

微机械生化传感器*

于晓梅^{1,†} 尚庆虎² 江兴流³

(1 北京大学微电子研究所 北京 100871)

(2 中国电子信息产业发展研究院 北京 100081)

(3 北京航空航天大学物理系 北京 100083)

摘要 自从 Clark 和 Lyons 在 1962 年研制出第一个生物传感器以来,探测各种生物和化学分子的生化传感器相继问世.这类传感器的基本原理是通过生化敏感层,被分析分子在敏感层上的物理或化学吸附被换能器转化为电信号.在众多的设计中,将活泼的生化敏感材料涂镀在硅器件表面是一个最有新意的设想.以往的硅生化传感器多设计为膜片式,器件的灵敏度受到限制.硅微机械悬臂梁是一种灵敏度极高的器件,近年来在传感器领域受到关注.文章总结了目前世界上硅基微悬臂梁生化传感器的最新发展动态.对几种硅悬臂梁的设计方法和工作原理进行了讨论,并给出了几种新型微生化气体和液体传感器检测不同有机分子和生物分子的结果.

关键词 悬臂梁,敏感层,灵敏度,噪声

BIO-CHEMICAL SENSORS

YU Xiao-Mei¹ SHANG Qing-Hu² JIANG Xing-Liu³

(1 Institute of Microelectronics, Peking University, Beijing 100871, China)

(2 China Center of Information Industry Development, Beijing 100081, China)

(3 Department of Physics, Beijing University of Aeronautics and Astronautics, Beijing 100083, China)

Abstract Since the development of the glucose sensor by Clark and Lyons in 1962, generally recognized as the first biosensor, many types of sensors have been developed in which the physical or chemical transducer is provided with a layer containing a biological sensing element. The resulting device is called a biosensor, aimed to produce an electronic signal as a function of the concentration of chemical or biochemical constituent. Among many proposed concepts, the integration of biologically active materials with a silicon chip is one of the most intriguing approaches. The silicon chips are usually designed as membranes, which have limited sensitivity. The microcantilever is an extremely sensitive device, which has attracted much attention during recent years. In this paper, the newest development of cantilever-based biosensors are summarized. The design and principle of microcantilevers together with examples of a few newly developed bio-sensors are discussed.

Key words cantilever, sensitive layer, sensitivity, noise

1 悬臂梁传感器的诞生

过去的 20 年里,微电子技术最显著的进步之一是新的测试技术的发展,先进的测试技术用于纳米级检测制作的器件和材料.扫描探针显微镜(SPM)是众所周知的检测技术之一.与光学显微镜和电子显微镜完全不同,SPM 不采用任何光学和电子透镜成像,而是利用尖锐探针在样品表面扫描来检测样品的一些性质.1982 年,Binnig 和 Rohrer 在 IBM 苏黎世实验室发明了扫描隧道显微镜(STM)^[1].在这种显微镜中,极细的探针与导电样品的表面作为两个电极,当两者的距离为埃的量级时,在外加电场的

作用下,电子可以穿过两个电极间的势垒,形成隧道电流.通过测量隧道电流和距离 S 的函数关系,样品的表面结构和表面电子特性即可反映出来,STM 可在原子级分辨率水平上测量材料的表面形貌.

随着 STM 的发明及其在表面科学和生命科学等研究领域的广泛应用,相继出现了许多同 STM 技术相似的新型扫描探针显微镜,它们几乎可以探测各种相互作用,而且空间分辨率至少在亚微米量级.扫描力显微镜(SFM)是同 STM 技术平行发展起来的

* 2001-05-11 收到初稿,2001-06-12 修回

† 通讯联系人,E-mail: xmyu@ime.pku.edu.cn

庞大的 SPM 家族成员之一, SPM 是几种以检测探针与样品间相互作用为特征的显微镜的统称, 其中原子力显微镜(AFM)^[2]是最具代表性的一种力显微镜。STM 虽然具有很高的垂直分辨率, 却只能用来观察和研究导电样品的表面, 而 AFM 却能够在接近原子尺度上研究绝缘体表面。摩擦力显微镜(LFM)^[3]、磁力显微镜(MFM)^[4]、静电力显微镜(EFM)^[5]、化学力显微镜(CFM)^[6]是在 AFM 基础上发展起来的另外几种扫描力显微镜。对于不同材料样品的表面, 探针与样品间存在不同类型的作用力, 采用不同的力显微镜进行扫描, 从而获得理想的图像。

扫描力显微镜是将探针装在一个对微弱力非常敏感的悬臂梁上, 并使之与待测样品表面原子间存在力的相互作用, 作用在探针与样品间的力会使悬臂梁发生形变, 形变大小可以通过光学或电学的方法检测。由于悬臂梁对力的变化非常敏感, 因此 SPM 可以高分辨率对材料表面形貌成像, 研究表面性质。随着微电子工业的飞速发展, 人们力图将最初用于 SPM 的微机械悬臂梁应用到物理和化学传感器上。微悬臂梁生化传感器是通过在悬臂梁的一个表面涂镀特殊的生化敏感层, 被测物质经扩散进入生化敏感层, 在悬臂梁表面发生物理吸附或化学吸附并产生机械响应。悬臂梁纳米量级的机械响应包括表面应力变化、热转换、质量变化等, 这些物理变化或化学反应的结果通过换能器被转换成电学信号记录下来。这种微悬臂梁可探测小到 10^{-5} N/m 的表面应力和纳克的质量变化, 尤其适合于探测微量生化分子。探测微量生化成分的微悬臂梁生化传感器的研究是目前世界上传感器领域的一个研究热点, 具有广泛的商业前景。

2 悬臂梁形变的检测方法

生化传感器由两个基本的元件组成, 即分子识别系统和物理化学信号的转换系统, 其工作原理如图 1 所示。探测生化分子的微传感器以微悬臂梁作为换能元件, 当被测物质进入生物敏感层后, 悬臂梁的响应频率或表面应力将发生变化。当敏感层吸附被测分子, 引起悬臂梁质量发生变化时, 悬臂梁的响应频率将产生频移。当被测分子与敏感层分子发生力的相互作用时, 将使悬臂梁产生表面应力, 悬臂梁表面应力的改变将使其弯曲。悬臂梁的微小弯曲可以由几种不同的方法检测, 最普遍采用的方法包括激光干涉法、光杠杆法、压阻法、压电法和电容法。这几种方法都具有很高的灵敏度, 均可达到纳米级分

辨率。

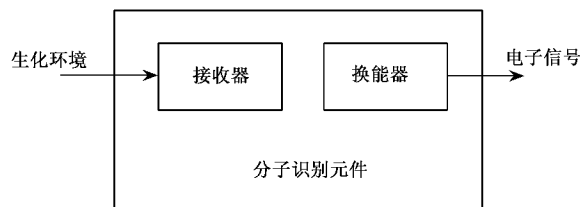


图 1 生化传感器工作示意图



最灵敏的悬臂梁弯曲测量技术是激光干涉法。Ruger 等人^[7]发明了这种悬臂梁弯曲探测系统, 他们利用光的干涉原理, 使原光纤光束和从悬臂梁背面反射的光发生干涉, 通过精确控制从悬臂梁背面反射的光, 在空气中形成一个小于 $4\mu\text{m}$ 空间干涉腔, 干涉条纹的改变即反映了悬臂梁的弯曲情况。这种测量可获得 0.01\AA 的垂直分辨率。

光杠杆法或光反射法是最常用的悬臂梁弯曲检测方法之一。在这个测试系统中, 一束激光经悬臂梁背面反射, 反射的光被位置灵敏探测器(PSD)接受, 悬臂梁的形变将使光点在 PSD 上产生位移, 光点在 PSD y 方向位移的大小被光电二极管检测。光电二极管的光电流差通过互阻抗放大器转换为电压信号, 差分电压信号再被传输到数据接受和控制系统。IBM 苏黎世实验室主要采用光反射探测系统检测阵列式悬臂梁的弯曲^[9]。与激光干涉法相比, 光杠杆法更易操作, 垂直分辨率也可达到 0.1\AA 。

光学的读数方法虽然具有较高的灵敏度, 但庞大的光学系统及激光的精密校准限制了其广泛的应用。如在超高真空、低温、液态条件下和阵列式悬臂梁测量中, 解决这一问题的方法是把电容、压电、力敏元件集成于悬臂梁中的电学读出方法, 电学检测技术近年来在悬臂梁研究领域得到重视。在电学读出方法中, 力敏式读出方法比其他两类检测技术更被普遍采用。硅是很好的力敏材料, 非常适合于制造微悬臂梁。1991 年, Tortonese 等人率先在斯坦福大学利用硅的压阻效应, 成功地制作出硅力敏悬臂梁, 并用于原子力显微镜^[9]。四个尺寸完全相同的电阻组成对称的惠斯通电桥, 力敏电阻集成在悬臂梁上或衬底上。当悬臂梁产生形变时, 悬臂梁上电阻阻值的变化使惠斯通电桥的输出信号发生变化。该课题组制作的悬臂梁最小可探测位移(MDD)在 $1\text{--}1000\text{Hz}$ 扫描频率范围内为 $1\text{--}10\text{\AA}$ 。之后, 一些课题组也开展了力敏悬臂梁的研究, 通过优化设计参数和制作工艺, 目前力敏悬臂梁也已达原子级分辨率, 并被应用在不同类型的传感器上。

电容检测技术是利用悬臂梁与金属片形成平行板电容器,悬臂梁的弯曲通过电容的微小变化检测出来. 压电检测技术是采用 ZnO 作为压电材料,检测力和电荷量的变化关系,该方法常用于微弱声音的检测和放大.

3 微悬臂梁的设计

设计悬臂梁时,需要重点考虑的参数是灵敏度(包括力和位移灵敏度)、噪声、弹性系数、响应频率. 高质量悬臂梁通常需要具有高灵敏度、低噪声、高响应频率和低弹性系数. 这些参数取决于悬臂梁的几何形状、材料的机械性质以及制作悬臂梁的工艺条件. 薄而长的悬臂梁具有低的弹性系数,但降低弹性系数的同时也会降低悬臂梁的响应频率,因此需要对两个参数进行平衡. 力敏悬臂梁的灵敏度和噪声取决于材料的力敏特性,增加灵敏度和降低噪声也是一个平衡的过程.

不同几何形状的悬臂梁,其机械性质会有很大区别,而影响其特征参数. 悬臂梁外形通常设计为简单的矩形,矩形的悬臂梁表面有利于光的反射,尤其适合于用光学方法检测其弯曲的悬臂梁. Binnig 等人设计的 AFM 悬臂梁^[2]和 Tortonese 等人设计的力敏 AFM 悬臂梁^[9]均为简单的矩形. 矩形阵列式悬臂梁(见图 2)是 IBM 苏黎世实验室首先设计出来的^[8],设计这种悬臂梁的目的是为了在不同悬臂梁表面涂镀不同的表面生化敏感层,而使一个器件具有探测多种分子的能力.

电学方法读出的悬臂梁,由于其几何形状对其机械性质影响更显著,因此常设计成不同的形状. Chui 等人^[10]设计的力敏悬臂梁外形仍接近矩形,但悬臂梁中间设计为空的,由于悬臂梁的响应频率依赖于悬臂梁的质量,这样的设计可以提高悬臂梁的响应频率,同时对悬臂梁弹性系数也有所改进. 通过对几何尺寸和工艺参数进行优化,Chui 等人制备的悬臂梁灵敏度达到 $1.6 \times 10^{-2} \text{ \AA}/\sqrt{\text{Hz}}$,共振频率达到 250kHz,而器件的噪声在 1Hz 到 200Hz 的带宽范围内仅为 0.5 \AA . 之后, Gotszalk 小组采用单晶硅研制出用于多种目的矩形和中空形状的力敏悬臂梁^[11,12],他们研制的悬臂梁探针,用于 AFM 时,其表面分辨率为 0.1 nm . 用于检测电容的扫描电容显微镜时,可探测到 10^{-22} F 的电容. 用于横向力显微镜时,可探测到 1 nN 的摩擦力. 图 3 是由 Gotszalk 等人设计的一个中空力敏悬臂梁的显微照片. IBM 苏黎世实验室也设计了一种铅笔型中空悬臂梁,这种悬臂梁可作

为高斯计用于检测超导体或磁性材料的微弱磁性,测量灵敏度可达 $10^{-12} \sim 10^{-6} \text{ N} \cdot \text{m}^{[13]}$.

一种新颖的设计是叶片形悬臂梁^[14],敏感层涂于叶片表面,大的方形叶片被固定在两个薄而细的悬臂梁臂上,同时由于敏感层的面积较大,因此该悬臂梁具有较高的灵敏度. 这种悬臂梁测量灵敏度可达到 $0.23 \times 10^{-6} \sim 2.91 \times 10^{-6} \text{ nm}^{-1}$. Lutwyche 等人设计了一种 5×5 二维阵列式 AFM 悬臂梁^[15]. 这种设计的优点是只需要五个驱动器即可驱动 25 个悬臂梁进行同时扫描,具有高效率、低成本等优点. 实际上可以在同一基片上设计更多的阵列悬臂梁.

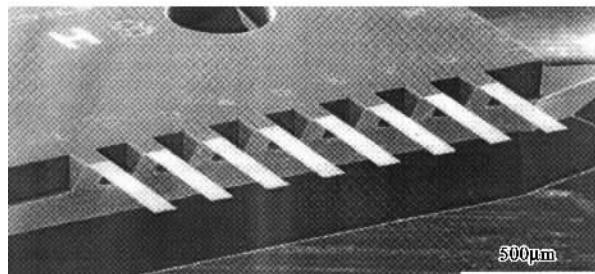


图 2 IBM 苏黎世实验室设计的矩形阵列式悬臂梁



图 3 Gotszalk 等人设计的力敏悬臂梁的显微照片

4 悬臂梁气体传感器

由于廉价的微 SFM 悬臂梁广泛应用,基于表面应力和其他物理量变化的悬臂梁传感器迅速崛起,并应用于各个领域:质量和流程控制,医学的微量分析,红外和紫外辐射,气态或液态条件下有机分子和生物分子的分析,高密度数据存储等. 悬臂梁作为气体传感器,其发展要略早于液体传感器. 此类传感器在悬臂梁的一个表面通常涂镀金属膜或有机聚合物作为化学敏感层,在吸附了某种气体后,通常会产生两种物理量的变化:响应频率或表面应力. 悬臂梁的

响应频率 $f_{res} = 0.32 \sqrt{\frac{k}{m}}$, 当敏感层吸附气体后, 质量产生变化, 敏感层将气体浓度的改变转换为悬臂梁响应频率的频移, 频移的大小即反映了吸附气体的多少. 悬臂梁表面应力的改变是由于敏感层分子与吸附分子间力的相互作用, 而使悬臂梁产生弯曲.

德国 Tübingen 大学 Maute 研究小组采用聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 作为化学敏感层, 探测辛烷、甲苯、丁醇等有机物的蒸气浓度, 获得理想的结果^[14]. 图 4 是他们测量悬臂梁的响应频率随辛烷浓度的变化结果. 图 4 中右峰为纯空气条件下悬臂梁的响应峰, 左峰为敏感层吸附不同浓度辛烷后频移的共振峰. 他们探测的最低辛烷浓度为 2000ppm, 测量灵敏度达到 -0.0988Hz/ppm .

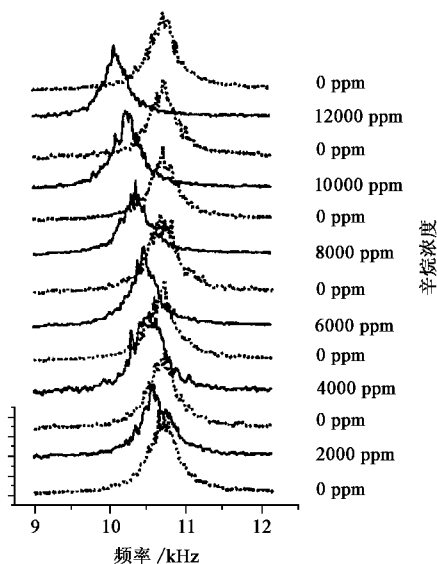


图 4 M. Maute 小组采用 PDMS 敏感层探测不同浓度辛烷的结果

IBM 苏黎世实验室的 Lang 等人^[8]研制的阵列式悬臂梁气体传感器, 采用金属膜 (金、铂) 或聚合物作为敏感层探测氢的含量和各种有机气体以及各种自然的芳香剂, 是目前世界上开展此项研究较好的课题组. 他们采用聚甲基丙烯酸酯 (PMMA) 敏感层探测各种不同的醇及各种自然的芳香剂, 采用 Pt 敏感层探测氮气气氛下氢及乙烯气体, 均获得理想的实验结果. 在他们设计的阵列式悬臂梁中, 八个悬臂梁中的四个作为参考悬臂梁, 另外四个作为探测悬臂梁. 通过对信号进行差分处理, 即可得出悬臂梁净响应信号, 信号响应的幅度与气体的浓度密切相关.

不同被检测气体分子与不同敏感层分子产生的物理吸附或化学吸附均不相同, 从而使传感器具有不同的机械响应和灵敏度, 每种机械响应都可通过

合适的检测手段检测. 传感器的灵敏度依赖于悬臂梁的机械性质, 敏感层的厚度, 被测气体的性质及含量. 提高灵敏度可通过改进悬臂梁的设计, 选择合适的机械材料, 提高测试系统的灵敏度来实现.

5 液体生化传感器

相比气体传感器, 悬臂梁在液态环境下工作就略显困难, 悬臂梁液态下的漂移是限制此类传感器工作的主要因素, 这种漂移通常需要几个小时的时间才能稳定下来. 悬臂梁液态下的漂移主要有两种原因: 一是热效应, 特别是对表面敏感层为金属的悬臂梁, 敏感的双金属层是令人困扰的. 其次是悬臂梁刚浸入液体中时表面应力的变化, 这种效应不限于悬臂梁是否是双金属, 可能的原因是悬臂梁表面的生物物质, 从干燥的气氛下浸入液态环境中后, 需要一定的时间与缓冲液作用, 达到再平衡^[16, 17].

液体悬臂梁传感器主要用于 DNA、蛋白质等微量生物分子的识别, 其工作原理与气体传感器类似. 在悬臂梁的一面涂有生物敏感膜, 悬臂梁表面生物分子吸收被测生物分子, 吸收过程中的内在分子力使悬臂梁表面应力发生变化, 从而使悬臂梁产生机械形变. IBM 苏黎世实验室的 Fritz 等人于 2000 年在 Science 上发表了一篇文章^[18], 引起了同行的震动. 他们利用阵列式悬臂梁成功地检测出低核甙酸 (DNA) 分子. 利用配对原理, 他们将高度专一性的 DNA 杂化反应、高灵敏度的悬臂梁以及光学的在位读数方法相结合, 使测量具有很高的灵敏度. 不同悬臂梁表面通过金膜涂镀 16 链硫化的低核甙酸或 12 链硫化的低核甙酸, 当相应的低核甙酸注入液态细胞中时, 产生杂化的匹配悬臂梁与失配悬臂梁差分信号即可被探测出来. 该课题组同时还将蛋白质 A 作为敏感膜, 涂镀血清蛋白 (BSA) 的悬臂梁作为参考悬臂梁, 对不同动物进行了免疫球蛋白 (IgG) 的检测.

英国剑桥大学的纳米组研制出用于检测低密度脂肪蛋白质 (LDL) 和脱氧低密度脂肪蛋白质 (ox-LDL) 的悬臂梁^[19]. 悬臂梁表面涂镀肝磷脂作为敏感膜, 肝磷脂对 LDL 吸收比对 oxLDL 吸收大得多, 因此通过测量悬臂梁形变随时间的变化曲线, 而区分两种不同的蛋白质, 此技术可用于早期动脉硬化的诊断. 该课题组同样也进行了动物 IgG 的检测.

以上讨论的几种传感器的输出信号是通过测量响应频率的频移或光反射法测量悬臂梁弯曲实现的. 丹麦技术大学微电子中心生物探针组 Boisen 等人率先采用力敏悬臂梁探测出空气中微量乙醇蒸气

和水中乙醇含量的传感器^[20]。他们在悬臂梁的一个表面涂镀有机聚合物,敏感层吸附乙醇分子后引起悬臂梁形变,悬臂梁形变的信号通过惠斯通电桥的输出电压信号记录下来,这种测量响应速度快,输出信号的幅度记录了乙醇的浓度。

6 结论

在悬臂梁一个表面涂镀金属膜、有机聚合物等生化敏感层,当被分析的生化分子进入敏感层后,将在悬臂梁表面产生物理吸附或化学吸附,使悬臂梁响应频率或表面应力产生变化。通过光学或电学检测手段,测量悬臂梁响应频率或应力的微小变化,从而实现高灵敏度地检测微量生化分子。传感器灵敏度的提高可以通过选择理想的机械材料、设计合适的外形尺寸、对悬臂梁表面涂镀不同的敏感层或选择适当敏感层厚度来实现。本文介绍了目前世界上几个主要微生物传感器研究机构的最新研究成果,这是一个新的研究方向,具有广阔的应用前景,微机械生化传感器在微量生化分子检测方面将发挥重要作用。

参 考 文 献

[1] Binnig G ,Rohrer H .*Helv. Phys. Acta.* ,1982 55 726

[2] Binnig G ,Quate C F ,Gerber Ch. *Phys. Rev. Lett.* ,1986 56 930
 [3] Overney R M ,Meyer E *et al.* *Nature* ,1992 359 :133
 [4] Martin Y ,Wickramasinghe H K. *Appl. Phys. Lett.* ,1987 50 :1455
 [5] Martin Y ,Abraham D W ,Wickramasinghe H K. *Appl. Phys. Lett.* ,1988 52 :1103
 [6] Noy A ,Vezenov D V ,Lieber C M. *Annual Review of Materials Science* ,1997 27 381
 [7] Rugar D ,Mamin H J ,Guethner P. *Appl. Phys. Lett.* ,1989 55 :2588
 [8] Lang H P ,Baller M K *et al.* *Analytica Chimica Acta* ,1999 393 59
 [9] Tortonese. *The processing of Transducers 91 IEEE* .1991 ,CH2817 - 5 448
 [10] Chui B W ,Stowe T D *et al.* *Solid-State Sensor and Actuator Workshop* ,1996 6 219
 [11] Gotszalk T ,Grabiec P *et al.* *Microelectronic Engineering* ,1998 41/42 477
 [12] Gotszalk T ,Linnemann R *et al.* *SPIE* ,1998 2780 376
 [13] Lang H P ,Baller M K *et al.* *Analytica Chimica Acta* ,1999 393 59
 [14] Maute M ,Raible S *et al.* *Sensors and Actuators B* ,1999 58 505
 [15] Lutwyche M ,Andreli C *et al.* *Sensors and Actuators* ,1999 73 89
 [16] Binnig G *et al.* *Europhys. Lett.* ,1987 3 :1281
 [17] Brunt T A. Ph. D. Thesis. Cambridge ,1997
 [18] Fritz J ,Baller M K ,Lang H P *et al.* *Science* ,2000 288(5464) 316
 [19] Moulin A M ,O'Shea S J ,Welland M E. *Ultramicroscopy* ,2000 82 :23
 [20] Boisen A. *Ultramicroscopy* ,2000 82 :11

· 物理新闻 ·

核子相变(Nuclei Go Through Phases)

化学家们一向关注各种物质的汽 - 液相变,他们在 P - T 图上分析物质在两相共存时的能量曲线,并研究在温度与压强改变时物质如何在两相间来回变动。那么对于掩藏在原子核内的质子和中子,它们也像分子一样具有汽态和液态吗?理论科学家们认为这是一个很难回答的问题,因为核子系统是一个少粒子数系统(一般来说系统内只有 100—200 个质子和中子)与宏观的分子数系统(一个系统内包含有大于 10^{24} 个分子)是无法相比较的。

但最近美国 Brookhaven 国家实验室(LBNL)在与其他很多单位合作的基础上进行了这方面的实验,实验项目由两组科学家分别进行,以 LBNL 的 J. Elliott 教授为首的一组与以美国密歇根州立大学的 W. Bauer 教授为首的另一组在美国宾夕法尼亚州南北分界线(这是美国南方和北方各州的分界线,称为 Mason-Dixon line)处用印度硅球探测器来测定核子系统的温度和压强,这样就在 P - T 图上第一次测定了一组不受电磁力束缚的核粒子系统的相图。

如果不考虑核子间的粘着作用,那么激发了的核子系统的行为极类似于一般的理想气体,即它们的状态方程也可表达为 $PV = nRT$,当然原子间的作用力与核子间的作用力是不相同的,所以状态方程的标度大小差别很大,如我们拿碳化硅原子与由碳化硅所释放的核子系统作一比较来看,原子系统的沸点温度是 209K,临界密度约为 $0.01\text{mol}/\text{cm}^3$;但核子系统的沸点温度约为 7MeV(相当于 $8 \times 10^{10}\text{K}$),它的临界密度约为 0.05 核子/立方费米(相当于 $8 \times 10^{13}\text{mol}/\text{cm}^3$),由此可见,两者的大小有一定的差异,但它们作用力的形态却很相似,都是短程的排斥力和长程的吸引力。从上面的数据,我们可以预感到这种系统将能适用于研究天体物理中在中子星形成时核子的沸腾或凝聚过程。

(云中客摘自 *Phys. Rev. Lett.* ,28 January 2002 for Elliott *et al.* ,*Phys. Rev. Lett.* ,14 January 2002 for Berkenbusch *et al.*)