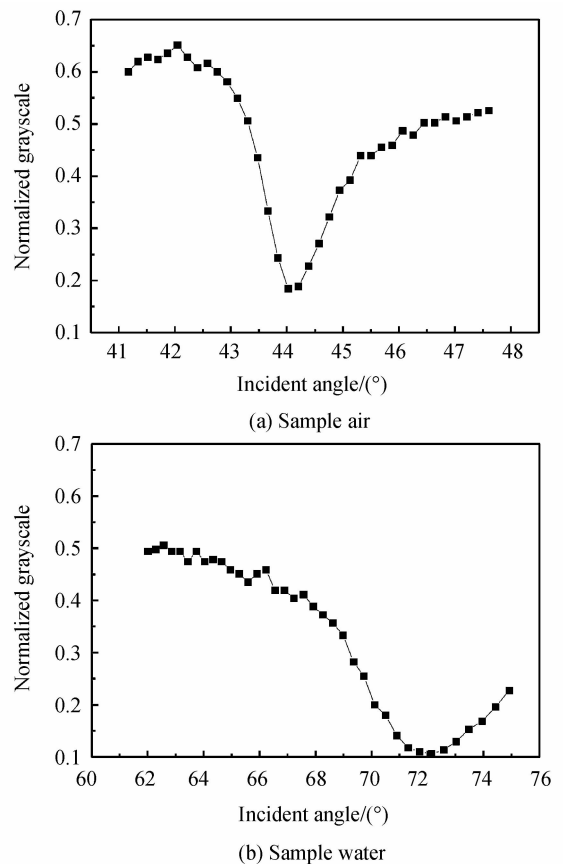


图7 不同待测介质的共振角附近数据点曲线
Fig. 7 Showing the data points near the resonant angle for different samples

实验中对显微物镜后焦面的成像得到了比较窄、灰度值较低的暗弧, 说明了金膜表面发生了较明显的SPR现象, 进一步可以进行折射率检测和表面等离子共振分析成像(SRR Imaging, SPRI). 折射率检测方面, 当介质折射率发生变化时, 暗弧的半径会随折射率发生变化, 通过检测暗弧的位置变化可以获得折射率的变化量; SPRI方面, 若只允许暗弧位置的光线提供照明, 那么, 随着金膜表面介质折射率分布变化, CCD上则会得到金膜表面介质的折射率分布明暗像.

3 结论

本文使用大数值孔径显微物镜作为SPR耦合元件, 利用632.8 nm He-Ne激光通过物镜的会聚来激发金膜产生SPR. 针对空气和蒸馏水这两种气、液的代表性介质进行检测, 通过透镜把物镜的后焦面成像到CCD相机, 获得了清晰的SPR吸收环

图样. 通过 Matlab 对图样进行读取并对数据进行拟合, 得到共振角度. 实验中的吸收环图样和共振角与理论模拟的结果比较一致. 这种激发方式不需要 SPR 角度调制中的旋转、移动部件, 可以实时观测 SPR 现象、读出并处理数据, 为进一步的折射率检测和 SPR 成像提供了理论与实验依据.

参考文献

- [1] OTTO A. Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection [J]. *Zeitschrift für Physik*, 1968, **216**(4): 398-410.
- [2] KRETSCHMANN E, RAETHER H. Radiative decay of nonradiative surface plasmons excited by light [J]. *Z. Naturforsch*, 1968, **23A**: 2135-2136.
- [3] NYLANDER C, LIEBERG B, LIND T. Gas detection by means of surface plasmons resonance [J]. *Sensors and Actuators B*, 1982, **3**: 79-88.
- [4] LIEBERG B, NYLANDER C, LUNDSTROM I. Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing [J]. *Sensors and Actuators B*, 1983, **4**: 299-304.
- [5] ROTHENHAUSLER B, KNOLL W. Surface - plasmon microscopy [J]. *Nature*, 1988, **332**: 615-617.
- [6] BERGUIGA L, ROLAND T, MONIER K, *et al.* Amplitude and phase images of cellular structures with a scanning surface plasmon microscope[J]. *Optics Express*, 2011, **19**(7): 6571-6586.
- [7] CHIU M H, SHIH B Y, LAI C W. Laser-scanning angle deviation microscopy[J]. *Applied Physics Letters*, 2007, **90**(2): 021111-021111-3.
- [8] MOH K J, YUAN X C, BU J, *et al.* Surface plasmon resonance imaging of cellsubstrate contacts with radially polarized beams[J]. *Optics Express*, 2008, **16**(25): 20734-20741.
- [9] ZHANG Chong-wen, MA Sui-hua, LIU Le, *et al.* DNA chip fabrication and analysis based on scanning surface plasmon resonance imaging[J]. *Acta Biophysica Sinica*, 2010, **26**(6): 481-487.
张崇文, 马绥华, 刘乐, 等. 基于表面等离子共振扫描成像的 DNA 芯片的研究[J]. *生物物理学报*, 2010, **26**(6): 481-487.
- [10] 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.
- [11] LIU S G, CHUANG C J, SEE C W, *et al.* Double-grating-structured light microscopy using plasmonic nanoparticle arrays[J]. *Optics Letters*, 2009, **34**(8): 1255-1257.
- [12] SOMEKH M G, STABLER G, LIU S G, *et al.* Wide-field high-resolution surface-plasmon interference microscopy[J]. *Optics Letters*, 2009, **34**(20): 3110-3112.
- [13] HOMOLA J, YEE S S, GAUGLITZ G, *et al.* Surface plasmon resonance sensors; review[J]. *Sensors and Actuators B*, 1999, **54**(1-2): 3-15.
- [14] LI Ji-jun, WANG Guo-ping. Numerical simulation of transmission characters of two-dimensional gap plasmonic waveguide[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2011, **40**(12): 1793-1798.
李继军, 汪国平. 数值模拟二维间隙表面等离子体波导传输特性[J]. *光子学报*, 2011, **40**(12): 1793-1798.
- [15] STERN E A, FARRELL R A. Surface plasma oscillations of a degenerate electron gas[J]. *Physics Review*, 1960, **120**(1): 130-136.
- [16] RAETHER H. Surface plasmons on smooth and rough surfaces and on gratings[M]. Springer, 1986. 8-13.