

基于近场光学的微球超分辨显微效应

周锐 吴梦雪 沈飞 洪明辉

Super-resolution microscopic effect of microsphere based on the near-field optics

Zhou Rui Wu Meng-Xue Shen Fei Hong Ming-Hui

引用信息 Citation: [Acta Physica Sinica](#), **66**, 140702 (2017) DOI: 10.7498/aps.66.140702

在线阅读 View online: <http://dx.doi.org/10.7498/aps.66.140702>

当期内容 View table of contents: <http://wulixb.iphy.ac.cn/CN/Y2017/V66/I14>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

相位敏感型光时域反射传感系统光学背景噪声的产生机理及其抑制方法

[The mechanism and suppression methods of optical background noise in phase-sensitive optical time domain reflectometry](#)

物理学报.2017, 66(7): 070707 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.66.070707>

光学微操纵过程的轴平面显微成像技术

[Observation of particle manipulation with axial plane optical microscopy](#)

物理学报.2017, 66(1): 010702 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.66.010702>

荧光激光雷达技术探测水面油污系统仿真研究

[Simulation of fluorescence lidar for detecting oil slick](#)

物理学报.2016, 65(7): 070704 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.65.070704>

同步辐射中双压电片反射镜的研究现状

[Present research status of piezoelectric bimorph mirrors in synchrotron radiation sources](#)

物理学报.2016, 65(1): 010702 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.65.010702>

基于激光诱导叶绿素荧光寿命成像技术的植物荧光特性研究

[Study of plant fluorescence properties based on laser-induced chlorophyll fluorescence lifetime imaging technology](#)

物理学报.2015, 64(19): 190702 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.64.190702>

专题: 电磁波衍射极限

编者按 自1873年阿贝提出衍射极限以来, 该问题就一直是学术界的研究热点和难点. 近年来, 随着近场光学、表面等离子体亚波长光学、非线性光学等学科的发展, 人们开始在亚波长尺度重新认识衍射极限. 本专题针对如何突破衍射极限, 以及突破衍射极限之后的新问题, 邀请本领域专家学者阐述最新进展和研究趋势, 以期进一步促进相关理论、技术及应用的发展.

(客座编辑: 中国科学院光电技术研究所 罗先刚)

基于近场光学的微球超分辨显微效应*

周锐^{1) # †} 吴梦雪^{2) #} 沈飞¹⁾ 洪明辉^{2) ‡}

1) (厦门大学航空航天学院, 厦门 361005)

2) (新加坡国立大学电机工程系, 新加坡 117576)

(2017年3月29日收到; 2017年5月16日收到修改稿)

在光学成像领域, 由于受到衍射极限的限制, 常规成像分辨率在200 nm左右. 科学的不断进步对更高分辨率有着迫切需求, 如何突破这个极限来获得更高质量的高分辨率图像是热门研究领域. 2011年提出了微球超显微技术: 在原有的光学系统中, 将直径几微米至几十微米的透明微球直接置于样品表面, 就能够成倍提高传统光学显微镜的成像能力. 微球超显微技术以其简单直接的特点, 受到广泛关注. 本文介绍了光学显微镜的研究背景以及国内外团队在微球超分辨显微技术方面的研究进展, 包括通过在微球表面进行环刻同心环、中心遮挡和表面涂覆的方法来调节微球所产生的光子纳米喷射方面所开展的一系列研究, 并进行了理论模拟和实验验证, 进一步提升了微球的超分辨显微效应. 最后, 展望了今后微球超分辨显微技术的应用与发展方向.

关键词: 光学显微镜, 微球超分辨, 光子纳米喷射

PACS: 07.60.Pb, 07.60.-j, 42.79.Bh

DOI: 10.7498/aps.66.140702

1 引言

光学显微镜是利用光学原理, 把人眼所不能分辨的微小物体放大成像, 以供人们提取微细结构信息的光学仪器. 光学显微镜的发明是人类历史上取得的一项重大成就, 它使得人们能够看到放大

成百上千、甚至几万、几十万倍的肉眼所不能看见的精细结构. 1590年, 荷兰的两位眼镜工匠 Hans Janssen 和他的儿子 Zacharias Janssen 发明了世界上第一台光学显微镜. 后来, 经过伽利略, 罗伯特·胡可和列文·胡可等的进一步研究改进, 在动、植物机体微观结构的研究方面取得了杰出成就, 对科学技术尤其是生命科学的发展产生了重

* 国家重点基础研究发展计划 (批准号: 2013CBA01703)、国家自然科学基金 (批准号: 61605162)、福建省自然科学基金 (批准号: 2017J05106)、中国科学院光电技术研究所微细加工光学技术国家重点实验室开放课题 (KFS4) 和福建省高端装备制造协同创新中心资助的课题.

共同第一作者.

† 通信作者. E-mail: rzhou2@xmu.edu.cn

‡ 通信作者. E-mail: elehmh@nus.edu.sg

大的影响。1873年,德国科学家阿贝(E. Abbe)^[1]首次提出了光学衍射极限的概念,认为显微镜所能看到的物体的最小尺寸为光波长的一半左右(在可见光波段,这一极限大约为200 nm)。然而对于生命科学而言,这个尺度远远不够。值得注意的是,阿贝的光学衍射极限的概念是基于光波自身的波动属性而得到的,而当代许多先进的光学显微镜往往是通过光与物质的相互作用来实现,这为突破光学衍射极限提供了可能。受到阿贝的启发,德国科学家Helmholtz^[2]提出了著名的分辨率公式 $d = \frac{\lambda}{2n \sin \theta} = \frac{\lambda}{2NA}$,并在1877年由Stephenson^[3]进行实验验证,这进一步为突破光学衍射极限提供了理论基础。1942年,Francia首次假定了倏逝波的存在并于1949年进行了实验验证^[4]。倏逝波是一种沿介质界面传播的、振幅在垂直于界面的方向上的电磁波,作为一种近场驻波,在传播过程中,携带物体的高频率亚波长空间信息,其强度随着与物体表面距离的增加而呈指数衰减。相对于一般传播波,倏逝波的平行分量较大,能够表现出更加精细的细节信息^[5-7]。

1970年,Nassenstein^[8]采用了一个巧妙的方案,利用倏逝波照射物体,并用全息技术获得了放大的图像,所放大图像的分辨率由倏逝波的波长决定。基于这一方案,1972年,近场扫描光学显微镜(near-field scanning optical microscopy, NSOM)由此诞生^[9]。通过物体表面覆盖的具有微小针孔(孔径小于入射光波长)的薄膜,成功进行了首次超越经典光学分辨率极限的亚波长成像。虽然NSOM俘获的图像的分辨率优于其他大多数显微镜,但探针扫描检测的方法使得整个系统复杂且成像缓慢,不能进行实时的生物检测,并受到孔径尺寸的限制^[10]。

对于常规透镜,图像的清晰度总是受到光波长的限制。2000年,Pendry^[11]通过一系列理论分析和证明,提出了“完美透镜”的概念,通过具有负折射率(折射率小于零)的人造介质^[12-16],能够恢复传播波的相位和倏逝波的振幅,放大倏逝波^[17]。使用这种透镜,传播波和倏逝波都可以贡献于提升图像的分辨率,使得物体的信息在成像点完美重建,打破了传统光学显微镜的限制,实现了超分辨聚焦的目的。完美透镜的概念导致了对超材料和等离子体激元研究的激增。遵循Pendry的基本思想,过去十几年中,世界各地的许多研究团队和研究人员研

发了多个版本的等离子体超材料超透镜^[18-21],这些超透镜虽然突破了阿贝的传统光学限制,但分辨率仍限制在70—100 nm,无法达到生物领域所需的更高分辨率的水平^[22,23]。

超分辨显微技术是近年来发展的最成功的显微技术。不同于近场成像的NSOM和超材料透镜,超分辨显微技术基于远场成像。它主要有两种实现途径:一种是基于特殊强度分布照明光场的超分辨成像方法(如stimulated emission depletion microscopy, STED),另一种是基于单分子成像和定位的方法(如photo activated localization microscopy, PALM)。1999年,德国科学家Hell和Wichmann^[24]基于爱因斯坦受激辐射理论首次实现了受激发射损耗显微技术(STED)^[25]。通过一束激发光将荧光分子激发,使基态粒子跃迁到激发态,随后,用另一束环形STED光照射,使正处于激发态的粒子重新回到基态,失去发射荧光的能力。剩余的可发射荧光区被限制在一个小圆环范围内,相当于获得了一个小于衍射极限的荧光发光点,进而获得突破传统衍射极限的超分辨率图像。

为了克服一个艾里斑内只允许一个分子发射荧光的限制,2006年,Betzig等^[26]利用光激活绿色荧光蛋白(PA-GFP)的可控荧光开关特性,结合单分子定位算法,实现了生物样本的超分辨成像。他们首先利用低能量的405 nm激光来稀疏活化PA-GFP,再使用561 nm激光对活化后的PA-GFP进行单分子荧光成像,直至活化后的PA-GFP分子被光漂白。重复激活-激发-定位-漂白过程,可以在艾里斑内精确地找到大量PA-GFP分子的中心位置,从而重建出一幅由PA-GFP分子中心位置组成的超分辨图像。这种技术被称为光激活定位显微镜(PALM)。2014年,因在超分辨荧光技术领域取得的重大成绩,Eric Betzig, Stefan W. Hell William E. Moerner获得了诺贝尔化学奖,体现了光学成像在科学发展中的地位。但是,STED和PALM等技术仍存在许多不足。例如,PALM只能用来观察外源表达的蛋白质,而对于分辨细胞内源蛋白质的定位则无能为力。同时,需要注意的是,这些技术是基于荧光材料,而不是超高分辨率的透镜,对于无法使用荧光标记的物体也束手无策。而且,荧光的使用可能导致生物原始性质的改变,并影响其动态过程^[27-30]。因此,开发不需要进行标记的高分辨率透镜非常关键。

以上对光学成像的探索虽然取得了一定的进展, 或多或少的打破了传统光学衍射极限的限制, 但上述这些技术所实现的分辨率在不同条件下仍被限制在 70—100 nm 之间. 2011 年, 本课题组洪明辉教授及其博士研究生与李林教授合作, 发现了一种新颖的微球超分辨显微技术^[31]. 他们将光学透明微球(如二氧化硅微球, 直径为 2—9 μm)放置在所需成像物体的表面, 结合传统光学显微镜, 打破了传统光学衍射的极限. 在透射模式下, 依靠直径 4.74 μm 的微球, 成功分辨了具有 50 nm 直径和间隔孔的鱼网镀金阳极氧化铝(anodic aluminum oxide, AAO)膜样品, 在反射模式下清晰地分辨了用于 DVD 磁盘的 GeSbTe(广泛用于光存储和电存储研究的相变材料)薄膜上所带有的 90 nm 尺度边角呈复杂星形的结构. 在后续实验中, 不论反射或透射成像模式, 都可以观察到 50 nm 的微小样品. 这种新的无需标记且方法简单的微球超分辨显微技术, 相对于之前的光学显微技术有了更进一步的突破, 吸引了许多研究人员致力于微球超分辨显微技术的研究^[32–44].

2 微球光学显微镜

微球超分辨显微效应与微球本身的物化性质(不同尺寸、材料以及折射率)^[45–47]、实验环境(不同入射光、微球浸没或半浸没)以及样品本身等因素有关^[48–52]. 为了进一步了解 Wang 等^[31]发现的微球超显微分辨技术, Hao 等^[53]在 Wang 等人的微球实验基础上进行改进, 发现当把微球半浸没于液体中时, 微球内部虚像的对比度能被极大地增强, 但将微球完全浸没于液体时, 并没有获得预期的增强效果. 图 1 为 Hao 等所进行的实验模拟图, 其实验装置包括反射模式下的光学显微镜 NIKON Eclipse 80i、样品(蓝光光盘的芯片, 槽脊宽 200 nm, 槽宽 100 nm, 如图 2(a))、二氧化硅微球(直径 3 μm , 折射率 1.47)以及乙醇溶液层.

从图 2 中可以观察到, 液体半浸没后微球显微镜的能力被明显增强. 考虑到乙醇层的挥发性, Hao 等用视频记录下了成像的动态过程. 当乙醇蒸发至微球一部分暴露时, 暗条纹出现在微球体内, 并且逐渐变得清晰, 图像边界更加尖锐, 如图 2(d). 当乙醇完全蒸发消失之后, 图像再次变得模糊. 他们对其中的机理做了详细的说明. Hao 等发现的

微球浸没后得到的图像更清晰, 对比度增强, 分辨率更高, 但所带来的缺点是放大倍数的降低. 无浸没时 3 μm 二氧化硅微球对蓝光光盘的成像倍数为 2.7 倍, 浸没于乙醇中时, 放大倍数随浸没深度的变化相应地发生改变.

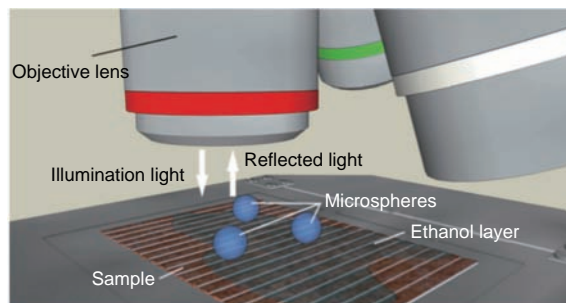


图 1 半浸没微球成像系统的实验装置^[53]

Fig. 1. Semi-immersion experimental configuration of microsphere-based nanoscope^[53].

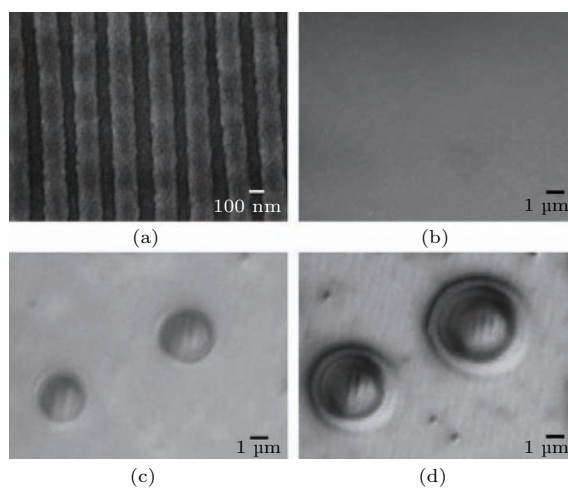


图 2 通过不同方式产生的蓝光光盘表面图像 (a) 扫描电子显微镜; (b) 具有 100 \times 物镜的光学显微镜; (c) 3 μm 微球; (d) 半浸没在乙醇中的 3 μm 微球^[53]

Fig. 2. Images of the surface of the blue-ray disk generated by different technical methods: (a) Scanning electron microscope; (b) optical microscope with 100 objective lens; (c) 3 μm microsphere; (d) 3 μm microsphere semi-immersed in the ethanol droplet^[53].

不同于 Wang 等^[31]使用的 2—9 μm 的二氧化硅微球, Lee 等^[54]通过与传统光学显微镜相结合研究了更大尺寸的聚苯乙烯微球(直径为 30, 50, 100 μm)对图像分辨率的影响.

在实验过程中所用的样品为脊宽 180 nm、槽宽 120 nm 的蓝光光盘(图 3(a))和在石英上具有 150 nm 直径点和 600 nm 间隔的金纳米图案(图 3(b)). 微球通过水滴散布在样品表面, 干燥后在反射模式下观察.

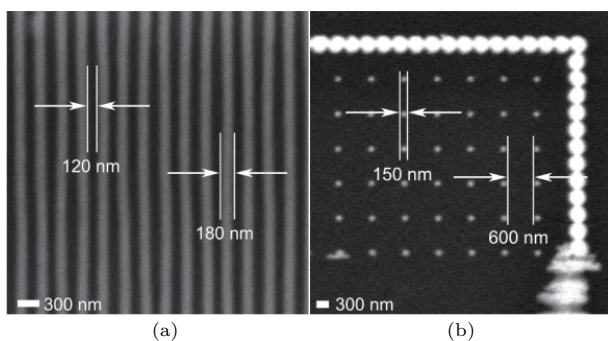


图3 (a) 蓝光盘; (b) 石英上的金纳米板的SEM图像^[54]
 Fig. 3. Scanning electron microscope (SEM) images of (a) blue-ray disc and (b) gold nano-patterns on quartz^[54].

根据衍射极限的限制, 本次实验所用光学显微镜的分辨极限在 300 nm 左右. 在样品表面放置微球之后, 能清楚地观察到突破传统衍射极限的图案, 如图 4 所示. 对于不同直径大小的微球, 光学显微镜通过调整不同的聚焦位置来获得最佳的图像. 对比图 4(d), (e), (f) 可以看到, 对于 30 和 50 μm 的微球, 在较大面积成像时, 由于相邻微球之间的重叠干涉而影响超分辨效果. 100 μm 的微球则可以有效避免这种情况, 因为微球体的观察窗

大于光学显微镜的观察窗, 不会受到相邻微球的边界干涉影响. Lee 等^[54] 研究发现大尺寸微球 (直径大于 30 μm) 也能够非浸没的空气环境中实现超分辨成像, 特别是相对于 Wang 等^[31] 研究所用的 2—9 μm 小微球而言, 消除了相邻干涉的影响并实现了更大范围的超分辨成像.

此外, 他们还发现放大倍数与图像聚焦位置相关. 图 5 为不同尺寸微球在蓝光光盘上的成像放大倍数和图像聚焦位置的折线关系. 在折线图范围之外, 超分辨成像能力消失. 当焦点位置远离样品时, 放大率上升, 但随之而来的是分辨率和对比度的下降. 同样, 放大倍数也取决于微球的尺寸, 当 $\alpha = 3.0$ 时, 30, 50, 100 μm 的微球放大倍数分别为 6.5, 7.5 和 8.0 倍. 由于倏逝波不具有衍射极限, 因此成像分辨率很大程度上取决于对标准传统光学显微镜所能放大的倍数和转换处理图像的方式. 对于具有 300 nm 的衍射极限的该特定光学显微镜, 在理想情况下约 7 倍的微球放大将允许光学显微镜观察到的样品细节达到 43 nm (以 300 nm/7 来估算).

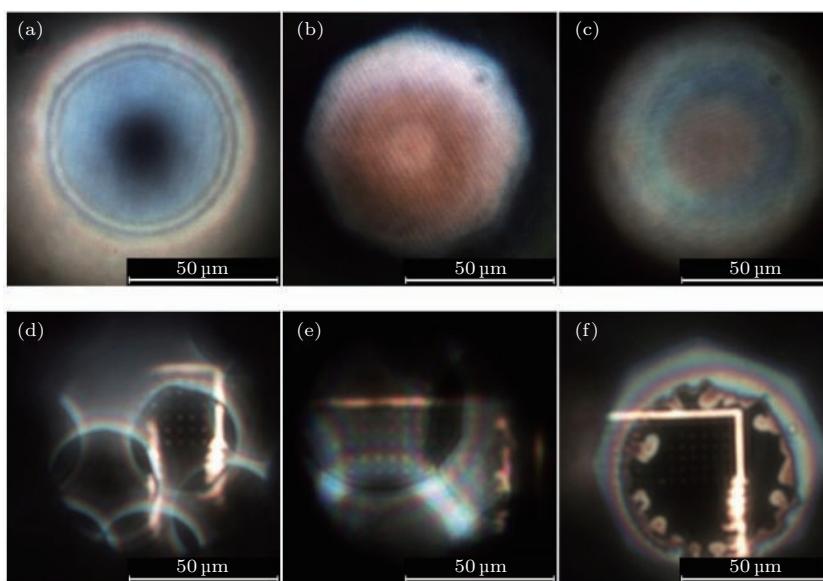


图4 不同直径微球下蓝光盘 (a)—(c) 和石英金纳米板 (d)—(f) 的放大图像 (a) 直径 30 μm , 焦距 99 μm ; (b) 直径 50 μm , 焦距 120 μm ; (c) 直径 100 μm , 焦距 300 μm ; (d) 直径 30 μm , 焦距 60 μm ; (e) 直径 50 μm , 焦距 140 μm ; (f) 直径 100 μm , 焦距 200 μm ^[54]

Fig. 4. Magnified optical images with 30, 50, and 100 μm diameter PS microspheres in air: The blue-ray disc is resolved with (a) 30 μm , (b) 50 μm and (c) 100 μm PS microspheres when the optical microscope is focused 99, 120 and 300 μm below the target surface, respectively; the gold nano-patterned quartz is observed with the (d) 30 μm , (e) 50 μm and (f) 100 μm PS microspheres 60, 140 and 200 μm below the target surface, respectively^[54].

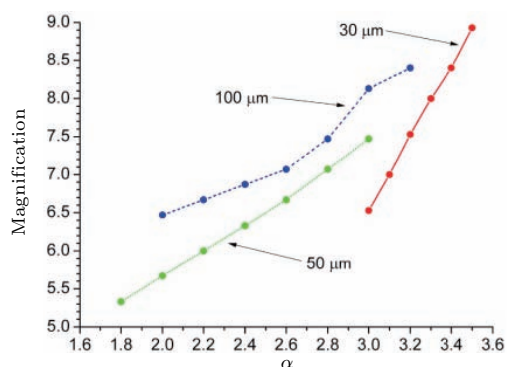


图5 蓝光盘中微球放大因子折线图 其中 α 定义为目标基板下方的焦点图像位置除以微球的直径,折线上圆点为超分辨图像采样位置^[54]

Fig. 5. Magnification factor analysis of PS microspheres in the blue-ray disc. α is defined as the α focal image position below the target substrate divided by the diameter of the PS microsphere. The circle spots are sampling positions for super-resolution imaging^[54].

在一般的微球显微效应研究中,通常采用同一波长的光源照射,而改变其他可能影响超显微效应的参数。Lee和Li^[55]从理论上研究了光子纳米喷射效应,进一步推测出光源波长对成像的影响。他们使用的小球直径为 $60\ \mu\text{m}$,折射率为2.2,并浸没在水中,用波长分别为400, 500, 600和700 nm的平面波照射,在四种情况下光强最大处分别得到了 0.69λ , 0.63λ , 0.59λ 以及 0.62λ 的半高全宽(full width at half maximum, FWHM)和5635, 5212, 4867, 5059 nm的光强最大处与微球表面的距离(distance for the maximum intensity, DMI)。由此可见,当入射光的波长改变时,微球仍然具有光子纳米喷射效应,同时产生了不同的光强分布,对进一步研究微球超分辨显微效应具有指导意义。

3 微球光学显微镜成像效果的拓展

微透镜具有优异的调节入射光的能力,能够产生约一半入射波长的超过光学衍射极限的小焦斑。其中,研究最多的微透镜是微球和微柱。2000年, Lu等^[56]通过二氧化硅粒子增强了激光照射。后来, Chen等^[57]研究了在平面波照射下微柱体阴影侧的电场增强,提出了“光子纳米喷射”的概念。光子纳米喷射具有优异的光学性能,如非交联性、较强的局部电场以及尖锐的焦点,能够应用于纳米颗粒检测、光学纳米光刻和超分辨率成像等领

域^[58–62]。其中,如何获得更加尖锐的焦点是其关键问题,它体现了微球的聚焦能力。在光学超分辨成像中,样品与光子纳米喷射相互作用,产生散射波,通过微球传播并最终成像,将微球的超分辨能力推向新的极限^[63]。

为了调整光子纳米喷射的传播距离和波宽,先前的科研团队采用了很多方法。如:通过组合不同折射率的材料来调节光子纳米喷射的传播距离和聚焦,提出了双层介质微球或不同折射率的微球^[64,65];设计为半球形的单材料结构^[66]。虽然在一定程度上提高了传播距离,但是降低了光子纳米喷射的强度。至今为止,通过构造表面微结构来调整光子纳米喷射的方法尚未提出。表面微结构具有改变光路传播方向的能力,因此本课题组提出了一种通过在传统微球表面构造微结构,从而调谐微球所产生的光子纳米喷射的FWHM^[67]和工作距离的新方法^[68]。

如图6所示,微球材料为二氧化硅,微球表面照射处经过表面修饰,构造出同心环微结构(同心环宽为 $0.25\ \mu\text{m}$)。由于微球尺寸小(大约 $10\ \mu\text{m}$),在实验中设计了薄的金膜以承载小微球,金膜由常规的UV光刻和金电镀制成。具体步骤为:利用激光直写系统(海德堡仪器公司的UPG),在旋涂

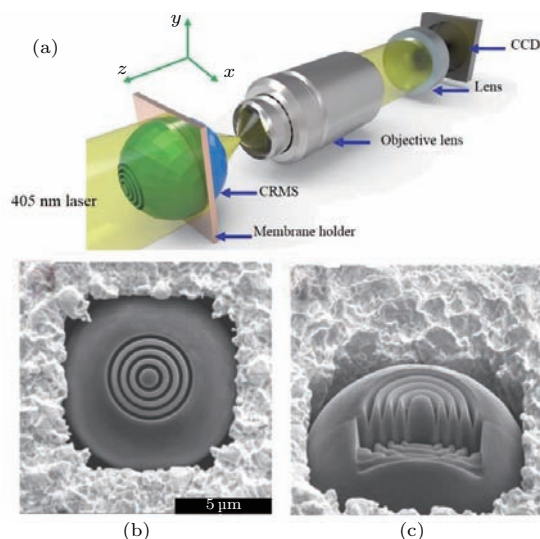


图6 (a) 光学显微镜观察光子纳米喷射示意图,位于物镜和CCD之间的透镜表示光学显微镜中的聚焦透镜;(b) 4环构造微球的俯视图;(c) 4环构造微球的侧视图^[68]

Fig. 6. (a) Schematic of observing photon nano jet (PNJ) by an optical microscope, the lens located between the objective lens and CCD represents for the focusing lenses in the optical microscope, (b) top and (c) side views of a 4 ring microsphere^[68].

有 530 nm 的 AZ1518 光致抗蚀剂层的 100 nm 厚铬基底进行光刻; 然后, 清洁 500 μm 厚的硅晶片, 并用薄层的 Cr/Au (100 nm/50 nm) 作为黏合和电镀基底; 再通过旋涂沉积 5 μm 厚的 AZ9260 抗蚀剂, 然后通过 UV 光在掩模和键合 Aligner (Karl Suss, MA8/BA6) 中曝光; 抗蚀剂显影后, 剩余的抗蚀剂模具用于金电镀以形成金层, 用丙酮和金蚀刻剂除去 AZ 9260 抗蚀剂和 Au 镀层; 最后, 通过 Cr 蚀刻将整个金膜从衬底中释放出来. 将整个结构浸入稀释的水中, 把微球分散在金膜上, 取出后, 在环境气体中干燥, 在 FEI DA 300 聚焦离子束 (FIB) 系统下, 使用 30 kV 和 50 nA 的液态金属镓离子源在微球表面构造同心环结构. 实验过程中, 控制金膜上的小微球以 50 nm 的步长沿 Z 轴移动. 通过时域有限差分法 (finite-difference time-domain, FDTD) 模拟, 研究同心环环数和深度等因素对微球光子纳米喷射的影响.

首先, 我们研究了在数值模拟中, 保持深度一定 (1.2 μm), 通过变化环数 (0—6 环) 来研究其对光子纳米喷射的影响, 模拟结果如图 7 所示.

入射光照射在微球顶部, 通过同心环, 最后聚焦在阴影侧. 与没有经过表面修饰的微球相比, 4 环微球使得光束更加汇聚, 如图 7 (b)—(d). 图 7 (e) 为环数为 0—6 时的光子纳米喷射的最高强度点沿 y 轴的分布, 可以明显地观察到 FWHM 的缩小. 入射光波长 (λ) 为 405 nm, FWHM 从 274.2 nm (无环, 0.686λ) 降低至 182.8 nm (6 环, 0.457λ), 降低了 33.3%. 环数从变化到 3 时, FWHM 快速下降, 当环数为 4 时, FWHM 为 194.3 nm (0.486λ), 相对无环降低了 29.1%. 虽然 FWHM 下降明显, 但是从图中我们可以看到, 光强和工作距离也随之减少. 因此, 为了平衡工作距离以及 FWHM, 我们选择 4 环微球进行更进一步的模拟和实验. 环深度为微球表面到环底部的距离, 将环数固定为 4 后, 我们继续研究环深度对 FWHM 和工作距离的影响.

图 8 为环数 4 的不同环深 (0—1.6 μm) 产生的光子纳米喷射的 FDTD 模拟. 其中, 没有环时, 微球产生的 FWHM 为 274.2 nm (0.686λ). 相比之下, 当环深度为 1.2 μm 时, FWHM 可以被调制到 194.3 nm (0.486λ), 减少了 29.1%. 图 8 (f) 为不同环深下光子纳米喷射的工作距离和 FWHM 折线关系图, 可以观察到, 环深度较浅时 (0.2—0.6 μm) 时, 对应的工作距离较长, FWHM 较大 (约 260 nm),

环深在 1—2 μm 时, 工作距离较短, FWHM 较小 (约 200 nm). 可以得出结论, 最小 FWHM 可以在 0.8 μm 的深度处实现. 当深度浅于 0.8 μm 时, FWHM 和工作距离的变化不明显. 当深度大于 0.8 μm 时, 工作距离没有显著变化, 但是 FWHM 略有增加. 在浅深度 (1.0 μm) 进行的调制足以实现尖锐的光子纳米喷射. 从结果可以总结, 蚀刻深度在 0.8—1.4 μm 之间可以产生清晰的聚焦, 并且平均工作距离约为 0.8 μm . 因此, 我们选择 1.2 μm 的环深度以在实验上评价聚焦能力.

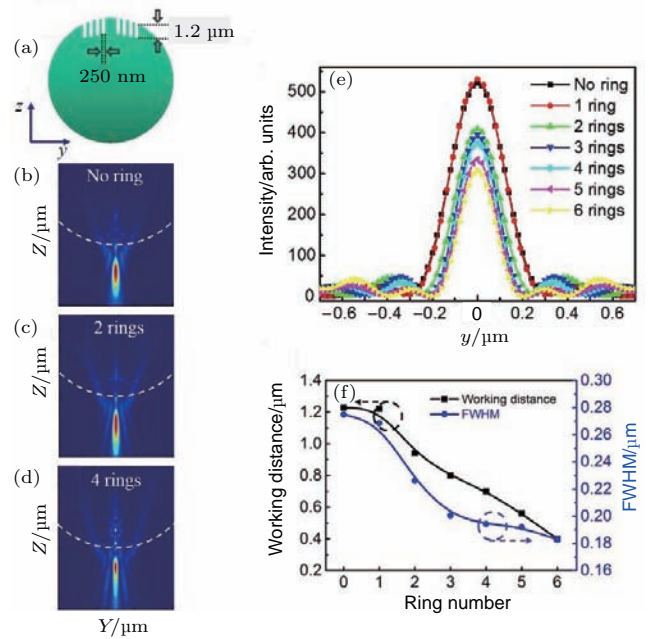


图 7 0—6 环构造微球下产生的光子纳米喷射 (a) 表面构造微球的横截面视图; (b)—(d) 在 YZ 平面中具有 2 和 4 个环的微球的光强分布; (e) 在光子纳米喷射的最高强度点处沿 y 轴的光强度分布; (f) FWHM 和工作距离与环数的关系 [68]

Fig. 7. PNJ generated by CRMS with 0 to 6 etched rings on the illumination side of CRMS: (a) Cross-section view of the CRMS; (b)—(d) light intensity distribution of CRMS with 0, 2 and 4 rings in the YZ plane; (e) light intensity distribution along y axis at the highest intensity points of the PNJ; (f) dependence of FWHM and working distance of the PNJ on ring number [68].

为了验证具有表面微结构的微球成像的功能, 我们通过光学显微镜直接观察光子纳米喷射, 以便于比较具有和不具有表面修饰微球所产生的效果. 图 9 (a)—(c) 分别为环深 1.2 μm 的 4 环, 单环微球和普通无构造微球. 图 9 (d)—(f) 为沿 Z 轴步长 50 nm 下所采集的 10 个光强分布的原始图像, 可以看出, 工作距离随环数减少, 这与模拟结果一致.

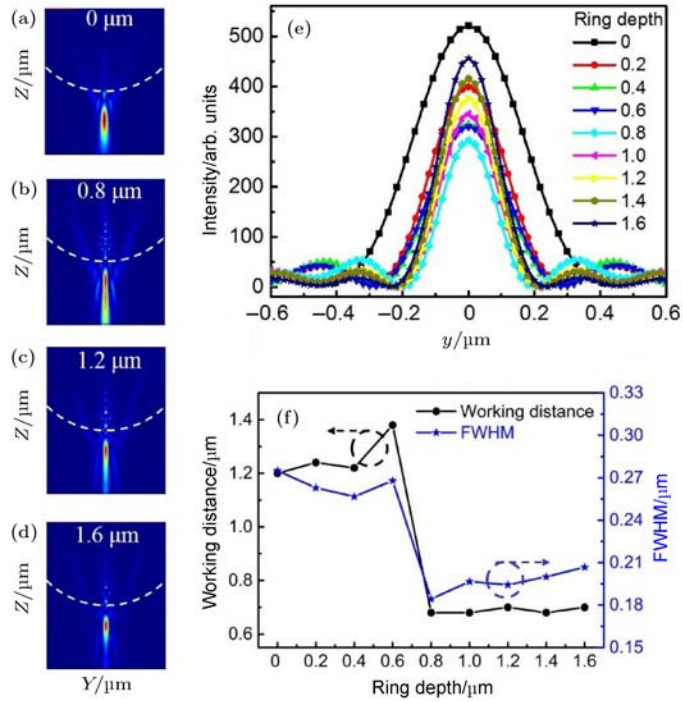


图8 环深由变化至 1.6 μm 下微球产生的光子纳米喷射的 FDTD 模拟 [68]
 Fig. 8. FDTD simulation of PNJs generated by microspheres with ring depth changed from 0 to 1.6 μm [68].

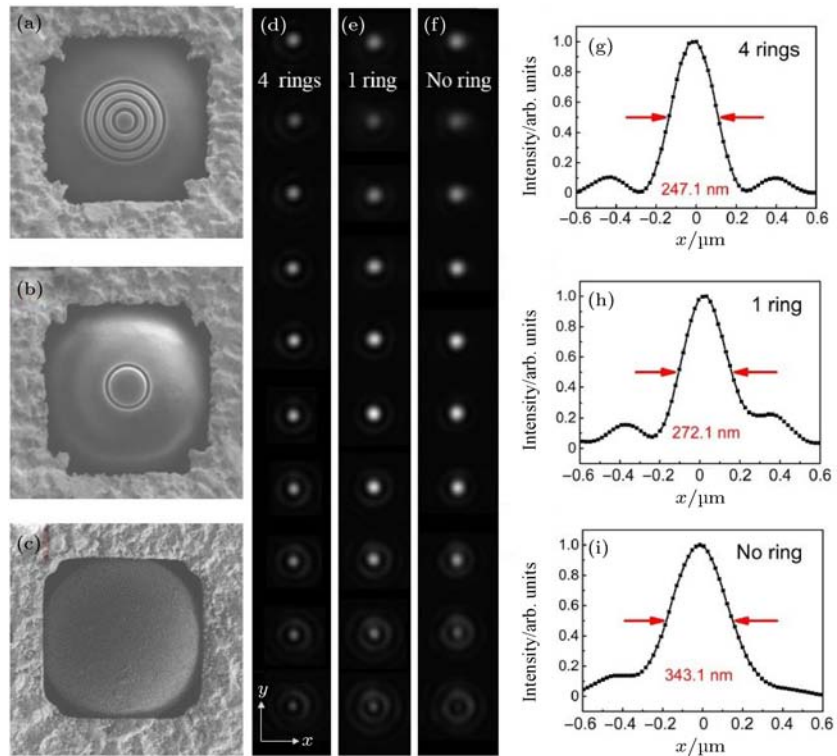


图9 在 405 nm 激光照射下 (a) 4 环, (b) 单环和 (c) 普通微球产生的光子纳米喷射的实验结果; (d) 4 环, (e) 1 环和 (f) 普通微球在 Z 轴上以 50 nm 间隔拍摄的 10 个图像; (g), (h), (i) 为沿水平方向 3 种微球的强度分布 [68]
 Fig. 9. Experimental results of the PNJ generated under 405 nm laser illumination by (a) 4 rings, (b) single ring microsphere and (c) microsphere only; 10 raw images of light intensity distribution along Z axis for (d) 4 ring microsphere; (e) 1 ring microsphere and (f) microsphere only are listed; the images are taken with a separation of 50 nm in Z axis, 10 images are chosen for each configuration to show the change at the focal plane; the intensity distributions along horizontal direction are plotted in (g), (h) and (i), respectively [68].

具有4环的表面构造微球产生的光子纳米喷射的FWHM比单环以及普通微球更加尖锐. 对于4环构型, 观察到247.1 nm的FWHM, 与仅由微球体(343.1 nm)获得的结果相比, 实现了FWHM的显著降低(28.0%).

在以上的研究工作中, 我们提出了表面构造来调节微球光子纳米喷射的新方法, 通过具有表面修饰同心环的二氧化硅微球, 研究了所产生的光子纳米喷射的FWHM和环数以及环深的关系. 在4环1.2 μm 得到了良好的实验结果, 并与模拟仿真结果一致. 但是, 由于环调节光束的传播方向所带来的散射效应, 导致工作距离与光强也相应减少.

此外, 本课题组还提出了一种新的通过微球表面中心覆盖来调节入射光, 实现尖锐光子纳米喷射的方法^[69]. 我们在微球照射侧表面的中心设计一层掩膜, 作为过滤器, 有选择性地使原始的入射光束引入到微球之中, 实现光子纳米喷射的FWHM和工作距离的改变. 为了在微球表面沉积铂层作为掩膜, 在FEI DA 300聚焦离子束系统下, 使用30 kV和50 nA的液态金属镱离子源, 在微球顶部制造约1 μm 厚的具有不同直径的铂层, 在FIB制造期间, 掩膜图案的中心与微球的光轴对准. 为了表征中心覆盖微球所产生的光子纳米喷射, 我们构建了实验装置, 应用低功率He-Ne 633 nm线偏振激光器(MellesGriot, 25-LHP-925-230)作为入射光源. 应用半波片来形成光束的线性偏振, 并且使用衰减器来将激光强度调谐到期望的亮度. 为了操作三维工程微球, 制成薄金膜(该金膜制作过程与上文相同), 起到微球透镜支架的作用. 金膜的厚度约为5 μm , 金膜孔与微球的直径相匹配. 在表征实验期间, 单一微球被置于照射光束下. 为了记录光子纳米喷射的 x - y 平面反射模式, 使用了高倍数物镜(Olympus, LMPlan Apo 150 \times , NA 0.9)和高分辨率互补金属氧化物半导体(CMOS)相机(尼康数码单反相机FX格式CMOS传感器, 4908 \times 3264像素). 在表征之前, 进行CMOS相机的像素尺寸的校准. 测试样品使用前经过扫描电子显微镜(SEM)检查. 通过校准SEM和光学图像中的长度, 可以获得CMOS相机的每个像素的大小. 光子纳米喷射的横截面在焦平面附近被俘获. 对于每个覆盖率, 制造三个微球体. 基于多次实验结果总结了最终的结果(本部分中其他实验的表征系统与此实验相同). 最终实现在633 nm波长的平面波照射下, 得

到了245 nm (0.387 λ)的焦点.

图10为通过线性偏振光照射后中心覆盖掩膜的微球聚焦示意图. 其中, 微球直径为10 μm , 折射率1.5. 入射光是波长为633 nm的沿 z 轴指示方向照射的平面波. 厚约1 μm 的铂沉积在微球表面, 作为中心覆盖的掩膜. 当覆盖的掩膜引入微球照射侧中心后, 在入射光轴附近的光线被反射, 因此, 只允许与光轴相距较远的光线通过. 根据光传输和反射的斯涅耳定律, 更远离光轴传播的入射光束将聚焦在微球体的表面附近. 这些光束经微球聚焦后, 与光轴形成不同的角度. 焦斑的强度被计算为最小角度到最大角度的积分. 注意到经微球聚焦之后, 离光轴较近的光束与光轴形成的角度小, 和具有低数值孔径(numerical aperture, NA)的聚焦透镜相似, 在低NA下, 焦斑的工作距离较长, 尺寸较大. 而对于远离光轴的光束而言, 聚焦现象类似于高NA的聚焦, 入射光束经过微球形成相对更加尖锐的焦点, 工作距离短. 我们在微球上设计了中心覆盖的掩膜来调整光子纳米喷射, 为了进一步的研究, 提出了覆盖率的概念(俯视图下: 覆盖率=掩膜半径/微球半径), 研究不同覆盖率下调整入射光束所得到的效果. 当覆盖率改变时, 进入微球的入射光量也相应改变, 在大覆盖率下, 只有薄环形光束被微球聚焦. 为了评估在 X 轴线性偏振聚焦束下中心覆盖微球的性能, 我们使用了3D FDTD进行模拟, 并在 YZ 平面收集结果. 在微球边界外沿着光轴的最高强度点处讨论光子纳米喷射的FWHM和工作距离. 线性偏振的模拟结果如图11所示.

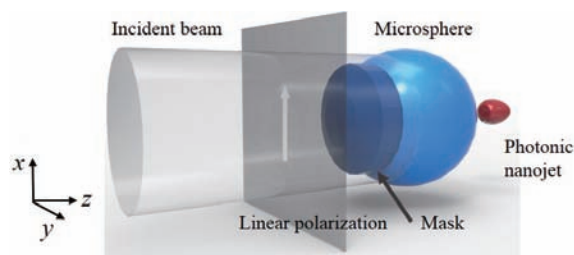


图10 用于线性偏振光束的超聚焦中心包微球的设计^[69]
Fig. 10. Design of the center-covered microsphere for super-focusing of linearly polarized beam^[69].

无任何覆盖层时, 在633 nm入射光照射下产生的FWHM为424.11 nm (0.67 λ). 覆盖率增加时, FWHM降低并且逐渐获得低于衍射极限(0.5 λ)的FWHM. 在较大覆盖率下(0.6—0.8)时, 只有薄环形光束能够通过微球体并聚焦, 得到的FWHM

约为 259.57—208.33 nm, 观察到了尖锐的焦点和较大的旁瓣. 在覆盖率为 0.8 时得到了 0.33λ 的尖锐焦点. 微球覆盖率增加时, 工作距离减少, 如图 11 (b), 使得光子纳米喷射更加接近微球阴影侧表面. 同时, 由于铂覆盖层的存在, 减少了微球中光束的通过量, 导致光子纳米喷射的强度降低. 我们对此进行了进一步的验证.

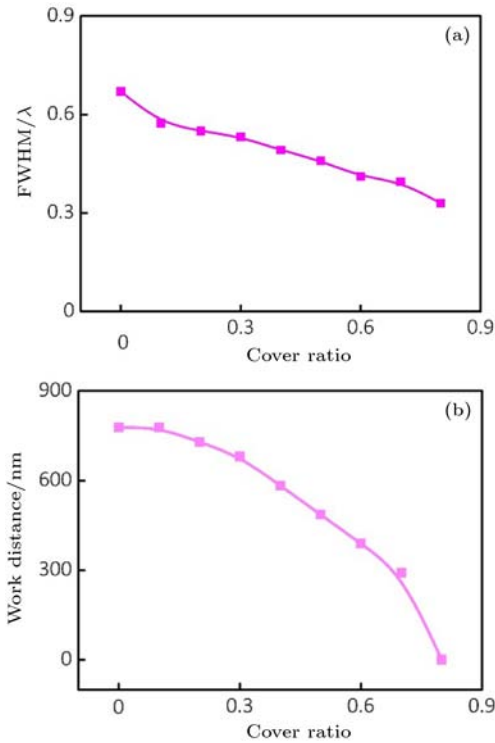


图 11 (a) 不同覆盖率下 $FWHM/\lambda$ 的模拟结果; (b) 不同覆盖率下工作距离 (WD) 的模拟结果 [69]

Fig. 11. (a) Simulated $FWHM/\lambda$ value for different cover ratios; (b) simulated working distance (WD) for different cover ratios [69].

图 12 (a) 为各个覆盖率下实验结果与模拟结果的对比图, 表面覆盖率从 0 增加到 0.78, 步长约为 0.13. 覆盖率为 0 时, 测得 410 nm (0.647λ) 的 FWHM, 与模拟结果相似. 随着覆盖率的上升, 光子纳米喷射所产生的焦斑尺寸减小, 呈下降趋势. 当覆盖率超过 0.603 时, 实现了中心覆盖微球的超聚焦效应. 从图 12 (b) 中可以观察到, 覆盖率为 0 时, 没有旁瓣产生, 而当覆盖率增加到 0.78 时, 旁瓣增大, 强度分布类似于贝塞尔光束 (Bessel beam) [70–72].

虽然在微球表面构造同心环和中心沉积铂覆盖的方法都实现了较好的 FWHM 的降低以及工作距离和强度的改变. 然而, 这些结构制造复杂, 并且无法进行动态自动调整. 于是, 我们提出了一种

通过改变温度来实现动态调整 FWHM 的方法, 并且无需改变微球参数. 我们将微球进行简单处理, 用二氧化钒涂覆在微球照射侧半球之上. 二氧化钒是一种相变材料, 相变温度为 68°C . 在 68°C 以下时, 二氧化钒为半导体, 温度升高至 68°C 以上, 发生相变, 变为金相材料, 随相变带来的是折射率的改变 [73–75]. 对比其他相变材料, 二氧化钒相变温度低, 相变能够轻易实现, 且相变可逆, 反应快速, 无明显滞后现象. 同时, 由于较低相变温度以及所使用的玻璃微球的热膨胀系数较低, 可以忽略微球热胀冷缩所带来的影响, 因此, 二氧化钒被认为是一种合适的微球表面涂覆材料. 理论上, 我们认为表面涂覆材料折射率随温度的改变从而能够导致光子纳米喷射的 FWHM, 工作距离和强度发生变化, 并进一步进行了仿真模拟和实验验证, 研究涂覆层厚度和微球参数之间的关系对结果的影响.

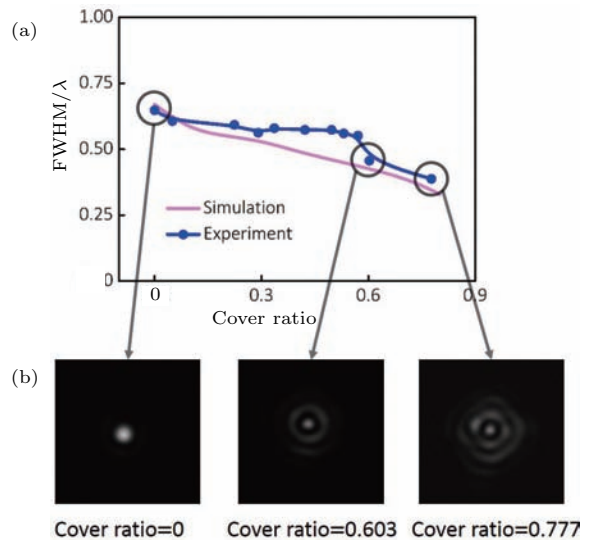


图 12 中心覆盖微球在不同覆盖率下光束尺寸的模拟和实验结果 (a) 光子纳米喷射器的束宽度与覆盖率的关系; (b) 由 CMOS 照相机俘获的光子纳米喷射器沿光轴的横截面的归一化强度分布 [69]

Fig. 12. Simulation and experimental results of the beam size for center-covered engineered microspheres at different cover ratios: (a) Dependence of the beam width of the photonic nanojet on cover ratio; (b) normalized intensity distribution of the cross-section of the photonic nanojet along the optical axis captured by the CMOS camera [69].

仿真原理如图 13 所示, 二氧化钒只涂覆在微球入射侧, 因为高温下二氧化钒具有金属性质, 不在阴影侧涂覆是为了防止发生微球内反射. 所用入射光波长为 800 nm. 光束主要通过二氧化钒涂层从顶表面进入微球体, 一部分通过涂层边缘衍射而

穿过微球侧面进入微球体. 二氧化钒通过两种途径来调节光子纳米喷射, 一方面首先是折射率的改变, 另一方面则是二氧化钒变为金属相后, 增加了涂层对光的吸收, 从而改变了微球内部的光强度.

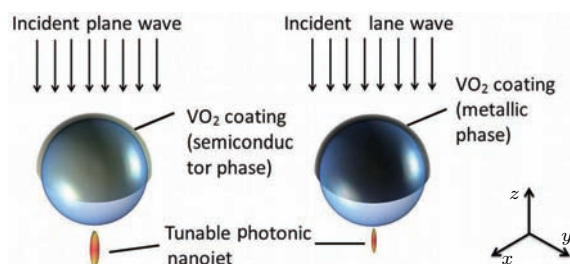


图 13 光照射方向涂覆二氧化钒的微球示意图 [76]

Fig. 13. Schematic of VO₂-coated microsphere with direction of illumination indicated [76].

如图 14 所示为不同涂覆厚度下光子纳米喷射分别在 20 °C(相变前)和 90 °C (相变后)的 FWHM, 工作距离和强度的关系折线图. 可以观察到当涂覆厚度达到 140 nm 时, FWHM 从温度 20 °C 升高至 90 °C 后变化明显. 但当涂覆厚度过厚时(超过 150 nm), 工作距离为负, 即在微球体内部聚焦, 且整个涂层几乎不透明, 导致入射光强度大大降低. 因此经过综合考虑, 确定 75 nm 厚度的涂覆层较为合适.

同时, 在确定涂覆厚度为 75 nm 的情况下, 本课题组研究了最适合用于调节光子纳米喷射的 FWHM 的微球的直径和折射率, 模拟结果如图 15 所示. 从图 15(a) 可以观察到, 光强度和微球直径成正比, 这是因为随着直径增大, 微球所暴露出来的面积更大, 能够吸收更多的光束通过而形成聚焦. 在直径为 5 μm 时, FWHM 随涂覆层温度变化下降明显, 综合考虑后, 认为 4 μm 或 5 μm 为比较合适的微球尺寸. 微球的折射率是影响光子纳米喷射的关键的参数, 我们在确定涂覆二氧化钒厚度 75 nm、微球直径 5 μm 的前提下, 进行了进一步模拟, 研究微球折射率变化所带来的光子纳米喷射的 FWHM 以及工作距离和强度随涂覆层相变而带来的改变. 折射率增加时, FWHM 变得更窄, 工作距离变短, 强度上升. 当折射率过大(大于 1.55 时), 光子纳米喷射在微球体内发生, 如图 15(b) 中间图小方框所示, 工作距离为负值. 类似地, 我们认为折射率 1.5 时所带来的 FWHM 和工作距离的改变较为合适.

为了进一步降低二氧化钒相变后光子纳米喷射的 FWHM 和工作距离, 进行了射线分析, 分析结果与 FDTD 模拟结果一致. 我们通过在直径为 5 μm、折射率为 1.5 的微球上涂覆 75 nm 厚的二氧化钒涂覆层, 应用二氧化钒材料随温度变化的相变特性, 实现了自动调节光子纳米喷射的功能, 对进一步实现超分辨率成像具有重要意义 [76].

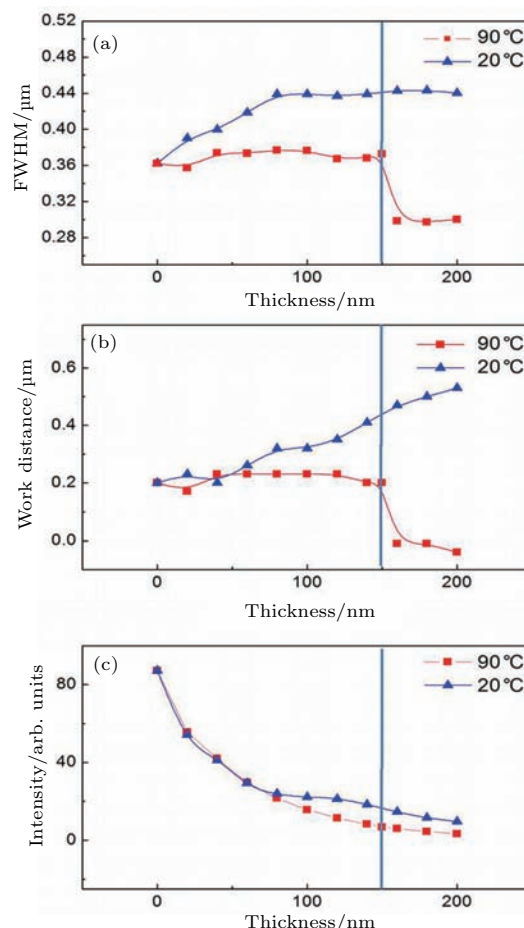


图 14 涂覆厚度在 0—200 nm 下光子纳米喷射对应的 (a) FWHM, (b) WD, (c) 强度; 垂线右侧点为聚焦在微球内部的点 [76]

Fig. 14. (a) FWHM, (b) WD and (c) intensity of the PNJ versus thickness of VO₂ coating (nm). Points to the right of the vertical line are points where the focus spot occurs inside the micro-sphere. Thickness of the coating layer varies from 0 to 200 nm [76].

4 成像机理

微球的成像机理在全世界引起了热议. 有观点提出微球超分辨显微技术是通过将倏逝波转化为传播波来提高分辨率以打破光学衍射极限 [50,77], 其机理与亥姆霍兹方程 [78] 有关. 在均相介质中:

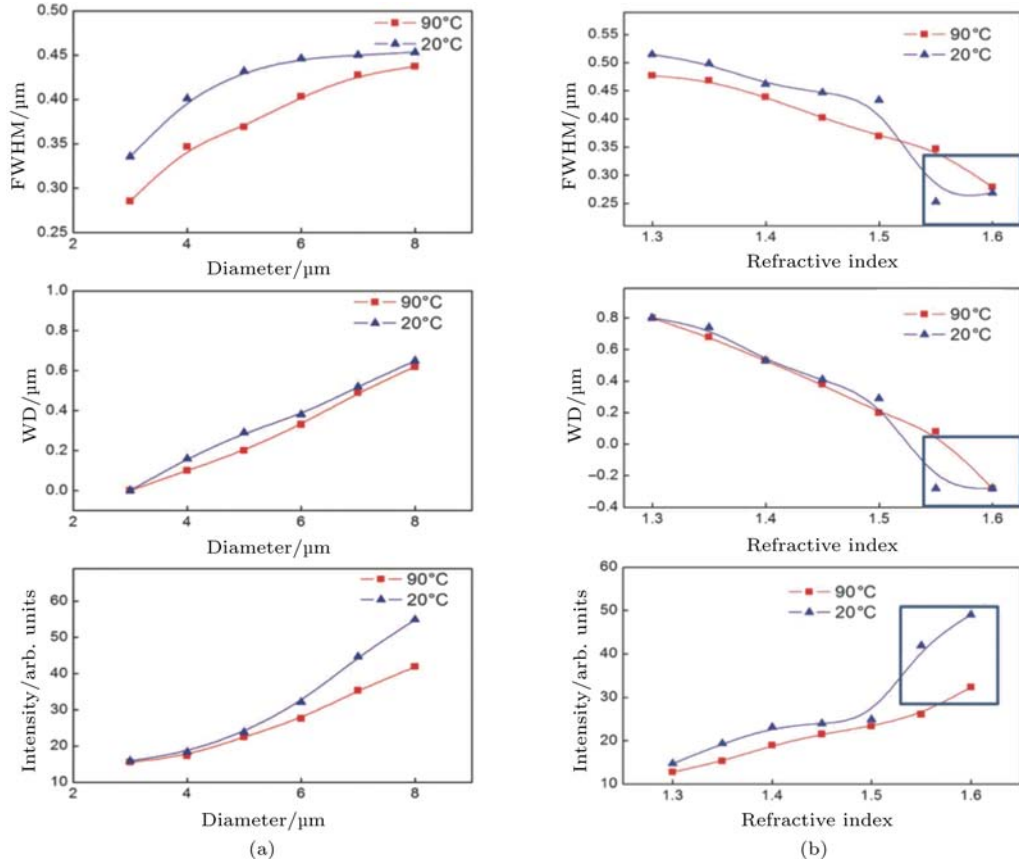


图 15 (a) 光子纳米喷射的 FWHM, 工作距离和强度与微球直径的关系, 直径为 3—8 μm; (b) 光子纳米喷射的 FWHM, 工作距离和强度与微球折射率的关系, 折射率为 1.3—1.6, 蓝框内光子纳米喷射发生在微球内部^[76]

Fig. 15. (a) FWHM, WD and Intensity of the PNJ versus diameter of the microsphere, diameter varies from 3.0 to 8.0 μm; (b) FWHM, WD and Intensity of the PNJ versus refractive index of the microsphere, the refractive index of the microsphere varies from 1.3 to 1.6, the boxed-up area indicates the points where the PNJ occurs within the microsphere^[76].

$$k_0^2 = k_x^2 + k_y^2 + k_z^2, \quad (1)$$

其中 $k_0 = (2\pi n)/\lambda$; n 为折射率; k_x, k_y, k_z 为波矢分量. 倏逝波可以被获得, 当

$$k_x^2 + k_y^2 > k_0^2, \quad (2)$$

随着 z 方向上波的倏减, k_z 可忽略不计. 当波矢分量在 x 和 y 平面上增加, 或者 λ 的值减少时, 分辨率提高, 结果导致倏逝波也同时倏减. 微球超分辨显微技术可以通过将倏逝波转化为传播波来突破这些限制. 在微球光学纳米显微镜中, 电磁 (EM) 场 ($E(x, y)$) 由微球以外的成像平面来调节. 它被转化为

$$E'(x, y) = E(x, y)G(x, y), \quad (3)$$

其中变换函数 $G(x, y)$ 和 $E'(x, y)$ 可以通过几何光学和微球的成像平面计算, $G(x, y)$ 表示微球外成像平面从物体平面到某一特定平面的转换. 超分辨效应可以通过分析空间波矢坐标来解释. 通过傅里

叶变换, $G(x, y)$ 可以表示为波矢空间坐标

$$G(k_x, k_y) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} G(x, y) \times \exp[-i(k_x x + k_y y) dx dy]. \quad (4)$$

傅里叶振幅 $A(k_x, k_y)$ 由 $E(x, y)$ 的傅里叶逆来确定, 为

$$A(k_x, k_y) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} E(x, y) \times \exp[-i(k_x x + k_y y) dx dy], \quad (5)$$

其中 k_x 和 k_y 为 x 和 y 方向的波矢分量, $E'(x, y)$, $E(x, y)$ 和 $G(x, y)$ 分别由 (3), (4), (5) 式得出. 由 $E'(k_x, k_y)$ 可以得到

$$E'(k_x, k_y) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} A(k'_x, k'_y) \times G(k_x - k'_x, k_y - k'_y) dk'_x dk'_y. \quad (6)$$

空间波矢量传递函数 $G(k_x, k_y)$ 和 $A(k_x, k_y)$ 的卷积导致空间波矢量的拓展. 因此, 物体平面中

的倏逝波通过卷积变换到传播波, 波矢的拓展显著地受到具有非常宽范围坐标 (k_x, k_y) 的 $G(k_x, k_y)$ 影响.

垂直于平坦且平滑的金属边界平面入射的平面电磁场是均匀反射平面波的折射. 在微球光纳米显微镜中, 物平面在某些点处弯曲, 其中物体具有凹和凸表面. 在凸表面, 反射电磁波束是发散的, 因此减小了在这些点附近的电磁场强度. 而在凹表面, 反射电磁波汇聚, 因此增加了这些点附近的电磁场强度. 在物平面附近的反射电磁场具有对应于物体曲率属性的可变电磁场强度.

对于穿过物平面的透射电磁场发生类似的效果, 其中凸和凹表面影响物平面附近的电磁场分布. 凹面导致透射电磁波束的汇聚, 而凸面导致光束发散. 这种效应导致物体的电磁成像, 包括它们的精细结构, 可以远小于波长. 因此, 超分辨率成像通过由微球收集的这种电磁波实现, 其吸收倏逝波并将其转换成传播波.

另外, 从几何光学角度分析微球透镜的光学成像特性及其与常规显微物镜配合实现高分辨显微的成像原理^[79], 如图 16 所示.

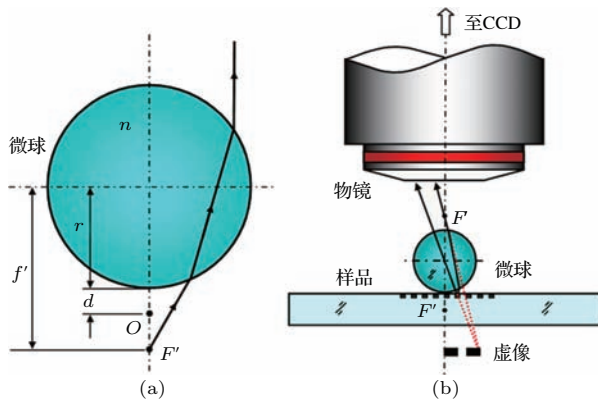


图 16 基于微球的高分辨成像原理图 (a) 微球及其成像特性图解; (b) 微球与常规显微物镜配合的高分辨率 (高倍率) 显微成像示意图^[79]

Fig. 16. High-resolution imaging of microspheres based on microspheres: (a) Microspheres and their imaging characteristics; (b) high-resolution (high magnification) micrographs of microspheres with conventional microscopic spectroscopy^[79].

图 16(a) 中, 设微球透镜的焦距为 f' , 折射率 n , 半径为 r , 则有

$$f' = \frac{nr}{2(n-1)}. \quad (7)$$

根据物距 l , 像距 l' 和焦距 f' 的关系式

$$1/l' - 1/l = 1/f', \quad (8)$$

可以推导出微球的成像放大倍率 M ,

$$M = \frac{l'}{l} = \frac{f'}{l+f'}. \quad (9)$$

当微球处于样品表面时, 如图 16(b), $d = 0$, 物距 l 为

$$l = -(r+d) = -r. \quad (10)$$

将 (7) 式与 (10) 式代入 (9) 式, 可得

$$M = \frac{n}{2-n}. \quad (11)$$

由 (11) 式可知, 当样品位于微球下端面时, 微球对样品的放大倍率 M 与微球直径 (或半径 r) 无关.

假设已知二氧化硅微球的折射率约为 $n = 1.46$, 计算得到 $M = 2.7$. 若采用二氧化硅微球, 可预先将样品的微纳米结构放大约 2.7 倍 (一次放大); 然后, 经过后续的常规显微物镜接收, 再将微球视场内的样品结构进一步放大 (二次放大), 从而获得比采用相同显微物镜时更高的放大倍率和更高的分辨率, 为实现微纳米样品的超分辨成像提供了新途径.

此外, 2016 年, Yang 等^[80] 提出微球超分辨成像是由光子纳米喷射的腰部 (即最小 FWHM 处) 决定的概念, 用一种定量的方式描述光子纳米喷射对于超分辨率成像的作用, 如图 17 所示. 首先, 使用有限元法 (FEM) 对被不同尺寸微球汇聚的光进行系统的数值研究, 使纳米喷射形成于微球的后表面, 并且将微球的理论放大系数与光子纳米喷射的光聚焦能力相关联.

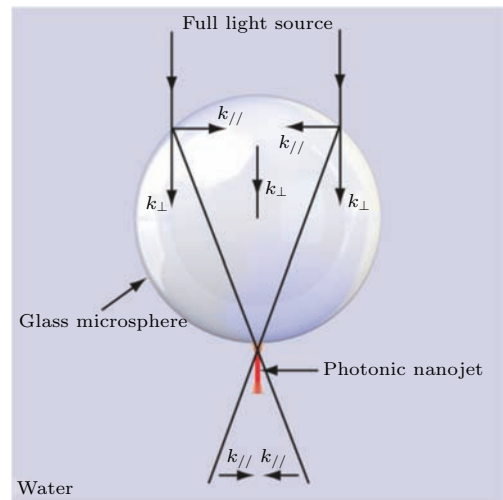


图 17 纳米喷射的生成概念^[80]

Fig. 17. Concept of the nanojet generation^[80].

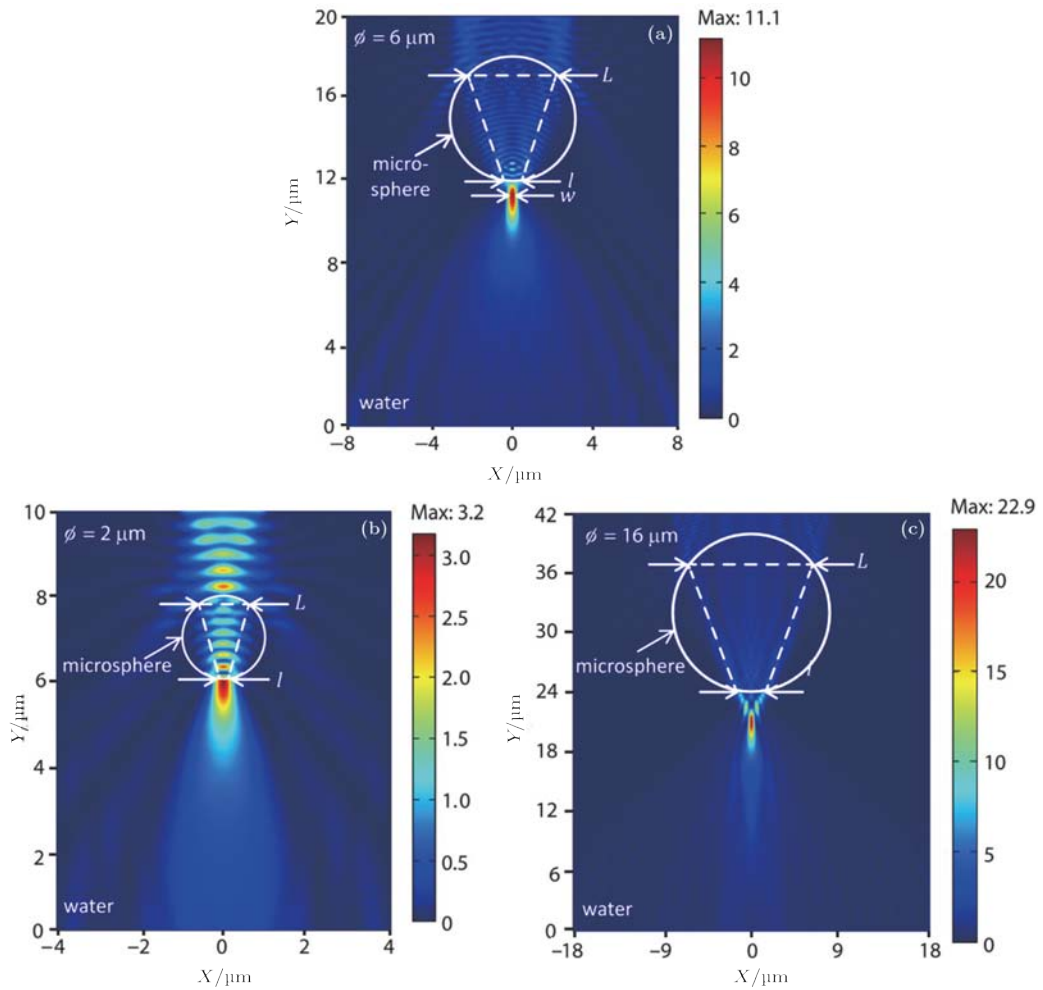


图 18 (a), (b), (c) 分别为光通过水中 2, 6 和 16 μm 钛酸钡微球的有限元模拟 [80]

Fig. 18. (a), (b) and (c) FEM simulation of the light propagation through a 6, 2, 16 μm barium titanate microsphere in water, respectively [80].

当入射光源照射微球时, 位于微球左侧和微球右侧的平行波矢分量相互干涉而消除, 而垂直波矢分量由于左右侧的叠加作用, 使得光子纳米喷射沿波传播方向进一步延伸. 他们运用波长 600 nm 的光源, 在水介质 (折射率 1.33) 中进行通过直径为 2—20 μm 的钛酸钡玻璃微球 (折射率 1.92) 的光波传播有限元研究.

如图 18 所示, 当微球直径为 6 μm 时, 光子纳米喷射汇聚在微球下表面; 当微球直径增加到 16 μm 时, 纳米喷射聚焦在微球下表面外; 微球直径减少到 2 μm 时, 纳米喷射聚焦在微球内部. 为了定量研究光是如何由微球聚焦从而产生光子纳米喷射这个问题, 他们将从微球上表面处进入的折射光的线性区域记为 L , 下表面处出射光束的宽度记作 l , 光子纳米喷射的腰部记作 w .

图 19 示意了微球的成像机理, 当被微球聚焦的

光照射样品时, 不产生纳米喷射, 而是遵循反射光的光学反射对称路径. 当微球与光栅之间的距离 h

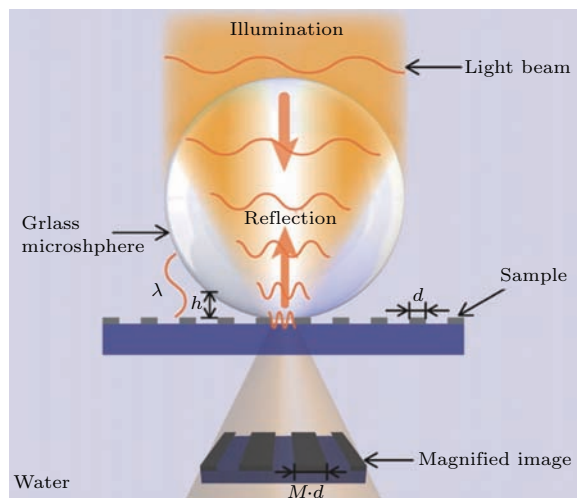


图 19 微球的成像机理 [80]

Fig. 19. Imaging mechanism of a dielectric microsphere [80].

足够小时, 包含物体高频空间信息的倏逝波被转换为微球内的传播波. 同时, 在远场中产生放大因子为 M 的虚像. 由于涉及的相同的光学路径, 数值研究中, 微球的成像能力与聚焦光子纳米喷射的形成直接相关.

如图 20 所示, 分别描述了由比率 L/l 表示的微球光聚焦能力和由 w/λ 表示的光子纳米喷射的腰部分别与微球直径的函数. 较大的 L/l 表示微球更好的光聚焦并且对应于纳米喷射的较小腰部. 根据模拟分析, 直径为 $6\ \mu\text{m}$ 的微球显示出最佳的光聚焦能力和最小的光子纳米喷射的腰部.

同时, 进行了进一步的实验验证, 如图 21 所示, 将实验获得的放大因子 M 与从模拟获得的理论光

聚焦能力 L/l 进行比较时, 获得与 Pearson 相关系数 (反映两个变量线性相关程度的统计量, 绝对值越大, 相关性越强) 为 0.91 的正相关, 表明微球具有更好的光聚焦能力, 可以获得更高的放大系数.

最后, 使用点扩散函数获得了与系统的真实分辨率相关的实际图像标准偏差 σ 与微球尺寸的函数关系和 σ 与 w/λ 之间的相关性, 如图 22 所示. 并由实线拟合, 得到了代表 Pearson 相关系数为 0.88 的线性拟合曲线. 从逻辑上进一步说明了光子纳米喷射的半高全宽越小, 与真实图像分辨率相关的图像标准差越小, 即分辨率越高. 他们通过理论模拟和实验验证, 从光子纳米喷射的聚焦角度阐述了微球超分辨成像的机理.

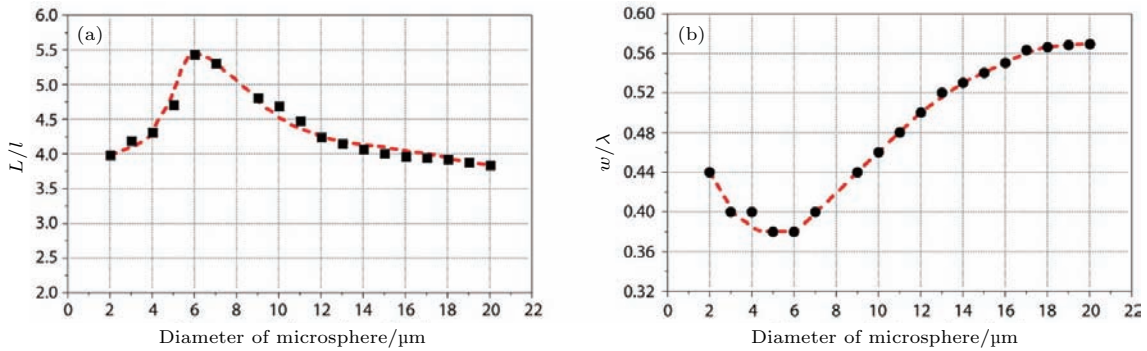


图 20 (a) 微球直径和比率 L/l 表示的聚焦能力的有限元模拟结果; (b) 微球直径和光子纳米喷射腰部与波长比率的有限元模拟结果; 图中黑点为模拟所得, 红线为指示线 [80]

Fig. 20. (a) FEM simulation results of the light focusing capability of a microsphere, expressed by the ratio L/l , as a function of the microsphere diameter; (b) FEM simulation results of the normalized waist of the photonic nanojet w/λ , as a function of the microsphere diameter. The dots are obtained from the simulation, while the red dotted line is a guide to the eye [80].

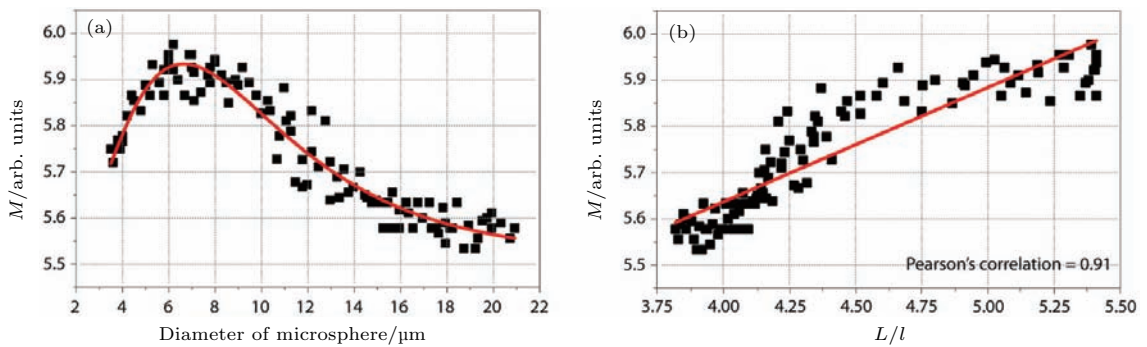


图 21 (a) 实验所得放大因子与微球直径关系图; (b) 实验放大因子与模拟所得的表示光聚焦能力的比率 L/l 关系图; 实线代表 Pearson 相关系数为 0.91 的线性拟合曲线 [80]

Fig. 21. (a) The dots represent the experimental magnification factor as a function of the microsphere diameter, while the solid line is a guide to the eye; (b) the experimental magnification factor M as a function of the light focusing capability L/l obtained from the simulations. The solid line represents a linear fitting curve with a Pearson's correlation coefficient of 0.91 [80].

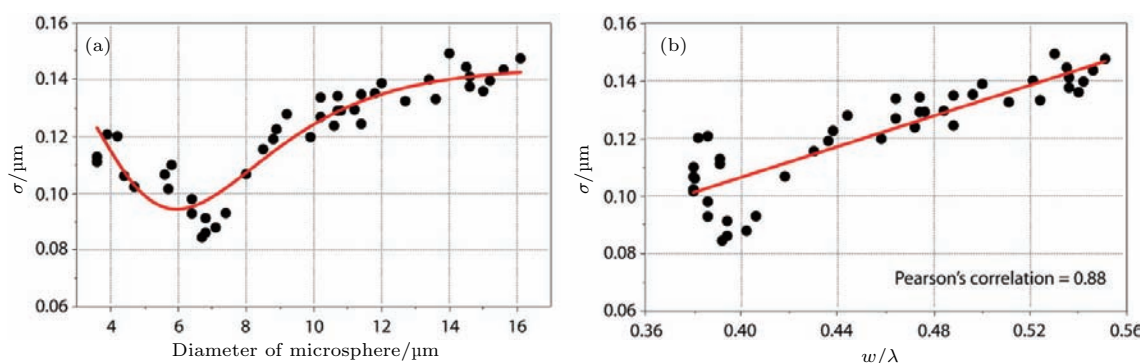


图 22 (a) 系统真实分辨率相关拟合获得的实际图像标准偏差与微球尺寸关系; (b) 图像标准差与光子纳米喷射腰部和波长比率的关系; 实线代表 Pearson 相关系数为 0.88 的线性拟合曲线 [80]

Fig. 22. (a) Actual image standard deviation σ obtained from the fit, related to the true resolution of the system, as a function of microsphere size, the dots are obtained from the fits with the analytical model, while the solid curve is a guide to the eye; (b) the correlation between σ and the normalized waist of the photonic nanojet w/λ ; the solid line represents a linear fitting curve with a Pearson's correlation coefficient of 0.88 [80].

5 总结与未来发展趋势

微球超分辨成像虽然简单方便, 但同时也有着一些固有的缺陷. 通常, 微球被放置在样品表面而无法被控制, 导致单个微球无法对大面积样品进行成像. 一种解决这个问题的直接简单的方法就是增加样品表面微球的数目. 然而, 在高密度的微球下, 微球倾向于聚集并且轴向重叠, 反而不利于光学性能的发挥. 即使光线照射表面微球能够产生周期性的纳米图案, 纳米结构的最小距离仍然受到微球直径的限制 [81]. 先前其他的尝试包括使用光学镊子来平移微球 [82,83], 或者使用放置在 XYZ 平台上的玻璃微量移液管 [33]. 然而, 光学俘获所需装置的复杂性和玻璃的脆弱性以及潜在的微吸管破裂使得这些方法难以实施. 因此, 如何控制微球的位置 [84] 是未来微球超显微技术发展的关键问题之一.

进行微球成像时, 一般将微球直接浸入液体中. Darafsheh 等 [85] 提出了一种盖玻片形式的固体浸没微球超透镜的设计. 他们将高折射率微球嵌入在透明弹性的固化膜中, 嵌入在固化膜中的优点是可以提前制备, 且成像能在倒置显微镜中进行, 同时消除了一般情况下微球浸入液体后液体蒸发导致对成像的影响 [86]. 该固化膜制备如下: 先将碳酸钡微球放置在盖玻片基底上, 然后将折射率为 1.41 的液态聚二甲基硅氧烷和比例为 1 : 10 的硬化复合物旋涂在微球上, 根据旋涂的速度和时间可以调整膜的厚度, 最后在 65 °C 下烘烤 1 h 即可获得.

他们用这种方法制备了厚度约 300 μm 的薄膜, 实现了人胶质母细胞瘤 U87 细胞成像. 这种类盖玻片的设计的厚度足够小, 能使样品直接插入常规显微镜和样品之间的间隙中. 球形透镜现在可以重复使用, 并且整个透镜可以根据用户的需要容易地进行定位和操作, 由于分离微球和环境的封装, 使得新的透镜对于环境变化的敏感度降低, 这种新颖的设计方法具有很大的商业价值.

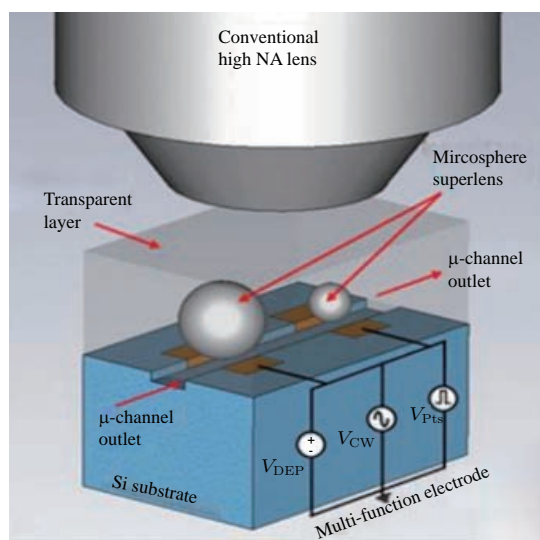


图 23 片上微流体纳米显微镜通过整合纳米显微镜与微流体的新设计, 为实时高分辨率直接成像和分析生物样品, 包括病毒提供一个独特的平台 [87]

Fig. 23. Proposed new on-chip microfluidic nanoscope formed by integrating nanoscope with microfluidics, providing a unique platform for real-time high resolution direct imaging and analysis of bio-samples, including viruses [87].

微球超显微技术简单、易于实现、无标记且分辨率高。微球超透镜尺寸下,能非常自然地与其他微系统集成,形成具有新功能的设备。例如,Wang^[87]将微球连接在内窥镜的最末端,获得了 $\lambda/5$ 的分辨率;Yan等^[63]将二氧化硅微球,聚苯乙烯微球与激光扫描共聚焦显微镜结合,在波长为408 nm的照射光下获得了25 nm的分辨率。

如图23所示,微球超透镜被封装、对准和定位在微流体通道的顶部,诸如细胞/病毒等对象可以流过通道,其高分辨率图像可以实时投影到外部。用电等距流可以驱动生物物质沿着通道移动,并使用介电电泳力来停止和俘获特定位置处的细胞/病毒。并且,当它们与药物作用时,科研人员可以通过这种方式研究细胞和病毒的实时反映。除了超透镜成像之外,超透镜产品还可在纳米激光、纳米光刻、纳米太阳能聚光器以及纳米化学等多个领域中找到应用。

参考文献

- [1] Abbe E 1873 *Acchiv. Mikroskop. Anat.* **9** 413
- [2] von Helmholtz H 1874 *Ann. Phys. Chem.* 557
- [3] Stephenson J W 1877 *Monthly. Microsc. J.* **17** 82
- [4] Francia G T D 1952 *Suppl. Nuovo. Cim.* **9** 426
- [5] Hao X, Kuang C, Gu Z, Wang Y, Li S, Ku Y, Ge J, Liu X 2013 *Light: Sci. Appl.* **2** e108
- [6] Courjon D, Bainier C 1994 *Rep. Prog. Phys.* **57** 989
- [7] Greffet J J, Carminati R 1997 *Pro. Surf. Sci.* **56** 133
- [8] Nassenstein H 1970 *Opt. Commun.* **2** 231
- [9] Ash E A, Nicholls G 1972 *Nature* **237** 510
- [10] Betzig E, Lewis A, Harootunian A, Isaacson M, Kratschmer E 1986 *Biophys. J.* **49** 269
- [11] Pendry J B 2000 *Phys. Rev. Lett.* **85** 3966
- [12] Shalaev V M, Cai W, Chettiar U K, Yuan H K, Sarychev A K, Drachev V P, Kildishev A V 2005 *Opt. Lett.* **30** 3356
- [13] Li X, Yang L, Hu C, Luo X, Hong M 2011 *Opt. Express* **19** 5283
- [14] Aydin K, Bulu I, Ozbay E 2007 *Appl. Phys. Lett.* **90** 77
- [15] Tyc T, Zhang X 2011 *Nature* **480** 42
- [16] Shalaev V M 2007 *Nat. Photon* **1** 41
- [17] Liu Z, Fang N, Yen T J, Xiang Z 2003 *Appl. Phys. Lett.* **83** 5184
- [18] Zhang X, Liu Z 2008 *Nature Mater.* **7** 435
- [19] Liu Z, Lee H, Xiong Y, Sun C, Zhang X 2007 *Science* **315** 1686
- [20] Jacob Z, Alekseyev L, Narimanov E 2006 *Opt. Express* **14** 8247
- [21] Fang N, Lee H, Sun C, Zhang X 2005 *Science* **308** 534
- [22] Upputuri P K, Wen Z B, Wu Z, Pramanik M 2014 *J. Biomed. Opt.* **19** 116003
- [23] Hell S W 2007 *Science* **316** 1153
- [24] Hell S W, Wichmann J 1994 *Opt. Lett.* **19** 780
- [25] Klar T A, Hell S W 1999 *Opt. Lett.* **24** 954
- [26] Betzig E, Patterson G H, Sougrat R, Lindwasser O W, Olenych S, Bonifacino J S, Davidson M W, Lippincottschwartz J, Hess H F 2006 *Science* **313** 1642
- [27] Bastiaens P I H, Squire A 1999 *Trends. Cell. Biol.* **9** 48
- [28] Kenworthy A K 2001 *Methods* **24** 289
- [29] Hein B, Willig K I, Hell S W 2008 *Proc. Nat. Acad. Sci.* **105** 14271
- [30] Min W, Lu S, Chong S, Roy R, Holtom G R, Xie X S 2009 *Nature* **461** 1105
- [31] Wang Z, Guo W, Li L, Luk'Yanchuk B, Khan A, Liu Z, Chen Z, Hong M 2011 *Nat. Commun.* **2** 218
- [32] Darafsheh A, Limberopoulos N I, Derov J S, Walker Jr D E, Astratov V N 2014 *Appl. Phys. Lett.* **104** 061117
- [33] Krivitsky L A, Jia J W, Wang Z, Luk'Yanchuk B 2013 *Sci. Rep.* **3** 3501
- [34] Li L, Guo W, Yan Y, Lee S, Wang T 2013 *Light: Sci. Appl.* **2** 72
- [35] Yang H, Moullan N, Auwerx J, Gijs M A 2014 *Small* **10** 1712
- [36] Guo H, Han Y, Weng X, Zhao Y, Sui G, Wang Y, Zhuang S 2013 *Opt. Express* **21** 2434
- [37] Lee S, Li L, Wang Z 2014 *J. Opt.* **16** 015704
- [38] Allen K W, Farahi N, Li Y, Limberopoulos N I, Walker D E, Urbas A M, Liberman V, Astratov V N 2015 *Ann. Phys.* **527** 513
- [39] Wang Y, Guo S, Wang D, Lin Q, Rong L, Zhao J 2016 *Opt. Commun.* **366** 81
- [40] Lin Q, Wang D, Wang Y, Rong L, Zhao J, Guo S, Wang M 2016 *Opt. Quantum Electron.* **48** 557
- [41] Yan B, Yue L, Wang Z 2016 *Opt. Commun.* **370** 140
- [42] Wang S, Zhang D, Zhang H, Han X, Xu R 2015 *Microsc. Res. Tech.* **78** 1128
- [43] Wu L, Zhu H, Yan B, Wang Z, Zhou S 2015 *J. Mater. Chem. C* **3** 10907
- [44] Hao X, Kuang C, Li Y, Liu X, Ku Y, Jiang Y 2012 *Opt. Commun.* **285** 4130
- [45] Lai H S S, Wang F, Li Y, Jia B, Liu L, Li W J 2016 *PLoS One.* **11** e0165194
- [46] Guo M, Ye Y H, Hou J, Du B 2016 *Appl. Phys. B* **122** 65
- [47] Guo M, Ye Y H, Hou J, Du B 2015 *Photon. Res.* **3** 339
- [48] Darafsheh A, Walsh G F, Dal Negro L, Astratov V N 2012 *Appl. Phys. Lett.* **101** 14128
- [49] Wang T, Kuang C, Hao X, Liu X 2011 *J. Opt.* **13** 035702
- [50] Lee S, Li L, Wang Z, Guo W, Yan Y, Wang T 2013 *Appl. Opt.* **52** 7265
- [51] Yang H, Gijs M A M 2015 *Microelectron. Eng.* **143** 86
- [52] Yao L, Ye Y H, Feng Ma H, Cao L, Hou J 2015 *Opt. Commun.* **335** 23
- [53] Hao X, Kuang C, Liu X, Zhang H, Li Y 2011 *Appl. Phys. Lett.* **99** 203102
- [54] Lee S, Li L, Benaryeh Y, Wang Z, Guo W 2013 *J. Opt.* **15** 125710
- [55] Lee S, Li L 2015 *Opt. Commun.* **334** 253
- [56] Lu Y F, Zhang L, Song W D, Zheng Y W, Luk'Yanchuk B S 2000 *JETP Lett.* **72** 457

- [57] Chen Z, Taflove A, Backman V 2004 *Opt. Express* **12** 1214
- [58] Yang H, Cornaglia M, Gijs M A M 2015 *Nano Lett.* **15** 46
- [59] Wu M H, Whitesides G M 2001 *Appl. Phys. Lett.* **78** 2273
- [60] Li X, Chen Z, Taflove A, Backman V 2005 *Opt. Express* **13** 526
- [61] Ferrand P, Wenger J, Devilez A, Pianta M, Stout B, Bonod N, Popov E, Rigneault H 2008 *Opt. Express* **16** 6930
- [62] Zhang Z, Geng C, Hao Z, Wei T, Yan Q 2016 *Adv. Colloid Interface Sci.* **228** 105
- [63] Yan Y, Li L, Feng C, Guo W, Lee S, Hong M 2014 *ACS Nano* **8** 1809
- [64] Gu G, Zhou R, Chen Z, Xu H, Cai G, Cai Z, Hong M 2015 *Opt. Lett.* **40** 625
- [65] Kong S C, Taflove A, Backman V 2010 *Opt. Express* **17** 3722
- [66] Zhu H, Chen Z, Chong T C, Hong M 2015 *Opt. Express* **23** 6626
- [67] Houston W V 1927 *Phys. Rev.* **29** 478
- [68] Wu M, Huang B, Chen R, Yang Y, Wu J, Ji R, Chen X, Hong M 2015 *Opt. Express* **23** 20096
- [69] Wu M, Chen R, Soh J, Shen Y, Jiao L, Wu J, Chen X, Ji R, Hong M 2016 *Sci. Rep.* **6** 31637
- [70] Durnin J, Miceli Jr J, Eberly J H 1987 *Phys. Rev. Lett.* **58** 1499
- [71] McGloin D, Dholakia K 2005 *Contem. Phys.* **46** 15
- [72] Li X, Pu M, Zhao Z, Ma X, Jin J, Wang Y, Gao P, Luo X 2016 *Sci. Rep.* **6** 20524
- [73] Bennett, Harold E 1988 *Laser Induced Damage in Optical Materials, 1986 : Proceedings of a Symposium*, NIST (formerly NBS) Boulder, Colorado, November 3–5, 1986 p707
- [74] Niklasson G A, Li S Y, Granqvist C G 2014 *Parallel Session of the 18th International School on Condensed Matter Physics* Varna, Bulgaria, September 4–6, 2014 p012001
- [75] Lu S, Hou L, Gan F 1993 *J. Mater. Sci.* **28** 2169
- [76] Soh J H, Wu M, Gu G, Chen L, Hong M 2016 *Appl. Opt.* **55** 3751
- [77] Hao X, Liu X, Kuang C, Li Y 2013 *Appl. Phys. Lett.* **102** 013104
- [78] Ben-Aryeh Y 2006 *Appl. Phys. B* **84** 121
- [79] Wang S Y, Zhang H J, Zhang D X 2013 *Acta Phys. Sin.* **62** 034207 (in Chinese) [王淑莹, 章海军, 张冬仙 2013 物理学报 **62** 034207]
- [80] Yang H, Trouillon R, Huszka G, Gijs M A 2016 *Nano Lett.* **16** 4862
- [81] Pereira A, Grojo D, Chaker M, Delaporte P, Guay D, Sentis M 2008 *Small* **4** 572
- [82] Mcleod E, Arnold C B 2008 *Nature Nanotech.* **3** 413
- [83] Mcleod E, Arnold C B 2009 *Opt. Express* **17** 3640
- [84] Li P Y, Tsao Y, Liu Y J, Lou Z X, Lee W L, Chu S W, Chang C W 2016 *Opt. Express* **24** 16479
- [85] Darafsheh A, Guardiola C, Palovcak A, Finlay J C, Cárabe A 2015 *Opt. Lett.* **40** 5
- [86] Liu C, Jin L D, Ye A P 2016 *Acta Phys. Sin.* **53** 19 (in Chinese) [刘畅, 金璐嶝, 叶安培 2016 激光与光电子学进展 **53** 19]
- [87] Wang Z 2015 *Nanoscience* **3** 193

SPECIAL ISSUE—Diffraction limit of electromagnetic waves

Super-resolution microscopic effect of microsphere based on the near-field optics*

Zhou Rui^{1) # †} Wu Meng-Xue^{2) #} Shen Fei¹⁾ Hong Ming-Hui^{2) ‡}

1) (School of Aerospace Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

2) (Department of Electronics and Computer Engineering, National University of Singapore, Singapore 117576, Singapore)

(Received 29 March 2017; revised manuscript received 16 May 2017)

Abstract

In the field of optical imaging, the conventional imaging resolution is about 200 nm due to the diffraction limit. The higher resolution is urgently needed for further developing scientific research. Therefore, how to break through this limitation to acquire high quality and high resolution image has become a hot research topic. The microspheres with the size of tens of micrometers exhibit the ability to improve the imaging resolution of the conventional optical microscope by locating them directly on the sample surface. Due to its simplicity, the microsphere optical nanoscope technology is widely studied. This paper introduces the research background of the optical microscope and the research progress of microsphere optical nanoscope technology. At the same time, approaches to adjusting the photonic nanojet generated by the microspheres by fabricating concentric ringing, central mask, and surface coating of microspheres are reviewed. The possible reasons for this improved resolution are discussed. The applications and development of the microsphere ultra-microscopic technology in the future are discussed.

Keywords: optical microscope, microsphere super-resolution, photonic nanojet

PACS: 07.60.Pb, 07.60.-j, 42.79.Bh

DOI: 10.7498/aps.66.140702

* Project supported by the National Basic Research Program of China (Grant No. 2013CBA01703), the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 61605162), the Natural Science Foundation of Fujian Province of China (Grant No. 2017J05106), the State Key Laboratory of Optical Technology for Microfabrication of Institute of Optics and Electronics the Chinese Academy of Sciences (KFS4), and the Collaborative Innovation Center of High-End Equipment Manufacturing in Fujian, China.

These authors contribute equally.

† Corresponding author. E-mail: rzhou2@xmu.edu.cn

‡ Corresponding author. E-mail: elehmh@nus.edu.sg