

# 应用于激光诱导荧光检测的微透镜阵列

张学海<sup>1</sup>, 刘冲<sup>2</sup>, 梁超<sup>1</sup>, 孟凡健<sup>1</sup>, 李经民<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>大连理工大学机械工程学院, 辽宁 大连 116024;

<sup>2</sup>大连理工大学辽宁省微纳米技术及系统重点实验室, 辽宁 大连 116024

**摘要** 基于激光诱导荧光检测技术的微流控系统广泛应用于生物化学检测领域。针对微流控系统中检测样本较少, 诱导荧光强度较弱的问题, 设计并制作了一种集成有微透镜阵列 (MLA) 的微流控芯片来提高荧光检测强度。采用热熔技术制备直径变异系数为 0.36% 的  $8 \times 8$  光刻胶微透镜阵列模具。采用软光刻工艺, 制造集成有聚二甲基硅氧烷微透镜阵列的盖片, 焦距均匀性误差为 7%。制造具有微通道的基片, 并采用氧等离子键合技术封装盖片和基片。将浓度为  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的异硫氰酸荧光素荧光染料溶液注入微流控芯片, 利用荧光显微镜检测芯片的荧光强度。结果表明, 透镜处的荧光强度比无透镜时提高了约 2.2 倍。

**关键词** 探测器; 微透镜阵列; 热熔法; 荧光检测; 聚二甲基硅氧烷

**中图分类号** TN405 **文献标识码** A

**doi:** 10.3788/LOP54.080402

## Microlens Array Applied for Laser Induced Fluorescence Detection

Zhang Xuehai<sup>1</sup>, Liu Chong<sup>2</sup>, Liang Chao<sup>1</sup>, Meng Fanjian<sup>1</sup>, Li Jingmin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> School of Mechanical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian, Liaoning 116024, China;

<sup>2</sup> Key Laboratory for Micro/Nano Technology and System of Liaoning Province, Dalian University of Technology, Dalian, Liaoning 116024, China

**Abstract** Microfluidic systems based on laser induced fluorescence (LIF) detection technology have been widely used in the field of biochemistry detection. Aiming at the problem of weak fluorescence intensity induced by a few detection samples in the microfluidic system, a microfluidic chip integrating a microlens array (MLA) is designed and fabricated to improve the intensity of the detected fluorescence. An  $8 \times 8$  photoresist MLA mold with the diameter variation coefficient of 0.36% is obtained by the hot melt technology. Then, a cover plate integrating a polydimethylsiloxane MLA is produced by the soft-lithography technology, and the focal length uniformity error is 7%. Afterwards, a micro-channel substrate is made. The substrate and the cover plate are packaged by the oxygen plasma bonding technology. Finally, the fluorescence intensity of the chip is detected by a fluorescence microscope, and the chip is injected by fluorescein isothiocyanate fluorescent dye solution with concentration of  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . The result shows that the fluorescence intensity with the microlens is improved about 2.2 times as much as the fluorescence intensity without the microlens.

**Key words** detectors; microlens array; hot melt; fluorescence detection; polydimethylsiloxane

**OCIS codes** 040.1240; 220.4000; 220.3740; 230.4000

## 1 引言

近年来, 微光学器件在光通信、纤维耦合、生物化学全分析系统和图像传感器等领域受到了广泛的重视

**收稿日期:** 2017-02-06; **收到修改稿日期:** 2017-03-06

**基金项目:** 国家自然科学基金面上项目(51375076, 51475079)、国家自然科学基金创新研究群体项目(51621064)

**作者简介:** 张学海(1990—), 男, 硕士研究生, 主要从事微流控检测方面的研究。E-mail: zhangxh@mail.dlut.edu.cn

**导师简介:** 刘冲(1963—), 男, 博士, 教授, 主要从事微纳制造、微机械电子系统和微流控芯片等方面的研究

E-mail: chongl@dlut.edu.cn.

\* 通信联系人。E-mail: jingminl@dlut.edu.cn

和研究。微透镜作为一种典型的微光学器件被广泛应用于激光诱导荧光检测领域<sup>[1-7]</sup>。目前,制作微透镜的材料有SU-8胶、有机玻璃和聚二甲基硅氧烷(PDMS)等。PDMS具有较好的柔韧性,其透射率达到90%。与聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)和聚碳酸酯(PC)相比,PDMS发出的自体荧光更少<sup>[8]</sup>。微透镜制造方法包括反应离子刻蚀<sup>[9]</sup>、光刻胶热熔法<sup>[10-12]</sup>、灰度掩模法<sup>[13-14]</sup>、光诱导交联聚合法<sup>[15]</sup>、超声辅助热压法<sup>[16]</sup>、电学法<sup>[17]</sup>和倾斜紫外曝光法<sup>[18]</sup>等。其中大多数制造方法工艺过程复杂,时间复杂度高,并且对设备要求较高。而光刻胶热熔法具有工艺简单、成本低、效率高的优势。Lin等<sup>[19]</sup>使用PMMA透镜模具制得柱面PDMS混合透镜,并将该透镜应用于荧光检测。柱面PDMS混合透镜不仅可以会聚激发光,同时也提高了荧光的收集强度。但是,柱面微透镜难以集成到微流控芯片上。Park等<sup>[1]</sup>和Roy等<sup>[3]</sup>结合光刻胶热熔法和复制法制备了微透镜阵列(MLA)并集成到PDMS微流控芯片上,结果表明微透镜阵列可以提高荧光检测强度。但是,文献<sup>[1]</sup>和<sup>[3]</sup>都没有研究光刻胶热熔的变化过程和光刻胶微透镜阵列的均一性。

本文选用正性光刻胶AZ50XT,结合光刻胶热熔法和软光刻工艺制备为50%的PDMS微透镜阵列。从聚焦光线的角度出发,将PDMS微透镜阵列集成到微流控芯片上。将异硫氰酸荧光素(FITC)荧光染料溶液注入微流控芯片中,利用倒置荧光显微镜获取微透镜阵列处的荧光照片。经过图像处理发现,微透镜提高了荧光强度。

## 2 实验

实验主要分三步完成:1)制造光刻胶微透镜阵列模具,研究光刻胶微透镜的热熔特性以及微透镜的均一性;2)制造PDMS凸透镜阵列,测量其表面形貌并分析其焦距均匀性误差;3)制造集成有微透镜阵列的PDMS微流控芯片,并检测其荧光强度。

### 2.1 微透镜设计

设计了一个PDMS折射微透镜,如图1(a)所示。透镜直径 $D$ 为 $400\ \mu\text{m}$ ,弦高 $h$ 为 $40\ \mu\text{m}$ ,厚度 $t$ 为 $800\ \mu\text{m}$ 。基于几何理论和费马原理<sup>[20]</sup>,透镜曲率半径 $r$ 、后顶焦距 $f'$ 、前顶焦距 $f$ 、数值孔径 $NA$ 、 $F$ 数 $F_{\#}$ 的计算公式分别为

$$r = \frac{D^2 + 4h^2}{8h}, \quad (1)$$

$$f' = \frac{rn_2}{n - n_1} - \frac{n_2 t}{n}, \quad (2)$$

$$f = \frac{r}{n - n_1}, \quad (3)$$

$$NA = \frac{D}{2f}, \quad (4)$$

$$F_{\#} = \frac{f}{D}, \quad (5)$$

式中 $n$ 为PDMS的折射率( $n=1.47$ ), $n_1$ 为空气的折射率( $n_1=1$ ), $n_2$ 为液体的折射率( $n_2=1.33$ )。经计算可得 $r=480\ \mu\text{m}$ , $f'=634.5\ \mu\text{m}$ , $f=1020\ \mu\text{m}$ , $NA=0.196$ , $F_{\#}=2.55$ 。

使用光刻工艺在硅片上制造光刻胶圆柱状图案,加热至光刻胶的熔化温度,忽略光刻胶的重力效应和光刻胶与基板之间的界面张力效应,在熔融光刻胶表面张力的作用下,使得光刻胶熔体回流成球形。经过多次实验发现,光刻胶经过热熔处理后,体积会减小,收缩率 $\epsilon=10\%$ 。假定光刻胶热处理前后直径 $D$ 保持不变,光刻胶的厚度 $T_p$ 与光刻胶微透镜的弦高 $h$ 之间的关系为

$$T_p = \frac{(1 + \epsilon)h}{6} \left( 3 + \frac{4h^2}{D^2} \right), \quad (6)$$

经计算可得 $T_p$ 为 $22.3\ \mu\text{m}$ 。

### 2.2 材料

实验材料包括:聚二甲基硅氧烷聚合物(Slygard 184 PDMS,道康宁,美国),预聚体和固化剂以10:1的体积比混合而成;安智光刻胶(AZ50XT,长沙金昕电子材料有限公司);异硫氰酸荧光素酯(FITC,北京索莱

宝科技有限公司),其激发光波长为 490 nm,发射光波长为 525 nm;三甲基氯硅烷溶液(无锡市亚泰联合化工有限公司)。

### 2.3 PDMS 微透镜阵列的制造

PDMS 微透镜阵列的制造工艺流程如图 1(b)所示,步骤如下。

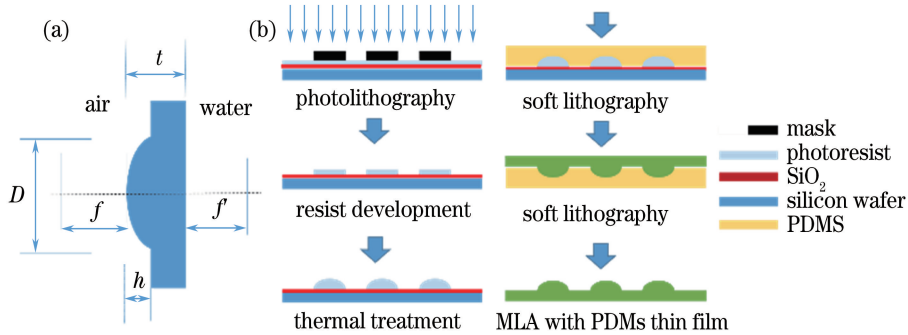


图 1 (a)微透镜结构;(b)微透镜阵列制作工艺

Fig. 1 (a) Structure of microlens; (b) fabrication process of MLA

- 1) 硅片氧化。将硅片放置在氧化炉中 3 h,使硅片表面生成一层厚度约为  $1.5 \mu\text{m}$  的二氧化硅薄膜。
- 2) 旋涂光刻胶。旋转速度为  $1250 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,旋转时间为 30 s,前烘温度为  $85 \text{ }^\circ\text{C}$ ,时间为 2 h,获得厚度为  $24 \mu\text{m}$  的光刻胶薄膜。
- 3) 曝光和显影。使用 SUSS 曝光机对光刻胶进行曝光,时间为 380 s,曝光功率为  $6.4 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。用显影液(去离子水与 AZ400K 体积比为 5:1)显影 6 min,获得直径为  $400 \mu\text{m}$ 、间距为  $500 \mu\text{m}$  的光刻胶圆柱阵列。
- 4) 热处理。将硅片放置在温度为  $140 \text{ }^\circ\text{C}$  的热鼓风烘箱中,保持 20 min。冷却至室温,便可制得光刻胶微透镜阵列。
- 5) 第一次软光刻。用三甲基氯硅烷处理光刻胶微透镜模具表面后,将 PDMS 聚合物浇注到硅片上,并放置于真空烘箱中 2 h,温度为  $85 \text{ }^\circ\text{C}$ 。剥离 PDMS,制备得到 PDMS 凹透镜模具。
- 6) 第二次软光刻。用三甲基氯硅烷处理 PDMS 模具表面后,将 PDMS 浇注到 PDMS 模具上,并放置于真空烘箱中 2 h,温度为  $85 \text{ }^\circ\text{C}$ 。剥离 PDMS 后,制得厚度  $t$  为  $800 \mu\text{m}$  的 PDMS 平凸微透镜阵列。

### 2.4 微流控芯片的制造

采用光刻技术和浇注成型方法制作 PDMS 基片,其通道深度为  $500 \mu\text{m}$ ,宽度为 3 mm。用打孔器在通道的两端打孔作为溶液的进出口。将基片和盖片放置在等离子键合机的腔室内,使用氧等离子体轰击其表面,然后将其永久键合在一起,制作得到集成有微透镜阵列的 PDMS 微流控芯片。

## 3 实验结果与讨论

### 3.1 光刻胶热熔工艺研究

使用表面轮廓仪(Surfcorde ET 4000M)测量光刻胶在不同温度条件下的截面尺寸,如图 2(a)所示。可以看出,当温度为  $120 \text{ }^\circ\text{C}$ ,加热 10 min 时,光刻胶图案的边缘出现隆起,呈火山形。随着温度的升高,透镜的高度逐渐增加,直径  $D$  逐渐减小。当温度达到  $150 \text{ }^\circ\text{C}$  时,光刻胶熔化成球面。采用最小二乘法拟合圆形轮廓,得到如图 2(a)所示的黑色曲线。采用确定系数评定拟合质量,其计算公式为

$$R^2 = \frac{S_{sr}}{S_{st}}, \quad (7)$$

式中  $S_{sr}$  为测量高度样本的回归平方和, $S_{st}$  为测量高度样本的总平方和,经计算得出确定系数为 99.9%。

### 3.2 光刻胶微透镜阵列的几何均一性

使用表面轮廓仪测量光刻胶微透镜阵列中的 15 个微透镜,测量点为图 2(b)中白色圆圈的位置。结果显示微透镜的平均直径为  $399.2 \mu\text{m}$ ,平均弦高为  $41.19 \mu\text{m}$ 。微透镜直径和弦高的一致性曲线如图 2(c)、(d)

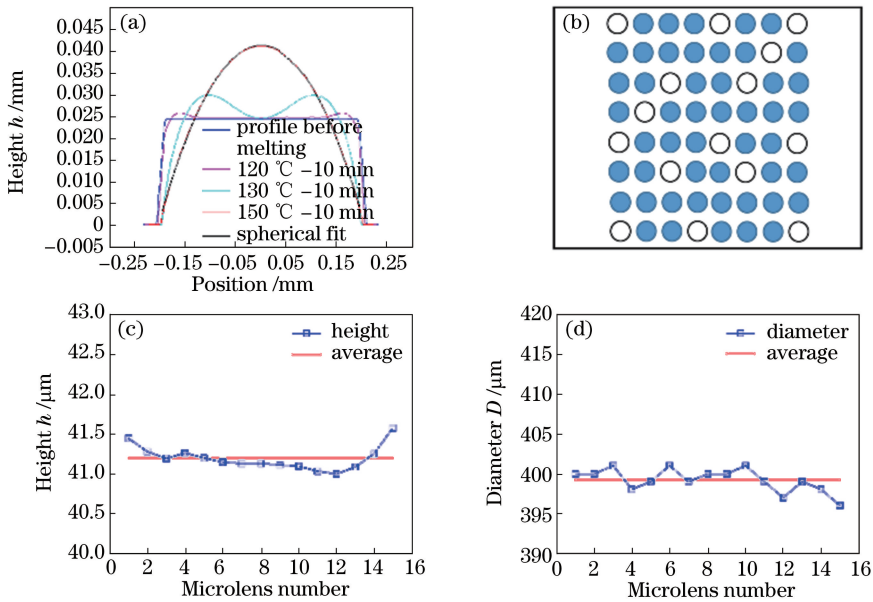


图 2 (a) 光刻胶随温度的变化; (b) 测量点位置; (c) 弦高一致性分析; (d) 直径一致性分析  
 Fig. 2 (a) Photoresist changes with temperature; (b) position of the measurement points;  
 (c) uniformity analysis of the sag; (d) uniformity analysis of the diameter

所示, 采用变异系数  $C_v$  来表征微透镜尺寸的一致性, 其计算公式为

$$C_v = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\%, \quad (8)$$

式中  $s$  为测量序列的标准差,  $\bar{x}$  为测量序列的平均值。采用(8)式计算得到微透镜直径变异系数为 0.369%, 微透镜弦高的变异系数为 0.374%。

### 3.3 PDMS 微透镜的均一性及表面质量测试

使用激光共聚焦显微镜 (LEXT 3D OLS4000, Olympus, 日本) 和表面轮廓仪分别测量 PDMS 模具和 PDMS 凸透镜的 3D 和 2D 轮廓, 如图 3 所示。按(2)式计算 15 个 PDMS 微透镜的焦距, 其一致性曲线如图 4(a) 所示。由计算可知, 后顶焦距  $f'$  的平均值为 703  $\mu\text{m}$ , 焦距的均一性误差计算公式为

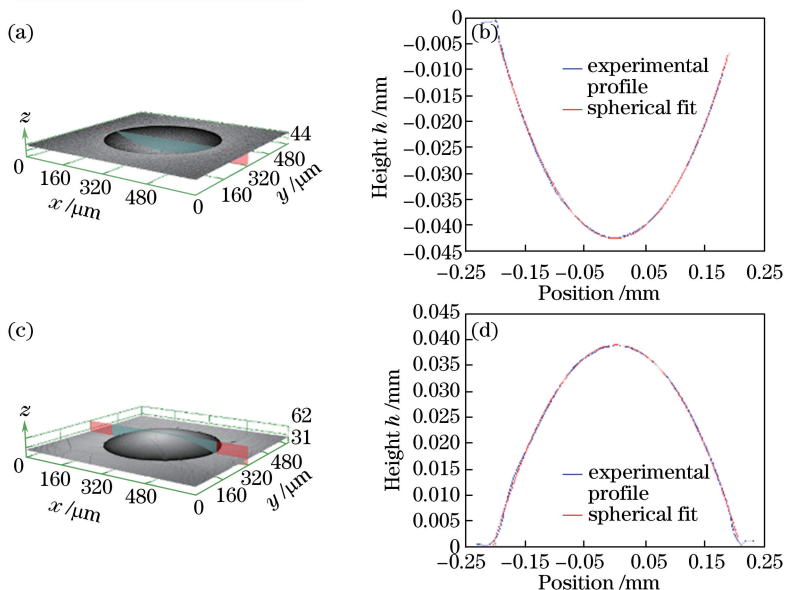


图 3 PDMS 模具的 (a) 3D 轮廓和 (b) 2D 轮廓; PDMS 平凸微透镜的 (c) 3D 轮廓和 (d) 2D 轮廓

Fig. 3 (a) 3D and (b) 2D profiles of the PDMS mold; (c) 3D and (d) 2D profiles of the PDMS plano-convex microlens

$$\sigma = \frac{f_{\max} - f_{\min}}{\bar{f}} \times 100\%, \quad (9)$$

式中  $f_{\max}$  和  $f_{\min}$  分别为后顶焦距的最大值和最小值,  $\bar{f}$  为焦距的平均值。计算可得焦距的均一性误差为 7%。按(1)式、(3)~(5)式分别计算 PDMS 微透镜的曲率半径、前顶焦距、数值孔径和  $F$  数的平均值, 得到  $r = 480 \mu\text{m}$ ,  $f = 1072 \mu\text{m}$ ,  $NA = 0.186$ ,  $F_{\#} = 2.69$ 。

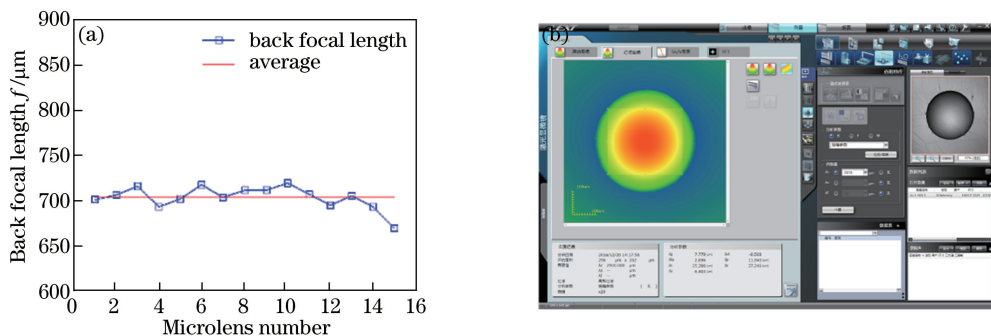


图 4 (a) 焦距的均一性分析; (b) PDMS 微透镜的粗糙度分析

Fig. 4 (a) Uniformity analysis of focal length; (b) roughness analysis of PDMS microlens

为了进一步测定 PDMS 凸透镜的表面质量, 使用激光共聚焦显微镜测量其表面粗糙度, 扫描区域为  $296 \mu\text{m} \times 262 \mu\text{m}$ 。测得表面粗糙度为  $6.4 \mu\text{m}$ , 如图 4(b) 所示。由此可见, 制作的微透镜阵列具有较好的表面光滑度和较高的尺寸精度。

### 3.4 微透镜阵列的荧光强度检测系统

荧光由荧光物质在吸收光能之后发射而出。出射荧光强度与激发光强度的关系为<sup>[21]</sup>

$$F = K' I_0 (1 - 10^{-Elc}), \quad (10)$$

式中  $K'$  为常数,  $I_0$  为激发光强度,  $E$  为摩尔吸光系数,  $l$  为液层厚度,  $c$  为溶液的浓度。如果选定适当的液层厚度和浓度, 荧光强度  $F$  随着激发光强度  $I_0$  的增加而增加。激发光在微透镜的聚光作用下, 强度增加, 进而使得出射荧光强度增加。荧光经过微透镜的会聚, 强度进一步增大。

图 5(a) 所示为荧光检测所使用的实验设备, 显微镜内置汞灯提供实验所需激发光, 从汞灯发出的光谱光经由滤光片转换成单色光, 然后经由二向色镜滤波与反射, 通过物镜会聚照射到微通道内浓度为

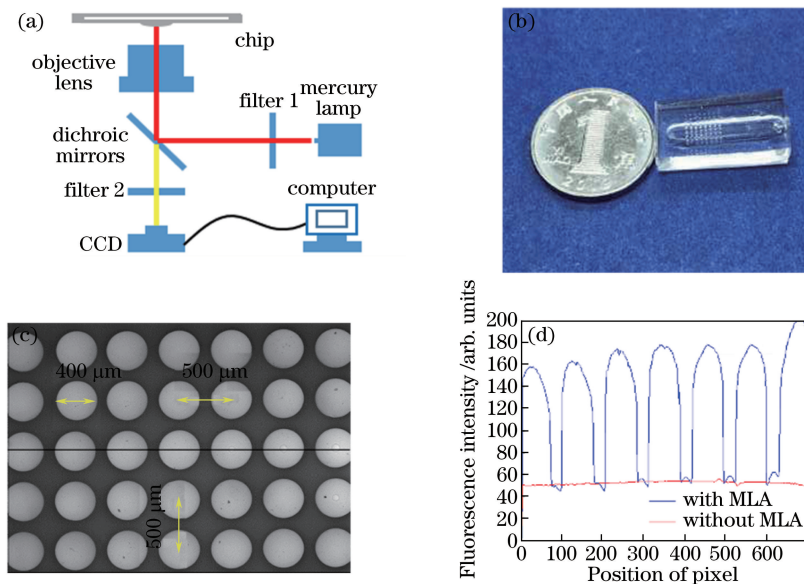


图 5 (a) 荧光检测原理图; (b) 集成微透镜阵列的微流控芯片; (c) 荧光图片; (d) 荧光强度分析

Fig. 5 (a) Schematic of fluorescence detection; (b) microfluidic chip of integrated MLA;

(c) fluorescence image; (d) fluorescence intensity analysis



$10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 FITC 荧光溶液中,通道内的荧光物质受激发出的绿光经由物镜、二向色镜和滤光片,到达电荷耦合器件(CCD)成像,可通过计算机显示荧光照片。图 5(b)所示为集成有微透镜阵列的 PDMS 微流控芯片。使用倒置显微镜拍摄的荧光图像如图 5(c)所示,可见透镜所在位置的亮度比较大。使用 Matlab 软件分别对微透镜阵列位置和无微透镜阵列位置进行处理,结果如图 5(d)所示。微透镜处的荧光强度约为 160,无微透镜阵列处的荧光强度约为 49。与没有微透镜阵列的情况相比,微透镜处的荧光强度提高了 2.2 倍。

## 4 结 论

采用光刻胶热熔工艺和软光刻工艺成功制得 PDMS 微透镜阵列。 $8\times 8$  光刻胶微透镜阵列的平均直径为  $399.2 \mu\text{m}$ ,平均高度为  $41.19 \mu\text{m}$ 。PDMS 微透镜后顶焦距的平均值为  $703 \mu\text{m}$ ,均一性误差为 7%。荧光检测实验证实微透镜可以用于增强诱导荧光强度。这种方法具有制作过程简单、成本低、周期短等优势,制得的微透镜阵列具有较好的几何均一性和聚光性能。

## 参 考 文 献

- [1] Park S, Jeong Y, Kim J, *et al.* Fabrication of poly (dimethylsiloxane) microlens for laser-induced fluorescence detection[J]. Japanese Journal of Applied Physics, 2006, 45(6B): 5614-5617.
- [2] Yang H, Shyu R F, Huang J W. New production method of convex microlens arrays for integrated fluorescence microfluidic detection systems[J]. Microsystem Technologies, 2006, 12(10): 907-912.
- [3] Roy E, Voisin B, Gravel J F, *et al.* Microlens array fabrication by enhanced thermal reflow process: towards efficient collection of fluorescence light from microarrays[J]. Microelectronic Engineering, 2009, 86(11): 2255-2261.
- [4] Hung T Q, Chin W H, Sun Y, *et al.* A novel lab-on-chip platform with integrated solid phase PCR and supercritical angle fluorescence (SAF) microlens array for highly sensitive and multiplexed pathogen detection[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2016, 90: 217-223.
- [5] Bernat I, Gonzalez-Murillo J J, Fonseca L, *et al.* Optical particle detection in liquid suspensions with a hybrid integrated microsystem[J]. Sensors and Actuators A: Physical, 2016, 247: 629-640.
- [6] Kamei T, Sumitomo K, Ito S, *et al.* Heterogeneously integrated laser-induced fluorescence detection devices: integration of an excitation source[J]. Japanese Journal of Applied Physics, 2014, 53(6S): 06JL02.
- [7] Schonbrun E, Steinvurzel P E, Crozier K B. A microfluidic fluorescence measurement system using an astigmatic diffractive microlens array[J]. Optics Express, 2011, 19(2): 1385-1394.
- [8] Piruska A, Nikcevic I, Lee S H, *et al.* The autofluorescence of plastic materials and chips measured under laser irradiation[J]. Lab on a Chip, 2005, 5(12): 1348-1354.
- [9] Severi M, Mottier P. Etching selectivity control during resist pattern transfer into silica for the fabrication of microlenses with reduced spherical aberrations[J]. Optical Engineering, 1999, 38(1): 146-150.
- [10] O'Neill F T, Sheridan J T. Photoresist reflow method of microlens production. Part I: background and experiments [J]. Optik-International Journal for Light and Electron Optics, 2002, 113(9): 391-404.
- [11] Audran S, Faure B, Mortini B, *et al.* Study of mechanisms involved in photoresist microlens formation [J]. Microelectronic Engineering, 2006, 83: 1087-1090.
- [12] Ashraf M, Gupta C, Chollet F, *et al.* Geometrical characterization techniques for microlens made by thermal reflow of photoresist cylinder[J]. Optics and Lasers in Engineering, 2008, 46(10): 711-720.
- [13] Hung K Y, Tseng F G, Chou H P. Application of 3D gray mask for the fabrication of curved SU-8 structures[J]. Microsystem Technologies, 2005, 11(4): 365-369.
- [14] Yang J J, Liao Y S, Chen C F. Fabrication of long hexagonal micro-lens array by applying gray-scale lithography in micro-replication process[J]. Optics Communications, 2007, 270(2): 433-440.
- [15] Croutxé-Barghorn C, Soppera O, Lougnot D J. Fabrication of microlenses by direct photo-induced crosslinking polymerization[J]. Applied Surface Science, 2000, 168: 89-91.
- [16] Chang C Y, Yu C H. A basic experimental study of ultrasonic assisted hot embossing process for rapid fabrication of microlens arrays[J]. Journal of Micromechanics and Microengineering, 2015, 25(2): 025010.
- [17] Lei Yu, Tong Qing, Zhang Xinyu. Liquid crystal microlens array for dual mode imaging[J]. Acta Optica Sinica, 2016,

36(5): 0511004.

雷宇, 佟庆, 张新宇. 基于双模成像的液晶微透镜阵列[J]. 光学学报, 2016, 36(5): 0511004.

- [18] Cui Jianli, Zhang Binzhen, Duan Junping, *et al.* Rapid fabrication technology of microlens arrays based on NOA73[J]. Chinese J Lasers, 2016, 43(7): 0703003.  
崔建利, 张斌珍, 段俊萍, 等. NOA73 材料的微透镜阵列快速制造技术[J]. 中国激光, 2016, 43(7): 0703003.
- [19] Lin B S, Yang Y C, Ho C Y, *et al.* A PDMS-based cylindrical hybrid lens for enhanced fluorescence detection in microfluidic systems[J]. Sensors, 2014, 14(2): 2967-2980.
- [20] Zhang Xiangwu. Derivation of lens equation by using Fermat's principle[J]. College Physics, 1999, 18(1): 30-31.  
张相武. 用费马原理推导透镜的物像公式[J]. 大学物理, 1999, 18(1): 30-31.
- [21] Chen Yuying. Pharmaceutical practical instrument analysis[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 108-109.  
陈玉英. 药学实用仪器分析[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 108-109.