微纳光纤耦合器无标生物传感特性

汪 海[1,2], 周文超[1], 李凯伟[1], 郝 鹏[1], 迟明波[1,2], 吴一辉[1]

[1]中国科学院长春光学精密机械与物理研究所应用光学国家重点实验室, 吉林 长春 130033;

[2]中国科学院大学, 北京 100049

摘要 提出了一种基于微纳光纤耦合器的高灵敏度、便携式生物传感器,并对该传感器用于无标生物检测的灵敏度和重复性进行了研究。通过熔融拉锥法拉制出腰椎直径为 3 μm 的光纤耦合器,并进行折射率检测实验。实验测得折射率灵敏度为 1402.3 nm/RIU,对检测结果进行拟合,得到拟合曲线的相关系数为 0.99459。微纳光纤耦合器的弱耦合模型的计算结果和实验结果相符。将此微纳光纤耦合器用于检测羊免疫球蛋白(IgG)抗原,得到了 2 pg/mL的检出限;10 次解离再生实验验证了该传感器的重复性,表明了微纳光纤耦合器在无标生物传感中具有高检测灵敏度的潜力和较好的实用价值。

关键词 光纤光学; 光纤传感器; 微纳光纤耦合器; 无标生物检测; 重复性

中图分类号 O436 **文献标识码** A

doi: 10.3788/AOS201737.0306005

Label-Free Biosensing Characteristics of Micro/Nano-Fiber Coupler

Wang Hai[1,2], Zhou Wenchao[1], Li Kaiwei[1], Hao Peng[1], Chi Mingbo[1,2], Wu Yihui[1]

[1] *State Key Laboratory of Applied Optics, Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun, Jilin* 130033, *China*;

[2] *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100049, *China*

Abstract A portable biosensor with high sensitivity is proposed, and the biosensor is based on a micro/nano-fiber coupler. When the biosensor is used in label-free biodetection, its sensitivity and reusability are studied. A fiber coupler with the waist diameter of 3 μm is fabricated by the fused biconical taper method, and then the coupler is used in refractive index detection experiment. A refractive index sensitivity of 1402.3 nm/RIU is measured in experiment. The detection results are fitted, and the correlation coefficient of the fitted curve is 0.99459. The calculated results of the weak coupling model of the micro/nano-fiber coupler are in good agreement with the experimental results. The detection limit of 2 pg/mL is obtained when the micro/nano-fiber coupler is used to detect goat immune globulin (IgG) antigen. The reusability of the biosensor is verified by 10 dissociation experiments. These experiments demonstrate that the micro/nano-fiber coupler can obtain a high detection sensitivity in the label-free biosensing and has good practical value.

Key words fiber optics; fiber sensors; micro/nano-fiber coupler; label-free biodetection; reusability

OCIS codes 060.2370; 060.4005; 170.3890

1 引 言

微纳光纤传感器以其灵敏度高、结构简单、成本低廉、便于集成和抗电磁干扰能力强等优点受到广泛的关注[1-4]。微纳光纤传感器用于生物检测领域时具有响应快、灵敏度高和体积小等优势,且具备阵列化和多

收稿日期: 2016-07-13; **收到修改稿日期**: 2016-11-07

基金项目: 国家国际科技合作专项(2015DFG02620)、国际自然科学基金委青年基金(61504143)、国家 863 计划(2015AA042402)、吉林省科技发展计划(20160520097JH)、吉林省科技发展计划"双十工程"(20140201011GX)

作者简介: 汪 海(1993—),男,硕士研究生,主要从事高灵敏度纳米光纤生物传感器方面的研究。

E-mail: wanghai23366@163.com

导师简介: 吴一辉(1965—),女,博士,研究员,博士生导师,主要从事微光机电系统方面的研究。

E-mail: yihuiwu@ciomp.ac.cn(**通信联系人**)

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

目标同时检测的巨大潜力，是一种功能强大的光学检测手段[5-9]。为寻求更精确可靠的无标生物检测方法，国内外对微纳光纤传感器进行了大量的实验研究。Leung 等[10-15]通过监测传输光强的变化，实现了对 DNA、酶、细菌和抗原等多种生物分子的无标检测，还实现了对 1 pg/mL 的胎牛血清蛋白和 1 pg/mL 的卵白蛋白的测试，证明影响传输光强的主要原因是生化反应导致的光纤表面折射率的变化[13]。2007 年，Hsieh 等[16]利用纳米金表面等离子体共振增加了荧光激发率，实现了对鼠免疫球蛋白(IgG)抗原浓度(1 pg/mL)的检测。本课题组较早研究了锥形微纳光纤生物检测技术，先后采用 D 型光纤、弯曲锥形光纤、局域表面等离子体共振(LSPR)光纤和锥形微纳光纤进行高灵敏度无标生物检测，成功实现了对蓖麻毒素、人免疫球蛋白、癌胚抗原和前列腺特异抗原等生化因子的高灵敏度检测[17-18]。然而，由于单根光纤锥区模式振荡使单根锥形微纳光纤对折射率和吸收度的影响缺乏规律性，加之为获得高的检测灵敏度，需要将光纤直径加工到百纳米量级，这不仅给微纳光纤传感器的制造、封装与运输等带来困难，而且还限制了微纳光纤传感器的实用化。

本文在前期工作的基础上，提出了微纳光纤耦合器结构。微纳光纤耦合器与传统的用于通信的光纤耦合器具有相似的结构，不同之处在于光纤锥腰区域直径是否在微米量级。与单根锥形微纳光纤检测原理不同，微纳光纤耦合器对外界折射率的响应是基于外界折射率变化对光纤间模式耦合特性的影响规律。折射率的微小变化会使输出光谱大幅移动，从而实现高灵敏度传感。本文采用热拉伸法制备表面光滑的低损耗微纳光纤耦合器，从理论和实验两方面验证了微纳光纤耦合器能够用于高灵敏度的折射率检测，为灵敏度高、成本低、体积小、响应快的光纤生物传感器的制备提供了良好的解决方案。

2　微纳光纤耦合器传输特性的理论分析

微纳光纤耦合器示意图如图 1 所示，P_0 为输入光强，P_1 为耦合器 1 端的输出光强，P_2 为耦合器 2 端的输出光强，L 为锥腰长度。其中，$P_1+P_2=P_0$，并且耦合器 1、2 端的输出光谱波形互补。光通过全反射在光纤中传播时，会有消逝场从光纤中泄漏。当光信号通过一根光纤传输到光纤耦合器锥腰传感部分时，泄漏的消逝场会激励另外一根光纤中的光信号，实现光信号的再分配。信号的再分配过程对外界环境折射率的变化非常敏感，因此通过监测输出光纤定波长的光强变化或输出光谱峰值波长的移动即可实现对外界折射率变化的高灵敏度检测。

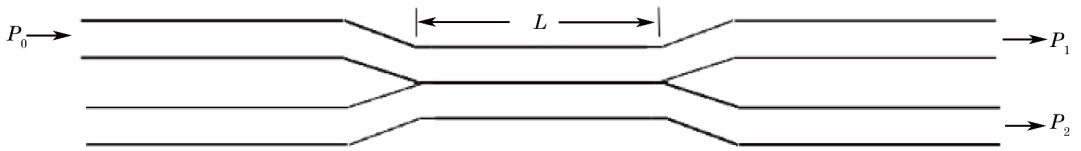

图 1　微纳光纤耦合器示意图

Fig. 1　Diagram of micro/nano-fiber coupler

光纤耦合器中的模式形态一般用耦合模式理论[19]进行分析，即相互耦合的两波导各自保持了其独立存在时的场分布和传输系数。耦合的影响表现在场的复振幅沿长度方向的变化。熔融的光纤耦合器模型模式干涉仿真结果如图 2(a)所示，熔融区域奇模和偶模的相互作用引起能量的交换，从而使输出光谱发生平移。实验中通过氢氧焰熔融 2 根相邻光纤得到光纤耦合器，图 2(b)为微纳光纤耦合器的锥腰区域，可以看出熔融作用并不强烈，此时 2 根光纤仍保持各自的传输特性，属于弱熔融型光纤耦合器。

在微纳光纤耦合器的一个端口输入随机偏振的单位光强的自然光，根据弱熔融耦合器模型[20]，输出端的相对光强为

$$P=\frac{1}{2}\{1+[\cos(C_x+C_y)L\cdot\cos(C_x-C_y)L]\},\tag{1}$$

式中 C_x、C_y 分别为 x 和 y 方向的耦合强度，L 为耦合器的锥腰长度。对于弱熔融型微纳光纤耦合器，有

$$C_x+C_y=\frac{2^{7/2}\,(n_2^2-n_3^2)^{1/2}U_\infty^2}{n_2 a\sqrt{\pi}V^{5/2}},\tag{2}$$

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

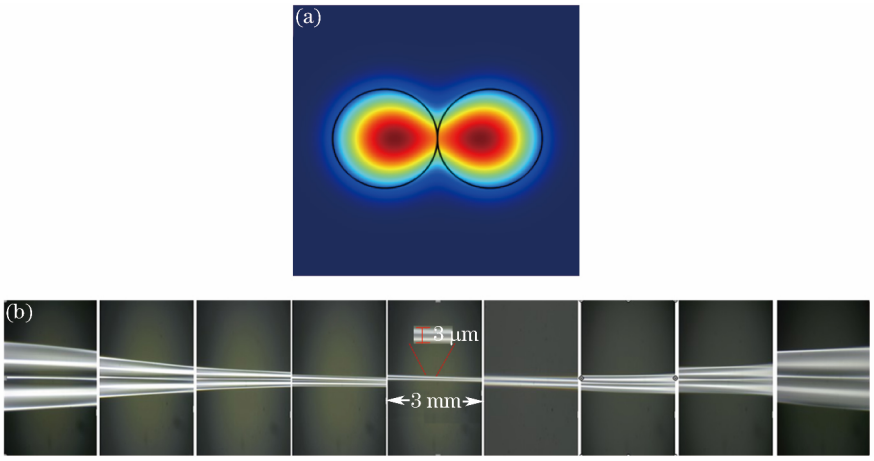

图 2　(a)熔融的光纤耦合器模型模式干涉仿真结果;(b)微纳光纤耦合器的锥腰区域

Fig. 2　(a) Simulation result of mode interference of fused fiber coupler model; (b) taper waist area of micro/nano-fiber coupler

$$C_x - C_y = \frac{2^{5/2}\,(n_2^2 - n_3^2)^{1/2} U_\infty^2}{n_2^3 a \sqrt{\pi} V^{7/2}}, \tag{3}$$

式中 $U_\infty = 2.405$;V **为归一化频率,** $V = (n_2^2 - n_3^2)^{1/2} 2\pi a/\lambda$;$a$ **为耦合器锥腰的半径;**n_2 **为包层的折射率;**n_3 **为外界环境的折射率。**

根据微纳光纤耦合器的弱耦合模型,模拟了微纳光纤耦合器的输出光强随入射波长的变化[图 3(a)]、峰值波长随折射率的变化[图 3(b)]、传感灵敏度随锥腰直径的变化[图 3(c)]以及传感灵敏度随锥腰长度的变化[图 3(d)]。生物分子吸附到光纤表面时,会引起较小的折射率变化,折射率变化区间为 1.3330～1.3350。包层折射率 $n_2 = 1.44681$,纤芯折射率为 1.45205。

图 3(a)中,随着入射波长的增大,输出谱线呈正弦函数变化。图 3(b)中,随着外界折射率的逐渐增大,输出光谱逐渐蓝移,拟合曲线的相关系数为 0.99459。图 3(c)中得到的检测灵敏度为 1390 nm/RIU,锥腰直

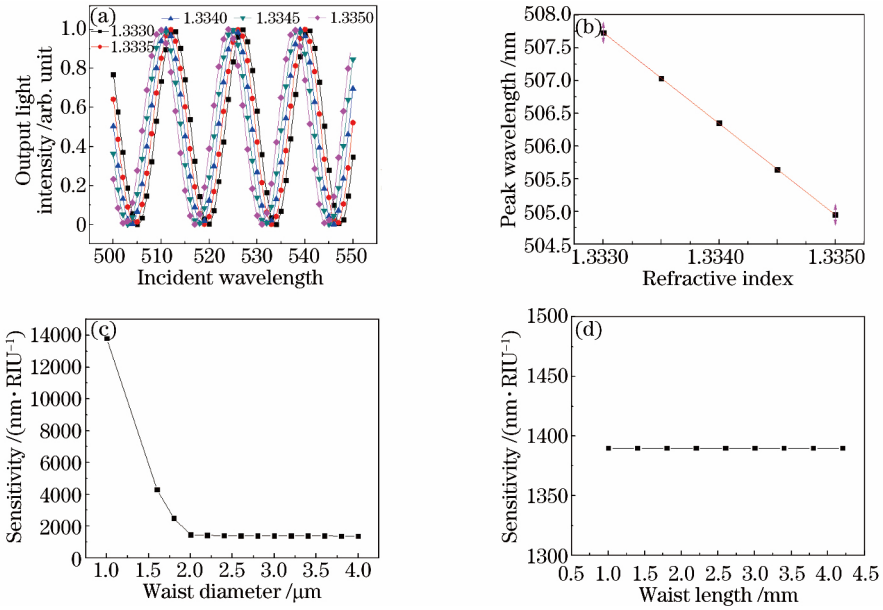

图 3　(a)输出光强随入射波长的变化($a = 1.5$ μm,$L = 3$ mm);(b)峰值波长随折射率的变化($a = 1.5$ μm,$L = 3$ mm);(c)传感灵敏度随锥腰直径的变化($L = 3$ mm);(d)传感灵敏度随锥腰长度的变化($a = 1.5$ μm)

Fig. 3　(a) Variation in output light intensity with incident wavelength ($a = 1.5$ μm, $L = 3$ mm); (b) variation in peak wavelength with refractive index ($a = 1.5$ μm, $L = 3$ mm); (c) variation in sensing sensitivity with waist diameter ($L = 3$ mm); (d) variation in sensing sensitivity with waist length ($a = 1.5$ μm)

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

径越小，检测灵敏度越高，且 $a<2\ \mu m$ 时检测灵敏度迅速增大，这是由光纤内的模式传输特性决定的[21]。图3(d)中检测灵敏度随锥腰长度的变化不明显，这主要是由于引起模式干涉的两种模式取决于锥腰直径，且与锥腰长度无关，锥腰长度仅影响模式的传输相位，不影响传输光的模式分布，因此传感器的检测灵敏度与锥腰长度的变化无关。

3　微纳光纤耦合器检测实验与结果分析

3.1　实验装置

微纳光纤耦合器检测实验装置如图4所示。由热拉伸法制备的微纳光纤耦合器成品被封装在样品池中，发光二极管(LED)光源(绿光峰值为532 nm)经准直聚焦后耦合进入微纳光纤传感器的一端，使用光谱仪采集光强信号。光谱仪的可探测波长范围为300～800 nm，分辨率为0.3 nm。输出光光谱由上位机(PC)直接显示。

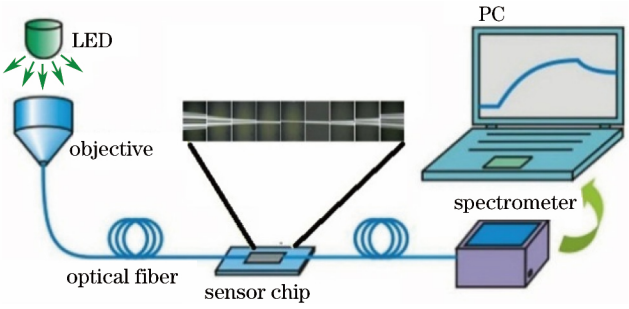

图4　微纳光纤耦合器检测实验装置示意图

Fig. 4　Schematic of experimental setup of micro/nano-fiber coupler detection

3.2　折射率检测实验

由图3(c)可知，锥腰直径越小，传感器灵敏度越高。当锥腰直径小于3 μm时，微纳光纤耦合器在进行光纤表面功能化的过程中输出的光强很弱，从而影响实验的顺利开展。为了与生物传感实验作对比，选取直径为3 μm的微纳光纤耦合器进行折射率检测实验。微纳光纤耦合器具有很低的抗原检出限，此浓度下生物分子溶液的折射率非常小。因此，配制折射率分别为1.3349，1.3352，1.3355，1.3358的溶液。实验检测结果如图5所示。

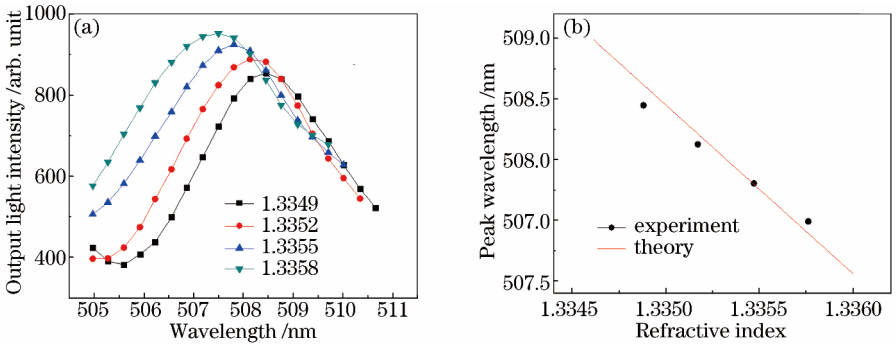

图5　微纳光纤耦合器折射率检测结果。(a)输出光强与折射率的变化关系；(b)峰值波长随折射率的变化

ig. 5　Results of refractive index detection of micro/nano-fiber coupler. (a) Relationship between output light intensity and refractive index; (b) relationship between peak wavelength and refractive index

由图5(a)可知，随着外界折射率的增大，输出光谱发生蓝移。计算得到折射率的灵敏度为1402.3 nm/RIU，与模拟结果(1390 nm/RIU)较为一致，二者出现的较小偏差可能是由耦合器锥腰直径和锥腰长度的测量误差引起的。由图5(b)可知，光谱具有较好的线性折射率响应，该特性有利于微纳光纤耦合器的定标。

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

3.3　生物检测实验

微纳光纤耦合器用于无标生物检测的原理如图 6 所示。检测前在光纤上附着一层抗原或抗体使耦合器传感部分表面功能化，然后加入抗体或抗原。抗原和抗体的特异性结合会引起传感区域表面折射率的变化。加入不同浓度的抗原和抗体，光纤表面抗原和抗体结合的量不同，从而可在光谱仪上观察到波形的移动。

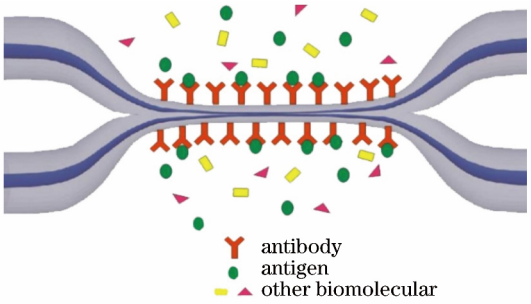

图 6　微纳光纤耦合器用于无标生物检测的原理示意图

Fig. 6　Principle diagram of label-free biodetection with micro/nano-fiber coupler

光纤表面功能化步骤为：1）将光纤固定在样品池中，通入氢氧化钾（KOH）溶液（质量分数为 5%）对光纤进行清洗（清洗时间为 10 min），用去离子水洗去残留的 KOH 溶液和光纤表面的杂质，并在光纤表面产生一层羟基（—OH）；2）用正电解质聚二烯丙基二甲基氯化铵（PDDA）溶液（体积分数为 1%）对光纤进行处理（处理时间为 30 min），随后用去离子水清洗光纤，此时光纤表面覆盖着一层带正电荷的 PDDA；3）用负电解质聚丙烯酸（PAA）溶液（体积分数为 1%）处理光纤（处理时间为 30 min），之后用 0.1 mol/ L 的乙磺酸（MES）溶液清洗光纤，PAA 上带有可与抗原、抗体结合的羧基官能团；4）加入 0.1 mol/ L 的 MES 溶液，将 1-（3-二甲氨基丙基）3-乙基碳二亚胺盐酸盐和羟基琥珀酰亚胺溶液加入样品池中，对光纤进行处理，处理时间为 30 min；5）通入过量的兔抗羊 IgG 抗体（200 μg/mL），反应 2 h 后，用磷酸缓冲盐（PBS）溶液冲洗光纤 5 次；6）用胎牛血清溶液（蛋白浓度为 10 mg/mL）处理光纤 30 min，封闭光纤表面的空白位点，再用 PBS 溶液冲洗光纤 5 次。

为探究微纳光纤耦合器在生物检测中的响应特性，选取比较经典的羊 IgG 抗原进行检测实验。首先按上述步骤在传感区域表面固定一层兔抗羊 IgG 抗体，配制质量浓度分别为 2，4，6，8 pg/mL 的羊 IgG 抗原溶液。分别取不同质量浓度的 120 μL 羊 IgG 抗原溶液加入到样品池中，记录反应前和反应后的光谱。检测结果如图 7 所示。

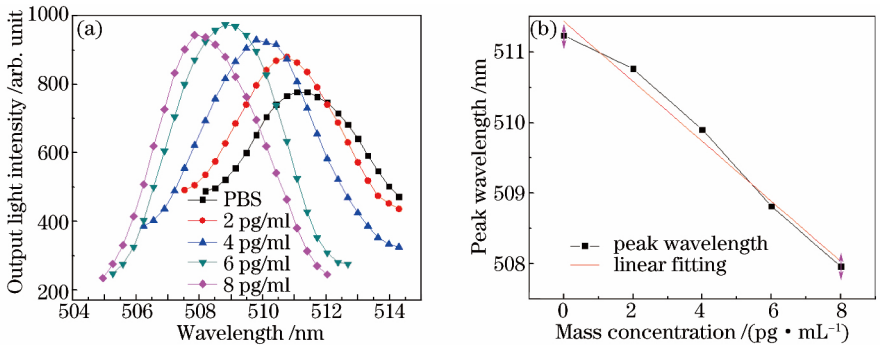

图 7　微纳光纤耦合器对羊 IgG 抗原的检测结果。（a）输出光强与羊 IgG 抗原溶液质量浓度的变化关系；（b）峰值波长随羊 IgG 抗原溶液质量浓度的变化

Fig. 7　Detection results of goat IgG antigen with micro/nano-fiber coupler. (a) Relationship between output light intensity and mass concentration of goat IgG antigen; (b) relationship between peak wavelength and mass concentration of goat IgG antigen

样品池中通入羊 IgG 抗原溶液后，羊 IgG 抗原会通过抗原-抗体免疫反应结合到光纤表面，造成传感区域表面折射率的变化，从而引起微纳光纤耦合器传输光谱的移动。通入不同浓度的羊 IgG 抗原溶液，光纤表面结合的生物分子的量也不同，传输谱线的变化也就不一样。图 7（a）中，随着加入的羊 IgG 抗原质量浓

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

度逐渐增大，输出光谱逐渐蓝移。加入质量浓度为 2 pg/mL 的羊 IgG 抗原溶液，反应后光谱平移了 0.9 nm。由羊 IgG 抗原结合到光纤表面得到的光谱响应，可推算出表面等效折射率的变化为 0.00045。对检测结果进行拟合，得到拟合曲线的相关系数为 0.98526。由于微纳光纤耦合器的输出光谱具有周期性，其最大检测浓度恰好使光谱平移一个周期。经计算，得到检测质量浓度的动态范围为 2～24 pg/mL，说明用直径为微米量级的微纳光纤耦合器进行无标生物检测时，其在较小的动态范围内具有非常高的检测灵敏度和优良的线性特性。

3.4　解离再生实验

传感器的解离再生是影响生物传感器实用化的重要指标。抗原与抗体的结合反应具有可逆性，即抗原与相应抗体结合成复合物后，在一定条件下又可以解离为游离抗原与抗体。目前最常用的解离方法为加入强酸缓冲液，如含有 10 mmol/L 甘氨酸的氨基乙酸-盐酸(pH 范围为 1.5～2.5)。当溶液呈酸性时，抗体结构的部分展开导致抗体带正电荷，对检测抗原产生排斥力，使抗原-抗体复合物分离，从而实现传感表面的再生。加入解离液后可多次重复使用微纳光纤耦合器。为此，在上节实验的基础上，多次解离后对质量浓度为 2 pg/mL 的羊 IgG 抗原进行检测，得到波长为 508.75 nm 的光谱响应曲线和光强统计图(如图 8 所示)。

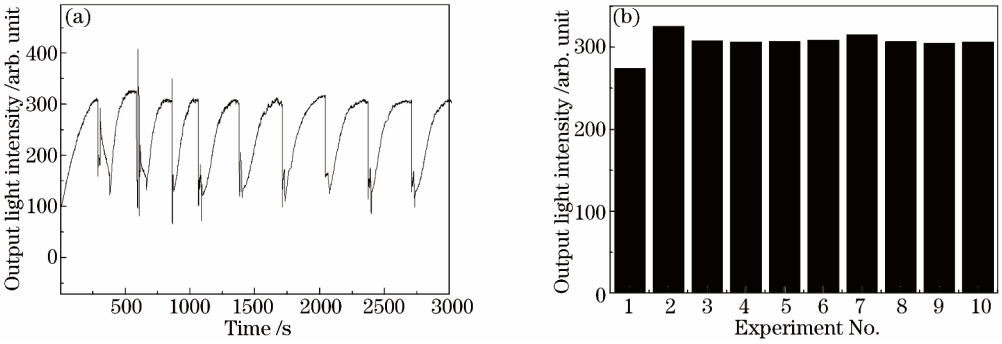

图 8　多次传感器解离实验后的(a)光谱响应曲线和(b)输出光强统计图

Fig. 8　(a) Spectral response curve and (b) histogram of output light intensity after many sensor dissociation experiments

解离实验过程中，抗原与抗体的结合与解离反应使谱线来回移动，造成了定波长光强的上下振荡。由图 8(b)可知，微纳光纤耦合器用于生物检测时具有较高的可靠性，且可以多次重复使用。

4　结　论

提出了一种基于微纳光纤耦合器的高灵敏度和可重复使用的生物传感器。通过理论与实验研究，证实了该传感器的灵敏度特性。结果表明，基于波导间模式的弱耦合模型，可在被测折射率变化较小范围内准确模拟微纳光纤耦合器峰值波长随外界折射率的变化。对锥腰直径为 3 μm 的微纳光纤耦合器进行实验，发现折射率检测灵敏度的实验结果和理论计算结果高度一致；将此微纳光纤耦合器用于检测羊 IgG 抗原，得到了 2 pg/mL 的检出限；通过 10 次解离再生重复检测实验，监测定波长的输出谱线，10 次实验得到的输出谱线一致，表明微纳光纤耦合器用于生物检测时具有较高的可靠性，且可以多次重复使用。通过理论优化耦合器的结构和尺度，还可以继续提升其灵敏度，因此该微纳光纤耦合器在生物传感方面具有良好的性能和实用化前景。

参　考　文　献

[1] Huang Huijie, Zhai Junhui, Ren Bingqiang, *et al*. Fiber-optic evanescent wave biosensor and its application[J]. Acta Optica Sinica, 2003, 24(4): 451-454.
黄惠杰，翟俊辉，任冰强，等. 光纤倏逝波生物传感器及其应用[J]. 光学学报，2003，24(4)：451-454.

[2] Wu Xiaoqin, Wang Yilin, Tong Limin. Optical microfibers and their applications[J]. Physics, 2015, 44(6): 356-365.
伍晓芹，王依霖，童利民. 微纳光纤及其应用[J]. 物理，2015，44(6)：356-365.

[3] Liao C R, Wang D N, He X Y, *et al*. Twisted optical microfibers for refractive index sensing[J]. IEEE Photonics Technolology Letters, 2011, 23(13): 848-850.

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[4] Bo L, O′Mahony C C, Semenova Y, *et al*. Microfiber coupler based label-free immunosensor[J]. Optics Express, 2013, 22(7): 8150-8155.

[5] Xia Xiquan, Cao Yi. Development and application of biosensors, a review[J]. Journal of Chongqing Vocational & Technical Institute, 2008, 17(1): 149-152.
夏西泉, 曹 毅. 生物医学传感器的发展与应用综述[J]. 重庆职业技术学院学报, 2008, 17(1): 149-152.

[6] Natale C D, Paolesse R, Macagnano A, *et al*. Electronic nose and electronic tongue integration for improved classification of clinical and food samples[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2000, 64(1-3): 15-21.

[7] Leung A, Rijal K, Shankar P M, *et al*. Effects of geometry on transmission and sensing potential of tapered fiber sensors[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2006, 21(12): 2202-2209.

[8] Daneshvar M A, Peralta J M, Casay G A, *et al*. Detection of biomolecules in the near-infrared spectral region via a fiber-optic immunosensor[J]. Journal of Immunological Methods, 1999, 226(1): 119-128.

[9] de Grandpre M D, Burgess L W. Long path fiber-optic sensor for evanescent field absorbance measurements[J]. Analytical Chemistry, 1988, 60(23): 2582-2586.

[10] Leung A, Shankar P M, Mutharasan R. Real-time monitoring of bovine serum albumin at femtogram/mL levels on antibody-immobilized tapered fibers[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2007, 123(2): 888-895.

[11] Rijal K, Leung A, Shankar P M, *et al*. Detection of pathogen Escherichia coli O157 … H7 AT 70 cells/mL using antibody-immobilized biconical tapered fiber sensors[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2001, 21(6): 871-880.

[12] Haddock H S, Shankar P M, Mutharasan R. Evanescent sensing of biomolecules and cells[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2003, 88(1): 67-74.

[13] Leung A, Shankar P M, Mutharasan R. Model protein detection using antibody-immobilized tapered fiber optic biosensors (TFOBS) in a flow cell at 1310 nm and 1550 nm[J]. Sensors and Actuators B, 2008, 129(2): 716-725.

[14] Leung A. Detection of cells, proteins, and DNA using tapered fiber-optic biosensors (TFOBS)[D]. Philadelphia: Drexel University, 2007.

[15] Wiejata P J, Shankar P M, Mutharasan R. Fluorescent sensing using biconical tapers[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2003, 96(1-2): 315-320.

[16] Hsieh B Y, Chang Y F, Ng M Y, *et al*. Localized surface plasmon coupled fluorescence fiber-optic biosensor with gold nanoparticles[J]. Analytical Chemistry, 2007, 79(9): 3487-3493.

[17] Liu G G, Wu Y H, Li K W, *et al*. Mie scattering-enhanced fiber-optic refractometer[J]. IEEE Photonics Technology Letters, 2012, 24(8): 658-660.

[18] Li K W, Liu G G, Wu Y H, *et al*. Gold nanoparticle amplified optical microfiber evanescent wave absorption biosensor for cancer biomarker detection in serum[J]. Talanta, 2014, 120: 419-424.

[19] Yang S W, Wu T L, Wu C W, *et al*. Numerical modeling of weakly fused fiber-optic polarization beamsplitters -Part II: The three-dimensional electromagnetic model[J]. Journal of Lightwave Technology, 1998, 16(4): 691-696.

[20] Payne F P, Hussey C D, Yataki M S. Polarisation analysis of strongly fused and weakly fused tapered couplers[J]. Electronics Letters, 1985, 21(13): 561-563.

[21] Liu Guigen. Studies on the enhancement of dynamic range and sensitivity for fiber-optic biosensors[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2013: 51-60.
刘桂根. 光纤生物传感的动态范围及灵敏度增强效应研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2013: 51-60.

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net