

УДК 539.23; 538.91: 621

И.Д. Войтович, д-р техн. наук, акад. НАН Украины, Т.С. Лебедева, канд. техн. наук, С.С. Курлов, П.Б. Шпилевой

Оптические биосенсоры на многослойных тонкопленочных структурах

Оптические биосенсоры на основе затухающего поля находят применение при изучении биохимических процессов, происходящих в тонком слое, прилегающем к пленке, в которой возбуждаются колебания поля. В данной работе описано моделирование волноводного сенсора с металлическим подслоем (ВСМП) на базе тонкопленочной структуры $Al-Nb_2O_5$ и разработка технологии его изготовления при помощи вакуумного напыления и контролируемого жидкостного анодирования. Полученные сенсоры имеют чувствительность близкую к традиционно используемым в данной области сенсорам на основе поверхностного плазмонного резонанса (ППР).

Optical biosensors based on the damped field usually applying for investigation of biochemical processes in thin layer abutting to the film with excited field oscillations. In this paper modeling of metal-clad waveguide sensor basing on the thin film $Al-Nb_2O_5$ and developing of it's technology using vacuum deposition and liquid anodization control method are described. Obtained sensors have sensitivity near to the traditionally using in this field surface plasmon resonance sensors.

Введение

Биосенсорами называют широкий класс устройств, призванных измерять наличие или концентрацию биологических молекул, структур или микроорганизмов, преобразуя биохимическое взаимодействие на поверхности образца в физический сигнал, измеряемый далее при помощи традиционных методов. Областями применения биосенсоров являются мониторинг окружающей среды, качества воды и продуктов, фармакология, экспрестестирование в медицине и т.д. Применение биосенсоров в биологии позволяет в ряде случаев отказаться от иммунологических анализов, имеющих высокую стоимость и длительностью. Диагностика при помощи оптических биосенсоров занимает минуты, и, при тщательном подборе рецепторных слоев, обеспечивающих специфичность реакции, мо-

жет быть столь же достоверна, как традиционные методы.

В последнее время успешно развиваются биосенсоры на самых разных физических принципах, в том числе – оптические биосенсоры, среди которых планарные волноводные сенсоры [1], а также сенсоры на основе поверхностного плазмонного резонанса (ППР), получающие все большее распространение в силу их высокой чувствительности [2]. Среди коммерческих ППР-сенсоров для широкого использования наиболее широко распространены сенсоры на монохроматическом излучении, определяющие угловой сдвиг минимума отражения p - поляризованного света при малейших изменениях показателя преломления или толщины аналитического слоя на подложке. Подложка для ППР сенсора представляет собой стеклянную пластину, на которой сформирован слой плазмоноподдерживающего металла (обычно золота толщиной около 50 нм), на этом слое формируются аналитические слои. Однако существуют проблемы, ограничивающие применение этих подложек. Во-первых, тонкий слой золота легко повреждается. Во-вторых, затухающее поле поверхностных плазмонов проникает в окружающую среду не более чем на 150 нм, чем ограничивается толщина исследуемого слоя. Поэтому при помощи ППР могут решаться такие задачи, как детектирование белков, молекул ДНК, вирусов, но ППР сенсоры не могут быть непосредственными детекторами таких биологических объектов, как клетки или бактерии, размеры которых на порядок больше.

На наш взгляд, эти проблемы могут быть разрешены при помощи волноводных сенсоров с металлическим подслоем (ВСМП), которые, как и ППР-сенсоры, могут функционировать в оптической схеме Кретчмана (рис. 1). Подложка ВСМП подобна подложке ППР-сенсора, но включает в себя дополнительный прозрачный диэлектрический волновод на поверхности металлической пленки.

Как и в случае ППР-сенсора (Рис. 1, а), свет на ВСМП заводится через призму, и внутри волноводного слоя происходит интерференция излучения, отраженного от поверхности -внешняя среда и поверхности диэлектрик-пленка металла (рис. 1, б).

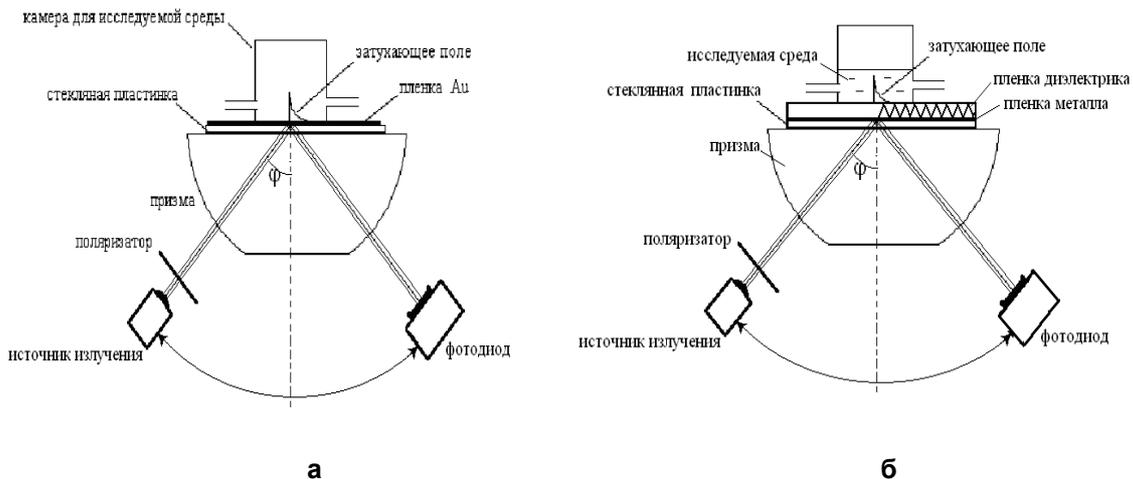


Рис. 1. Оптическая схема сенсоров углового типа: на поверхностном плазмонном резонансе (а) и ВСМП (б)

На одной из границ диэлектрика происходит полное внутреннее отражение (ПВО), на второй – нормальное отражение с частичным проникновением излучения сквозь пленку металла. Как и в обычном волноводном сенсоре, волноводная мода возникает тогда, когда волновые фронты проникшего в волновод луча находятся в фазе после отражения от двух границ раздела сред. Поскольку волноводная мода чувствительна к изменению показателя внешней среды (так же как и ППР-мода) изменение показателя преломления внешней среды или адсорбция на поверхности волноводной пленки приводит к изменению резонансного угла волноводной моды.

Особенностью ВСМП является большая глубина проникновения затухающего поля в исследуемую среду, дающая возможность исследовать слои толщиной в сотни нанометров. Материалами для волноводного слоя могут быть прозрачные для используемых длин волн диэлектрики или даже полупроводники – от полимеров до окислов металлов. ВСМП-сенсоры могут иметь пик намного более острый, чем пик плазмонного резонанса и определение положения резонансного угла для них возможно с большей точностью. Кроме того, ВСМП-сенсоры могут работать как с s -, так и p - поляризованным светом. Однако абсолютное изменение резонансного угла при изменении показателя преломления внешней среды таких сенсоров меньше, чем для ППР-сенсора.

Отметим, что в качестве материалов для металлического подслоя может быть использовано не только золото (преимущественное применение которого для ППР связано с отсутствием образования окисла на открытой поверхности), но и другие металлы, например, серебро,

медь или алюминий, поскольку поверхность металла закрыта слоем диэлектрика.

Целью данной работы является оптимизация структуры и параметров планарных сенсоров, способных детектировать широкий набор биологических объектов, удовлетворяющих требованиям высокой чувствительности, стабильности, простоты изготовления, надежности в эксплуатации. Таковыми на наш взгляд являются волноводные сенсоры с металлическим подслоем. В работе представлены результаты теоретической и экспериментальной работы по ВСМП структурам на базе алюминия и анодного окисла ниобия.

Моделирование

Для моделирования угловой зависимости показателя отражения $R(\varphi)$ для сенсорных структур и оптимизации параметров сенсорных устройств нами создана программа в среде MATLAB на базе матричного формализма Абелеса, которая позволяет рассчитывать 2D и 3D зависимости для оптических структур, состоящих из 2-х полубесконечных сред и двуслойной пленочной системы между ними [3,4]. Применение данной программы является эффективным при конструировании ППР-устройств и выборе состава слоев ППР-подложек, а также подложек для ВСМП.

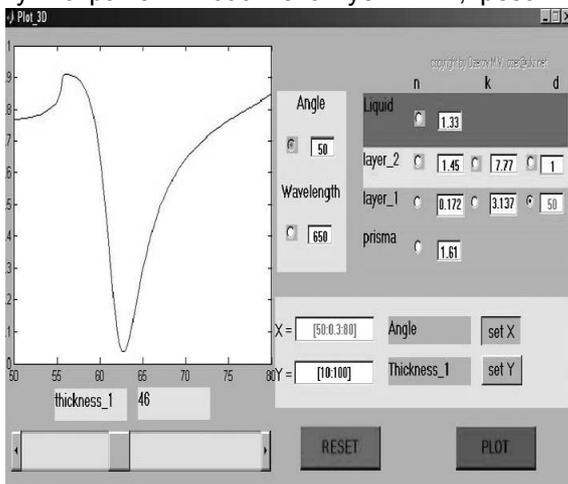
На рисунке 2,а представлено рабочее окно программы, позволяющее в диалоговом режиме проводить моделирование и оптимизацию оптических параметров. Моделирование проводилось для p -поляризованного излучения с длиной волны 650 нм, что соответствует излучению лазера в изготовленном нами устройстве для исследования ППР [3].

Моделирование показывает, что изменение толщины диэлектрического покрытия приводит к появлению целой серии минимумов, угол наблюдения которых зависит от толщины пленки диэлектрика. Из этого следует, что изменение условий на границе диэлектрик – исследуемая среда можно наблюдать и использовать для сенсорики при толщинах защитного слоя, соответствующих наличию волноводных минимумов. Результаты расчета углового положения ППР-минимумов и интенсивности отраженного света R для системы стекло(1,61)–подслой металла–диэлектрик–вода для пленочной структуры $Au-Nb_2O_5$ приведены на рисунке 2,б, а трехмерные зависимости R от угла падения и толщины диэлектрика – на рисунке 3,а. Первый минимум отражения соответствует ППР, резо-

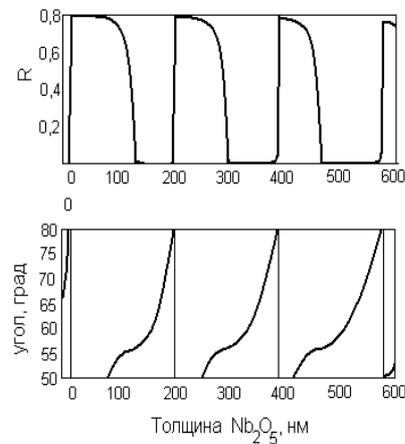
нансный угол которого увеличивается по мере увеличения толщины диэлектрического слоя. Следующие минимумы связаны с волноводными свойствами слоя Nb_2O_5 .

Важным для практического применения – создания биосенсоров на ВСМП с использованием подслоя из Al и волноводного слоя из анодного окисла ниобия, является второй минимум (рис. 3, а), который наблюдается при толщине диэлектрика 130 нм - 200 нм (рис. 2, б).

Поглощение в материале диэлектрика может приводить к уменьшению глубины каждого последующего минимума. Результаты моделирования с учетом поглощения для системы стекло – $Al(13\text{ нм})-Nb_2O_5 (n=2,3, k=0,05)$ -вода приведены на рисунке 3, б.

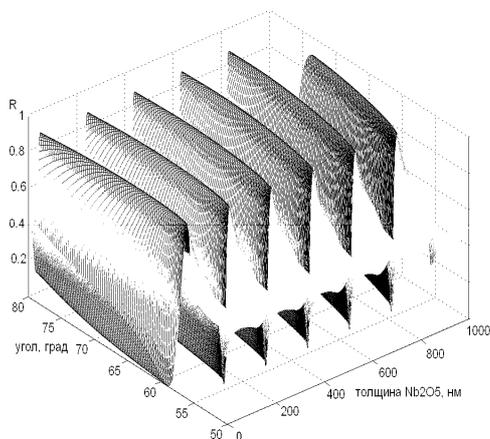


а

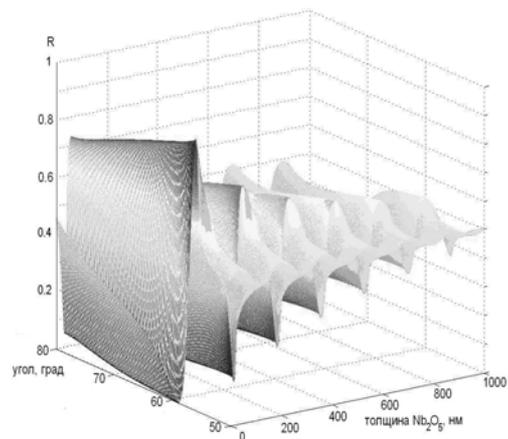


б

Рис. 2. а – общий вид диалогового окна при компьютерном моделировании ППР в системе стекло-Nb (адгезивный слой)-Au (плазмонотдерживающий слой)-вода, б – результат моделирования



а



б

Рис. 3. Результаты моделирования для системы $Al(13\text{ нм}) - Nb_2O_5 (n = 2,3) - \text{вода}$ (а), и $Al(13\text{ нм}) - Nb_2O_5 (n = 2,3, k = 0,05) - \text{вода}$ (б)

Технология изготовления ВСМП-структур Al-Nb₂O₅

ВСМП-структуры изготавливались в два этапа. Вначале на стеклянные пластины толщиной 1 мм методом магнетронного распыления в едином вакуумном цикле осаждалась структура Al-Nb. Далее на поверхности пленки формировалась фоторезистивная маска для анодного окисления. Анодное окисление проводилось в электролите на основе пентабората аммония и этиленгликоля при постоянной плотности тока, равной 10 мкА/мм². Формирование окисного слоя ВСМП-структур сопровождалось контролем методом профилей анодирования [5]. Он состоит в том, что в процессе анодного окисления фиксированной площади отслеживают зависимость dU/dt и по характеру ее изменения, или, что более наглядно, $dU/dt(U)$, делают выводы об изменении состава окисного слоя, о толщине и составе металлических и диэлектрических слоев. На рис. 4, а представлен профиль анодирования структуры Nb-Al, полученный в процессе обработки технологии подложек для

ВСМП. По окончании окисления слоя Nb (участок с постоянной dU/dt до 65 В) производились остановки процесса анодирования для исследования угловой зависимости коэффициента отражения (рис. 5).

Остановка анодирования осуществлялась через каждые 2,5 В (рис. 4, б), что соответствует приросту толщины окисла алюминия на 3,4 нм ($d_{Al_2O_3} = U \cdot 1,36 \text{ нм/В}$ [6]). Из рис. 4, а, видно, что между плато Nb и Al находится переходной слой толщиной около 6 нм.

На рисунке 5 прослеживается эволюция угловой зависимости коэффициента отражения ВСМП-структуры по мере изменения толщин слоев в процессе анодного окисления. Верхняя кривая соответствует напряжению в 65 В. По мере увеличения толщины анодного окисла происходит углубление минимума отражения и смещение его в сторону больших углов. Видно, что ряд кривых имеет форму с выраженным минимумом, позволяющую использование данных структур в биосенсорике подобно ППР сенсорам.

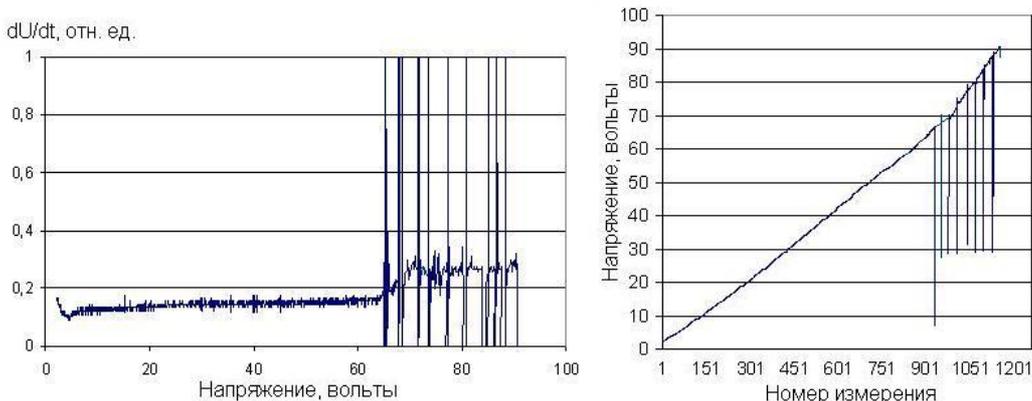


Рис. 4. Контроль анодного окисления структуры Al-Nb методом профилей анодирования

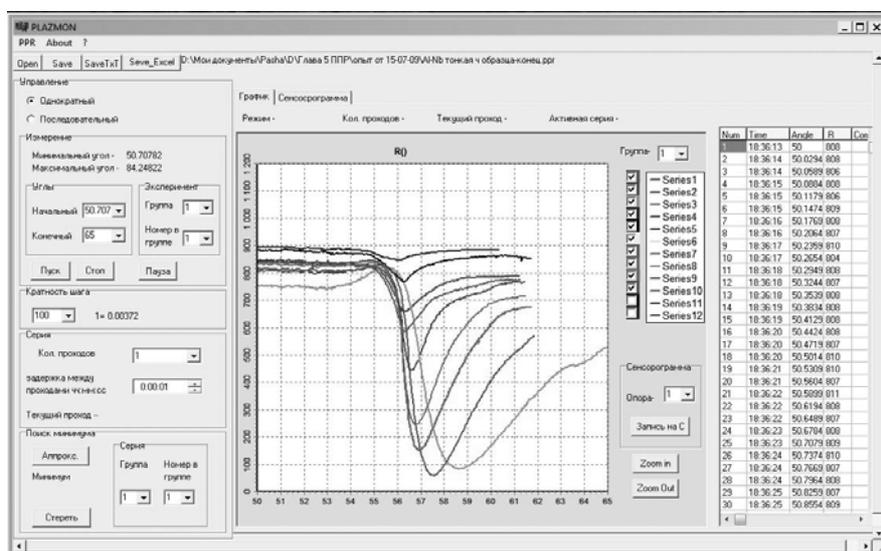


Рис. 5. Экспериментальные кривые зависимости коэффициента отражения по мере анодного окисления структуры Al-Nb

Результаты теоретических расчетов с помощью программы Winspall [7] для структур, аналогичных исследованным, представлены на рис. 6 показывают хорошее совпадение с экспериментальными данными (рис.5). Расхождения могут быть связаны с наличием переходного слоя Nb/Al и шероховатостью слоя алюминия.

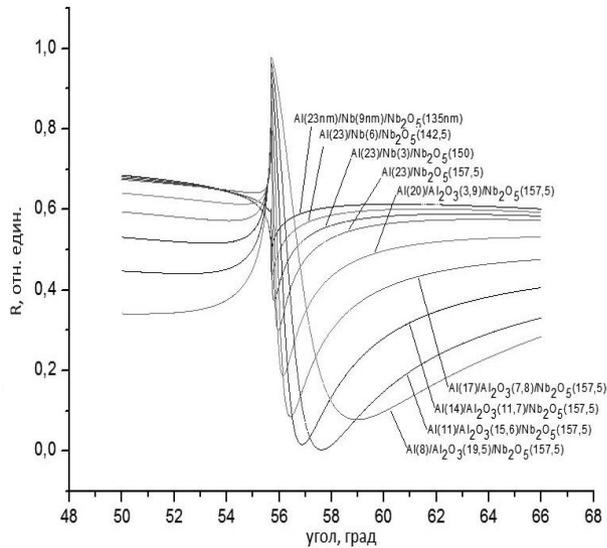


Рис. 6. Расчетные кривые зависимости коэффициента отражения для структур, получаемых в процессе анодного окисления структуры Al-Nb

Критерием для сравнения оптических сенсоров является их чувствительность к изменению показателя преломления n внешней (исследуемой) среды. Для угловых ППР сенсоров для системы стекло ($n = 1,61$)-золото-вода ($n = 1,33$) $d\phi/dn$ составляет около 100 град/ед.

Расчет чувствительности ВСМП Al-Nb₂O₅ по программе Winspall дает величину около 60 град/ед (рис. 7).

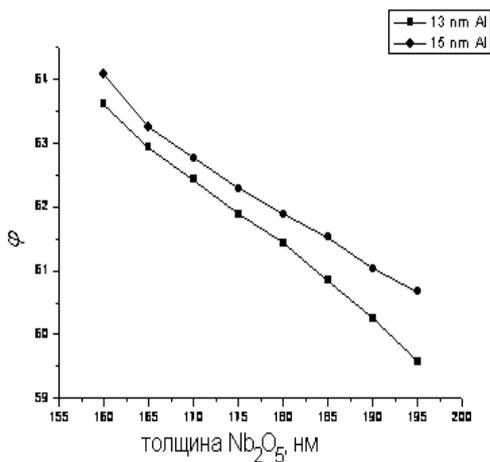


Рис. 7. Зависимость чувствительности сенсора от толщины слоя Nb₂O₅

Экспериментальное исследование этих ВСМП от $n = 1,33$ до $n = 1,36$ (при использова-

нии воды и этилового спирта) показало результаты, полностью согласующиеся с расчетными.

Были проведены предварительные исследования по использованию ВСМП Al-Nb₂O₅ для биосенсоров, а именно - проведение реакции BSA-ABSA на структуре Al/Nb₂O₅ с промежуточным слоем из полиэлектролита (рис. 8).

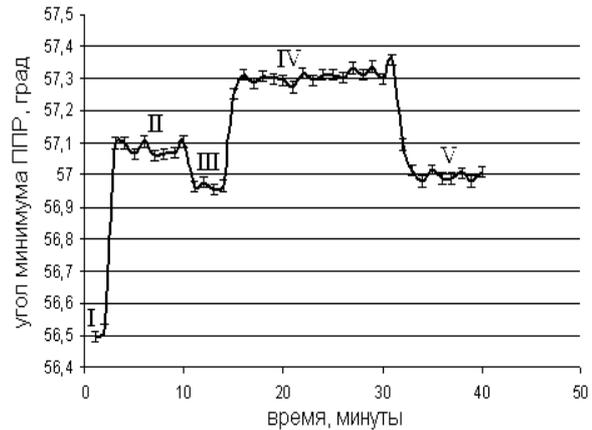


Рис. 8. Тестирование подложки Al/Nb₂O₅ с полиэлектролитом на возможность проведения на ней иммунохимической реакции. I – вода, II – BSA, III – буфер, IV – ABSA, V – буфер

Полученная величина углового сдвига была (1,7 угловых минуты) в полтора раза меньше, чем в контрольном эксперименте на ППР-подложке, что согласуется с теорией и показывает применимость разработанных нами ВСМП для биосенсорки. Использование полиэлектролита связано с невозможностью закрепления BSA непосредственно на поверхности пленки Nb₂O₅.

Выводы

В данной работе описаны моделирование и разработка технологии создания ВСМП-сенсора для биохимических исследований. Предложен технологический процесс, состоящий из вакуумного напыления двуслойной структуры Al/Nb с последующим преобразованием слоя Nb в Nb₂O₅ при помощи контролируемого жидкостного анодного окисления. Производимый в процессе окисления контроль толщины слоя Nb₂O₅ и контроль формы резонансной кривой проведены с целью оптимизации подложек - получения максимально глубокого и острого пика, обеспечивающего наиболее точное нахождение значения резонансного угла и точную регистрацию его сдвига при последующих биохимических анализах. Чувствительность данного сенсора при реакции BSA-ABSA всего в полтора раза меньше, чем при аналогичном эксперименте на ППР-подложке, что показывает применимость разработанного нами ВСМП для биосенсорки.

Литература

1. C.A. Rowe-Taitt, J.W. Hazzard, K.E. Hoffman, J.J. Cras, J.P. Golden, and F.S. Ligler. Simultaneous detection of six biohazardous agents using a planar waveguide array biosensor // *Biosens. Bioelectronics*, 15:579–589, 2000.
2. Piliarik M, Vaisocherová H, Homola J. Surface plasmon resonance biosensing // *Methods Mol Biol.* - 2009. – 503. – pp. 65-88
3. Войтович І.Д., Лебедева Т.С., Озеров М.В., Мінов Ю.Д., Шпильовий П.Б. Розрахунок впливу параметрів плазмоніпідтримуючої системи на характеристики ППР сенсора та розробка пристрою для ППР досліджень // Дослідження у галузі сенсорних систем та технологій. Збірник наукових праць за комплексною програмою фундаментальних досліджень НАН України під ред. акад. Єльської Г.В. та Походенко В.Д.. Київ, 2006, с. 173-179.
4. Лебедева Т.С., Шпилевой П.Б. Тонкопленочные технологии для сенсорных применений // *Праці міжнародної конференції «50 років Інституту кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України»*, Київ, 2008, стр. 251-257
5. И. Д. Войтович, Т. С. Лебедева, С. Я. Навала, П. Б. Шпилевой. «Разработка и применение метода анодной спектроскопии для анализа криоэлектронных тонкопленочных структур», *Тр. Украинского вакуумного общества.* – 1997. – Т. 3. – С. 371 – 376
6. J.P.S. Pringle; "The Anodic Oxidation of Superimposed Niobium and Tantalum Layers: Theory"; *Electrochimica Acta*, vol. 25, 1980, pp. 1403-1421
7. http://www.mpipmainz.mpg.de/~johans/ak_knol_Software.htm