



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA



DEPARTAMENTO DE
COMUNICACIONES



Máster Universitario
en Tecnologías, Sistemas y
Redes de Comunicaciones

Anillos resonantes en SOI para aplicaciones de sensado

Autor: Javier García Castelló

Director 1: Jaime García Rupérez

Director 2: Peter Biestman

Fecha de comienzo: 1/02/2010

Lugar de trabajo: Centro de Tecnología Nanofotónica de Valencia.

Photonics Research Group of Ghent University.

Objetivos

Comprender el funcionamiento de los anillos resonantes y otro tipo de estructuras además de conocer la tecnología de fabricación de estructuras de Silicon on Insulator y sus diferentes variaciones. Caracterizar las estructuras diseñadas, mediante los principales parámetros y seleccionar aquellas estructuras que sean óptimas para la realización del sensado. Fabricar e integrar sobre los dispositivos fotónicos las estructuras de los canales de microfluidos con los cuales se depositarán las diferentes sustancias. Montaje experimental para la detección de ADN.

Metodología

Para llevar a cabo los objetivos previamente descritos la metodología seguida ha sido la búsqueda de documentación relacionada con las diferentes estructuras y con los canales microfluidicos. Además del desarrollo de los procedimientos de funcionalización de superficies con receptores moleculares y la fabricación de un sistema de fluídica para el dispensado de los fluidos sobre las estructuras que realizaran el sensado. Obtención de resultados experimentales y análisis de los mismos para la creación de feedback para próximas fabricaciones.

Desarrollos teóricos realizados

Los desarrollos teóricos realizados en el marco de este trabajo de investigación han sido relacionados con la teoría de los anillos resonantes aunque no han sido desarrollos teóricos avanzados.

Desarrollo de prototipos y trabajo de laboratorio

Para la realización del trabajo de investigación los prototipos que se han desarrollado han sido diferentes estructuras de canales de microfluidos y holders para los chips. Además del montaje del set-up para la realización de las medidas.

Resultados

Los principales resultados que se han obtenido en este trabajo de investigación se encuentran en el apartado V. Entre ellos destaca principalmente la comparación de la sensibilidad de las guías de ondas en diferente polarización. Además se ha conseguido monitorizar los diferentes pasos para la funcionalización y detección de una cadena complementaria de ADN.

Líneas futuras

El proyecto de investigación está comprendido dentro del proyecto Europeo InTopSens, que desarrolla un sistema para la detección rápida de las bacterias causantes de la infección de la sangre, también conocida como sepsis. Además abre la puerta a poder detectar específicamente cualquier tipo de moléculas que puedan

ser reconocidas químicamente. También permite la integración de estructuras de canales microfluidicos en obleas de silicio por lo que añade una aplicación nueva a esta tecnología.

Publicaciones

El autor ha realizado una serie de publicaciones dentro del marco de esta tesina del Master:

Congresos:

J.G. Castelló, J. García, A. Griol, J. Hurtado, L. Belliers, J. Ayucar, J. Martí, " *Sensor óptico integrado basado en anillos resonantes en Silicio*", Reunión española de optoelectronica, Málaga 2009.

J.G. Castelló, J. García, A. Griol, J. Hurtado, L. Belliers, J. Ayucar, J. Martí, " *Integrated optical sensor using silicon ring resonators*", Trends in Nanotechnology, Barcelona, 2009.

Revistas:

J. García-Rupérez, V. Toccafondo, M. J. Bañuls, A. Griol, J. G. Castelló, S. Peransi- Llopis and A. Maquieira, " Label-free antibody detection using band edge fringes in SOI planar photonic crystal waveguides in the slow-light regime", *Optics Express*, Vol. 18, Issue 23, pp. 24276-24286 (2010).

J. García-Rupérez, V. Toccafondo, M. J. Bañuls, A. Griol, J. G. Castelló, S. Peransi- Llopis and A. Maquieira, " *Single-strand DNA detection using a planar photonic-crystal-waveguide-based sensor*, *Optics letters*, September 2010.

Abstract

We reported the study of the applications of the sensors based in Silicon on Insulator and the different structures were reviewed such as surface Plasmon resonance or photonic crystals. A novel lab on a chip platform using an array of 20 microrings was fabricated in SOI in the clean room through the integration of the micro channels in PDMS allowing the delivery of the substance in the different sensors. We also report the different physical parameters for optimizing the structures and polarization by using different configuration set ups. We have compared the sensitivity between TM and TE configuration obtaining the best one for TM. We report experimental results of the surface modification for the detection of the single strand DNA using the micro fluidics system. In these measurements we saw the shift of the peaks as the different steps were carrying out by monitoring continuously and simultaneity 20 ring resonators achieving, finally the detection of the hybridization of the complementary strand of DNA.

ÍNDICE

I. Introducción y revisión del estado del arte	6
I.1. Trabajo previo con cristales fotónicos.....	8
II. Anillos resonantes.....	10
II.1. Principio teórico de funcionamiento.....	10
II.2. Parámetros espectrales de anillos resonantes.....	14
III. Microfluidos.....	16
III.1. Integración de canales de microfluídica.....	17
III.2. Fabricación del PDMS.....	18
III.3. Métodos de integración del PDMS con las estructuras.....	19
III.4. Grating couplers.....	22
IV. Set-up.....	22
IV.1. Dependencia de la temperatura y estabilidad de la señal.....	23
IV.2. Fuentes y detectores.....	23
IV.3. Grating couplers.....	24
IV.4. Configuraciones utilizadas.....	26
IV.5. Ruido.....	27
IV.6. Sistema externo de fluidos.....	28
V. Medidas experimentales.....	30
V.1. Comparación de pérdidas a 1310 nm y 1550 nm.....	30
V.2. Caracterización completa de estructuras de sensado.....	31
V.3. Comparación de sensibilidad entre los diferentes modos.....	34
V.4. Monitorización directa de los pasos de modificación química de la superficie...36	
VI. Conclusiones y líneas futuras.....	38
Agradecimientos.....	39
Referencias.....	39

I. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DEL ESTADO DEL ARTE.

En las dos últimas décadas, hemos sido testigos de un asombroso progreso entorno al desarrollo de los dispositivos de sensado y su aplicación en áreas tales como la monitorización medioambiental, biotecnología, diagnósticos médicos, análisis de medicamentos, sanidad en los alimentos y seguridad entre otros aspectos. La tecnología de los sensores fotónicos ha alcanzado un grado de madurez muy alto y muchos dispositivos comerciales ya se encuentran disponibles en el mercado. Sin embargo, estos dispositivos suelen tener problemas de estabilidad, sensibilidad y tamaño, lo que ha evitado que se use en general este tipo de sensores para ciertas aplicaciones en diversos campos. Los sensores basados en tecnología de silicio pueden solucionar ciertos inconvenientes, ofreciendo unas herramientas de diagnóstico realmente rápido con una mayor sensibilidad y una gran fiabilidad [1].

La demanda cada vez mayor de una detección rápida y precisa de cualquier tipo de sustancias ha significado el desarrollo de una extensa variedad de sensores cada vez más específicos. Para muchas aplicaciones es deseable tener un dispositivo que sea compacto, con una alta sensibilidad, una rápida respuesta y que sea capaz de ofrecer los resultados en tiempo real. Estos requisitos pueden llegar a ser alcanzados principalmente por los sensores fotónicos debido a que la propia naturaleza de las medidas ópticas permite un gran número de técnicas como emisión, recepción, absorción, fluorescencia, refractometría o polarimetría entre otras. Además los sensores fotónicos basados en campo evanescente, en los cuales el campo electromagnético circula también por fuera de la guía, son tan altamente sensibles por lo que son los indicados para realizar las medidas directas de las interacciones biomoleculares en tiempo real.

Los sensores fotónicos destacan sobre otro tipo de sensores es su amplio rango de detección de diferentes sustancias. Debido a que el transductor fotónico puede ser el mismo para la detección de diferentes sustancias, tan solo será necesario cambiar los biorreceptores colocados sobre la superficie, es decir la funcionalización del dispositivo que se encargará de anclar las moléculas que queramos medir. De esta manera cambiará la funcionalidad del mismo. A continuación se dan algunos ejemplos de aplicaciones de los biosensores fotónicos [2]:

- Monitorización de la glucosa en pacientes de diabetes.
- Aplicaciones medioambientales, como por ejemplo la detección de pesticidas y contaminantes del agua de los ríos.
- Detección remota de bacterias transportadas por el aire.
- Determinar los niveles de sustancias tóxicas antes y después del saneamiento.
- Detección de medicamentos residuales en comida, tales como antibióticos o potenciadores del crecimiento, particularmente en carnes y miel.
- Descubrimiento de drogas y evaluación de actividades biológicas de nuevos componentes.

Si nos aproximamos a la tecnología fotónica integrada, las ventajas del sensado fotónico son significativamente mejores que las soluciones no integradas. Esta tecnología nos permite la integración tanto de componentes pasivos como componentes activos, incluyendo láseres, detectores, estructuras guiadas e infinidad de elementos en el mismo sustrato, es decir en la misma oblea que al final será convertida en multitud de circuitos integrados.

Esta capacidad de integración se alcanzó gracias a la tecnología que se había desarrollado entorno al silicio. Su principal ventaja es su compatibilidad con los procesos de fabricación CMOS (*complementary metal oxide semiconductor*). Este proceso de fabricación es el utilizado por la industria microelectrónica, permitiendo fabricar componentes en masa y con un bajo coste [3,4].

La principal característica de los dispositivos fotónicos en tecnología “silicon on insulator”, SOI [5,6], es que en lugar de electricidad utilizan luz como elemento físico para transmitir la señal. Esto nos lleva a la primera gran ventaja: son inmunes a las interferencias electromagnéticas. Es decir, que las medidas no se ven afectadas por ningún tipo de onda ni tampoco las producen. Esta característica es muy importante sobretodo en lugares peligrosos, ya que si queremos medir la cantidad de gas que pueda ser inflamable que se encuentra dentro de un tanque no podemos utilizar sensores de tipo eléctrico ya que si producen alguna chispa podría explotar.

En la fig. 1 se muestra la configuración genérica de un dispositivo biosensor basado en óptica integrada. El biorreconocimiento de moléculas como puedan ser anticuerpos, adaptómeros, cualquier otro tipo de molécula, son inmovilizados en la superficie del sensor. Inicialmente la cámara, o ventana en caso que esté expuesto al aire, del sensor está rellena con una disolución. Cuando los analitos enlazan con las moléculas objetivo, hacen que cambie el índice de refracción entorno a unos cientos de nanómetros de la superficie, por lo que cambia el índice efectivo de la estructura.

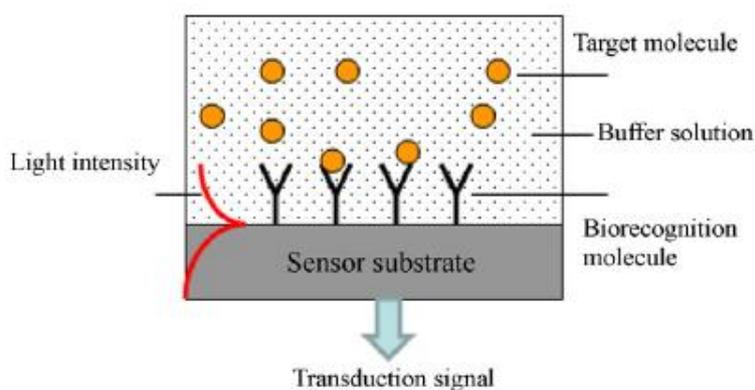


Fig. 1: Ilustración conceptual de un biosensor del tipo *label-free*.

Existe una cantidad enorme de sensores basados en tecnología óptica. Cada uno aprovecha las diferentes propiedades que tiene la luz: intensidad, modulación, polarización... En la publicación [7] se puede encontrar un completo review de las tecnologías de sensado que se utilizan hoy en día. Entre ellas cabe destacar aquellas que son del tipo label-free las cuales pueden ser agrupadas en una misma familia.

1.1. Trabajo Previo.

Durante la primera parte de la investigación, la cual se desarrolló en el Centro de Tecnología Nanofotónica, se centró en torno a los cristales fotónicos. Gracias a la beca Erasmus Master y para la obtención del Master Europeo se realizó una estancia en la Universidad de Gante para corroborar mediante medidas experimentales de las estructuras que se están fabricando para el proyecto europeo InTopSens. Por ello que esta memoria se ha centrado principalmente en los anillos resonantes que se midieron en la última etapa. Debido a la extensión de la memoria no se han podido incluir los estudios previos realizados sobre cristales fotónicos. En la documentación anexa se puede encontrar una serie de publicaciones en revistas y congresos con más información sobre estas estructuras estudiadas. Sin embargo sí que se hará una breve explicación de las mismas.

Los cristales fotónicos son estructuras periódicas dieléctricas las cuales permiten una variación en el índice de refracción, debido a ello permiten el guiado de la luz ya que presentan a determinadas longitudes de onda un “bandgap” fotónico en el cual la luz no puede propagarse. Este mecanismo de guiado también es conocido como guiado por ondas de bloch. Toda la teoría de los cristales fotónicos se puede encontrar en el libro escrito por Joannopoulos en [8].

Los cristales fotónicos han sido objeto de una amplia investigación debido a varias características interesantes [9], entre ellas el alto grado de confinamiento conseguido por las ondas de “bloch”, además los cristales fotónicos se consideran estructuras de onda lenta, es decir que la velocidad del índice de grupo de la onda a través del cristal será menor cuanto más se aproxime al borde del “bandgap” y por lo tanto provocará mayor interacción entre la onda y la materia en el entorno de la estructura obteniendo una mayor sensibilidad, por lo que serán potencialmente unas estructuras idóneas para las aplicaciones de biosensado.

El trabajo realizado se enmarca dentro del proyecto europeo llamado InTopSens el cual pretende desarrollar un dispositivo portátil que sea capaz de detectar las diferentes infecciones en la sangre y su correcto diagnóstico preventivo. Con la tecnología fotónica no se implementará el uso de marcadores que puedan alterar las moléculas y por lo tanto una mejor eficiencia y precisión en los resultados. Para ello es necesario detectar diferentes cadenas de ADN para distinguir las moléculas que diferencian cada tipo de infección.

En [10] se describe los resultados previos de la detección de una doble cadena de ADN hibridada usando un cristal fotónico. En él se consigue un límite de detección de 19.8nM el cual está dentro del orden de magnitud del estado del arte. El diseño del cristal fotónico se realizó de forma que se eliminan los agujeros de una capa de silicio formando una estructura como la que se muestra en la figura 2a). Las simulaciones realizadas verifican que el diseño del cristal fotónico se centra en 1550 nm, lo cual permite la utilización de los equipos disponibles. Además en el documento [11] se observó en las simulaciones que se produce un patrón de interferencia cada vez mayor cuanto más se acerca al bandgap. Este efecto es utilizado monitorizar el sensado ya que se está trabajando en la zona de luz lenta de el cristal fotónico, por lo que la interacción de la onda electromagnética y el analito será mayor.

Para conseguir los resultados experimentales del funcionamiento del cristal fotónico como sensor biofotónico se realizó la detección de anticuerpos. El tándem BSA-antiBSA (Bovine Serum Albumin) se trata de un anticuerpo y una proteína, las cuales tienen una gran afinidad para unirse. Funcionalizando la superficie del cristal fotónico se puede conseguir adherir la proteína a la estructura y posteriormente fluyendo la antiBSA se puede detectar si se encuentra en la superficie debido al cambio de índice de refracción producido.

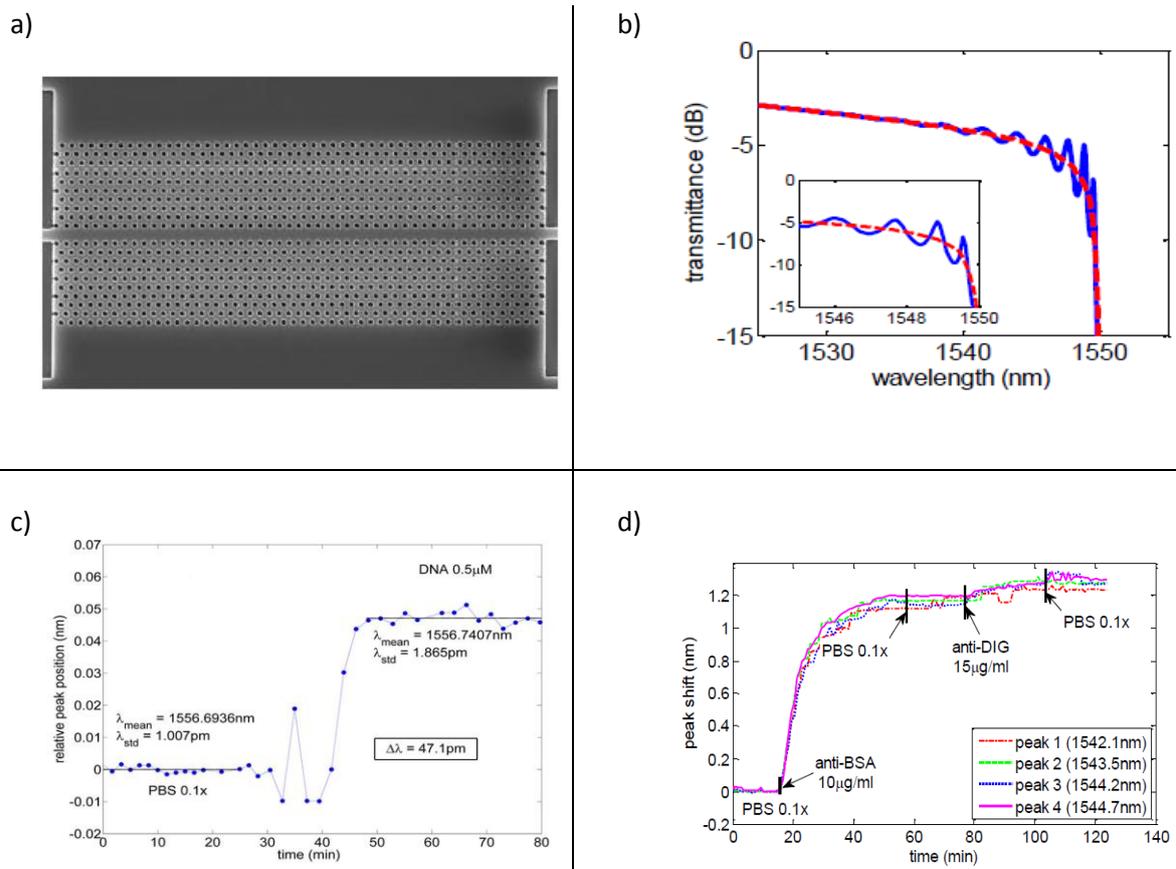


Fig 2: a) Cristal fotónico de 20 μ m de longitud y 110nm de radio de los agujeros. b) interferencias de tipo fabry-perot observadas en las simulaciones. c) Seguimiento del bandgap para la detección de ADN. d) Seguimiento de las resonancias para la detección de BSA-antiBSA.

Perp en esta memoria de investigación nos hemos centrado en aquellos sensores de onda evanescente escogiendo una estructura de un anillo resonante la cual tiene un espectro característico que puede ser fácilmente empleado para realizar el sensado

II. ANILLOS RESONANTES EN SILICON ON INSULATOR.

II.1. Principio teórico de funcionamiento.

Los anillos resonantes han emergido en los últimos años en la óptica integrada y han sido utilizados como dispositivos de gran utilidad en diversas aplicaciones. Los anillos resonantes integrados no necesitan gratings para realimentación óptica y así son particularmente adecuados para integración monolítica con otros componentes. La respuesta de anillos resonantes acoplados puede ser diseñada para el uso de diferentes configuraciones de acoplo. De este modo, la respuesta de filtros realizados con anillos resonantes puede ser diseñada para tener una cima plana y paso en la banda de filtrado. Otras configuraciones de conducen a un dispositivo reflector resonador mediante anillos, que puede ser usado sobre un lado o a ambos lados de un semiconductor integrado el amplificador óptico que sirve como un láser [12,13].

Los anillos resonantes no solo tienen una aplicación para las redes ópticas, sino que además pueden ser utilizados para otras muchas aplicaciones como la de sensado como se va a ver en este trabajo. Como se verá más adelante un anillo es sensible al índice de refracción efectivo y por lo tanto a cambios en el índice de refracción de la cubierta que es la parte que se utilizará para hacer la detección.

Uno de los primeros documentos que trataba con la simulación de un anillo resonante para la realización de un filtro resonante paso-banda fue publicado en 1969 por Marcatili. El diseño del canal de salida del filtro que el propuso se muestra en la fig. 3. Esta configuración la podemos considerar como la configuración estándar para los anillos resonantes con una guía resonante por la que tendrá el canal de salida. Dos guías rectas también conocidas como buses o puertos son acopladas por acopladores direccionales a través del campo evanescente o por acopladores de interferencias multimodo (MMI) al anillo resonante.

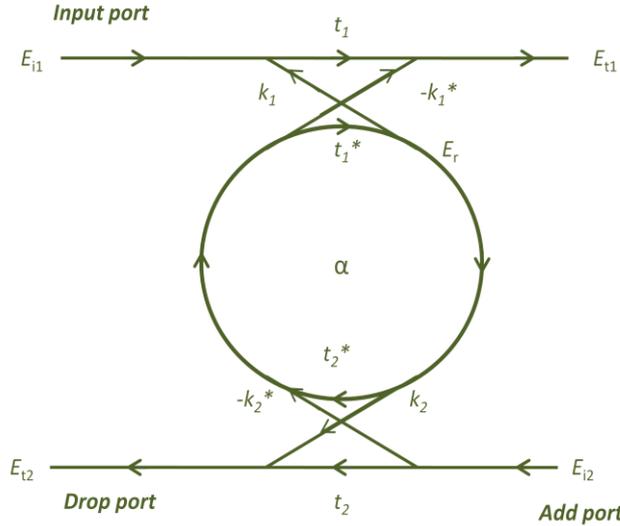


Fig 3: Estructura básica de un anillo resonante con los principales parámetros.

La configuración básica de un anillo resonante consta del propio anillo de radio r acoplado a una guía óptica. Definiendo que solo se excita un modo unidireccional dentro del resonador, que no existen pérdidas, que solo existe una única polarización, que en ninguna de las guías y de los acopladores acoplan diferentes polarizaciones, los diversos tipos de pérdidas que ocurren a través de la propagación de la luz en el anillo se incorporan como una única constante de atenuación, la interacción entre las entradas y salidas del anillo se pueden describir mediante una matriz:

$$\begin{pmatrix} E_{t1} \\ E_{t2} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} t & k \\ -k^* & t^* \end{pmatrix} \begin{pmatrix} E_{i1} \\ E_{i2} \end{pmatrix} \quad (1)$$

Los valores de las amplitudes del campo E están normalizados, de modo que sus valores al cuadrado serán igual a la unidad. Los parámetros del acoplador t y κ dependerán del mecanismo de acoplo utilizado. El símbolo “*” denota el valor complejo conjugado de t y κ , respectivamente. La matriz es simétrica debido a que los elementos que estamos considerando son recíprocos [35]. Por tanto:

$$|k^2| + |t^2| = 1 \quad (2)$$

Con el fin de simplificar aún más el modelo, se elige E_{i1} para que sea igual a uno. El valor de E_{i2} se puede obtener de la siguiente manera:

$$E_{i2} = \alpha e^{j\theta} E_{t2} \quad (3)$$

Donde α es el coeficiente de pérdidas del anillo (si $\alpha = 1$ no hay pérdidas) y $\theta = \omega L/v$, siendo L la longitud de la circunferencia de un anillo, que vendrá dada por $L = 2\pi r$, siendo r el radio del anillo medido desde el centro del anillo del centro de la guía de onda. La velocidad de fase del modo que se propaga dentro del anillo es igual a $v=c/n_{eff}$, siendo c la velocidad de la luz en el

vacío. El número de onda k está relacionado con la longitud de onda a través de $k=2\pi/\lambda$. Usando la longitud de onda en el vacío, el índice efectivo n_{eff} puede ser fácilmente introducido en las relaciones de acoplo del anillo mediante:

$$\beta = kn_{eff} = \frac{2\pi n_{eff}}{\lambda} \quad (4)$$

donde β es la constante de propagación. Esto conduce a:

$$\theta = \frac{\omega L}{c} = \frac{kc_0L}{c} = kn_{eff} \cdot 2\pi r = \frac{2\pi \cdot n_{eff} \cdot 2\pi r}{\lambda} = 4\pi^2 n_{eff} \frac{r}{\lambda} \quad (5)$$

De (1) y (2) se puede obtener:

$$E_{t1} = \frac{-\alpha + t \cdot e^{-j\theta}}{-\alpha t^* + e^{-j\theta}} \quad (6)$$

$$E_{i2} = \frac{-\alpha k^*}{-\alpha t^* + e^{-j\theta}} \quad (7)$$

$$E_{t2} = \frac{-k^*}{1 - \alpha t^* e^{j\theta}} \quad (8)$$

A partir de las ecuaciones anteriores se puede obtener la potencia P_{ti} en la guía de salida del puerto de through y del puerto de drop, la cual es igual:

$$P_{t1} = |E_{t1}|^2 = \frac{\alpha^2 + |t|^2 - 2\alpha|t|\cos(\theta + \varphi_t)}{1 + \alpha^2|t|^2 - 2\alpha|t|\cos(\theta + \varphi_t)} \quad (9)$$

donde $t = |t|e^{j\varphi_t}$, $|t|$, representa las pérdidas por acoplo y φ_t representa la fase en el acoplador.

La potencia que circula dentro del anillo P_{i2} vendrá dada por:

$$P_{i2} = |E_{i2}|^2 = \frac{\alpha^2(1 - |t|^2)}{1 + \alpha^2|t|^2 - 2\alpha|t|\cos(\theta + \varphi_t)} \quad (10)$$

En resonancia se cumple que $(\theta + \varphi_t) = 2\pi m$, siendo m un número entero, teniendo las siguientes relaciones para la potencia de salida, para la potencia que circula dentro del anillo, y la potencia del puerto drop:

$$P_{t1} = |E_{t1}|^2 = \frac{(\alpha - |t|)^2}{(1 - \alpha|t|)^2} \quad (11)$$

$$P_{i2} = |E_{i2}|^2 = \frac{\alpha^2(1 - |t|^2)}{(1 - \alpha|t|)^2} \quad (12)$$

$$P_{t2-resonance} = |E_{t2-resonance}|^2 = \frac{(1 - |t_1|^2) \cdot (1 - |t_2|^2) \cdot \alpha}{(1 - \alpha|t_1 t_2|)^2} \quad (13)$$

Un caso especial se da cuando en la ecuación (9) se tiene $\alpha = |t|$. En este caso la potencia transmitida es cero, en ese caso esa es la longitud de onda que se extrae de la guía. Esto se conoce en la literatura como acoplo crítico y es debido a interferencias destructivas.

La amplitud del puerto de Through (8) será cero a la longitud de onda de resonancia del anillo en caso que los acopladores t_1 y t_2 sean idénticos por lo cual toda la potencia de la luz se acopla en el anillo. Y por lo tanto la longitud de onda será extraída en su totalidad por el resonador en caso que sea ideal. El valor de $\alpha=1$ sólo puede ser alcanzado si se incorporara ganancia en el anillo para compensar las pérdidas de la guía de ondas. Así que el valor del coeficiente α se fijará como un valor puramente pasivo del anillo. Una posibilidad para alcanzar la mínima intensidad o potencia a través del puerto P_{t1} en el puerto de Through es ajustar los parámetros de acoplo t_1 y t_2 en relación al coeficiente α . De esta manera se obtiene la siguiente relación:

$$\alpha = \left| \frac{t_1}{t_2} \right| \quad (14)$$

Si el anillo resonante fuera un anillo sin pérdidas ($\alpha=1$), supondría que la longitud de onda de resonancia se quedaría en el interior del anillo de forma infinita, por lo que si los acopladores fueran simétricos también, se alcanzaría una transmisión total de la longitud de onda de una guía a otra. En la fig. 4 se ve como se alcanza la máxima transmisión en condiciones ideales.

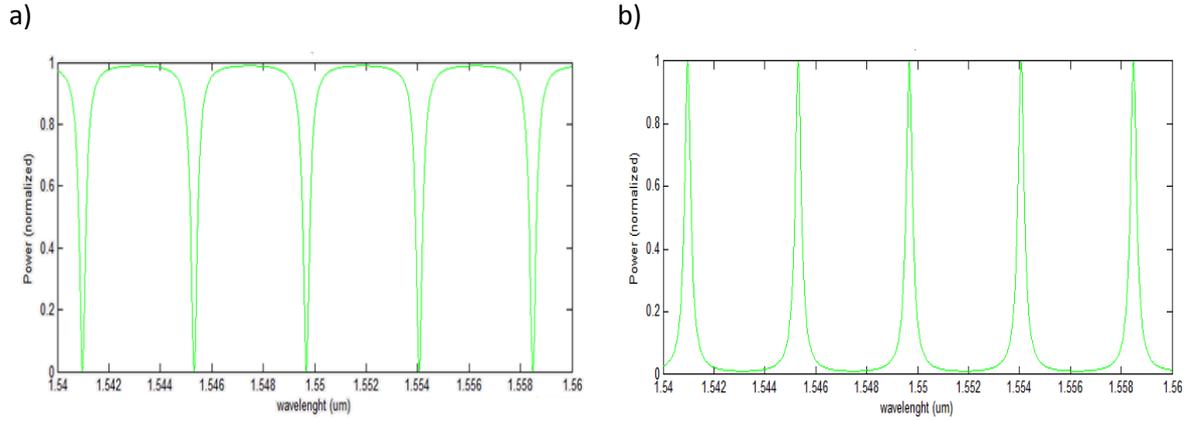


Fig. 4: Espectro de transmisión a) y espectro del canal de drop b) de un anillo resonante en condiciones ideales.

II.2. Parámetros espectrales de anillos resonantes.

La respuesta en frecuencia de los anillos resonantes puede ser descrita por ciertas figuras de mérito. Una figura importante es la distancia entre picos de resonancia, la cual es conocida como “free spectral range” (FSR). Se puede obtener una aproximación de la FSR por medio del uso de las constantes de propagación de (4). Sin tomar en cuenta la dependencia de la longitud de onda con el índice de refracción efectivo, se tiene que:

$$\frac{d\beta}{d\lambda} = -\frac{\beta}{\lambda} + k \frac{dn_{eff}}{d\lambda} \approx -\frac{\beta}{\lambda} \quad (15)$$

Mediante la ecuación anterior podemos obtener el valor de FSR a través de la diferencia entre dos longitudes de onda correspondientes a dos condiciones de resonancia:

$$FSR = \Delta\lambda = \frac{\lambda^2}{n_g L} \quad (16)$$

donde n_g es el índice de refracción de grupo, el cual está definido como:

$$n_g = n_{eff} - \lambda \frac{dn_{eff}}{d\lambda} \quad (17)$$

El siguiente parámetro importante es la anchura de las resonancias, la cual está definida como la anchura a la mitad del máximo (FWHM) o ancho de banda a 3dB. Asumiendo que los coeficientes de acoplo son reales, que no se producen pérdidas por acoplo, y sin término de fase.

$$2\delta\lambda = \frac{\lambda^2}{\pi L n_{eff}} \frac{1-t^2}{t} \quad (18)$$

La expresión que es comúnmente utilizada, y que puede ser obtenida asumiendo acoplo débil y $y \gg dy$, es la siguiente:

$$FWHM = 2\delta\lambda = \frac{k^2 \lambda^2}{\pi L n_{eff}} \quad (19)$$

Otro parámetro que puede ser ahora calculado directamente a partir de los parámetros anteriores es la finura F . Se define como el ratio entre el FSR y el ancho de las resonancias para una longitud de onda específica (FWHM).

$$F = \frac{FSR}{FWHM} \quad (20)$$

El factor de calidad Q puede ser considerado como un parámetro para conocer lo estrecho que puede ser un pico ya que se trata de la energía almacenada dividida por la potencia perdida por ciclo óptico. Cuanto más grande sea el factor de calidad más fino es el espectro del pico.

$$Q = \frac{\lambda}{2\delta\lambda} = \pi \frac{n_{eff} L}{\lambda} \frac{t}{1-t^2} = \frac{n_{eff} L}{\lambda} F \quad (21)$$

La intensidad de potencia dentro del anillo resonante puede llegar a ser mucho más elevada que en las guías de acoplo, debido a que las ondas que se propagan dentro del anillo interfieren constructivamente en resonancia con la onda de entrada y así la amplitud se ve incrementada. Por lo tanto cuanto mayor sea la amplitud de la onda constructiva formada dentro del anillo resonante, mayor será la interacción con la muestra depositada, con ello la sensibilidad del dispositivo se verá aumentada considerablemente.

III .- SISTEMAS DE MICROFLUIDOS.

Para asegurar que se van a depositar las cantidades deseadas de cada sustancia es necesario tener un sistema de fluidos que sea capaz de hacer dichas funciones. En el transcurso de este trabajo se han realizado dos tipos de sistema “flow-cell” y canales de microfluidos.

El sistema de “flow-cell” usado tiene la entrada y la salida por la parte superior, se trata de una pieza metálica o metacrilato fabricada mediante fresado. En la parte inferior tiene una cavidad la

cual permite el contacto entre las sustancias y las estructuras de sensado. Este sistema va atornillado al holder del mismo set up donde se sitúa la muestra para ser medida, este sistema podemos verlo en la fig. 5. En la parte de la cavidad en las juntas se ha dispuesto una goma para que no permita fugas de los diversos líquidos que se utilizan durante la medida. La principal ventaja de este sistema es su simplicidad ya que solo basta con atornillar la parte superior a la base una vez alineado el chip. Sin embargo entre sus principales inconvenientes están el volumen muerto de líquido que se tiene dentro de la cavidad ya que para medidas donde las cantidades de líquidos son realmente pequeñas estas se pueden enmascarar con el buffer, además también la mezcla de líquidos es una consecuencia del tamaño de la misma y por lo tanto no se producirá un cambio de la señal suficientemente abrupta. Además este tipo de sistema funciona correctamente para una medida única de un anillo, sin embargo si se quiere medir diversos anillos a la vez será importante que el líquido sea suficientemente homogéneo y con la misma velocidad de forma que todos los sensores devuelven la misma señal. Lo que ha llevado al desarrollo del siguiente sistema.

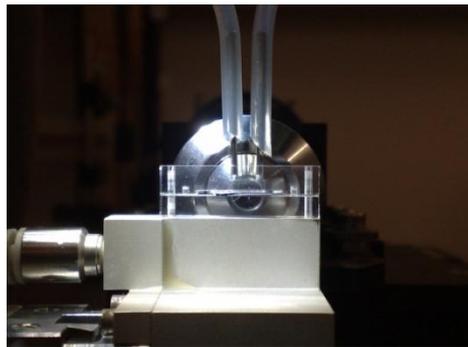


Fig. 5: Sistema de fluidos utilizado inicialmente. En el se puede ver la entrada y la salida de los líquidos, los agujeros para los tornillos y el chip en el centro del holder.

Los sistemas de microfluídica son completamente diferentes a los sistemas normales o sistemas de macrofluidos. Por ejemplo, existen diferentes fuerzas que en el régimen micro que no tienen nada que ver con el régimen macro, fuerzas como la gravedad o la inercia son muy importantes para los sistemas de macrofluidos mientras que estas dos fuerzas son totalmente despreciables para los sistemas de microfluidos, en cambio fuerzas relativas a la superficie como puedan ser la fuerza de rozamiento o la viscosidad se convierten en problemas que deben ser tratados con atención. El estudio de el comportamiento de de dispositivos microfluidos ha sido desarrollado en años anteriores llegando a varios libros y publicaciones importantes. [14-17]

III.1. Integración de canales de microfluídica

La integración de los dispositivos ópticos y de las estructuras de microfluídica todavía está en los primeros pasos del desarrollo. Aunque se están realizando grandes esfuerzos para poder conseguir mezcladores, válvulas e incluso filtros de microfluidos.

Para este realizar los canales de microfluídica se utilizan diversos tipos de polímeros. Existe una cantidad inmensa de polímeros con un amplio abanico de características químicas, mecánicas, eléctricas además de la gran cantidad de procesos para su fabricación [18,19]. Esto es una gran ventaja ya que se puede elegir entre una multitud de materiales, entre los cuales destacan principalmente: *thermosets* o plásticos duros como puedan ser la resina SU-8 una vez curada; materiales termoplásticos los cuales tienen la capacidad de moldearse a elevadas temperaturas como es el caso del PMMA (polymethyl methacrylate) y elastómeros los cuales debido a su estructura son fácilmente estirarse es el caso del PDMS (Polydimethyl siloxilane).

Finalmente para la gran parte del trabajo el material utilizado para realizar los canales de microfluidos se trata del PDMS. Este material se trata de un polímero que pertenece al grupo de las siliconas. Es ampliamente usado particularmente conocido por sus propiedades para fluidos. Se puede llegar a encontrar este material desde lentes de contacto hasta en champús ya que puede dar brillo al cabello. En lo que se refiere al trabajo se trata de un buen material ya que es flexible lo que permitirá que no se produzcan fugas, es fácil de manejar ya que podremos crear cavidades y agujeros fácilmente para poder interconectar los micro canales con los sistemas de fluidos externos como pueda ser una bomba o una válvula. Además resiste altas temperaturas, incluso se considera que no es inflamable, no es tóxico y uno de las principales ventajas como es la de que se trata de un material inerte y no interactuará con los diferentes líquidos que se irán fluyendo.

III.2. Fabricación del PDMS.

La fabricación de este sistemas es sencilla en las imágenes siguientes de la fig 6 se puede ver como se realiza todo el proceso de forma esquemática. Para ello, se deposita una fina capa de fotoresina en la oblea de silicio. Para este caso, se necesita que la altura de los microcanales sea de 50 μ m por lo tanto esa será la altura de la fotoresina, la resina utilizada es SU-8 50. Esta fotoresina es expuesta a luz UV a través de una máscara previamente diseñada con las estructuras de forma invertida ya que el disolvente utilizado eliminará aquellas zonas que no hayan sido expuestas a la luz, por lo tanto como el canal esta descubierto será expuesto a luz UV y permanecerá. Este conjunto de estructuras de SU-8 desarrolladas sobre la oblea de silicio nos servirá como un molde el cual podrá ser usado tantas veces como se quiera.

Antes de crear los canales de PDMS la superficie de de silicio y SU-8 es tratada con silanos de forma que se crea una capa antiadherente. Se echa una gota de los silanos en la superficie de la oblea durante toda la noche esperando a que se seque en una cámara desecadora.

Una vez que se han creado la capa antiadherente sobre la superficie de la oblea se crea la mezcla del PDMS, para ello se mezcla en una cantidad de 1:10 el polímero base y el agente. Para evitar la formación de las burbujas durante el mezclado se introduce la mezcla dentro de una cámara de vacío y se desgasifica. Una vez que no queden burbujas se rellena un recipiente de PDMS con el molde de silicio en la parte inferior. Esta mezcla tiene que ser calentada y curada a 65° durante 1 hora y media.

Una vez ya este curado el resultado de este proceso se trata de un elastómero que es ópticamente transparente, aislante eléctrico, y químicamente inerte. Además es compatible con los estudios biológicos ya que es impermeable al agua y no es tóxico para las células. Para poder usarlo basta con cortar un cuadrado del molde mediante un bisturí. Después se le realizan dos orificios mediante una aguja que se consideraran la entrada y la salida los líquidos. La replicación de estas estructuras es realmente alta consiguiendo estructuras con diferencias solamente de hasta 10 nm, además se ha medido la rugosidad consiguiendo una rugosidad media de 0,26 nm [20].

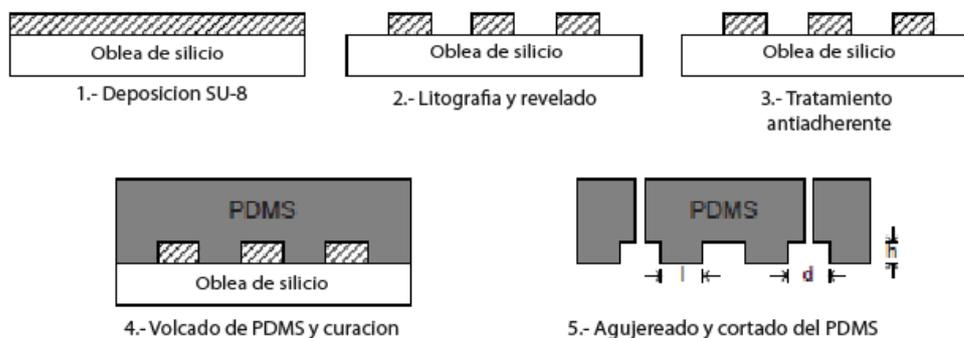


Fig.6: Pasos de fabricación de los canales de PDMS.

Sin embargo, al tratarse de un elastómero hay que tener en cuenta una serie de inconvenientes ya que la relación de aspecto (h/l) no puede ser mayor de 0.2-2, lo que podría causar en caso de que fuera o muy pequeño o muy elevado distorsiones y deformaciones en la fabricación del sistema de microfluidos y generar defectos en el patrón como se muestra en la fig. 7.

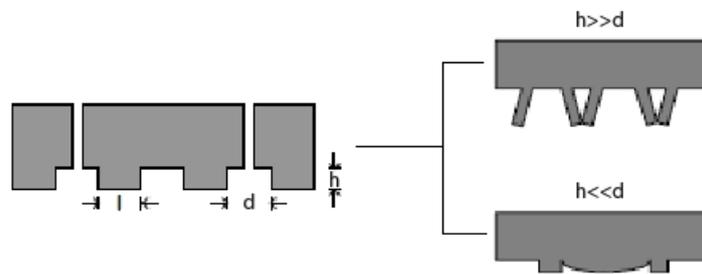


Fig. 7: Deformación del PDMS, si la relación de aspecto no se cumple se pueden producir imperfecciones

III.3. Metodos de integración del PDMS con las estructuras.

Debido a que la plataforma de detección se desarrolla para que existan numerosas estructuras de sensado en un único chip además de que cada una sea sensible a moléculas diferentes, cada una de las estructuras será funcionalizada con receptores distintos. Por esto, la funcionalización se realizará previamente a la unión del sistema de microfluídica con el chip, por lo que será extremadamente complicado ya que muchos receptores no sobreviven a altas temperaturas. Este tipo de técnicas de unión pueden ser utilizadas para aquellas aplicaciones las cuales no necesiten sensado biológico. En este trabajo se han realizado dos tipos de unión la unión directa (direct bonding) y la unión adhesiva (adhesive bonding).

- Direct bonding.

Esta unión consiste en que los grupos silanos en la superficie del PDMS, inducidos por el tratamiento de “oxígeno plasma” interactúan con aquellos en otra superficie cuando dos superficies entran en contacto. Para el PDMS y el SiO₂, estas reacciones crean enlaces Si-O-Si después de perder una molécula de agua. Este tipo de enlaces covalentes es la base de una unión precintada entre ambos materiales.

Antes de someter al proceso de “oxígeno plasma”, PDMS tanto el chip de silicio como el PDMS se tienen que limpiar preparar, para ello el PDMS se introduce en IPA (Isopropanol) durante 15 minutos en un baño de ultrasonidos y posteriormente lo mismo pero en un baño de agua desionizada. En cuanto al chip, para activar la superficie se tiene que introducir en un baño de piraña (H₂SO₄:H₂O₂ con una relación de 7:3) durante 5 minutos. Posteriormente se secan mediante un gas inerte como pueda ser el nitrógeno. Una vez secos, se tratan mediante “oxígeno plasma” en la máquina RIE (Reactive Ion Etching) o en el ICP-RIE (Inductive Coupled Plasma

RIE). Ya tratados se alinean mediante una maquina “flip-chip” y se unen presionando con una fuerza de 5N a 135° durante 45 min.

- Adhesive bonding

Como el método anterior consiste en someter al dispositivo a altas temperaturas, se ha probado un segundo método que no resulte tan agresivo con las biomoléculas, ya que se realiza a temperatura ambiente. El proceso que esta descrito por Satyanarayana en [21] esta adaptado en nuestro caso. El procedimiento consiste en crear una fina capa de 7 μ m de espesor de SU-8 10 ,que se trata de una resina muy viscosa, en una oblea de silicio. El PDMS se limpia al igual que la forma anterior, mediante IPA y agua desionizada. Posteriormente se somete a tratamiento de “oxigen plasma” para mejorar la adhesión al pegamento. Mediante la máquina flip-chip se presiona la superficie del PDMS con la oblea de silicio con el SU-8 de forma que no llegue a entrar dentro de los canales. Una vez que se tenga impregnado con el pegamento el PDMS se alinea el chip con las estructuras y se unen. Para que el pegamento se endurezca ofreciendo una unión perfecta, el chip se sitúa bajo luz UV para curar el SU-8. Una vez curado ya se tiene una unión entre el sistema de microfluidos y las estructuras. Los pasos anteriores se pueden comprobar esquemáticamente en la fig. 8.

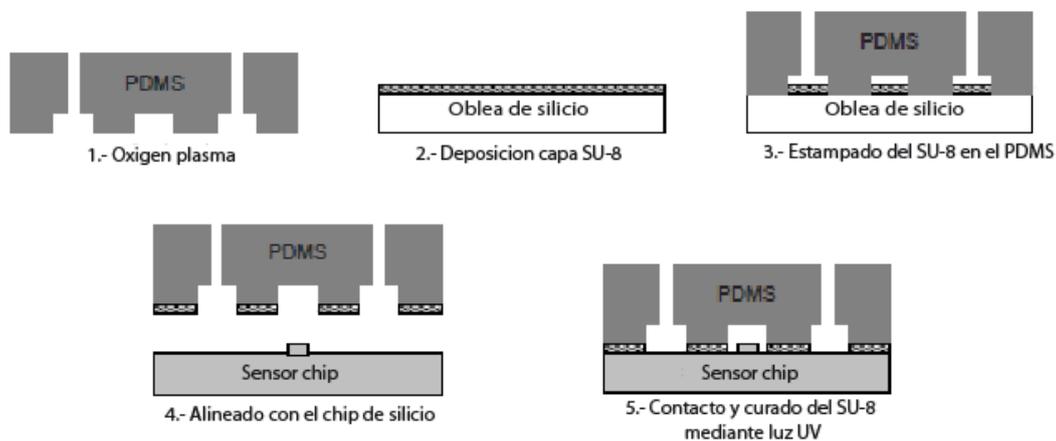


Fig. 8: Método de adhesive bonding de PDMS en una oblea SOI con sensores sin exponer el chip a tratamientos agresivos o altas temperaturas.

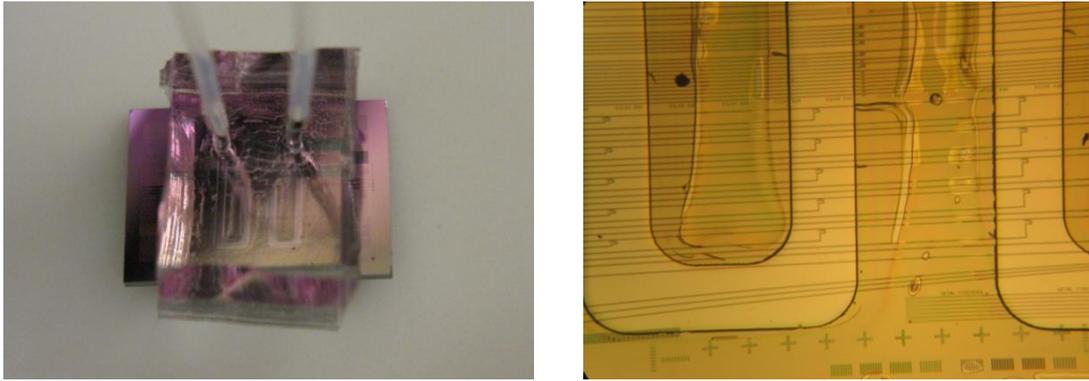


Fig. 9: A la izquierda, integración final de las estructuras y del sistema de microfluidos fabricado en PDMS, a la derecha los canales situados encima de los anillos resonantes.

Una vez visto los dos procedimientos utilizados para crear la unión se tiene que valorar cual es el mejor en cada caso. Una de las principales ventajas que se ha comentado de usar sensores fotónicos para la detección de moléculas es la gran rapidez que presentan en cuanto a reacción al detectar el analito objetivo. Por ello será necesario que la señal que nos devuelva el dispositivo sea estable lo más pronto posible. Es decir, que no exista “drift” en las medidas. El “drift” es el desplazamiento que se produce de forma automática debido entre otras cosas a las impurezas, temperatura presión... Como se puede observar en la gráfica de la fig. 10 el “drift” entre los dos métodos es muy similar, sin embargo es muy elevado para poder dar resultados en poco tiempo. Simplemente haciendo una pequeña variación en el proceso de limpieza del PDMS se consiguió reducir el “drift”. Esta variación consiste en eliminar la IPA del proceso de limpieza ya que aun habiendo secado el PDMS en el horno, la IPA se quedaba dentro del PDMS y no se eliminaba. En la gráfica se muestra que prácticamente el “drift” que se produce es mínimo por lo que se puede llegar a dar resultados fiables en pocos minutos.

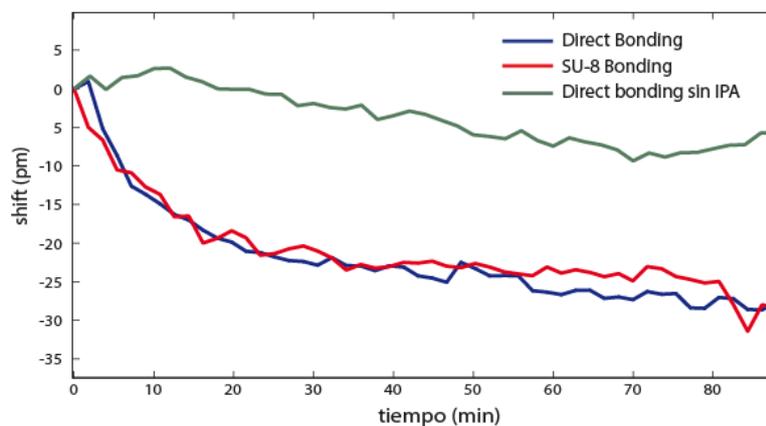


Fig.10: Deriva de la señal respecto del tiempo en los 80 primeros minutos. En verde, sin IPA en el lavado del PDMS, en rojo integración mediante SU-8 y en azul mediante método directo.

IV. SET UP.

Como se explicó en el capítulo de introducción, hay básicamente cuatro partes en la consecución de un sensor fotónico para una medida correcta y estas son: el transductor o estructuras de sensado, la química para la atracción de las moléculas, el sistema de microfluidos y el set-up o sistema de medida. En este apartado se comentará el último apartado de todos que es el sistema de medida. La importancia del sistema de medida radica en que es necesario tener un buen set-up que sea fiable ya que de lo contrario las medidas que se obtengan no serán correctas y estarán llenas de errores y por lo tanto inservibles, con lo que los esfuerzos realizados anteriormente son inútiles.

En este apartado se describirá los diversos sistemas de medida que se han usado para cada una de las medidas, centrándose en que la señal ha de ser lo más estable posible para lograr el límite de detección más bajo posible. Se apreciará también el grado de multiplexación que se ha conseguido con cada uno de ellos. También se comentaran los dispositivos utilizados además del sistema externo de fluidos. Para ello haremos un recorrido entre los parámetros más decisivos para obtener una medida certera y fiable.

IV.1. Dependencia de la temperatura y estabilidad de la señal.

Al tratarse de un sensor de campo evanescente que es sensible al índice de refracción del medio que lo rodea, la temperatura afectará de forma directa al funcionamiento del dispositivo, por lo que si la temperatura varía, la señal también variará por lo que será necesario evitar en gran medida todas aquellos factores que puedan alterar la señal. Por ello, el set-up incluye en el holder del chip un sensor de temperatura y una célula peltier la cual se encargará de mantener una temperatura constante durante todo el experimento, ya que en ocasiones este tipo de experimentos puede llegar a durar varios días. Además de la temperatura, los efectos no lineales y la fuerza que se pueda ejercer en el chip puede alterar los índices de refracción del entorno de las estructuras de sensado. En cuanto a las fuerzas de stres que puede sufrir el chip, estas son mínimas por lo cual no lo tendremos en cuenta, mientras que los efectos no lineales que puedan afectar a las medidas podrán evitarse manteniendo el nivel de potencia de la señal en los anillos resonantes relativamente bajo, de esta forma no se excitarán tales efectos no deseados [22]. El mínimo desplazamiento de longitud de onda detectado ($\Delta\lambda_{\min}$) de un anillo de silicio es mas bajo que 1 pm, pero un cambio de temperatura de 0.01° podría causar este desplazamiento. Para evitar este tipo de derivas se puede utilizar algunos anillos de referencia para compensar estos errores. Por esta razón la estabilización

de la temperatura es uno de los aspectos más importantes en los que hay que poner énfasis para poder tener una señal lo suficientemente estable y fiable.

IV.2- Fuentes y detectores.

El principal cometido del sistema de medida de un biosensor se trata de proporcionar la luz hacia las estructuras y posteriormente recogerla después de que haya pasado por todo el chip para conocer la respuesta del sensor. Para poder recoger los espectros con los que se mide la respuesta del sensor es necesario realizar un barrido de longitudes de onda a través de los anillos, además de ser monitorizada en el tiempo para conocer los desplazamientos que se producen al variar el índice de refracción de las superficie de las estructuras de sensado. Para realizar este barrido podemos utilizar principalmente dos técnicas: barriendo en cada paso una longitud de onda mediante un laser sintonizable de una sola longitud de onda o monocromático, o excitando las guías mediante una fuente ancha como pueda ser un LED (Light Emitting Diode) y recogerlo mediante un analizador de espectros óptico (OSA) o un espectrómetro. Normalmente, un OSA tiene mayor resolución que un espectrómetro, aunque el mejor que se dispone en el laboratorio se trata de un OSA marca Agilent 86140B el cual tiene una máxima resolución de 60 pm lo cual sigue siendo insuficiente para las aplicaciones para las cuales están diseñadas ya que los anillos pueden llegar a presentar FWHM de 150 pm por lo que sería imposible detectar el pico de resonancia de forma clara. Por ello, se podrán utilizar ese tipo de configuraciones para poder conocer el espectro de forma amplia, pero para monitorizar el desplazamiento de los picos se usará la combinación de laser sintonizable marca santec TSL-510A con potenciómetro. De esta forma se puede llegar incluso a medir un espectro de unos 7 nm con una resolución de 5 pm entorno a 1 minuto, lo cual es suficientemente aceptable para los objetivos del trabajo.

IV.3. Grating couplers.

Otro de los aspectos que hay que tener en cuenta a la hora de medir es el método que se utiliza a la hora de acoplar la luz en las estructuras. Hoy en día existen principalmente dos técnicas: acoplamiento horizontal mostrado a la izquierda de la fig. 11 y acoplamiento vertical en la derecha, aunque se pueden encontrar más formas en de acoplamiento [23-25]. El acoplamiento horizontal se realiza mediante fibras focalizadas (lensed fibers) las cuales focalizan el spot de luz en un punto determinado, por lo que si se consigue focalizar el punto en el borde del chip justo en una sección de una guía podremos introducir la luz en los chips de silicio. El segundo método es el acoplamiento vertical, o grating coupler. Este tipo de acoplamiento tiene como ventajas que las

pérdidas de inserción son menores y no se necesita seccionar el chip. En la siguiente tabla se puede ver una comparativa de los dos métodos de acoplamiento.

Técnica de acoplo	Acoplo horizontal	Acoplo vertical grating coupler
Testeo a nivel de oblea	Pacticamente nula	Alta
Perdidas de acoplo	~1dB	>3dB
Polarización	Insensible (funciona en ambas polarizaciones)	Sensible (solo funciona a una polarización)
Longitud de acoplo	~100 μ m	~300 μ m (grating+taper)
ancho de banda	100nm	40nm

Fig.11: Tabla comparativa de los diversos métodos de acoplamiento de la luz en un chip de silicio.

Como se ha comentado los grating couplers son una parte fundamental de la plataforma de sensado. Se han demostrado diseños tanto de una como de la otra polarización en multitud de publicaciones. En particular, los anillos han sido optimizados para la polarización TE, por lo que únicamente se hará una breve explicación de los gratings de este tipo. Las estructuras de gratings son estructuras que tienen un modulación periódica del índice de refracción, como se puede apreciar en la fig.12 derecha. Se trata de un grating 1D, el cual solo permitirá la entrada de una sola polarización y excitará un número limitado de modos dentro de la guía. Para cada uno de los grating existe un vector K en dirección de la periodicidad que puede ser definido con la siguiente forma:

$$K = \frac{2\pi}{\Lambda} \quad (22)$$

donde Λ se trata de la periodicidad del grating. El modo fundamental de la guía con una constante de propagación β acopla a otros modos con k_x vectores dados por la condición de Bragg:

$$k_x = \beta + mK \quad (23)$$

donde $m = \dots -2, -1, 0, 1, 2, \dots$ desde el diagrama de vectores se puede ver claramente que el acoplamiento a través del grating llevará asociado una onda reflejada de segundo orden. Para evitar esto, los gratings se diseñan ligeramente inclinados entre 8° y 12° . Para optimizar la eficiencia de acoplamiento, los campos solapados entre los diferentes perfiles de la fibra óptica y el campo difractado tiene que ser maximizado. Este estudio se puede encontrar varias publicaciones.[26-27] Aunque el ancho de banda de los gratings es más limitado que para el acoplo horizontal esto no es un problema para los anillos resonantes ya que con solo unos cuantos nanómetros son suficientes.

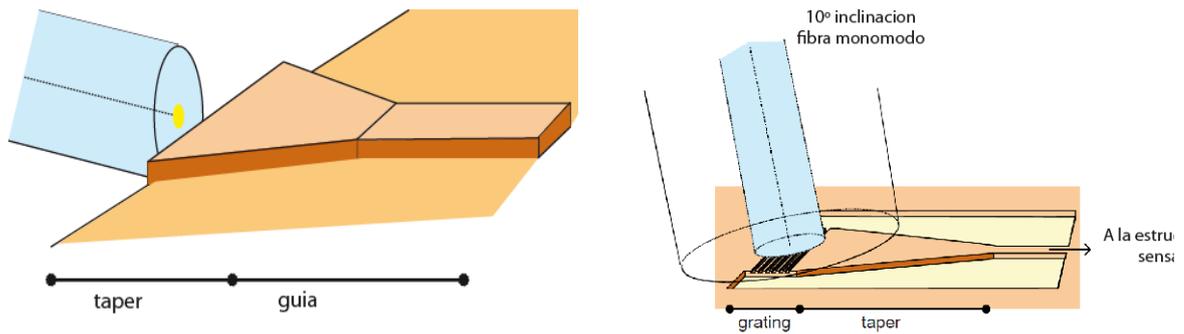


Fig. 12: Técnicas de acoplo de la luz en las guías de silicio. Izquierda, técnica de acoplo horizontal. Derecha, técnica de acoplo vertical, grating coupler.

Los gratings 1D son altamente selectivos en polarización debido a la gran birrefringencia que muestra la guía en altos contrastes de índice. El índice efectivo es bastante diferente para la polarización TE y TM, por lo tanto solo pueden ser diseñados para una sola polarización. La otra polarización se acoplará con un ángulo totalmente diferente. Los gratings de las estructuras de los chips fueron optimizados para polarización TE por lo que habrá que añadir un controlador de polarización a la entrada de la señal para maximizar la potencia en esta polarización únicamente.

IV.4. Configuraciones utilizadas

Set-up basado en fibra.

Este set-up puede ser considerado el set-up más sencillo utilizado para las medidas. Consiste en dos fibras monomodo clivadas, alineadas a los gratings couplers de forma que se puede transmitir la potencia de la señal. En la fig.13 se puede ver claramente que solo puede ser medida una única guía cada vez, por lo que la multiplexación no es alcanzable. La fibra de entrada puede acoplar la luz a una guía la cual acople la luz a diversos anillos. Si cada anillo tiene un FSR de unos 15 nm y sus resonancias están separadas 1,5 nm se podrá monitorizar hasta 10 anillos diferentes simultáneamente. El post-procesado deberá separar cada uno de los distintos picos de cada señal que circulan por el mismo pass-port. Posteriormente se realizará el fitting mediante una función Lorentziana. Si se quisiera medir más de un puerto de salida simultáneamente, la luz que sale de los gratings tiene que ser detectada paralelamente. Una posible solución podría ser alinear un array de fibras. Sin embargo, el diámetro exterior de las fibras ópticas es de 125 μm , mientras que la separación entre gratings es de 50 μm por lo que sería necesario separarlos más, lo cual reduciría la capacidad de integración del chip. Otra solución sería empaquetar una serie de fibras en el chip pero esta incrementaría el coste en de una forma prácticamente inaceptable.

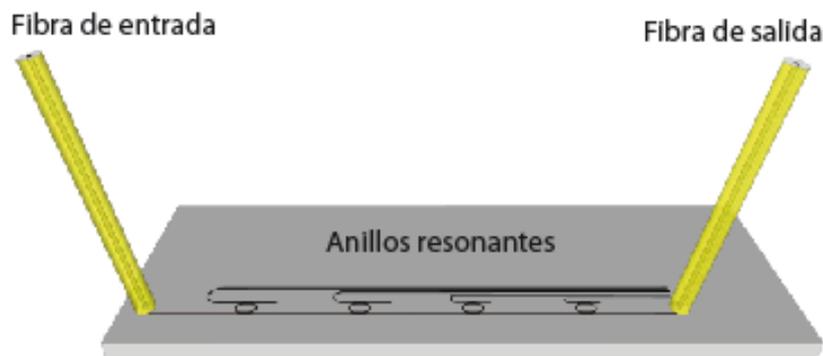


Fig. 13: Dibujo esquemático del set-up basado en una fibra de entrada y fibra de salida.

Set-up con cámara infrarroja e iluminación por inundación

Otro método de acoplamiento de luz es el que se muestra en la fig. 14. La principal diferencia de este sistema basado en inundación y el anterior es una lente colimada, la cual puede enfocar a múltiples gratings y mediante una cámara de infrarrojos se puede monitorizar cada uno de los gratings de salida. De esta forma la multiplexación se realiza de forma mucho más sencilla ya que la lente colimada puede llegar a iluminar hasta 100 gratings distintos, por lo que si cada grating está integrado en un bus con 10 anillos, el sistema será capaz de analizar hasta 1000 sensores simultáneamente. En caso que quisiéramos excitar 10 guías diferentes mediante una sola guía se necesitarían una gran cantidad de splitters lo que reduciría la potencia enormemente. Además cuenta con la sencillez de que no es necesario enfocar la fibra de forma perfecta, es decir que tiene una elevada tolerancia, para que pueda acoplar la luz dentro de las estructuras. Mientras que en una fibra óptica la tolerancia de alineamiento es de entorno a $2\mu\text{m}$ con unas pérdidas de 1dB, el alineamiento en paralelo mediante la lente colimada puede llegar a cientos de micras sin pérdidas, por lo que se convierte tolerante a la inestabilidad mecánica que pueda surgir de algún automatismo, esta característica es realmente importante para las futuras aplicaciones comerciales. Aunque la potencia acoplada mediante la lente colimada sea menor que con la fibra directamente, como se ha comentado en apartados anteriores, puede llegar a ser una ventaja ya que no se producirán efectos no lineales dentro de los anillos resonantes. Sin embargo la baja potencia no es para nada un inconveniente ya que la cámara infrarroja utilizada marca Xenics es sensible a muy bajas intensidades y niveles de potencia.

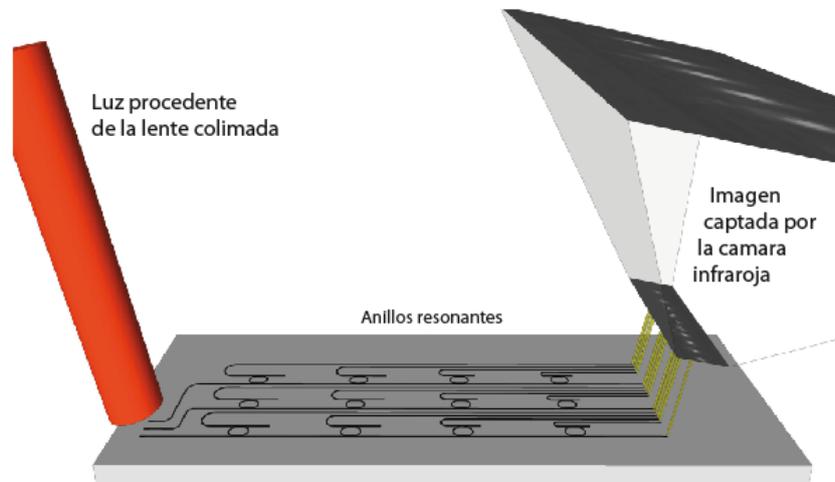


Fig. 14: Esquemático del sistema de medida utilizado mediante lente colimada y cámara infrarroja para lograr una elevada multiplexación.

IV.5 Ruido

Si existiera una resonancia lo suficientemente pequeña y el ruido del sistema absolutamente nulo, el rendimiento del sensor podría ser únicamente evaluado a través de la sensibilidad. Sin embargo, en la realidad esto no sucede así, los sistemas de medida están llenos de ruido el cual tiene consecuencias directas en cuanto a la precisión de las medidas ya que no se puede precisar de forma exacta la longitud de onda de resonancia del anillo resonante. Existen principalmente dos tipos de ruido: el ruido de intensidad y el ruido espectral [28]. El ruido de intensidad hace referencia al ruido acumulativo el cual se puede ver en el espectro de la señal, este tipo de ruido afecta directamente a los errores de cuantización. Por otra parte también existe el ruido espectral, este tipo de ruido enmascara la posición exacta de la resonancia del anillo y, por lo tanto, directamente a la resolución de la plataforma de sensado. Dependiendo del factor de calidad de los anillos el ruido dominante será diferente. Si el factor de calidad es relativamente bajo, la influencia del ruido viene dada por el ruido de intensidad, mientras que si el factor de calidad es alto (entorno a 10^7) el ruido dominante será el ruido espectral. Para determinar el ruido del set-up mediante diferentes técnicas se ha realizado un estudio estadístico. Para ello la intensidad de salida es medida durante un periodo largo de tiempo con una señal de entrada constante [29]. Después la intensidad de ruido se define como la varianza de la intensidad normalizada como se ve en la formula (3).

$$\sigma_{Inorm}^2 = \frac{\langle \Delta I^2 \rangle}{I^2} \quad (24)$$

En la fig. 15 se puede apreciar los distintos niveles de ruidos obtenidos dependiendo el método de acoplamiento utilizado en cada caso.

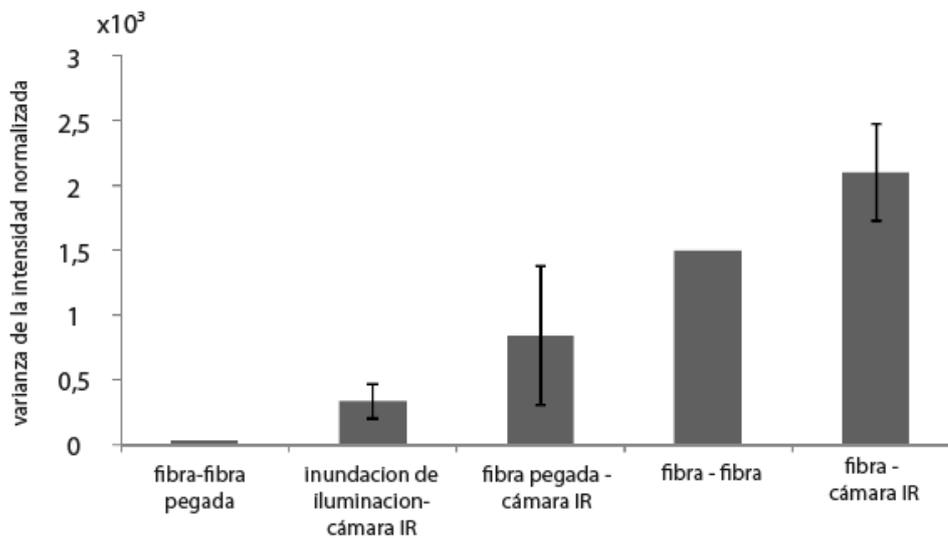


Fig. 15: Comparación de la varianza del ruido de la intensidad normalizada para diferente sistemas de medida.

IV.6. Sistema externo de fluidos.

Para poder introducir los diferentes líquidos en el sistema de microfluídica se necesita un dispositivo que permita controlar la velocidad del flujo y la cantidad que se ha consumido. Para ello se utiliza una bomba mecánica la cual permite controlar todos estos parámetros. En la bomba se colocan cada vez las diferentes jeringuillas que administrarán los líquidos necesarios. La aguja de cada jeringuilla se conecta mediante presión a unos tubos finos que a su vez están insertados en los microcanales de PDMS que se han fabricado anteriormente. Este sistema tiene como ventajas que se puede administrar muy diferentes dosis de diferentes sustancias y que si aparecen burbujas se puede cortar el tubo y volver a conectar evitando que la burbuja llegue a fluir por los microcanales y entrar en contacto con las estructuras de sensado. Como inconveniente que el cambio se realiza manualmente por lo que se necesita la atención humana en todo instante. Por ello, se está estudiando la incorporación de inyectores que faciliten la tarea de intercambio entre los diferentes líquidos. El funcionamiento de un inyector es relativamente sencillo, la fig 16 muestra el esquemático del funcionamiento. Normalmente suelen tener 6 orificios, uno para entrada, otro para salida, dos que interconectarán el loop de carga además de otro para cargarlo y uno último de “waste”, para eliminar el líquido cuando ya no tenga más capacidad el loop. Tiene dos modos de funcionamiento, el modo de carga y el modo de inyección. Cuando el modo de carga está activo, la entrada está conectada a la salida por lo que el líquido fluirá normalmente, y la entrada del loop

estará preparada para cargar líquido dentro del conducto, si se introdujera más de la cuenta el líquido sobrante caería por el waste. Mientras que en modo de inyección la entrada se conecta a un extremo del loop y el otro extremo del loop a la salida de forma que el líquido que se encuentre en el loop se intercala y comienza a fluir por la salida de la válvula de inyección.

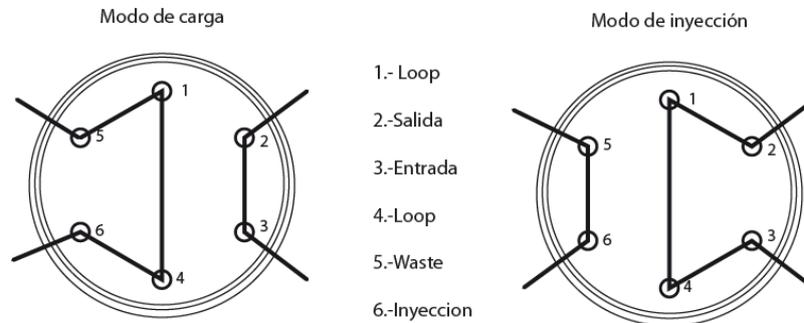


Fig. 16: Interconexiones de los modos de funcionamiento de una válvula de inyección. A la izquierda modo de carga, a la derecha modo de inyección.

Con la válvula se quiere conseguir como principales ventajas que no haya mezclado de líquidos dentro de los tubos, haciendo que el cambio de índice de refracción del entorno de las estructuras sea mucho más abrupto. Además también lleva conectados unos tubos más finos, lo que permitirá que el volumen muerto se reduzca considerablemente y por lo tanto la medida se pueda realizar más rápidamente.

V.- RESULTADOS EXPERIMENTALES.

En los apartados anteriores se ha hablado del desarrollo teórico de las estructuras, la fabricación y la integración del sistema de microfluidos, y de los set-up que se han utilizado en el desarrollo de las medidas. Este apartado, por tanto, se centrará en la realización de las medidas y los resultados que se han obtenido de ellas. Estará dividido en varias partes, primero se realizó un estudio de la posibilidad de utilizar diversas longitudes de onda. Después se comprueba el funcionamiento de un conjunto de anillos para conocer cuáles son los parámetros físicos óptimos, para ello se evaluaron una serie de principales características como el factor de calidad y la relación de extinción de los mismos. Una vez elegidos los mejores anillos se comprueba la sensibilidad de los anillos con diferente polarización. Finalmente se mostrara una medida completa de sensado de ADN.

V.1- Comparación de pérdidas a 1310 nm y 1550 nm.

La transmisión de información a través de fibras ópticas se realiza mediante la modulación (variación) de un haz de luz invisible al ojo humano, que en el espectro ("color" de la luz) se sitúa por debajo del infra-rojo. Las fibras ópticas presentan una menor atenuación (pérdida) en ciertas porciones del espectro lumínico, las cuales se denominan ventanas y corresponden a las siguientes longitudes de onda, expresadas en nanómetros: primera ventana de 800 a 900 nm, segunda ventana de 1250 a 1350 nm y tercera ventana de 1500 a 1600 nm.

Por ello se ha realizado un estudio de las pérdidas que muestran las guías integradas fotónicas para saber cuál es la mejor ventana de funcionamiento. Cada ventana tiene unas características diferentes por lo que será necesario conocer el comportamiento de los dispositivos en cada una de las ventanas. En nuestro caso no se utilizará la ventana de 850 nm ya que no se dispone de fuentes a esas longitudes y los dispositivos disponibles están preparados para longitudes de onda mayores. Por ello nos centraremos en las dos ventanas siguientes, entorno a 1310 nm y 1550 nm.

Para realizar las primeras medidas se ha utilizado un set up del tipo basado en fibra que se muestra en el capítulo anterior, el cual acopla la luz a los gratings mediante una fibra de entrada y la recoge igualmente mediante una fibra de salida. Los dispositivos empleados han sido: un laser Santec TLS-510 con capacidad de barrer un espectro desde 1290 nm hasta 1350 nm, en el caso de 1310 nm y un modelo similar pero con una capacidad de barrer desde 1490 nm hasta 1575 nm, un potenciómetro óptico y un controlador de polarización para optimizar la potencia a la entrada ya que como se ha explicado anteriormente los gratings sólo son capaces de acoplar una única polarización. Ambos dispositivos se controlan mediante una tarjeta GPIB con la cual se van almacenando los datos y barriendo en todo el espectro marcado.

Los chips constaban de diversas guías de onda con forma de espiral con un radio de curvatura suficientemente grande para que no existieran pérdidas debido a estas de esta manera se puede llegar a conseguir guías con una longitud grande sin necesidad de cambiar de tamaño al chip. Para lograr los resultados se midieron cada una de las guías con agua en la superficie ya que estas guías están diseñadas para trabajar en entornos acuosos para realizar las medidas de sensado, posteriormente se realizó un post-procesado de la señal para obtener resultados mucho mas precisos. El post-procesado consistía en adaptar el espectro obtenido con una función parabólica que es la que adapta la función de transferencia de los gratings, de cada parábola se cogía el valor a una determinada longitud de onda. Los resultados obtenidos se pueden comprobar en la fig. 17:

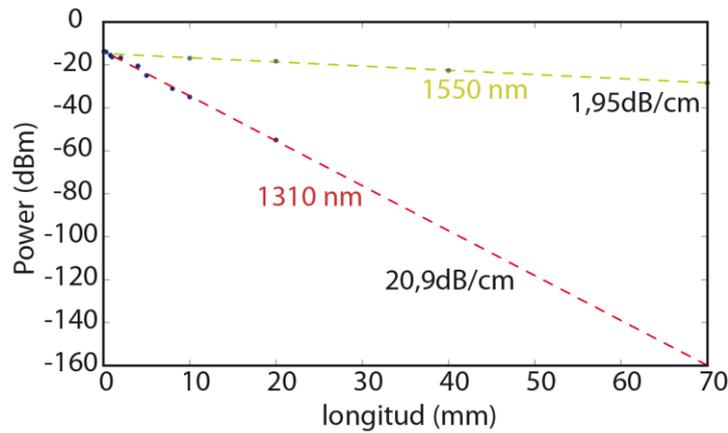


Fig. 17: Medida de las pérdidas de las guías de silicio fabricadas para longitudes de onda de 1310 nm y 1550 medidas con agua en la superficie con unas pérdidas de 20,9 dB/cm para las guías de 1310 nm y de 1,95dB/cm para las de 1550 nm.

En la gráfica se muestra la potencia de salida respecto a la longitud de cada una de las guías. Como se puede observar existe una tendencia lineal en ambos casos por lo que hallando la pendiente de cada una de las rectas de regresión, se obtiene que las pérdidas para 1310 nm son de 20,9 dB/cm mientras que para las guías diseñadas para 1550 nm es de 1,95 dB/cm.

En las fibras monomodo también existe cierta ventaja respecto a las pérdidas de 1550 nm pero no tan grande como un orden de magnitud en el caso de guías integradas. Esto se debe principalmente a una razón ya que no todo el frente de ondas viaja dentro de la guía, parte de la potencia viaja también por fuera y es mayor cuanto la frecuencia es mayor, y por lo tanto cuando la longitud de onda es menor. Es decir que el modo está más confinado en 1550 y por lo tanto tiene menos pérdidas de absorción y/o rugosidad de las guías por lo que la atenuación que sufre es menor como se ha podido comprobar. Por lo tanto, a la hora de escoger la longitud de onda de trabajo para realizar el sensado se tomará, preferiblemente, una longitud de onda de 1550 nm ya que muestra un comportamiento mejor.

V.2. Caracterización completa de estructuras de sensado.

Antes de realizar las medidas de sensado es necesario conocer las configuraciones que mejor funcionen. Por ello, se ha diseñado un chip con 2 tipos de anillos: con el acoplo simétrico y con el acoplo asimétrico. El acoplo de las estructuras es mediante gratings diseñados para polarización TM. Estas estructuras se pueden ver en la imagen captada por el microscopio de electrones (SEM) en la fig. 18.

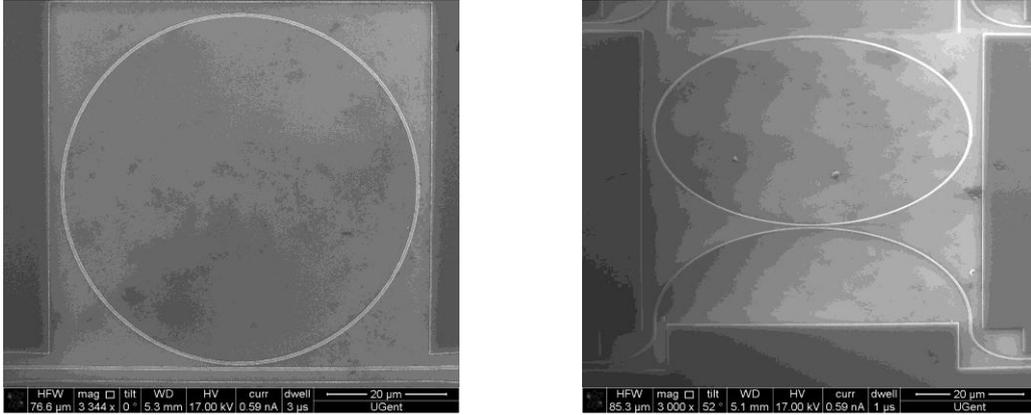


Fig.18: Estructuras analizadas. A la izquierda anillo asimétrico a la derecha anillo simétrico. Imágenes tomadas mediante SEM.

En cada uno de estos tipos de anillos se han diseñado variando el acoplo desde $0,4 \mu\text{m}$ hasta $1,4 \mu\text{m}$ y con radios de $15, 20$ y $30 \mu\text{m}$. El set-up basado en fibra ha sido el elegido para realizar las medidas. Para obtener la respuesta espectral de cada uno de los anillos es necesario depositar una gota de agua sobre el chip. Los datos son analizados, para ello el proceso a seguir fue el siguiente: Se toman dos muestras del espectro, una amplia y una fina y a la frecuencia de resonancia que queramos. Se resta la respuesta en frecuencia de los gratings, para ello utilizamos el espectro amplio, y adaptándolo a una curva parabólica, la restamos al espectro centrado a la longitud de onda. Después se normaliza la señal pasándola previamente a una escala lineal, y finalmente se adapta el pico del anillo mediante la fórmula siguiente:

$$f(\lambda) = \frac{r_{\min} \left(\frac{FWHM}{2} \right)^2 + (\lambda - \lambda_{res})^2}{\left(\frac{FWHM}{2} \right)^2 + (\lambda - \lambda_{res})^2} \quad (1)$$

donde r_{\min} es una estimación de el punto de menor potencia de señal a la frecuencia de resonancia, idealmente este punto debería ser 0 W . FWHM es la anchura máxima a la mitad del mínimo y λ_{res} se trata de la longitud de onda de resonancia. Una vez realizados todos los pasos anteriormente descritos se obtiene la siguiente curva adaptada mostrada en la fig. 19:

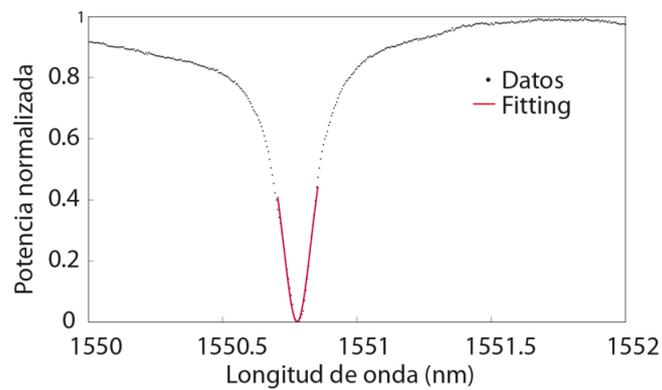


Fig. 19: Ejemplo de un fitting realizado a uno de los espectros de los anillos resonantes. En el se puede apreciar el grado de similitud entre la señal medida y la curva adaptada.

Después de haber analizado todos los anillos del chip los resultados hallados se muestran en las gráficas en la figura 19.

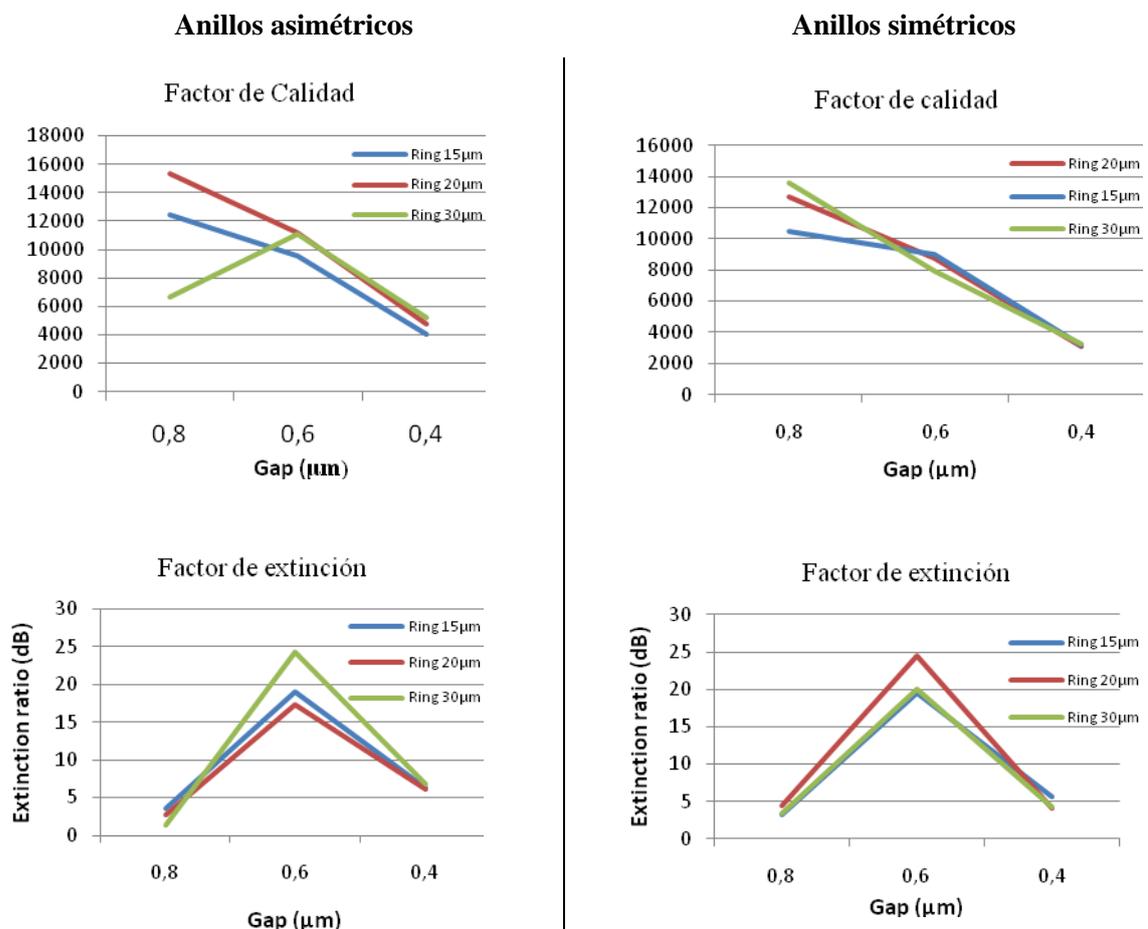


Fig. 19: Medidas obtenidas para los anillos TM. En las gráficas se puede ver el factor de calidad de cada anillo y su factor de extinción respecto del gap y del tamaño del radio.

Mediante los resultados obtenidos en las gráficas siguientes, se puede deducir los parámetros óptimos de diseño que se van a seguir a la hora de seleccionar los parámetros de los sensores.

Primero, de los resultados obtenidos, se puede ver claramente que el radio de los anillos resonantes, no se trata de un parámetro de diseño crítico ya que los distintos anillos con distintos radios tienen valores similares. Sin embargo, la separación entre la guía y el anillo, al contrario, sí que será un parámetro que habrá que escoger correctamente, ya que el valor óptimo, en este caso para anillos resonantes con acoplo diseñado para TM será de 600nm. Además también se puede comprobar que tanto los anillos simétricos como los anillos asimétricos muestran los mismos valores, por lo que el diseño de dependerá de la estructura elegida.

V.3. Comparación de sensibilidad entre los diferentes modos

Una vez que se ha visto que la longitud de onda escogida será de 1550 nm, además cuales son los parámetros físicos óptimos para el diseño y fabricación de anillos resonantes, se estudiará también qué tipo de polarización es mejor: Transversal eléctrico (TE) o Transversal magnético (TM). La sensibilidad depende del campo modal empleado y éste a su vez depende de la forma de la guía. Si la altura de la guía es mayor que la anchura el modo TE será mucho más sensible, mientras que si la anchura es mucho más grande que la altura, entonces el modo TM será más sensible. En la fig. 20 se muestra el perfil modal de cada uno de los campos para en la cual se puede ver que la afirmación anterior es correcta:

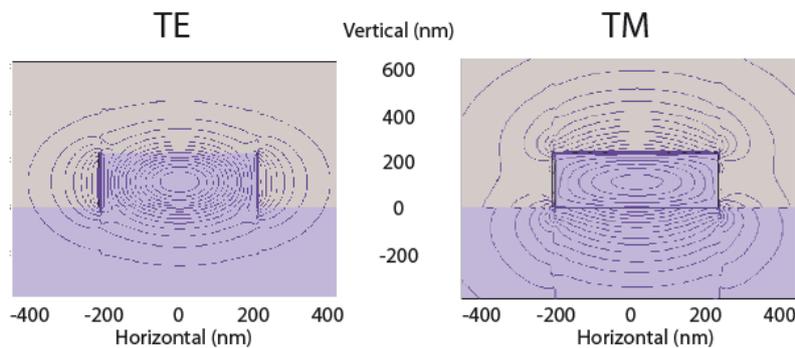


Fig. 20: Perfil modal de los campos transversal eléctrico (izquierda) y transversal magnético (derecha) para una guía SOI a 1550 nm con un uppercladding de 1.33.

Como se puede apreciar cada uno de los perfiles son distintos por lo que tendremos que evaluar cual de los dos campos es el más indicado para realizar el sensado, de las figuras se puede observar que la forma de las guías será, por tanto, el modo TM el más sensible ya que las guías ópticas integradas tienen una altura de 220 nm y una anchura de unos 500 nm.

Para comparar la sensibilidad de cada uno de los modos se han medido dos tipos de anillos cada uno con un diseño para cada modo. Para las medidas se ha utilizado el set-up basado en fibra explicado en el capítulo anterior. Para hallar la sensibilidad se debe de medir el desplazamiento de

las resonancias producidas por los anillos respecto al índice de refracción de la cubierta. Para conseguir el cambio de índice de refracción se puede utilizar varios métodos como diferentes concentraciones de sal en agua des-ionizada [30] o diferentes espesores de una capa de óxido de silicio [31]. En este caso, debido a que no se disponía del sistema de microfluidos por lo que se ha optado es por la segunda opción ya que en la del caso de la sal puede existir evaporación de uno de los componentes y falsear las medidas. Por lo tanto, se deposita diferentes capas encima de las estructuras consiguiendo unos espesores de 3,7 nm, 7,6 nm, 11,4 nm y 15,4 nm. Los resultados se han obtenido de medir 4 diferentes anillos con diferentes radios y hallando la media para cada uno de los puntos calculados. Los desplazamientos de cada uno de los picos son calculados respecto de la posición de un chip medido en aire después de realizar el post-procesado mediante curvas Lorentzianas. En la fig. 21 se muestra los resultados de las sensibilidades de cada uno de los modos obtenidos en los anillos.

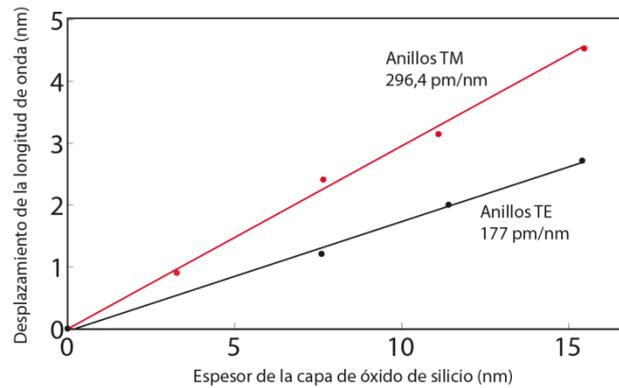


Fig. 21: Desplazamiento de longitud de onda respecto al espesor de la capa de óxido de silicio depositada. Comparación de las distintas sensibilidades para cada una de los modos. Para el modo TE 177 pm/nm y para el modo TM 296,4 pm/nm.

Si observamos la expresión del desplazamiento del índice de refracción en la siguiente fórmula (1):

$$\Delta\lambda = \frac{\Delta n_{eff} \lambda_0}{n_g} \quad (25)$$

donde n_{eff} es el índice de refracción efectivo de la estructura, λ_0 se trata de la longitud de onda de resonancia y n_g es el índice de refracción de grupo, se comprueba que el desplazamiento es lineal tanto en la expresión como en la gráfica medida. Además se puede verificar la teoría anterior ya que los modos TM son 1.5 veces más sensibles en el sensado de índice de refracción en masa debido a la forma de la guía fotónica. Otra conclusión importante que se halla de los resultados es que el desplazamiento no varía con el tamaño del anillo por lo que la sensibilidad es independiente también del tamaño al igual que se comprueba en la fórmula 1.

V.4. Monitorización directa de los pasos de modificación química de la superficie.

Para demostrar el funcionamiento de las estructuras para sensado fotónico se realizó un experimento comparándolo directamente con el mostrado en el trabajo de investigación [32]. En él son capaces de medir mediante un array de 32 anillos resonantes concentraciones de oligonucleotidos ADN.

En nuestro caso se dispondrá del set-up basado en inundación con un array de 20 anillos resonantes. Los cuales multiplexados y procesados nos permitirán obtener una precisión aun mayor eliminando una gran cantidad de ruido. En el chip además también irá integrado la estructura microfluídica por lo que se tratará de un primer prototipo de lab-on-a-chip fabricado en el laboratorio. Los canales recorrerán en forma de zig-zag 15 anillos mientras que 5 estaran aisladas.

Primero el chip se limpió mediante una solución de piraña (3:1 $\text{H}_2\text{SO}_4:\text{H}_2\text{O}_2$) para activar la superficie, posteriormente se empaquetó junto con los canales de microfluídica y se montó en el set-up. Para realizar el proceso de sensado se siguieron los siguientes pasos mostrados en la fig. 22.

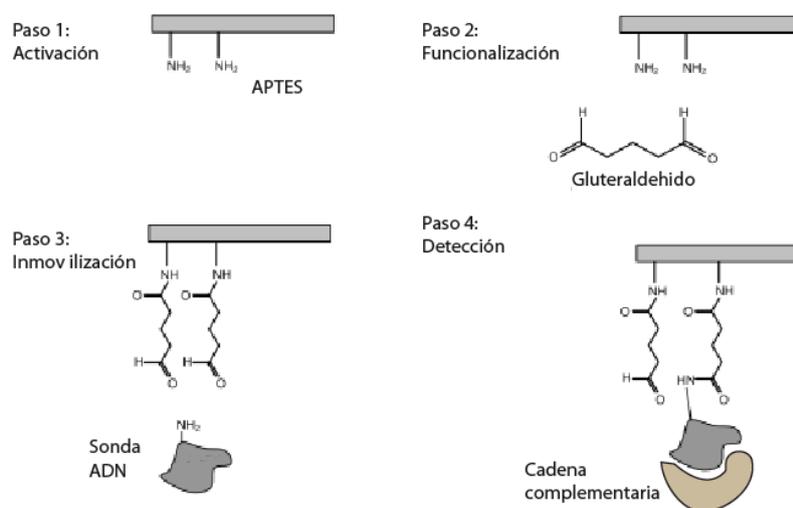


Fig. 22: Pasos a seguir para la detección de una cadena de ADN.

El protocolo marcado para la realización del experimento esta descrito en [33]. Mediante una bomba bombeamos el líquido con cada una de las sustancias a través del chip, la tasa es muy baja, de $7,5\mu\text{l}/\text{min}$ para evitar que haya una presión excesiva dentro de los canales de microfluidica. Primero fluye APTES, que son grupos de aminosilanos con capacidad para inmovilizar otro tipo de moléculas, esta capa se auto-acopla a la superficie pudiendo crear una capa con receptores de una

manera rápida, de forma que se deposita una fina capa sobre la superficie del chip. El segundo paso consiste en la deposición del glutaraldehído, esta capa permitirá acoplar diversas proteínas con unos excelentes resultados. Una vez conseguidas estas dos capas se comenzará a fluir las sondas de ADN marcadas con Biotina, estas sondas son marcadas en el departamento de química molecular de la Universidad Politécnica de Valencia con el nombre de SYM22, esta molécula tiene una afinidad muy alta por lo que se adherirá a la superficie de glutaraldehído fácilmente. Finalmente, se fluye la cadena de ADN complementaria a la que se ha adherido de forma que esta se acoplará perfectamente a la que está en la superficie de las estructuras.

Todos los pasos anteriores han podido ser seguidos mediante la monitorización de los picos de los anillos de forma continua en polarización TE. Para poder monitorizarlos, con un software se seleccionan los gratings que van a ser seguidos y se van almacenando los espectros. Finalmente mediante Matlab con un programa se representa la evolución de los picos en el tiempo. Esta evolución se puede observar en las gráficas siguientes en la fig. 23.

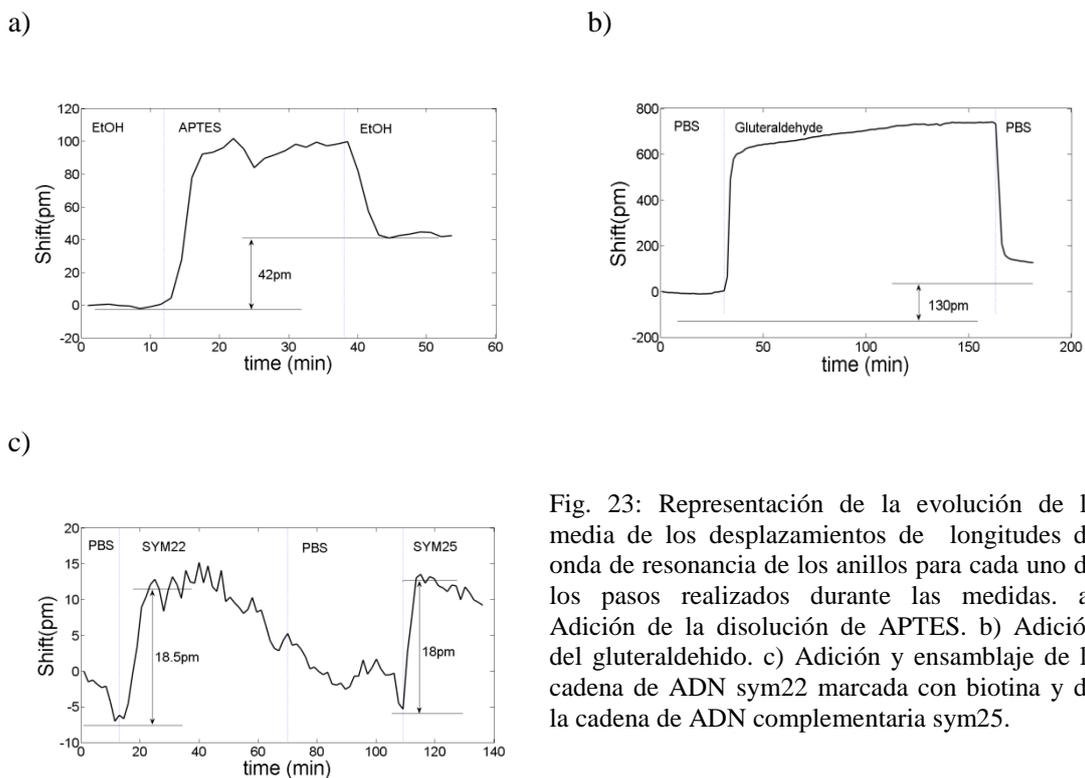


Fig. 23: Representación de la evolución de la media de los desplazamientos de longitudes de onda de resonancia de los anillos para cada uno de los pasos realizados durante las medidas. a) Adición de la disolución de APTES. b) Adición del glutaraldehído. c) Adición y ensamblaje de la cadena de ADN sym22 marcada con biotina y de la cadena de ADN complementaria sym25.

En las gráficas anteriores se puede comprobar cómo se producen tanto en la a) como en la b) desplazamientos de los picos permanentes, es decir que no vuelven a la línea base, si no a una superior, se debe a que la concentración es mayor cuando el líquido está fluyendo, pero se va adhiriendo a la superficie por lo que ha sido lograda con éxito la deposición de las sustancias descritas. Por otra parte, en la gráfica c) los desplazamientos son muy pequeños ya que las cantidades suministradas son bajísimas, con una concentración de $2\mu\text{M}$. Además se puede apreciar

una deriva el cual puede resultar molesto para la detección y empeorar la precisión y velocidad de la detección.

Estas medidas son de gran importancia ya que muestran no solo, que los anillos fabricados en tecnología SOI son sensibles a los cambios de índice de refracción del entorno, sino que además su superficie puede ser modificada para que sea capaz de atraer a distintas moléculas y por lo tanto ser capaz de realizar una detección específica de cualquier proteína o en este caso cadenas de ADN.

VI. CONCLUSIONES Y LINEAS FUTURAS

En este trabajo de investigación se ha repasado con profundidad ls principales aplicaciones de los sensores ya sean biológicos o mecánicos, también se han estudiado los sensores ópticos integrados que existen en la actualidad. El objetivo principal del trabajo ha sido los sensores integrados basados en anillos resonantes, por lo que se ha explicado toda la teoría relativa a esta estructura.

El principal avance de esta investigación ha sido la integración de los canales de microfluidos en la superficie de las estructuras. De esta forma podemos distribuir los diferentes líquidos a cada una de las estructuras de sensado. Para ello se ha revisado varios materiales, y varias formas para pegar los canales a la superficie, logrando con éxito la integración de los mismos pudiendo fabricar un prototipo de lab-on-a-chip en el laboratorio.

En cuanto a las medidas se ha podido ver claramente que se han podido optimizar una serie de parámetros como el gap o la longitud de onda de resonancia llegando finalmente a poder monitorizar los pasos de la detección de una cadena de ADN, abriendo las puertas por tanto, a cualquier detección rápida de proteínas de una forma rápida y fiable.

Este tipo de sensores de bajo coste pueden llegar a funcionar como laboratorios móviles para, en caso de emergencia ser desplazados a las áreas críticas y poder detectar cualquier enfermedad o contaminación para evitar su propagación por lo que es perfecto para usos en casos de catástrofes tanto en países desarrollados como subdesarrollados.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado mediante la comisión europea a través del Proyecto InTopSens perteneciente al séptimo programa marco de la UE, al programa Erasmus Máster, al Centro de Investigación Nanofotónica de Valencia y al photonics research group of Ghent University.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Kirill Zinoviev, Laura G. Carrascosa, José Sánchez del Río, Borja Sepúlveda, Carlos Domínguez, and Laura M. Lechuga “*Silicon Photonic Biosensors for Lab-on-a-Chip Applications*”.
- [2] G. Robinson, “*The commercial development of planar optical biosensors*,” *Sens. Actuators B*, vol. 29, pp. 31–36, Oct. 1995.
- [3] Wilson M, Smith G: “*Nanotechnology: basic science and emerging technologies*”, Florida, CRC Press, 2002, p56.
- [4] W. Bogaerts, R. Baets, P. Dumon, V. Wiaux, S. Beckx, D. Taillaert, B. Luyssaert, J. Van Campenhout, P. Bienstman, D. Van Thourhout, “*Nanophotonic Waveguides in Silicon-on-Insulator Fabricated with CMOS Technology*”, *J. Lightwave Technol.* 23, 401-412 (2005).
- [5] O’Mara W, Herring R, Hunt L: “*Handbook of Semiconductor Silicon Technology*”, 1ª Edición, Londres, Noyes Publications, 1990, pp 349-350.
- [6] Hull R: *Properties of Crystalline Silicon*, 1ª Edición, Londres, Institution of Electrical Engineers, 1999, pp 1-171.
- [7] X. Fan, I. White, S. Shopova, H. Zhu, J. D. Suter, Y. Sun. “*Sensitive optical biosensors for unlabeled targets: A review*”, *Analytica chimica acta*, nº 620, may 2008, p.8-26.
- [8] John D. Joannopoulos, Robert D. Meade, Joshua N. Winn, “*Photonic Crystals: Molding the Flow of Light*”, Ed: Princeton University Press, 1995.
- [9] N. Skivesen, A. Têtú, M. Kristensen, J. Kjems, L. H. Frandsen, and P. I. Borel, “*Photonic-crystal waveguide biosensor*,” *Opt. Express* 15(6), 3169–3176 (2007), .
- [10] J. García-Rupérez, V. Toccafondo, M. J. Bañuls, A. Griol, J. G. Castelló, S. Peransi- Llopis and A. Maquieira, “*Single-strand DNA detection using a planar photonic-crystal-waveguide-based sensor*, *Optics letters*, September 2010.
- [11] J. García-Rupérez, V. Toccafondo, M. J. Bañuls, A. Griol, J. G. Castelló, S. Peransi- Llopis and A. Maquieira, “*Label-free antibody detection using band edge fringes in SOI planar photonic crystal waveguides in the slow-light regime*”, *Optics Express*, Vol. 18, Issue 23, pp. 24276-24286 (2010).
- [12] Dominic G, Rabus. “*Integrated ring resonators. The compendium*”. Springer series in optical science.
- [13] John Heebner, Rohit Grover, Tarek A. Ibrahim, “*Optical microrresonators*” Springer series in optical science.
- [14] S. K.W. Dertinger, D. T. Chiu, N. L. Jeon, and G.M. Whitesides. *Generation of gradients having complex shapes using microfluidic networks*. *Analytical Chemistry*, 73(6):1240–1246, 2001.
- [15] N. L. Jeon, H. Baskaran, S. K. W. Dertinger, G. M. Whitesides, L. Van de Water, and M. Toner. *Neutrophil chemotaxis in linear and complex gradients of interleukin-8 formed in a microfabricated device*. *Nature Biotechnology*, 20(8):826–830, 2002.
- [16] H. B. Mao, P. S. Cremer, and M. D. Manson. *A sensitive, versatile microfluidica assay for bacterial chemotaxis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(9):5449–5454, 2003.

- [17] J. Pihl, J. Sinclair, E. Sahlin, M. Karlsson, F. Petterson, J. Olofsson, and O. Orwar. *Microfluidic gradient-generating device for pharmacological profiling*. Analytical Chemistry, 77(13):3897–3903, 2005.
- [18] H. Becker and C. Gartner. *Polymer microfabrication technologies for microfluidica systems*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 390(1):89–111, 2008.
- [19] H. Becker and L. E. Locascio. *Polymer microfluidic devices*. Talanta, 56(2):267–287, 2002.
- [20] Y. N. Xia and G. M. Whitesides. *Soft lithography*. Annual Review of Materials Science, 28:153–184, 1998.
- [21] S. Satyanarayana, R. N. Karnik, and A. Majumdar. *Stamp-and-stick roomtemperature bonding technique for microdevices*. Journal of Microelectromechanical Systems, 14(2):392–399, 2005.
- [22] P. Dumon. *Ultra-compact integrated optical filters in silicon-on-insulator by means of wafer-scale technology*. PhD thesis, Ghent University, 2007.
- [23] D. Taillaert, W. Bogaerts, P. Bienstman, T. F. Krauss, P. Van Daele, I. Moerman, S. Verstuyft, K. De Mesel, and R. Baets. *An out-of-plane grating coupler for efficient butt-coupling between compact planar waveguides and single-mode fibers*. IEEE Journal of Quantum Electronics, 38(7):949–955, 2002.
- [24] D. Taillaert, H. Chong, P. I. Borel, L. H. Frandsen, R. M. De La Rue, and R. Baets. *A compact two-dimensional grating coupler used as a polarization splitter*. IEEE Photonics Technology Letters, 15(9):1249–1251, 2003.
- [25] F. Van Laere, W. Bogaerts, P. Dumon, G. Roelkens, D. Van Thourhout, and R. Baets. *Focusing Polarization Diversity Grating Couplers in Silicon-on- Insulator*. Journal of Lightwave Technology, 27(5-8):612–618, 2009.
- [26] Dirk Taillaert. *Grating couplers as interface between optical fibers and nanophotonic waveguides*. PhD thesis, Ghent University, 2004-2005.
- [27] T. Tamir and S. T. Peng. *Analysis and design of grating couplers*. Applied Physics, 14(3):235–254, 1977.
- [28] I. M. White and X. D. Fan. *On the performance quantification of resonant refractive index sensors*. Optics Express, 16(2):1020–1028, 2008.
- [29] K. De Vos, J. Girones, T. Claes, Y. De Koninck, S. Popelka, E. Schacht, R. Baets, and P. Bienstman. *Multiplexed Antibody Detection With an Array of Silicon-on-Insulator Microring Resonators*. Photonics Journal, IEEE, 1(4):225–235, 2009.
- [30] H. Su and X. G. Huang. *Fresnel-reflection-based fiber sensor for on-line measurement of solute concentration in solutions*. Sensors and Actuators B Chemical, 126:579–582, 2007.
- [31] J. Voros. *The density and refractive index of adsorbing protein layers*. Biophysical Journal, 87(1):553–561, 2004.
- [32] Muzammil Iqbal, Martin. “Label-free biosensor arrays based on silicon ring resonators and high speed optical scanning instrumentation” IEEE Journal in quantum electronics, vol. 16, no 3 June 2010.
- [33] Abraham J Qavi “Multiplexed detection and label-free quantitation of MicroRNAs Using arrays of silicon microring resonators” Angewandte chemie.