

基于MEMS微镜的光栅波导角度调制生物 传感器设计与研究

陆安江¹ 白忠臣² 肖 伟² 张正平¹ 秦水介^{2*}

¹贵州大学大数据与信息工程学院, 贵州 贵阳 550025

²贵州省光电子技术及应用重点实验室, 贵州 贵阳 550025

摘要 免标记、实时、高灵敏的生物检测是分析生物领域重要的技术。利用光波导模式理论构建生物传感器模型, 设计了基于MEMS微镜的小型化生物传感检测系统, 测试并分析了MEMS微镜的动态响应特性。通过计算仿真, 得到了灵敏度与波导厚度和有效折射率之间的关系。以TE模式和TM模式进行葡萄糖溶液检测, 实验结果表明, 溶液浓度与入射角间呈现出良好的线性关系, 灵敏度可达到5 ng/mL, 相比传统的免疫学检测方法具有较高灵敏度。该方法由于检测系统体积小、结构简单、无标记, 可实现原位检测, 避免了对蛋白质活性的破坏, 是一种具有较大潜力的蛋白质无标记光学检测方法。

关键词 传感器; 光波导模式谱; 光栅光波导; MEMS微镜; 灵敏度

中图分类号 O439

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201643.0414001

Design and Research of Biosensor Characteristics Based on Grating Waveguide Angle Modulation with MEMS Micro-Mirror

Lu Anjiang¹ Bai Zhongchen² Xiao Wei² Zhang Zhengping¹ Qin Shuijie²

¹College of Big Data and Information Engineering, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China

²Guizhou Key Laboratory of Optoelectronic Technology and Application, Guiyang, Guizhou 550025, China

Abstract The label-free, real-time and high sensitivity bio-detection serves as an important technology in analytical biology field. Biosensor model is constructed with optical waveguide mode theory, and a miniaturized biological sensing detection system is designed based on MEMS micro-mirror. Its dynamic response characteristic is tested and analyzed. By calculating and simulating, the relationship between sensitivity and thickness of waveguide and effective refractive index is obtained. Glucose solution is detected in TE mode and TM mode, experimental result shows that a well linear relationship between concentration of the glucose solution and incidence angle is presented, and the precision can reach 5 ng/mL. Compared with the traditional immunological detection methods, it has a relatively high sensitivity. Due to the small system and simple structure and label-free, it can realize the *in-situ* detection to avoid damaging the activity of protein, and it is a label-free optical detection method with great potential.

Key words sensors; optical waveguide lightmode spectroscopy; grating optical waveguide; MEMS micro-mirror; sensitivity

OCIS codes 130.2790; 130.3120; 130.5460; 130.6061; 240.6648

1 引 言

生物传感器作为分析生物领域的一项重要技术,能够对物质进行快速分析与追踪。结合物理、化学手段,

收稿日期: 2015-10-14; 收到修改稿日期: 2015-11-16

基金项目: 国家自然科学基金(11204046)、国际合作研究项目(2014DFA00670)、国家科技支撑计划项目(2015BAK28B02)

作者简介: 陆安江(1978—),男,博士,副教授,主要从事光电子技术应用方面的研究。E-mail: 39146565@qq.com

*通信联系人。E-mail: shuijie_qin@sina.com

依靠生物分子识别组件在生命科学研究、疾病诊断、生化反应过程监控、食品安全控制等领域具有广阔的应用前景。近年,生物传感器的研究取得了丰硕的成果,在普遍满足生物信息的常规分析与检测后,更快、更准、更灵敏,尤其是原位、实时单分子水平分析的生物传感器成为当前生物检测与生化反应研究的焦点^[1]。

随着当前光学技术的发展,特别是导波光学的的应用不断深入,众多基于光学检测的手段被应用于分析生物领域。如基于SPR的生物传感器^[2-3]、基于椭圆偏光技术的传感器^[4-5]、基于光波导模式谱(OWLS)的光学传感器^[6]。Lukosz^[7-8]对光栅波导耦合生物传感器开展了大量研究,并对集成光学生物传感器进行系列报道,其研究成果得到了广泛的应用;Clerc等^[9]应用光波导光模式光谱技术进行了在线毒物学监测;Microvacuum公司生产的OWL产品及Affinity Sensors的Lasys系列光学生物传感器已投入市场。但是,上述光学生物传感器在实际应用中由于成本高、体积大、操作复杂、不利于系统集成与微型化,而制约了光学生物传感器产业的发展壮大。

本文通过微机电系统(MEMS)微镜调节入射光,利用光栅耦合激发导模。耦合角度随着传感器表面吸附物质的折射率变化而变化,通过角度调制来检测传感器表面吸附物质质量,实现原位、实时快速检测的目的。由于使用了MEMS微镜来代替传统的光学角度调制部件,可使得检测系统整机尺寸大幅度减小;同时, MEMS微镜通过结合表面和体硅加工工艺^[10]可使系统成本降低。

2 理论方法

光栅波导模式生物传感器由一块优质玻璃基层和位于其上的精制光栅波导薄膜层构成(图1)。光栅位于波导上界面,为亚波长光栅 $\Lambda < \lambda$, 波导层折射率为 n_F , 基底和包层折射率分别为 n_S 、 n_C , 且 $n_F > n_S$ 、 $n_F > n_C$, 波导厚度为 d_F 。入射光通过光栅耦合激发导模,导模在平板波导内与相邻介质界面处产生倏逝波,渗透到相邻介质中一定深度,因此对相邻介质折射率敏感。此方法利用光栅波导作为传感芯片,结构简单,表面修饰易控制,并可实现无标记检测,避免了标记对蛋白质活性的破坏,是一种具有较大潜力的蛋白质芯片检测的无标记光学方法。

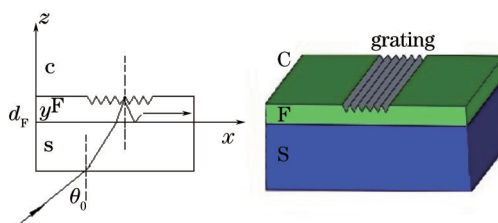


图1 光栅波导生物传感器结构示意图

Fig.1 Structure diagram of grating waveguide biosensor

光波在波导内上下界面间往返一次的总相位差,包括上下界面处分别发生全反射的相位差和波导内传输光程的相位差。因此,相邻介质折射率的变化会引起光波在上界面处全反射的相位差变化,从而引起光波在波导内上下界面间往返一次总相位差的变化,进而引起光强度的变化^[5]。在平板介质光波导中,光栅介质波导传播模方程为

$$\phi = K_{z,F} 2d_F + \varphi_{F,S} + \varphi_{F,C} = 2\pi m, \quad (1)$$

式中 $K_{z,F}$ 表示波导薄膜内垂直于波导薄膜表面的 z 方向的波矢量的波数, $K_{z,F} = kn_F \cos \theta = k(n_F^2 - N^2)^{\frac{1}{2}}$, $k = 2\pi/\lambda$, θ 表示波导薄膜内光波的模角, d_F 表示波导薄膜厚度, $\varphi_{F,S}$ 、 $\varphi_{F,C}$ 分别为波导上下界面发生全反射时的相移。

当传感器用于检测波导表面形成的生物分子膜层的变化时,随着生化反应的进行,在光栅波导表面形成分子膜层,可看成是对波导覆盖层修正后的三层结构,有:

$$\phi \cong K_{z,F} \cdot 2(d_F + \Delta d_F) + \varphi_{F,S} + \varphi_{F,C} = 2\pi m. \quad (2)$$

如果在一个总的内部反射周期内相位变化等于零,即满足(2)式的模式方程,激发了 $m=0$ 时的单模共振传播模式^[7]。

$$0 = \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{n_F^2 - N^2} \times \left\{ d_F + \frac{n_A^2 - n_C^2}{n_F^2 - n_C^2} \left[\frac{(N/n_C)^2 + (N/n_A)^2 - 1}{(N/n_C)^2 + (N/n_F)^2 - 1} \right]^\rho d_A \right\} - \arctan \left[\frac{n_F}{n_C} \frac{\sqrt{N^2 - n_C^2}}{\sqrt{n_F^2 - N^2}} \right] - \arctan \left[\frac{n_F}{n_S} \frac{\sqrt{N^2 - n_S^2}}{\sqrt{n_F^2 - N^2}} \right], \quad (3)$$

式中 n_A 为吸附层折射率, ρ 为常数, $\rho=0$ 为横电(TE)模, $\rho=1$ 为横磁(TM)模, N 为有效折射率, 包括 N_{TE} 和 N_{TM} , 它们与各自的入射角 θ_{TE} 和 θ_{TM} 满足

$$N = n_0 \sin \theta_0 + l \frac{\lambda}{\Lambda}, \quad (4)$$

式中 n_0 为空气折射率, θ_0 为入射光在空气中的入射角, $k_0 = 2\pi/\lambda_0$, l 为衍射光的级次, Λ 为光栅周期。通过(3)式中测量过的参数能够同时确定吸附层的厚度 d_A 和吸附层折射率 n_A 。按照 Feijter 公式, 只要确定分子膜层厚度与分子膜层折射率后, 表面吸附的质量密度的绝对数值可以通过厚度和折射率直接计算出来^[1],

$$M = d_A(n_A - n_C)/(d_n/d_c), \quad (5)$$

式中 d_n/d_c 为折射率变化率, 一般情况下, 蛋白质折射率变化率取 0.182 mL/g。

导模在波导内传播, 并渗透至相邻介质, 随着相邻介质折射率的改变, 波导内的模式发生变化, 激发导模的入射光角度条件改变。因此, 通过不断测量入射角的变化, 不需要任何标记即可直接在光栅上实时监测生物分子的吸附质量。

3 实验材料与方 法

3.1 传感器芯片

光栅波导角度调制的生物传感器利用光波导模式理论, 传感器结构如图 1 所示, 由平板光栅波导、基底和包层组成, 基底玻璃层折射率 $n_s = 1.47$, 波导层折射率 $n_F = 1.75$, 光栅采用压印法, 周期为 $\Lambda = 404.8 \text{ nm}$, 波导宽度 $L_x = 4 \text{ mm}$, 包层为待检测生物分子溶液。

3.2 MEMS 微镜

利用 OWLS 进行检测与生化分析, 主流方法是通过转动置物平台来达到入射角调制的目的, 而本文主要通过转动激光光源达到入射角调制的目的。在此基于 MEMS 微镜进行角度调制, 能够大大减小系统体积。MEMS 微镜购于无锡微奥科技有限公司, 芯片尺寸为 $1.4 \text{ mm} \times 1.2 \text{ mm}$, 微镜尺寸为 $440 \text{ mm} \times 440 \text{ }\mu\text{m}$ 。采用电热式驱动方式, 驱动电压为 $0 \sim 7 \text{ V}$, 其支撑臂为折叠双 S 微镜(FDSB)驱动器结构, 镜面物理转动角度 $\pm 8^\circ$ ^[12], 结构如图 2 所示。

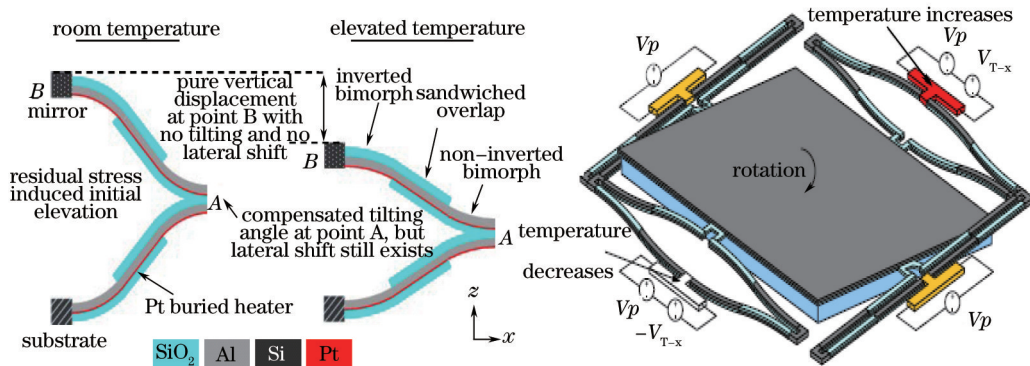


图 2 折叠双 S 型结构微镜

Fig.2 Structure of folding double S bimorph

3.3 基于 MEMS 的检测系统

基于 MEMS 光栅波导光角度调制的生物传感器检测系统如图 3 所示, 包括光源及光阑、MEMS 微镜、微流传感器芯片平台、外部模块等。实验中采用波长为 632.8 nm 的激光, 通过准直镜入射到 MEMS 微镜, 微镜转动调节入射光使光线耦合进入波导层; 光栅波导芯片置于样品池内, 样品池放置于二维位移平台上并固定, 通过调节二维位移平台选择芯片表面的不同观察点。光谱仪或光电探测器接收传导光纤输出信号即可实现待测物质光谱信号的检测。

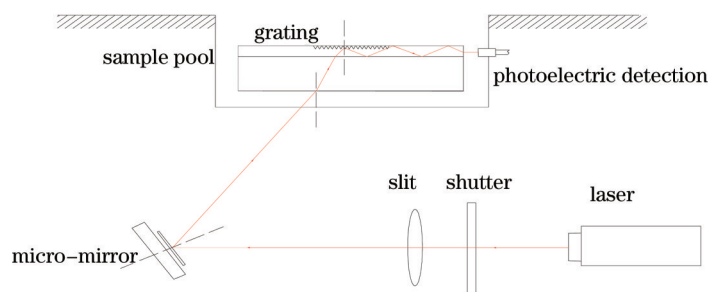


图3 检测系统光路示意图

Fig.3 Optical structure of detection system

3.4 环境溶液与抗原抗体

为了验证生物传感器灵敏度,利用直接法测量溶液浓度。在实验中分别配制了10000,2000,400,80,16,3.2,0.64,0.128,0.0256,0.00512 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度的葡萄糖溶液作为待测环境溶液,分TE模式和TM模式进行检测,葡萄糖溶液检测结果如图8(a)、(b)所示。

为进行蛋白质分子的吸附检测,先对芯片表面进行修饰,修饰后的芯片表面固定鼠抗羊单克隆抗体IgG分子作为探针,然后对含有羊IgG抗原的样品溶液进行实时检测,实验中配置羊IgG抗原溶液浓度为16 ng/mL ,动力学研究结果如图8(c)所示。

4 结果与分析

4.1 MEMS 微镜动态特性分析

MEMS驱动可以采用独立驱动与联合驱动方式,当四组驱动臂同时施加电压信号时,镜面产生垂直方向位移;当相对两组驱动臂施加一对反相差分电压时,MEMS镜面以X轴或Y轴转动。此结构设计具有镜面填充率高、扫描角度大、垂直距离大、无侧向位移的优点。通过测试,MEMS微镜驱动电压与机械转动角度、功率间的关系如图4所示。电压与机械转动角间呈现较好的线性趋势。

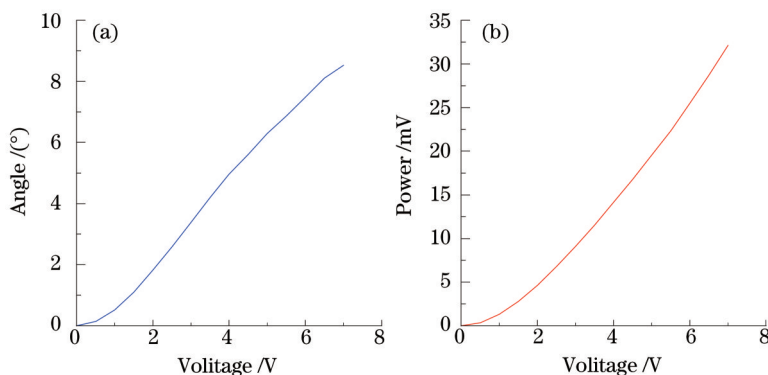


图4 电压与(a)转动角度和(b)功率的关系

Fig.4 Relationship between voltage and (a) rotation angle and (b) power

利用图5(a)光路图,采用单脚驱动方式,加入1 Hz幅值为2 V的方波信号进行MEMS微镜动态特性测试,动态响应结果如图5(b)所示,MEMS微镜的动态响应时间约为1.7 ms,驱动臂加压后达期望值90%用时68.5 ms,110 ms后进入期望值区间,进入期望区间25 ms后MEMS微镜热-机械振荡趋于平稳。

4.2 波导薄膜厚度对灵敏度的影响

波导的有效厚度依赖于模的偏导数,将渗透深度写成偏导数形式,将 $\partial N/\partial n_c$ 作为衡量传感器灵敏度的参数^[13]。假设 x 为波导的参数,令 $x = \{n_s, n_f, n_c, d_f\}$,将有效折射率的变化一阶展开

$$\Delta N = (\partial N/\partial n_c)\Delta n_c, \tag{6}$$

将波导传播模方程看成 x 和 $N(x)$ 的函数,可简化为

$$\varphi[x, N(x)] = 2\pi m, \tag{7}$$

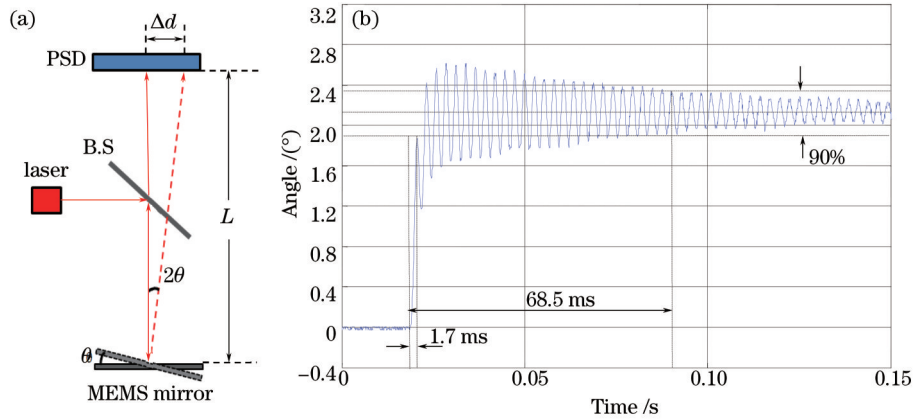


图5 微镜动态响应。(a) 测试结构;(b) 动态响应曲线

Fig.5 Dynamic characteristics of micro-mirror. (a) Test structure; (b) curve of dynamic response

波导传播模方程对 x 求导,对 n_c 求导,对 N 求导得

$$\frac{\partial N}{\partial n_c} = \frac{n_c n_F^2 - N^2 \Delta z_{F,C}}{N n_F^2 - n_c^2 d_{eff}} \quad (8)$$

通常情况下,灵敏度涉及波导厚度、包层折射率与基底折射率、激光波长和光栅周期等参数。为了得到三层平板介质波导折射率灵敏度与波导厚度、衬底折射率和包层间的关系,计算中取基底折射率 $n_s = 1.47$,波导折射率 $n_F = 1.75$,入射波长 $\lambda = 632.8 \text{ nm}$,调节入射角产生导模共振。1)当 $n_c < n_s$ 时,取 $n_c = 1.333$; 2)当 $n_c > n_s$ 时,取 $n_c = 1.500$,通过计算机模拟计算,得到结果如图6所示。

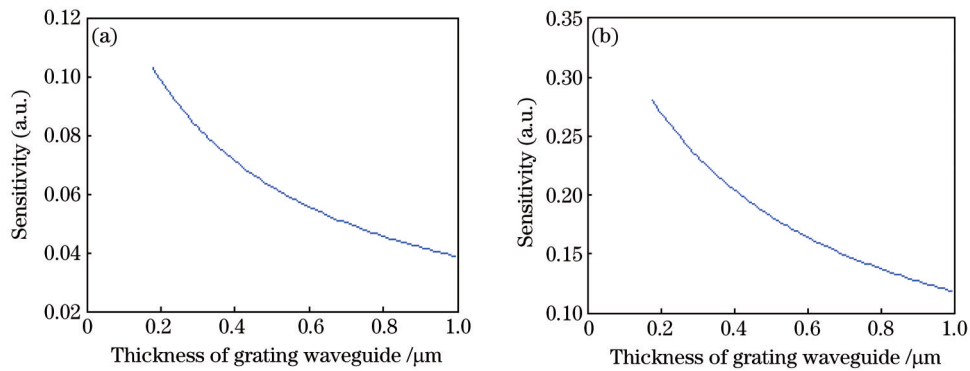


图6 波导折射率灵敏度与波导厚度关系。(a) $n_c < n_s$; (b) $n_c > n_s$

Fig.5 Relationship between refractive sensitivity and thickness of waveguide. (a) $n_c < n_s$; (b) $n_c > n_s$

结果表明:当 $n_c < n_s$ 时,平板介质光栅波导折射率灵敏度随波导厚度的增大而减小,在 $d_F = (d_F)_{min} = 179.1 \text{ nm}$ 时,有 $(\partial N / \partial n_c)_{max} = 0.1029$ 。当 $n_c > n_s$ 时,平板介质光栅波导折射率灵敏度随波导厚度的

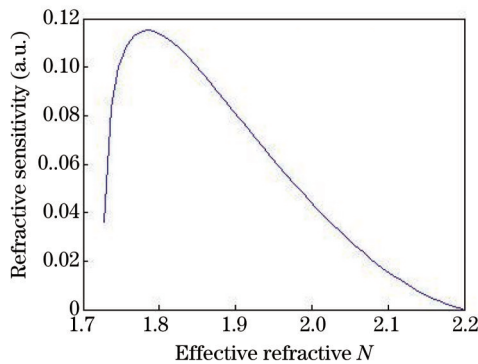


图7 波导折射率灵敏度与有效折射率关系

Fig.7 Relationship between refractive sensitivity and effective refractive index of waveguide

增大而减小,且同一波导厚度处折射率灵敏度高于 $n_c < n_s$ 时的折射率灵敏度,在 $d_F = (d_F)_{\min} = 179.1 \text{ nm}$ 时,有 $(\partial N/\partial n_c)_{\max} = 0.28$ 。利用上述理论模型,折射率灵敏度随有效折射率变化关系如图 7 所示。

随着有效折射率的增大,折射率灵敏度先增大后减小,并存在一个极值。在实际应用中,为了使光栅波导具有较高的灵敏度,尽量选用折射率灵敏度极大值附近的模式进行检测。在图 7 中,使用有效折射率 1.732 附近的模式可保持较大。

在图 1 结构中,波导宽度 $L_x = 4 \text{ mm}$,假设光栅的宽度 $L_x \approx 10^4 \lambda$,通过(4)式可知, $\delta N = \delta k'_x/k \approx \lambda/L_x$,则传感器能分辨有效折射率的最小变化

$$(\Delta N)_{\min} \cong \delta N/100 \cong 4 \times 10^{-6}, \quad (9)$$

所以,由(7)式得传感器环境介质折射率的最小分辨率

$$\Delta n_c = \frac{(\Delta N)_{\min}}{(\partial N/\partial n_c)_{\max}} \cong 4 \times 10^{-6}. \quad (10)$$

4.3 环境溶液与入射角关系

1) TE 模式检测时,结果如图 8(a)所示,葡萄糖溶液浓度在 0.0256~10000 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,共振角与待测溶液浓度基本呈线性关系,随浓度增大而增大,角度变化范围为 $15.2^\circ \sim 19.5^\circ$,其探测环境溶液浓度值下限为 25.6 ng/mL 。

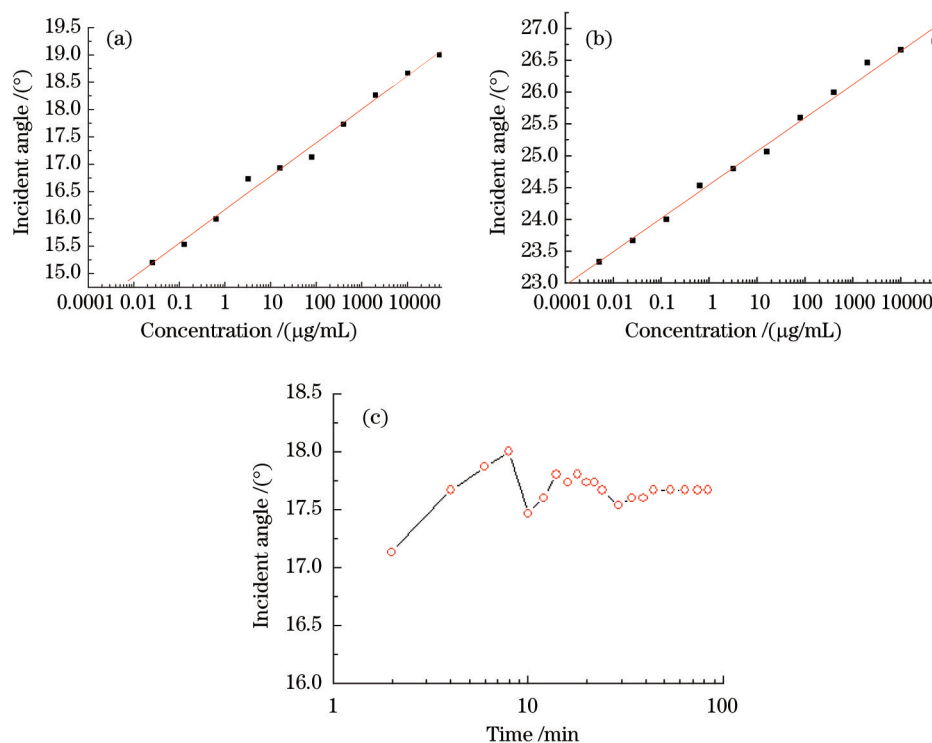


图 8 入射角随环境溶液变化的关系。(a) TE 模式; (b) TM 模式; (c) TE 模蛋白分子吸附
Fig.8 Relationship between incident angle and concentration of solutions. (a) TE mode; (b) TM mode;
(c) TE model protein molecule adsorption

2) TM 模式直接检测时,结果如图 8(b)所示,葡萄糖溶液浓度在 0.00512~400 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,共振角与浓度基本呈线性关系,随浓度增大而增大,角度变化范围为 $23.3^\circ \sim 26.8^\circ$,其探测环境溶液浓度值下限为 5 ng/mL 。

3) 图 8(c)为固定抗体后对羊 IgG 在 TE 模式下实时检测的共振角随时间的变化关系。由图可知,随着传感器表面抗原抗体的特异性结合以及前 8 min 内抗原分子被吸附,传感器表面的溶液折射率增大,入射角向大角度的方向偏移,随后共振角有减小或增大的波动,可能是由于存在一些非特异性的吸附,抗原抗体特异性结合不牢固,以及蛋白分子本身的扰动。44 min 后,共振角趋于稳定,芯片表面抗原抗体结合趋于饱和。

5 结 论

光波导模式光谱技术的灵敏度取决于检测系统本身对波导有效折射率变化的分辨率。在使用 OWLS 检测 Trifluralin 的实验中,利用表面固定抗体的直接免疫吸附反应,其检测灵敏度在 1~2 ng/mL 的水平。在 OWLS 表面固定抗原的竞争性免疫抑制反应,其灵敏度是 ELISA 的 100~1000 倍,达到 $2 \times 10^{-7} \sim 3 \times 10^{-5}$ ng/mL^[4]。

通过光波导模式光谱理论,将 MEMS 微镜应用于 OWLS 纳米生物传感器检测系统中,该方法所研制的生物传感器检测原理简单,系统体积小,样机尺寸可达 100 mm×70 mm×48 mm,真正使得检测装置小型化。另外,由于 MEMS 微镜工艺通过结合表面与体硅加工技术,从衬底背面形成空腔,再从正面进行干法释放,整个工艺流程可在圆片级完成,易批量化从而降低系统成本。该方法直接检测葡萄糖溶液的浓度,其检测灵敏度可达到 5 ng/mL,通过优化并改进 MEMS 微镜角度控制精度,检测极限值有望再提高两个数量级,相比传统的免疫学检测方法,具有较高的灵敏度。基于微镜的 OWLS 方法作为一种新型的光学免标记方法,利用光栅波导作为传感芯片,结构简单,表面修饰易于控制,并可实现无标记检测,避免了标记对蛋白质活性的破坏。因此,该方法在传感器表面物质吸附过程的动态分析方面很有价值,基于此构建的光学检测传感器将在未来的生物检测领域中发挥积极作用。

参 考 文 献

- 1 Zhang Xianen. Biosensors[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2010: 3-21.
张先恩. 生物传感器[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 3-21
- 2 Wu C M, Jian Z C, Joe S F, *et al.*. High-sensitivity Sensor based on surface plasmon resonance and heterodyne interferometry[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2003, 92(1): 133-136.
- 3 H Huang, Y Chen. Label-free reading of microarray based proteins with high throughput surface plasmon resonance imaging[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2006, 22(5): 644-648.
- 4 Yang Kun, Wang Xiangzhao, Bu Yang. Research progress of ellipsometer[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2007, 44(3): 43-49.
杨 坤, 王向朝, 步 扬. 椭偏仪的研究进展[J]. 激光与光电子学进展, 2007, 44(3): 43-49.
- 5 Hu Hui, Zhang Liping, Meng Fanying, *et al.*. Application of spectroscopic ellipsometry for the study of electrical and optical properties of indium tin oxide thin films[J]. Acta Optica Sinica, 2014, 34(10): 1031003.
胡 慧, 张丽平, 孟凡英, 等. 分光椭偏技术在钢锡氧薄膜光电特性研究中的应用[J]. 光学学报, 2014, 34(10): 1031003.
- 6 Tiefenthaler K, Lukosz W. Integrated optical switches and gas sensors[J]. Opt Lett, 1984, 9(4): 137-139.
- 7 Lukosz W. Integrated optical chemical and direct biochemical sensors[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 1995, 29(95): 37-50.
- 8 Lukosz W. Principles and sensitivities of integrated optical and surface plasmon sensors for direct affinity sensing and immunosensing [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2011, 6(91): 215-225.
- 9 Clerc D, Lukosz W. Real-time analysis of avidin adsorption with an integrated-optical output grating coupler: Adsorption kinetics and optical anisotropy of adsorbed monomolecular layers[J]. Biosensors and Bioelectronics, 1997, 12(3): 185-194.
- 10 Jia K, Pal S, Xie H. An electrothermal tip-tilt-piston micromirror based on folded dual S-shaped bimorphs[J]. Journal of Microelectromechanical Systems, 2009, 18(5): 1004-1015.
- 11 De Feijter J A, Benjamins J, Veer F A. Ellipsometry as a tool to study the adsorption of synthetic and biopolymers at the air-water interface [J]. Biopolymers, 1978, 17(7): 1759-1772.
- 12 Pal S, Xie H. Analysis and fabrication of curved multimorph transducers that undergo bending and twisting[J]. Journal of Microelectromechanical Systems, 2012, 21(5): 1241-1251.
- 13 Voros J, Graf R, Kenausis G L, *et al.*. Feasibility study of an online toxicological sensor based on the optical waveguide technique[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2000, 15(9): 423-429.
- 14 Székács A, Trummer N, Adányi N, *et al.*. Development of a non-labeled immunosensor for the herbicide trifluralin via optical waveguide lightmode spectroscopic detection[J]. Analytica Chimica Acta, 2003, 487(3): 31-42.

栏目编辑: 张 雁