

文章编号 1004-924X(2009)09-2159-06

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

郝 鹏^{1,2}, 吴一辉¹

(1. 中国科学院 长春光学精密机械与物理研究所, 吉林 长春 130033;
2. 中国科学院 研究生院, 北京 100039)

摘要: 为了在保证波长表面等离子体共振(SPR)分析仪动态范围的同时提高其分辨率, 分析了波长 SPR 分析仪系统噪声对其探测能力的影响; 以波长 SPR 分析仪的信噪比为目标, 对波长 SPR 的数据处理进行优化。优化结果显示, 最佳处理曲线为 SPR 信号最强时波长所对应的反射系数 R_1 与信噪比最大时波长所对应的反射系数 R_2 之间的前半部分 SPR 曲线。基于这段最佳处理曲线, 采用了一种部分质心法数据处理方法。实验结果表明, 采用此种算法可使 SPR 分析仪动态范围扩大一倍, 在探测器光谱仪波长分辨率提高 4 倍的情况下, SPR 分析仪的分辨率提高了将近 10 倍。采用此种算法测量折射率在 1.332 5~1.360 0 间的甘油溶液, 线性相关系数 >0.99 , 说明此种算法对测试结果的线性度不会产生不利的影响, 可满足波长 SPR 数据处理方法的要求。

关键词: 表面等离子体共振传感器; 生物传感器; 噪声分析; 数据处理

中图分类号: TP212.1 **文献标识码:** A

Data process of spectroscopic surface plasmon resonance analyzer based on noise analysis

HAO Peng^{1,2}, WU Yi-hui¹

(1. *Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics,*
Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, China;
2. *Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China*)

Abstract: To obtain a higher resolution and a widen dynamic range, the relationship between the system resolution and its noise of a spectroscopic Surface Plasmon Resonance (SPR) analyzer was analyzed. For the purpose of improving the Signal to the Noise Ratio (SNR) of the analyzer, the data processing was optimized. The optimization result indicates that the optimized SPR curve should be between the Reflectance R_1 corresponding to the strongest SPR signal and the Reflectance R_2 corresponding to the largest SNR. And then, a partial centroid method for data analysis was presented. The experimental results indicate that the dynamical range of measurement has been doubled by the proposed method. As the wavelength resolution of spectrometer has improved by 4 times, the resolution SPR analytical instrument can be increased by 10 times. Finally, the method was used to measure the solutions of Glycerin with refractive indexes between 1.332 5 and 1.360 0, and obtained correla-

收稿日期: 2008-08-26; 修订日期: 2008-10-10.

基金项目: 国家 863 高技术研究发展计划资助项目 (No. 2006AA04Z358); 国家自然科学基金资助项目 (No. 60574089)

tion coefficients are larger than 0.99, which means this method has not any unfavorable influence on the linearity result.

Key words: Surface Plasmon Resonance (SPR) sensor; biosensors; noise analysis; data processing

1 引言

近十多年来,表面等离子体共振 (SPR) 生物传感器凭借其实时检测、无需标记、耗样少等特点,在药物筛选、临床诊断、食物及环境监控和膜生物学等领域中应用日益广泛,已成为生命科学和制药研究的一种标准生物物理学工具^[1-2]。

SPR 分析仪中常见的两种调制方式为波长调制和角度调制。其中波长 SPR 分析仪在微型化、SPR 成像技术、多通道和多参数测量等方面相对于角度调制 SPR 分析仪有很大的优势^[3],但是,波长 SPR 分析仪以光谱仪为探测器,这在很大程度上制约了其分辨率的提高。对于波长 SPR 分析仪来说,其分辨率主要由两部分决定,即仪器的灵敏度和与噪声水平相关的波长分辨率。有关仪器的灵敏度, J. Homola 等已经进行了详尽的研究^[4-6];而有关波长分辨率,周连群等人的研究则表明高波长分辨的光谱仪往往以牺牲波长探测范围为代价^[7]。因此,本文基于噪声对 SPR 传感器探测力的影响,提出了一种基于噪声分析的波长 SPR 数据处理方法,以在扩大动态范围的同时,提高波长 SPR 分析仪的分辨率。

2 理论分析

2.1 波长 SPR 分析仪的工作原理

对于 Kretschmann 结构的波长 SPR 生物传感器(如图 1 所示),光源发出的光经过准直后形成一束平行光以入射角 θ 照射在棱镜和金属膜(厚度约为 45 nm)表面。当入射角 θ 大于全反射临界角时,产生的消逝波透过金属膜,使靠近样品处的金属表面产生自由电子振荡,形成沿着样品和金属表面传播的电子疏密波,即表面等离子体波;当入射光 X 方向的波矢与表面等离子体波波矢相等时,发生表面等离子共振,引起能量的吸收,反射光在共振波长处出现明显的吸收峰。当被测物的折射率改变时,表面等离子体共振的条件发生改变,共振波长产生蓝移或红移。因此,可

以通过测量共振波长的变化来检测被测物折射率的变化。系统的分辨率主要取决于 SPR 分析仪传感部分的灵敏度和噪声水平决定的探测器即光谱仪的波长分辨率两部分。

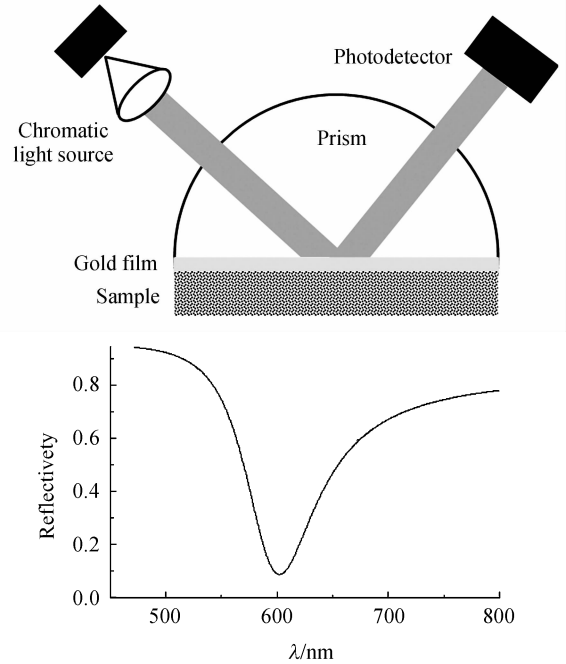


图 1 SPR 原理

Fig. 1 Principle of SPR

2.2 波长 SPR 分析仪的噪声分析

SPR 分析仪的系统噪声水平大小直接影响着其分辨率的高低^[8-9]。波长 SPR 分析仪的噪声可分为以下两种:(1)与光强有关的光源产生的噪声和光照射到探测器上(如 CCD)进行光电转换时产生的光子噪声,其中光源本身产生的噪声与光强的大小成正比,光子噪声与光强大小的平方根成正比,且这两种噪声分布符合统计学的泊松随机分布;(2)与光强无关由信号的后处理电路、温度等产生的噪声。

对于 SPR 传感器来说,由于折射率变化 Δn 产生的信号可表示为:

$$s = \eta(d(I_0 R)/dn)\Delta n = \eta I_0 (dR/dn)\Delta n, \quad (1)$$

其中 η 为探测器的光电转换效率, I_0 为光源发出的入射光的光强, R 为与波长相关的反射系数。对于光源本身产生的噪声 $N_1 = \alpha_1 \eta I_0 R$, 信噪比为:

$$S/N_1 = \alpha_1^{-1} \frac{dR/dn}{R} \Delta n, \quad (2)$$

对于光子噪声 $N_2 = \alpha_2 \sqrt{\eta I_0 R}$, 信噪比为:

$$S/N_1 = \alpha_2^{-1} \sqrt{\eta I_0 / R} (dR/dn) \Delta n. \quad (3)$$

SPR 传感系统多采用 CCD 为探测器, 在光强较弱的情况下, 暗电流噪声将会对信号产生比较大的影响, 因此, 最佳的入射光的强度, 应该是使照射到 CCD 上的反射光的光强值在 CCD 没有饱和的情况下尽量地大, 即为 $I_0 = I_{CCD} / R$ (I_{CCD} 为 CCD 将要达到饱和时的光强值), 所以:

$$S/N_1 = \alpha_2^{-1} \sqrt{\eta I_0 / R} (dR/dn) \Delta n = \alpha_2^{-1} \sqrt{\eta I_{CCD}} \frac{dR/dn}{R} \Delta n. \quad (4)$$

由式(2)和式(4)可得, 在最佳入射光强确定后, SPR 传感系统的信噪比由 dR/dn 和 R 决定, 而 dR/dn 和 R 与波长相关。因此, 可令:

$$E = \frac{dR/dn}{R} = \frac{dR/d\lambda}{R} \frac{1}{dn/d\lambda}. \quad (5)$$

如图 2 所示, 在 SPR 谱线最陡的波长 λ_s 处, 折射率变化 Δn 引起反射率变化量最大, 即 SPR 信号最强; 在略小于共振波长的波长 λ_E 处, 波长型 SPR 传感系统的信噪比最大, 波长 λ_s 并不等于波长 λ_E 。

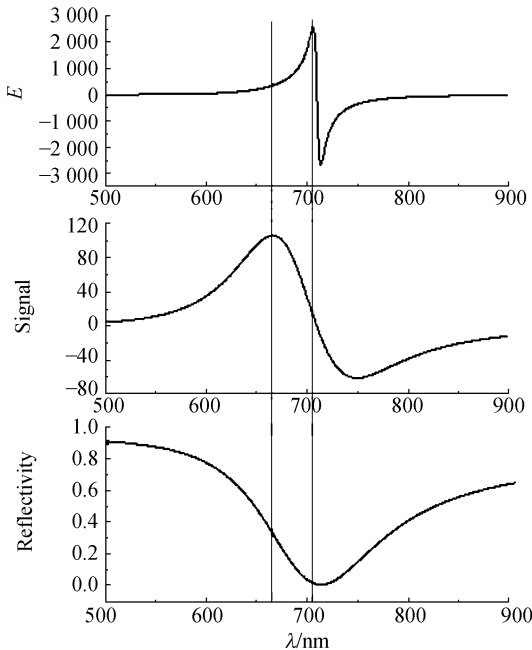


图 2 SPR 信号、信噪比与波长的关系

Fig. 2 Relationships among SPR signal, signal to noise and wavelength

2.3 波长 SPR 传感器的数据处理

目前, SPR 的数据处理方法包括质心跟踪法、曲线拟和法、一阶导数零点法、相似匹配算法等多种, 其中质心跟踪算法如式(6)所示:

$$C = \frac{\sum_i \lambda_i (R_i - R_i)}{\sum_i (R_i - R_i)}, \quad (6)$$

式中 R_i 为像元 i 处的反射系数, R_i 为设定处理数据窗口大小的阈值, λ_i 为像元 i 对应的波长。该算法通过跟踪 SPR 曲线几何形心的移动, 来确定共振波长的移动。其处理对象包含多个像元, 进行空间滤波后, 降低了噪声, 算法简单, 具有处理速度快、精度高的优点, 许多商用 SPR 仪器都采用此种算法如 Biacore 公司的 SPR 生化分析仪^[10-11]。但是, 由于波长 SPR 分析仪的后端探测器为光谱仪, 波长分辨率高, 探测像元数目多, 波长范围窄, 进而限制了 SPR 分析仪的动态范围。

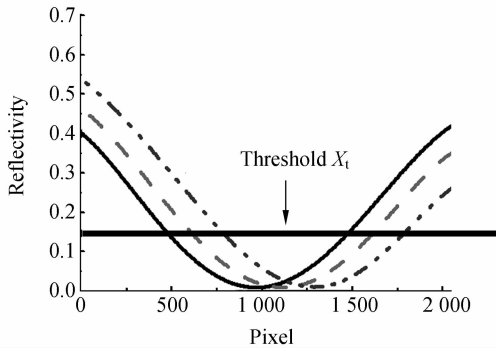
对于光电探测器 CCD 来说, 各个像元间是相互独立的, 根据函数随机误差的计算原理, 可得质心法处理后系统的随机误差 σ_o^2 为:

$$\sigma_o^2 = \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial C}{\partial R_i} \right)^2 \sigma^2(R_i), \quad (7)$$

式中 $\sigma^2(R_i)$ 为 i 个像元的随机误差, 由式(7)可以看出波长 SPR 系统的随机误差由 3 个因素决定, (1) 每个像元所对应的波长带宽。波长带宽越窄, 系统的随机误差越小, 这也就是采用高分辨率光谱仪作为探测器的原因; (2) 各个像元的随机误差。各个像元的随机误差越小, 系统的随机误差也越小; (3) 进行数据处理的像元数量的多少。系统的随机误差随着像元数量的增多而减小, 但是, 当像元数量达到一定程度后 (一般为 200 个像元), 其增加对降低系统的随机误差的作用将会大大减小^[11]。

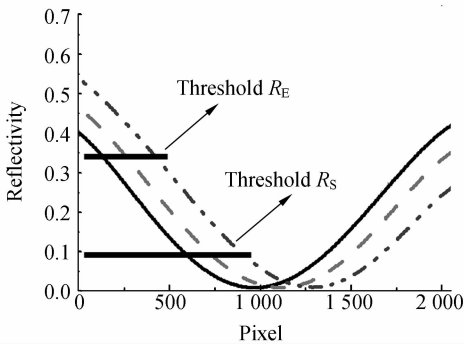
质心法通过 SPR 某一段曲线的平移来代替共振峰一点的移动来判定 SPR 信号的变化量, 引入多个像元, 有效地降低了系统噪声。对于波长 SPR 分析仪来说, 采用高波长分辨率的光谱仪为探测器, 探测像元数目多, 但探测波长范围窄。因此, 在保证像元数量的前提下, 为扩大其动态范围, 可将参与数据处理的 SPR 曲线进一步缩小, 采用部分质心法。

如图 3 所示, 设定波长 λ_s 、波长 λ_E 对应得到的归一化反射系数 R_s 、 R_E 为上下两阈值, 在 SPR



(a) 质心法

(a) Centroid method



(b) 部分质心法

(b) Partial centroid method

图 3 质心法与部分质心法

Fig. 3 Centroid method and partial centroid method

谱线最陡的波长 λ_S 处, 折射率变化 Δn 产生反射率变化量最大, 在略小于共振波长的波长 λ_E 处, 波长型 SPR 传感系统的信噪比最大。利用此区间的 SPR 曲线几何质心的移动可确定共振波长的移动, 计算式如下:

$$P_R = \frac{\sum_{R_E}^{R_S} \lambda_i R_i}{\sum_{R_E} R_i} \quad (8)$$

3 实验及分析

3.1 实验装置

自行设计的波长 SPR 分析仪如图 4 所示, 主要由 4 部分组成: 光源及准直光路、SPR 传感部分、样品流通系统、光谱分析及数据处理系统。从卤钨灯光源发出的白光经过透镜准直成一束平行光, 通过偏振片、光阑后, 以同一入射角平行入射

到棱镜表面, 当入射光线的某一波长恰好能够满

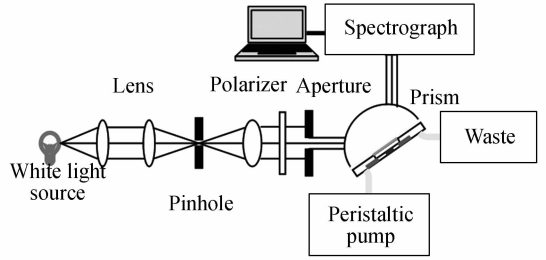


图 4 SPR 分析仪实验装置

Fig. 4 Experimental setup for SPR biosensor

足发生表面等离子体共振 (SPR) 的条件时, 引起能量的吸收。其中蠕动泵和样品池组成样品流通系统来实现对样品恒速流动和流量的控制; 光谱分析及数据处理系统对波长型 SPR 传感部分产生的信号进行光谱分析和数据处理。

3.2 实验结果与讨论

样品溶液采用去离子水和浓度为 0.3% 的甘油溶液 ($\Delta n = 1 \times 10^{-4}$ RIU), 当入射角为 72° , 金膜

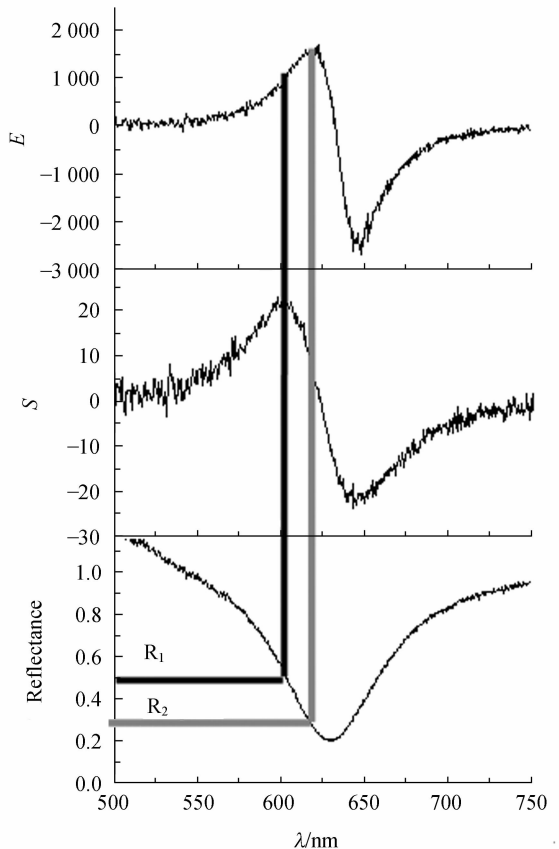


图 5 SPR 测试曲线

Fig. 5 SPR test curves

厚度为 45 nm 时,各波长的 SPR 曲线如图 5 所示,其中 S 为折射率变化 Δn 引起的反射系数 R 的变化, E 为 $(dR/dn)/R$,主要由探测器接收光强和 SPR 信号所决定。由图 5 可以得到,当 SPR 信号最强时,波长对应的反射系数 R_1 的值为 0.48,当信噪比最大时,波长对应的反射系数 R_2 为 0.27。采用多个波长进行数据处理,进行空间滤波,可降低随机噪声,因此可以反射系数 R_1 与反射系数 R_2 为阈值,取两者之间前半部分 SPR 曲线通过部分质心法来确定 SPR 波长的移动。

图 6 所示为入射角 72° ,金膜厚 45 nm 时测量的折射率 1.332 5~1.336 17 之间的 6 条波长 SPR 吸收曲线,如采用质心法来进行数据处理,阈值为 0.5 时,则要求光谱分析仪的波长为 590~710 nm,带宽为 120 nm;如采用部分质心法对阈值为 0.48~0.27 的 SPR 曲线进行数据处理,则要求光谱分析仪的波长为 590~650 nm,带宽为 60 nm。在采用同一光谱分析仪的情况下,如采用部分质心法进行数据处理,可将 SPR 分析仪的动态范围扩大一倍。

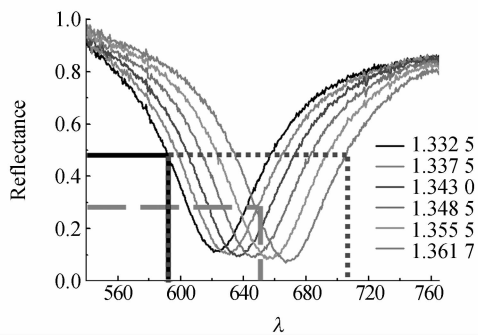
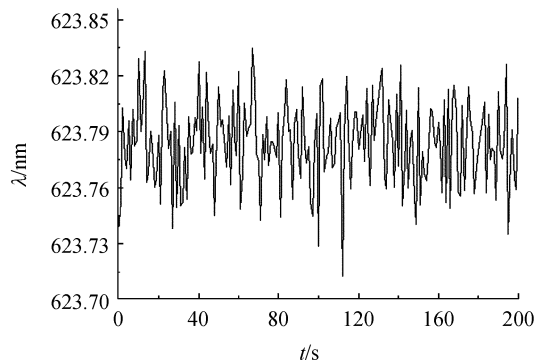


图 6 SPR 波长曲线

Fig. 6 SPR wavelength curves

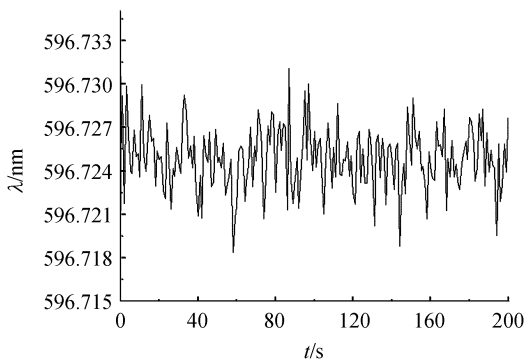
如图 7 所示,被测溶液同为去离子水溶液,图 7(a)为采用质心法,探测器的波长分辨率为 2 nm 时 SPR 系统的噪声水平,图 7(b)为采用部分质心法,探测器的波长分辨率为 0.5 nm 时 SPR 系统的噪声水平。通过两者的比较可以看出,虽然探测器的分辨率为以前 4 倍,但噪声减小为优化前的 1/10,SPR 分析仪的分辨率提高了 10 倍。

为了验证优化后该数据处理方法在折射率 1.332 5~1.360 0 RIU 范围内的线性度,以甘油



(a)质心法

(a)Centroid method at resolution of 2 nm



(b)部分质心法

(b)Partial centroid method at resolution of 0.5 nm

图 7 优化前、后的噪声水平

Fig. 7 Original and optimized noises

溶液为探测对象进行了测试,结果如图 8 所示。利用 origin 软件进行相关计算和绘图,做出的直线拟合曲线如图 5 所示,相关系数为 0.998,从而可以看出采用此种算法对测试结果的线性度不会产生不利的影响。

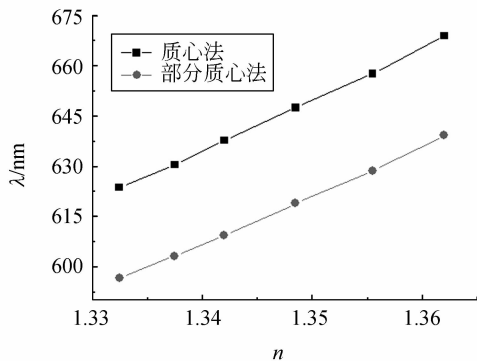


图 8 折射率-共振波长曲线

Fig. 8 Curves of refractive index vs resonance wavelength

4 结 论

为了在保证波长 SPR 分析仪动态范围的同时,提高其分辨率并降低波长 SPR 分析仪系统噪声的影响,本文通过分析 SPR 分析仪的噪声来源,优化了参与后期数据处理的波长 SPR 曲线。

参考文献:

- [1] HOMOLA J. Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species [J]. *Chem. Rev.*, 2008,108(2):462-493.
- [2] HOMOLA J. *Surface Plasmon Resonance Based Sensors*[M]. Germany:Springer,2006.
- [3] HOMOLA J, DOSTALEK J, SHENGFU CH, *et al.*. Spectral surface plasmon resonance biosensor for detection of staphylococcal enterotoxin B in milk[J]. *Int. J. Food Microbiol.*, 2002, 75:61-69.
- [4] WARK A, HYE J, CORN R. Long-range surface plasmon resonance imaging for bio-affinity sensors [J]. *Anal. Chem.*, 2005,77:3904-3907.
- [5] TAKUO A, SATOSHI S, KAZUNORI I, *et al.*. Refractive-index and thickness sensitivity in surface plasmon resonance spectroscopy [J]. *Applied Optics*,1999,38(19):4058-4064.
- [6] NENNINGER G, PILIARIK M, HOMOLA J. Data analysis for optical sensors based on spectroscopy of surface plasmon [J]. *Meas. Sci. Technol.*, 2002,13 :2038-2046.

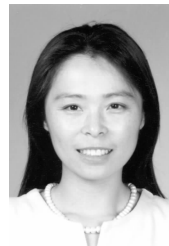
提出了一种部分质心法数据处理算法,并进行试验验证。采用此种算法可使 SPR 分析仪动态范围扩大一倍,在探测器光谱仪波长分辨率提高了 4 倍的情况下,SPR 分析仪的分辨率提高了将近 10 倍,且此种算法对测试结果的线性度不会带来不利的影响,完全满足波长 SPR 数据处理方法的要求。

- [7] 周连群,吴一辉,张平,等. 一种采用微硅片狭缝的新型微小型光纤光谱仪[J]. *光学 精密工程*,2005, 13(6):637-642.
- ZHOU L Q, WU Y H, ZHANG P, *et al.*. A new mini-fiber-spectrometer by adopting micro-silicon-slit [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2005, 13(6):637-642. (in Chinese)
- [8] ZYBIN A, BOECKER D, MIPSKY V, *et al.*. Enhancement of the detection power of surface plasmon resonance measurements by optimization of the reflection angle [J]. *Anal. Chem.*, 2007,79:4233-4236.
- [9] 佟首峰,阮锦,郝志航. CCD 图像传感器降噪技术的研究[J]. *光学 精密工程*, 2000,8(2):140-145.
- TONG SH F, RUAN J, HAO ZH H. Noise reducing scheme on output signal of CCD[J]. *Opt. Precision Eng.*, 2000,8(2):140-145. (in Chinese)
- [10] [http://www.aigproducts.com/surface plasmon resonance/spr curve analysis.html](http://www.aigproducts.com/surface%20plasmon%20resonance/spr%20curve%20analysis.html).
- [11] THIRSTRUP C, ZONG W. Data analysis for surface plasmon resonance sensors using dynamic baseline algorithm[J]. *Sens. Actuat. B Chem.*, 2005,106:796-802.

作者简介:



郝 鹏(1982—),男,河北石家庄人,博士研究生,主要从事微光机电系统及表面等离子体共振生物传感器方面的研究。E-mail:hp312@126.com



吴一辉(1965—),女,吉林长春人,研究员,博士生导师,1991,1996 年于中科院长春光学精密机械与物理研究所分别获得硕士、博士学位,现为中科院应用光学国家重点实验室副主任,主要从事集成微光机电系统方面的研究。E-mail:yihuiwu@ciomp.ac.cn