Capítulo 4

Fabricación de los cantilevers ópticos

La fabricación de los cantilevers ópticos en Sala Blanca comienza con el diseño de un proceso de fabricación compuesto por una conjunto de pasos basados en la deposición de materiales, litografía y grabado para definir las estructuras en una oblea de silicio. Este proceso comienza con el diseño de las máscaras litográficas necesarias para definir las estructuras de los dispositivos..

En el diseño de estas máscaras se definen las dimensiones del chip que contienen los sensores, así como ciertos parámetros que determinan la sensibilidad de los dispositivos, esto son: la anchura de las guías de onda y del microcantilever, la longitud del microcantilever, la distancia de seguridad y la distancia del *gap*, tal y como se analizó en la sección 3.2. El diseño de las máscaras se realizó en un programa de dibujo vectorial, *KLayout* [90], desarrollado especialmente para realizar esta tarea.

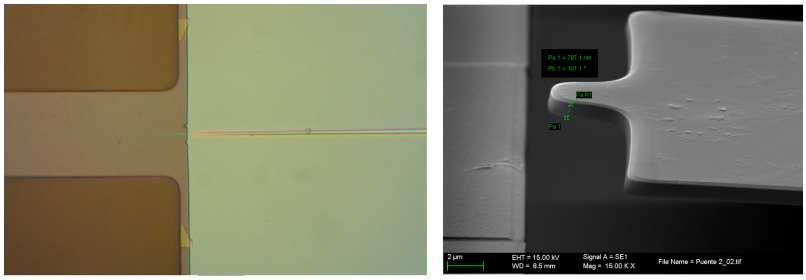
Una vez verificado el diseño del conjunto de máscaras, estas fueron en Compugraphics [91], en cristal de cuarzo de 5 pulgadas, con una resolución máxima de 0,7 μm, lo que permite definir la distancia de *gap* mínimo de 1 μm.

Los dispositivos han sido fabricados en la Sala Blanca del Instituto de Microelectrónica de Barcelona perteneciente al Centro Nacional de Microelectrónica (IMB-CNM) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas CSIC, reconocida con la etiqueta Instalación Nacional Científico Técnica Singular (ICTS). Durante la fabricación se ha supervisado de forma continuada los distintos procesos de fabricación.

4.1. Consideraciones para el diseño de las máscaras

Los dispositivos propuestos representan la siguiente generación de cantilevers ópticos desarrollados en el grupo donde se ha llevado a cabo este trabajo. Los primeros diseños de los *chips* tenían dimensiones de 6,5 mm de ancho y 3,1 mm de largo, y contenían 20 cantilevers ópticos de distintas longitudes, separados una distancia de 250 μm [53]. Gracias a estas dimensiones las pérdidas de potencia óptica por radiación en las guías son pequeñas, debido a la proximidad de la entrada de la guía con respecto al microcantilever. El inconveniente de este diseño es su fragilidad y la dificultad de conseguir un sellado adecuado con una celda de flujo para realizar los procesos de medidas de interacciones biomoleculares.

Para solventar estos problemas se introdujeron multitud de cambios, destacando la ampliación de las dimensiones del chip con 10 mm de ancho y 8 mm de largo, que hace mucho más sencilla su manipulación, además de conseguir el sellado con una celda de flujo. La diferencia de ambas versiones se muestra en la figura 4.2. Junto con esta modificación se añadieron otras modificaciones a los dispositivos, con el fin de mejorar la eficiencia de acople de la luz al microcantilever, como la introducción de un diseño de guía de entrada en forma de *taper*, tanto horizontal como vertical, tal y como muestra la figura 4.1-a. Otra modificación fue el uso de una estructura de doble distancia de *gap*, con el fin de ampliar el rango de trabajo del cantilever óptico (figura 4.1-b). Lamentablemente estas nuevas mejoras no generaron los resultados esperados.



a) b)

Figura 4.1: Detalle de diseño de los *OWC v2*: a) *taper* a la entrada del cantilever óptico b) extremo libre con dos distancias de *gap*.

Para la fabricación de los dispositivos se han acotado la cantidad de parámetros que intervienen en la sensibilidad de los cantilevers ópticos, estudiados en la sección 3.2, debido a la complejidad de abordarlos todos conjuntamente.

Atendiendo a la distancia de seguridad L_s, para conseguir una mejor eficiencia en la interfaz, se ha reducido esta distancia hasta los 500 nm, respecto a los 2 μm de fabricaciones anteriores.

Respecto a las dimensiones del cantilever óptico, se ha optado por la fabricación de microcantilevers de anchura $b_c = 30$ μm y tres longitudes: $L_c = 100$ μm, $L_c = 150$ μm y $L_c = 200$ μm , esto permite obtener microcantilevers de distinta sensibilidad mecánica.

Atendiendo a la sensibilidad óptica se han seleccionado dos distancias de *gap* $L_g = 1$ μm y $L_g = 2$ μm, junto con una tercera que hace de referencia $L_g = 0$ μm que dan lugar a microcantilevers no liberados (puentes). Debido a las limitaciones ópticas en la resolución de fabricación, la obtención de distancias inferiores a 1 μm requiere de procesos de ataque con haz de iones (FIB) en los puentes.

Finalmente para las guías de onda de entrada se ha optado por tres anchuras diferentes, dos de anchura constante $b_w = 30$ μm que abarca el ancho del microcantilever y $b_w = 10$ μm empleada en fabricaciones anteriores, y una tercera guía de entrada que se estrecha desde las 30 μm a la entrada, hasta las 10 μm en la entrada del microcantilever, denominada guía tipo *taper*.

Figura 4.2: Chips de cantilevers ópticos: a) primera versión; b) segunda versión.

4.2. Descripción de las máscaras litográficas

La fabricación de los dispositivos propuestos requiere del diseño de 4 niveles de máscaras que contienen los trazos o motivos necesarios para fabricar 43 chips en una oblea de 5 pulgadas. Cada chip contiene 18 cantilevers y un mínimo de 4 guías de referencia que permiten realizar estudios de caracterización.

Las máscaras están organizadas por niveles, según el orden de uso dentro del proceso de fabricación. Cada máscara posee una zona donde se sitúan las marcas de alineamiento que permiten alinear una máscara con respecto a las anteriores, y de esta forma definir los motivos en una oblea mediante procesos de fotolitografía y ataque (ver figura 4.3).

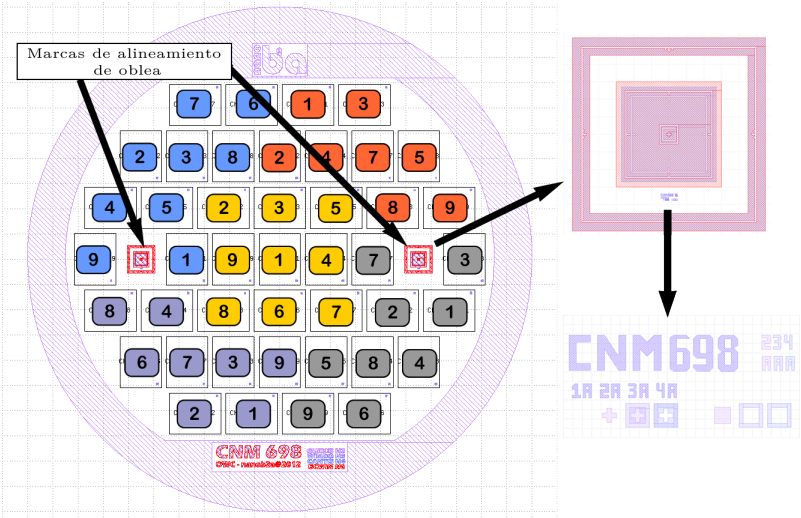


Figura 4.3: Situación de los motivos de alineamiento en la oblea.

Para la fabricación de los cantilevers ópticos, se han empleado 4 niveles de máscaras principales, mas 2 adicionales destinadas a fabricaciones experimentales. El contenido de cada máscara es:

- Máscara 1 (*GUIDES N2*)[1]: contiene los motivos para definir las guías de onda, así como información de cada dispositivo: número de referencia del chip, dimensiones del cantilever, distancia de *gap* o anchura de la guía de onda (ver figura 4.4). Esta máscara se denomina de *campo claro*, lo que indica que el motivo está definido con cromo en la máscara protegiendo la resina de la exposición.

- Máscara 2 (*WINDO N3*): contiene los motivos que definen una ventana en el centro del chip donde se situarán los microcantilevers, además del borde del chip para poder extraerlo de la oblea (figura 4.5). Esta máscara está definida como *campo oscuro*, es decir solo se expone en la fotolitografía los motivos dibujados en la máscara.

[1]Es una máscara de nivel 2, el nivel 1 posee datos para oblea experimentales.

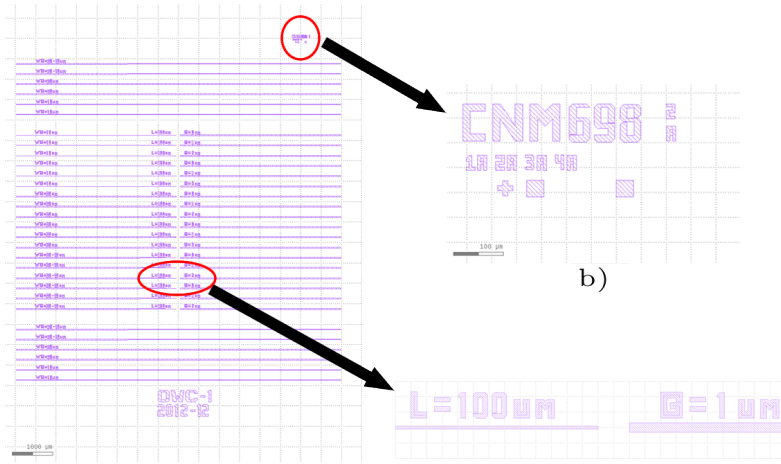


Figura 4.4: Máscaras 1 *GUIDES N2*: a) motivos de un chip; b) motivos de alineamiento; c) detalles de la guía en la zona del microcantilever, con la información de la longitud y distancia de *gap* del microcantilever.

- Máscara 3 (*CANTIS N4*): Esta máscara de *campo oscuro* contiene los motivos que definen al microcantilever dentro de la ventana central definida en las mascara 2, junto con la definición del borde del chip, de forma idéntica a la de la máscara 2 (figura 4.6).

- Máscara 4 (*BCWIN N6*)[2]: esta máscara de *campo oscuro*, se aplica por la parte trasera de la oblea para abrir la ventana central del chip y los bordes del chip para poder extraerlo de la oblea (figura 4.7).

4.3. Contenido del juego de máscaras

Dentro de la oblea existen 9 modelos de chips, definidos como *OWC-X*, con al menos 4 unidades de cada tipo distribuidos ordenadamente en la oblea tal y como muestra la figura 4.3. Con esta distribución se asegura que en caso de existir diferencias de espesores de capas dentro de la oblea, causadas por la fabricación, siempre exista un tipo de cada chip en cada zona. Cada uno de estos chips está diseñado para cubrir el estudio de los parámetros de longitud de microcantilever y la distancia de *gap*, junto con la anchura y forma de la guía de entrada.

[2]La máscara de nivel 5 es una máscara para diseños experimentales.

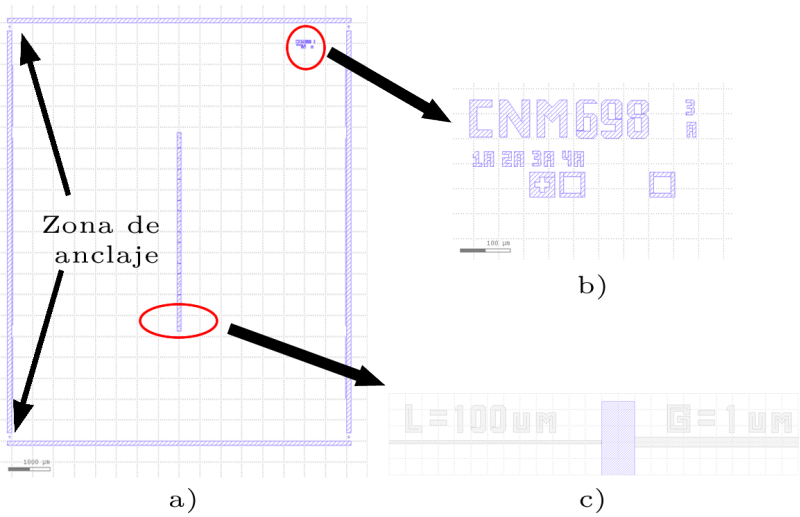


Figura 4.5: Máscaras 2 *WINDO N3*: a) motivos de un chip; b) motivos de alineamiento; c) motivo de la ventana superior en la zona del microcantilever (guías en color gris).

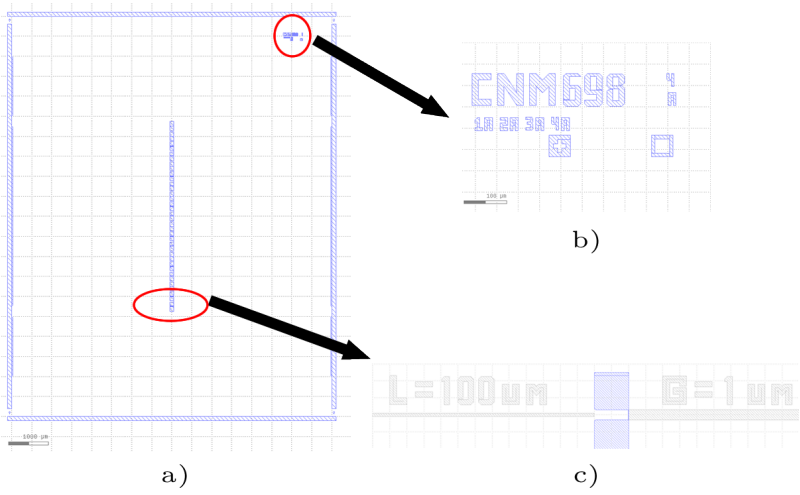


Figura 4.6: Máscaras 3 *CANTIS N4*: a) motivos de un chip; b) motivos de alineamiento; c) motivo del microcantilever (guías en colo gris).

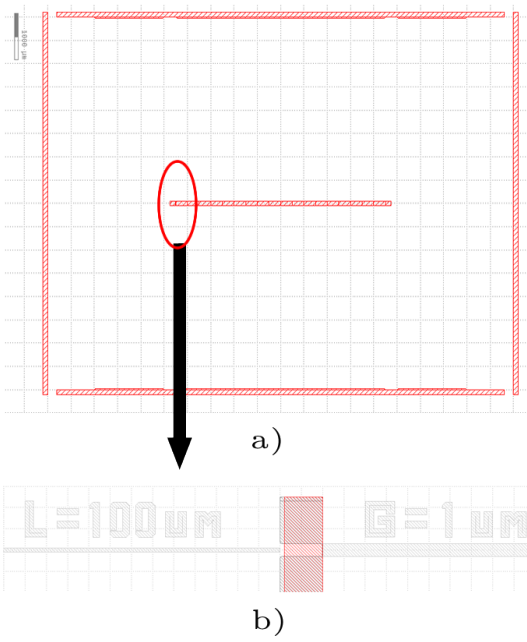


Figura 4.7: Máscaras 4 *BCWIN N6*: a) motivos de un chip; b) motivo de la ventana inferior para taladrar la oblea (guías en colo gris).

Los chips de tipo *OWC–1*, *OWC–2* y *OWC–3* se diferencian en la longitud de sus microcantilevers L_c: 100 μm, 150 μm y 200 μm respectivamente. Los microcantilevers están agrupados según las dimensiones de su guía de entrada, y cada grupo posee distancias de *gap* distribuidas tal y como muestra la figura 4.8-b. Mediante esta distribución es posible comparar los microcantilevers en función de la distancia de *gap*, así como las diferencias existentes por el uso de las distintas guías de onda.

Los chips de tipo *OWC–4*, *OWC–5* y *OWC–6* contienen microcantilevers de las tres longitudes seleccionadas (figura 4.9). Se diferencian entre sí en el tipo de guía de entrada: 10 μm (*OWC–4*), 30 μm(*OWC–5*) o *taper* (*OWC–6*). De la misma forma que para los tipos *OWC–1*, *OWC–2* y *OWC–3*, los microcantilevers poseen distintas longitudes de *gap* L_g con la distribución mostrada en la figura 4.8-b. Con esta distribución es posible comparar, para una misma guía de onda de entrada, cómo afecta la longitud del microcantilever L_c.

Los chips de tipo *OWC–7*, *OWC–8* y *OWC–9* poseen todos sus microcantilevers de la misma longitud y todos poseen una guía de entrada con una anchura de 10 μm. La distribución de la distancia de *gap* L_g es la siguiente:

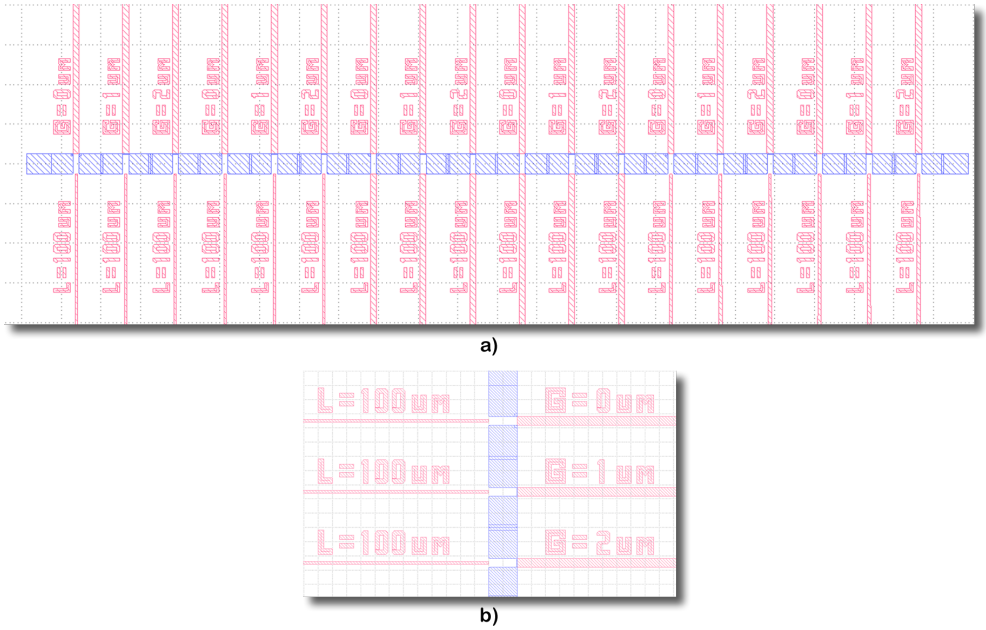


Figura 4.8: Máscara de chips tipo *OWC–1*: a) detalle de la ventana; b) detalle de un grupo de microcantilevers con diferentes distancia de *gap*.

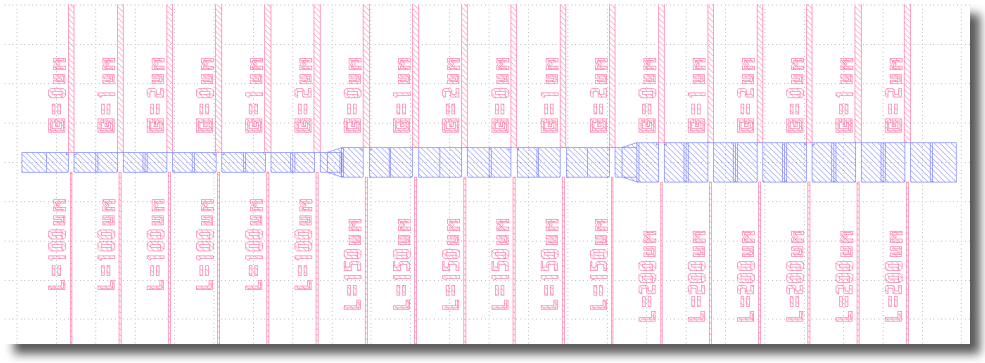


Figura 4.9: Máscara de chips tipo *OWC 4* con distintas longitudes de cantilevers.

5 microcantilevers de $L_g = 0\ \mu m$, 5 microcantilevers de $L_g = 1\ \mu m$, 2 microcantilever de $L_g = 0\ \mu m$ que sirven de referencia en el centro de la ventana, 5 microcantilevers de $L_g = 2\ \mu m$ y finalmente un microcantilever con $L_g = 0\ \mu m$ como referencia en el otro extremo de la ventana. El objetivo de estos chips es realizar medidas simultáneas con microcantilevers de igual dimensiones de *gap*.

4.4. Proceso de fabricación

Antes de comenzar con el proceso de fabricación en sala blanca es necesario elaborar una hoja de proceso, llamada *run*, donde se indican de forma ordenada todas las etapas del proceso. La sucesión de etapas son introducidas en una aplicación de gestión de procesos de fabricación denominada *BACO* desarrollada en el Centro Nacional de Microelectrónica (CNM). Cada etapa del *run* está definida por unas siglas (ver Capítulo B), junto con los datos necesarios para procesar dicha etapa.

Los procesos pueden ser estándar, es decir, tareas que se realizan de forma frecuente, etapas *semi-estándar*, muy similares a las estándar con la variación de algún parámetro concreto y finalmente las etapas especiales o *no estándar*, llamados también *de ingeniería*, que presentan casos especiales a los procesos estándar. Tras la elaboración de la hoja de *run* los técnicos de la sala blanca verifican la viabilidad del proceso de fabricación. La fabricación de los cantilever ópticos requiere 29 etapas que se resumen en la figura 4.10 y que se detalla a continuación.

4.4.1. Preparación de las obleas

El proceso de fabricación comienza con obleas de silicio de 5 pulgadas con un espesor de 300 μm y pulidas por ambas caras (Tabla 4.1, etapas 1 y 2). Las obleas son marcadas (*MARC-PXA*) para poder identificarlas durante el proceso de fabricación, y pasan a una etapa de limpieza general (*NETG-GEN*) para eliminar posibles residuos orgánicos y óxidos superficiales.

Tras la preparación de las obleas se crecen 2 μm de óxido de silicio SiO_2 térmico (*OHC-XXX*) a 1100º mediante oxidación húmeda (Tabla 4.1 etapa 3). Esta capa de óxido de silicio es el material de los microcantilevers con un índice de refracción de $n = 1{,}46$. Este óxido es además el sustrato de las guías de ondas, por lo que su espesor debe ser mayor que el espesor final del microcantilever, con el fin de alejar la guía de onda del silicio, y evitar de esta forma atenuaciones en la longitud de onda de trabajo ($\lambda = 660\ nm$).

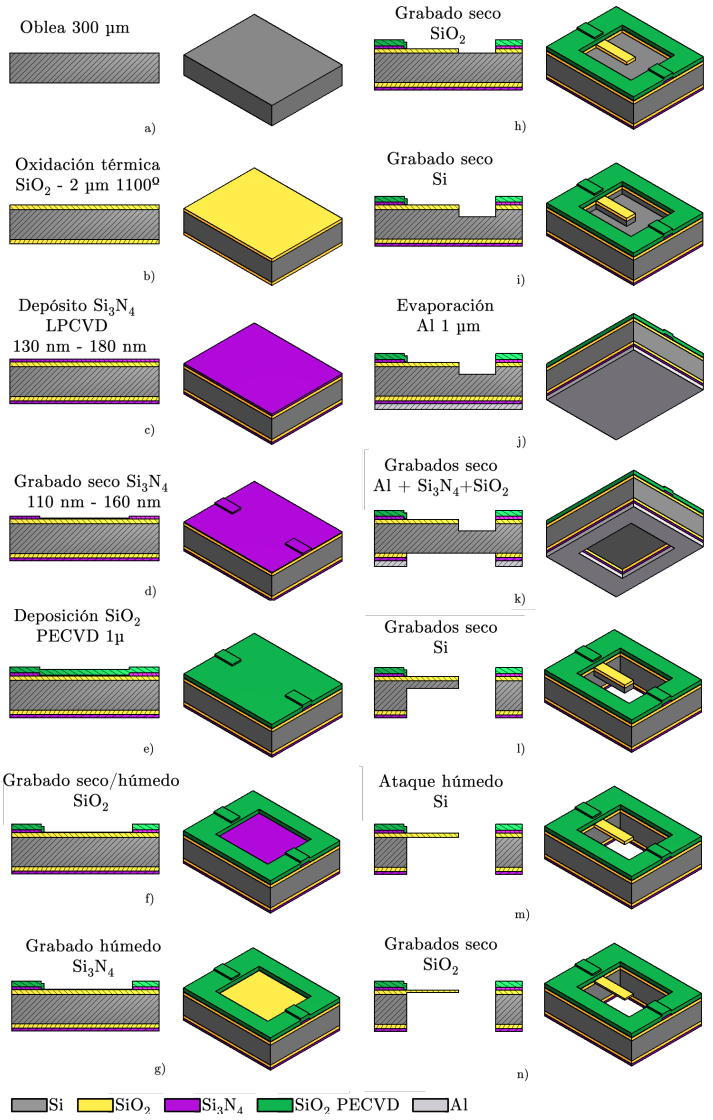
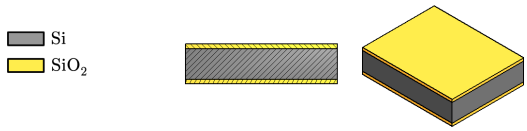


Figura 4.10: Proceso completo de fabricación de los cantilevers ópticos.

Tabla 4.1: Preparación de las obleas.

Nº etapa	Código	Descripción	Nº Obleas
1	*MARC-PXA*	Marcado de las obleas	1–6
2	*NETG-GEN*	Limpieza de las obleas	1–6
3	*OHC-XXX*	2 μm de oxido térmico 1100º	1–6
			

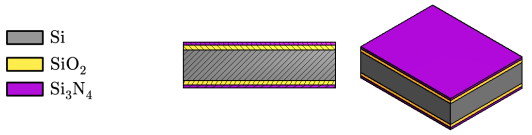
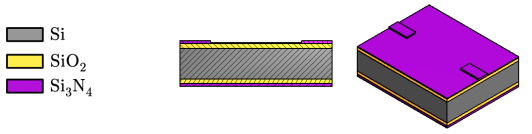
4.4.2. Definición de las guías de onda

A continuación se realiza una deposición de nitruro de silicio ($n_{Si_3N_4} = 2{,}00$) mediante deposición química en fase vapor a baja presión (LPCVD), material donde en las siguientes etapas se definen las guías de ondas (Tabla 4.2 etapa 4). Se seleccionaron los dos espesores estudiados en la simulaciones, cercanos a los límites inferior y superior, donde la guía sólo acepta el modo fundamental de propagación ($h_w = 130\ nm$ etapa semi-estándar *DNITXXX* y $h_w = 180\ nm$ etapa estándar *DNITAAA*).

Tras la deposición del nitruro de silicio se realiza un primer paso de fotolitografía (*FOTO-FCD*) en la cara componentes para definir las guías de onda (máscara *GUIDES-N2*). Para esta etapa se emplean 1,2 μm de fotoresina positiva 6512. En este punto es necesario medir la curvatura de las obleas, con el fin de determinar si es necesario eliminar la capa de nitruro de la cara *dorso*, debido al estrés en la interfaz nitruro de silicio - óxido de silicio.

En la siguiente etapa se realiza un grabado en seco (*GGIR-ESP*) para definir las guías de ondas (Tabla 4.2 etapa 6). Este ataque deja una capa de 20 nm de nitruro de silicio que actuará como barrera para un ataque húmedo en los siguientes pasos. Para concluir la definición de las guías de ondas se realiza un decapado de la resina (*DEC-RESI*), seguido de una limpieza simple (*NETG-SIM*) para eliminar posibles restos de resina y proseguir con el proceso.

Tabla 4.2: Definición de las guías de ondas.

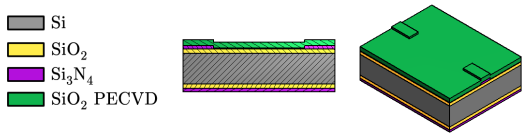
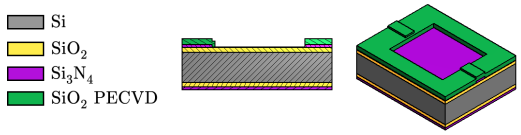
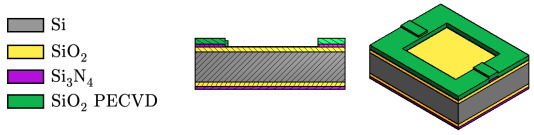
Nº etapa	Código	Descripción	Nº Obleas
4	*DNITXXX*	Deposición de 130 nm de Si_3N_4 LPCVD	1–3,5
	DNITAAA	Deposición de 180 nm de Si_3N_4 LPCVD	4,6
			
5	*FOTO-FCD*	Fotolitografía de la máscara *GUIDES-N2*	1–6
6	*GGIR-ESP*	Grabado seco 110 nm de Si_3N_4	1–3,5
	GGIR-ESP	Grabado seco 160 nm de Si_3N_4	4,6
7	*DEC-RESI*	Decapado de la resina	1–6
8	*NETG-SIM*	Limpieza simple de las obleas	1–6
			

4.4.3. Apertura de la ventana superior

En la siguiente etapa se deposita 1 μm de óxido de silicio mediante deposición química en fase vapor asistida por plasma (PECVD) en la cara componentes (*DIAMIOX11*). Esta capa protege a las guías de onda, actuando como cubierta (Tabla 4.3 etapa 9).

Posteriormente se realiza una fotolitografía empleando la máscara *WINDO-N3* (*FOTO-FCD*). Esta máscara define la ventana por la cara *componentes*. Para endurecer la resina para soportar los sucesivos ataques del óxido de silicio esta se calienta a 200º durante 30 minutos. La apertura de esta ventana requiere eliminar el óxido de silicio PECVD descubierto por la máscara sin deteriorar el óxido de silicio térmico donde se definirán los microcantilevers. Por este motivo la tarea se realiza en dos fases: en una primera se aplica un ataque en seco con una profundidad de 900 nm (*PGIOXXXX*), dejando 100 nm de espesor de óxido de silicio (Tabla 4.3 etapa 11). En la segunda fase, se realiza un ataque húmedo en SiOEtch (*QGOXRXXX*) hasta alcanzar al nitruro de

Tabla 4.3: Definición de la ventana superior del chip.

Nº etapa	Código	Descripción	Nº Obleas
9	*DIAMIOX11*	Deposición de 1 μm de SiO_2 PECVD	1–6
			
10	*FOTO-FCD*	Fotolitografía de la máscara *WINDO-N3*	1–6
11	*PGIOXXXX*	Grabado seco 900 nm de SiO_2	1–6
12	*QGOXRXXX*	Grabado húmedo de 100 nm de SiO_2	1–6
13	*DEC-RESI*	Decapado de la resina	1–6
			
14	*GHUM-ESP*	Grabado húmedo de 20 nm de Si_3N_4	1–6
			

silicio, que hace de barrera del ataque (Tabla 4.3 etapa 12). Finalmente se realiza un decapado de la resina (*DEC-RESI*).

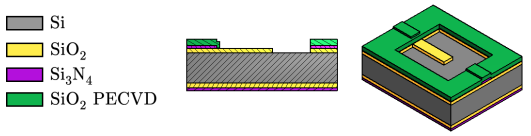
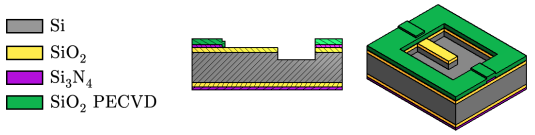
Alcanzada la barrera de nitruro de silicio se procede a su decapado para acceder al óxido de silicio donde se definirán los microcantilevers. Para realizar este proceso se aplica un grabado húmedo de los 20 nm restantes de nitruro (*GHUM-ESP*) en ácido fosfórico (Tabla 4.3 etapa 14). En esta situación por la cara *dorso* también se produce un ataque, aunque no es crítico ya que esta cara no poseerá ningún componente.

4.4.4. Definición de los OWC

Tras acceder a la capa superior de óxido térmico, y con las guías ya protegidas por el óxido de silicio, se procede a realizar la fotolitografía en la cara

componentes para definir la forma de los microcantilever. Para esta etapa se realiza una fotolitografía especial (*FOTO-ESP*) con la máscara *CANTIS-N4*, empleando 2 μm de resina para poder superar el escalón de 1 μm que define la ventana. En este momento del proceso es necesario analizar la calidad de la fotolitografía debido a la existencia del escalón generado en la ventana superior y al espesor de resina empleado. Bajo estas condiciones se pueden presentar problemas de alineamiento, por lo que se debe verificar que la distancia de *gap* va a ser grabada correctamente. Tras la verificación de la fotolitografía se realiza una etapa de mejora de la resina (*PRE-GRAV*) y su recocido en un horno durante 30 minutos a 200º (*ESPECIAL*).

Tabla 4.4: Definición de los microcantilevers en la ventana.

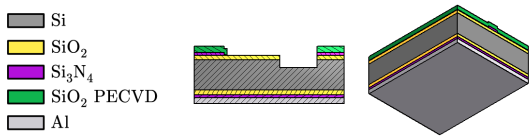
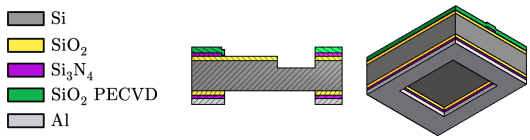
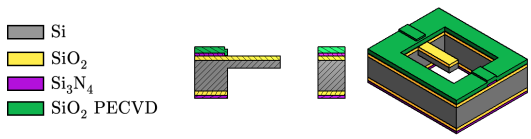
Nº etapa	Código	Descripción	Nº Obleas
15	*FOTO-ESP*	Fotolitografía de la máscara *CANTIS-N3*	1–6
16	*PRE-GRAV*	Endurecimiento de la resina con plasma	1–6
17	*ESPECIAL*	Recocido de resina 30min 200º	1–6
18	*PGIOXGUI*	Grabado en seco de SiO_2	1–6
			
19	*P601DEEP*	Ataque de 5 μm de silicio	1–6
20	*DEC-RESI*	Decapado de la resina	1–6
			

Para definir los microcantilevers en la ventana se realiza un grabado seco de las 2 μm de óxido de silicio (*PGIOXGUI*) (Tabla 4.4 etapa 18). Una vez finalizada la etapa del grabado de óxido se continúa atacando con la misma máscara el silicio bajo el óxido, mediante un ataque seco (*P601DEEP*) (Tabla 4.4 etapa 19). Esta operación tiene el objetivo de crear microcantilevers con una base de 5 μm de silicio en el momento de liberarlos, lo que les permite soportar los ataques profundos de estas etapas y controlar su espesor final si llegar a dañarlos. Finalmente se realiza el decapado de la resina (*DEC-RESI*).

4.4.5. Liberación de los OWC

En este momento del proceso la cara *componentes* posee todos los motivos del diseño, por lo que se procede a la liberación de los microcantilever abriendo la ventana por la cara *dorso*. Para ello se metaliza la cara *dorso* con 1 μm de aluminio (*MZ550ING*). Esta nueva capa es necesaria para soportar el ataque profundo de las 290 μm de silicio (Tabla 4.5 etapa 21).

Tabla 4.5: Apertura de la ventana de los microcantilevers.

Nº etapa	Código	Descripción	Nº Obleas
21	*MZ550ING*	Metalización de Aluminio en cada *dorso*	1–6
			
22	*FOTO-ESP*	Fotolitografía con máscara *BCWIN-N6* con 2 μm de resina en cara *componentes*	1–6
23	*QUAD-ESP*	Grabado seco del aluminio	1–6
24	*AMRIEING*	Grabado en seco del Si_3N_4 y del SiO_2	1–6
			
25	*P601DEEP*	Ataque de 2955 μm de silicio	1–6
26	*DEC-RESI*	Decapado de la resina	1–6
27	*QGALCXXX*	Decapado del aluminio empleado como máscara	1–6
			

Tras la metalización con aluminio se realiza la fotolitografía por la cara *dorso* con la máscara *BCWIN-N6*. Para realizar esta etapa (*FOTO-FKD* especial) es necesario proteger la cara *componentes* con 6 μm de resina y de esta forma

proteger esta cara de los sucesivos ataques.

En la siguiente etapa se aplica un grabado en seco (*QUAD-ESP*) del aluminio, abriendo la ventana por la cara *dorso* seguida de un ataque seco del nitruro y del óxido de silicio (*AMRIEING*) (Tabla 4.5 etapas 23 y 24).

Tras estos ataques en seco, se alcanza el silicio de la oblea, al que se le aplica un ataque profundo (*P601DEEP*) de 295 μm (Tabla 4.5 etapa 25). Esta etapa es bastante agresiva, por lo que para ataques muy profundos la resina de la máscara termina por desaparecer, y entra en juego el aluminio, que actúa como máscara. Finalmente se retira la resina (*DEC-RESI*) de la fotolitografía y la de protección de la cara *componente*. Para finalizar con el ataque profundo se realiza un decapado del aluminio mediante una ataque húmedo (*QGALCXXX*).

4.4.6. Ajuste del espesor de los OWC

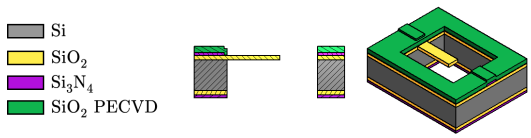
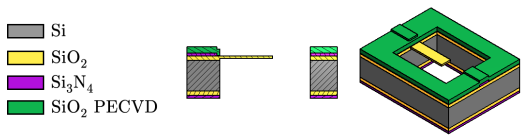
Antes de establecer el espesor deseado de los microcantilevers es necesario retirar el silicio que los sostiene mediante un ataque húmedo en Hidróxido de Tetrametilamonio (TMAH) al 25 % y 80º (*MSTMHING*) (Tabla 4.6 etapa 28). En este punto los microcantilevers poseen un espesor de 2 μm de óxido de silicio, por lo que se les aplica un último ataque seco (*GGIR-ESP*) para definir el espesor deseado (Tabla 4.6 etapa 29). Este ataque se realiza por la cara *dorso*, empleando como máscara el nitruro que queda en dicha capa. El estado de la cara *dorso* no tiene especial importancia, al no existir ningún motivo de interés, por lo que es posible atacar la cantidad necesaria para obtener el espesor deseado de los microcantilevers.

4.5. Fabricación de los cantilevers ópticos

Para la fabricación de los dispositivos se comenzó con seis obleas (1–6) de 5 pulgadas, a las que se les practicó una etapa de oxidación de 2 μm del silicio. Para la realización de las guías de onda el conjunto de obleas se dividió en dos grupos, al primer grupo (obleas 1,2,3 y 5) se le depositó una capa de nitruro de silicio de 130 nm de espesor, y al segundo grupo (obleas 4 y 6) la deposición fue de 180 nm.

En la figura 4.11 se muestra el estado de una de las oblea tras la realización de la fotolitografía para la definición de las guías de ondas. Una vez depositado el nitruro de silicio y la realización de la fotolitografía, se realizó una medida de curvatura de las obleas para determinar si era necesario eliminar la capa de nitruro de silicio de la cara *dorso*. El método de medida tiene el riesgo de

Tabla 4.6: Establecimiento del espesor del microcantilever.

Nº etapa	Código	Descripción	Nº Obleas
28	*MSTMHING*	Micromecanizado del silicio en *TMAH*	1–6
			
29	*GGIR-ESP*	Grabado en seco del oxido de silicio 1,750 μm	1,3,4
	GGIR-ESP	Grabado en seco del oxido de silicio 1,650 μm	2,5,6
			

marcar la oblea en su manipulación, por lo que tras obtener la medida de una oblea de cada grupo, y comprobar que la curvatura no superaba las -13 μm, por recomendación de los técnicos de Sala Blanca, se continuó con el proceso de fabricación con el resto de obleas, ya que este valor cobra importancia a partir de las 20 μm.

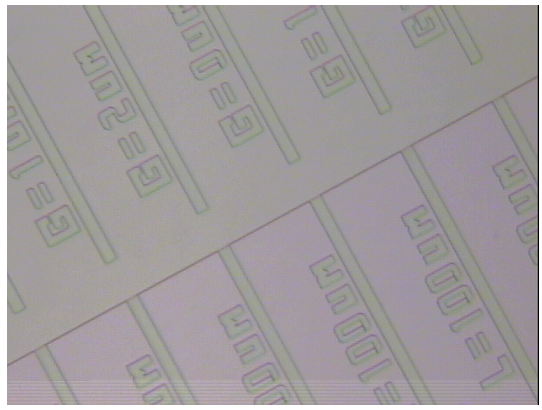


Figura 4.11: Resultado del proceso de fotolitografía de las guías de ondas.

Para definir las guías de ondas se realizó el ataque en seco a cada grupo de

obleas. Al primer grupo se le aplicó un ataque de 110 nm y al segundo grupo de 160 nm, dejando una capa de 20 nm en el resto de la oblea, lamentablemente en este proceso la oblea 6 se rompió.

La deposición del óxido de silicio PECVD de protección de las guías de onda y la apertura de la ventana superior se desarrolló con normalidad y con los resultados esperados. En cambio la definición de los microcantilevers presentó algunas dificultades debido al escalón de 1 μm de la ventana superior. La deposición de la resina para realizar la fotolitografía de la máscara *CANTIS-N4* tuvo que realizarse varias veces, debido a la dificultad para la alineación de las máscaras. Debido a estos problemas, antes de realizar los ataques se revisó el estado de la fotolitografía, donde se observó que algunos de los microcantilevers con distancia de *gap* de 1 μm podían no estar completamente liberados. La definición de motivos con tamaños de 1 μm que se encuentran en un nivel diferente al superficial de la oblea, como el caso de los microcantilevers, está muy al límite de las capacidades de la Sala Blanca del CNM, por lo que se decidió proseguir con la fabricación. En la figura 4.12-a se muestra un microcantilever con una distancia de *gap* de 1 μm liberado.

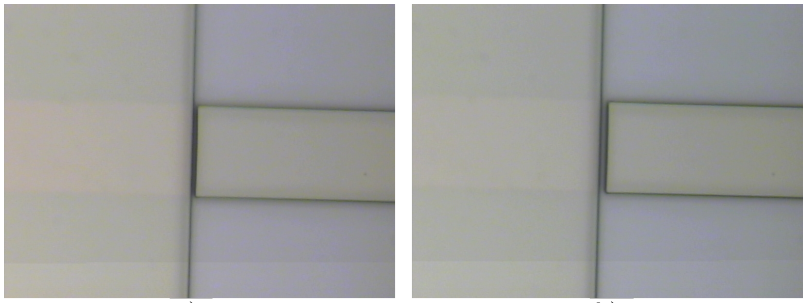


Figura 4.12: Detalle de la distancia de *gap*: a) microcantilever con distancia de *gap* de 1 μm; b) microcantilever con distancia de *gap* de 2 μm.

El resultado del ataque seco para grabar los motivos de los microcantilevers se muestra en la figura 4.13. En esta etapa se realizaron medidas de la curvatura de la oblea, alcanzando valores de 68 μm, que muestran una curvatura considerable en la oblea.

La liberación de los microcantilevers tiene como etapa más crítica los ataques profundos y los ataques para ajustar el espesor final de los microcantilevers. La metalización de aluminio empleado como máscara en el *dorso* de la oblea, así como la fotolitografía y los grabados para alcanzar el silicio de esta cara se realizaron sin problemas.

a) b)

Figura 4.13: Grabado de los microcantilevers: a) microcantilever con distancia de *gap* de 1 μm; b) microcantilever con distancia de *gap* de 2 μm.

En el ataque profundo de silicio mediante ataque por ion reactivo (RIE), las obleas son sujetas ejerciendo un vacío con helio en la cara opuesta a la cara de ataque. Cuando la oblea es atravesada por el ataque, la presión de helio disminuye, y el ataque se detiene automáticamente. Frecuentemente, para poder atacar correctamente toda la oblea, se incorpora una oblea de silicio en la cara opuesta al ataque que evita que se rompa el vacío del helio y pueda continuar el ataque para conseguir taladrar toda la oblea. Al realizar esta operación se produjo un sobre ataque de las estructuras, eliminando todo el silicio bajo los microcantilevers, lo que forzó la anulación de la etapa de micromecanizado con *TMAH*. Este sobre-ataque, mostrado en la figura 4.14 hizo que la capa de óxido de silicio de los microcantilevers tuvieran un espesor irregular. En este proceso la oblea 2 se rompió.

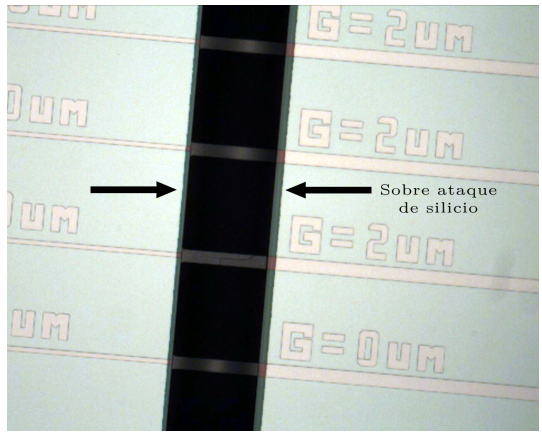


Figura 4.14: Detalle de los microcantilevers sobre-atacados.

Finalmente se realizó el ataque seco en el RIE para obtener el espesor deseado de los microcantilevers. Para ello se procesó la oblea número 1 con los datos teóricos del tiempo de ataque para alcanzar el espesor deseado, seguidamente se inspeccionó en el microscópio electrónico de barrido (SEM) para obtener el espesor real atacado y ajustar de nuevo el cálculo de los tiempos de ataque para conseguir el espesor deseado. Con estos cálculos se procesaron las obleas 1, 3 y 4 para obtener espesores de microcantilevers de 250 nm, y la oblea 5 para obtener microcantilevers de 350 nm. En este proceso la oblea 3 fue procesada por error por la cara *componentes* por lo que finalmente se finalizó con tres obleas que han superado completamente el proceso de fabricación.

4.6. Caracterización estructural de los dispositivos fabricados

Una vez finalizado el proceso de fabricación se obtuvieron tres obleas como la mostrada en la figura 4.15-a, con 43 *chips* que contienen 18 cantilevers ópticos y las guías de referencia (figura 4.15-b).

Para determinar el estado estructural de los dispositivos se realizó una inspección por SEM de varios *chips* de las obleas procesadas. Antes de proceder a la inspección, se midió su eficiencia con el sistema experimental que se presentará en el Capítulo 5. Esto permitió inspeccionar aquellos cantilevers ópticos que transmitían la luz hasta la guía de salida, y poder aproximar su deflexión y compararlo con aquellos que poseían una baja eficiencia de transmisión. Se observó como, de forma general, los OWC con longitud de 100 μm poseían una baja deflexión inicial, que por lo general no superaba las 2 μm (Tabla 4.7), esta baja deflexión permite emplearlos como transductor para realizar las medidas de interacción biomolecular, al situarlos en una zona de deflexión de máxima sensibilidad según las simulaciones realizada de los dispositivos.

Tabla 4.7: Deflexión del extremo libre del OWC para las distintas obleas

Nº Oblea	Distancia de *gap*	Media	Desviación STD	Nº dispositivos
1	2 μm	0,86 nm	1,6 μm	18
5	1 μm	0,32 nm	0,47 μm	28
5	2 μm	0,23 nm	1,42 μm	48

Atendiendo a los OWC de longitud 150 μm y 250 μm, su deflexión inicial es elevada, esto se debe al gradiente de espesor existente entre la zona de anclaje y el centro del cantilever óptico, causado por el sobreataque sufrido durante el proceso de liberación de los microcantilevers. Este efecto se pudo comparar

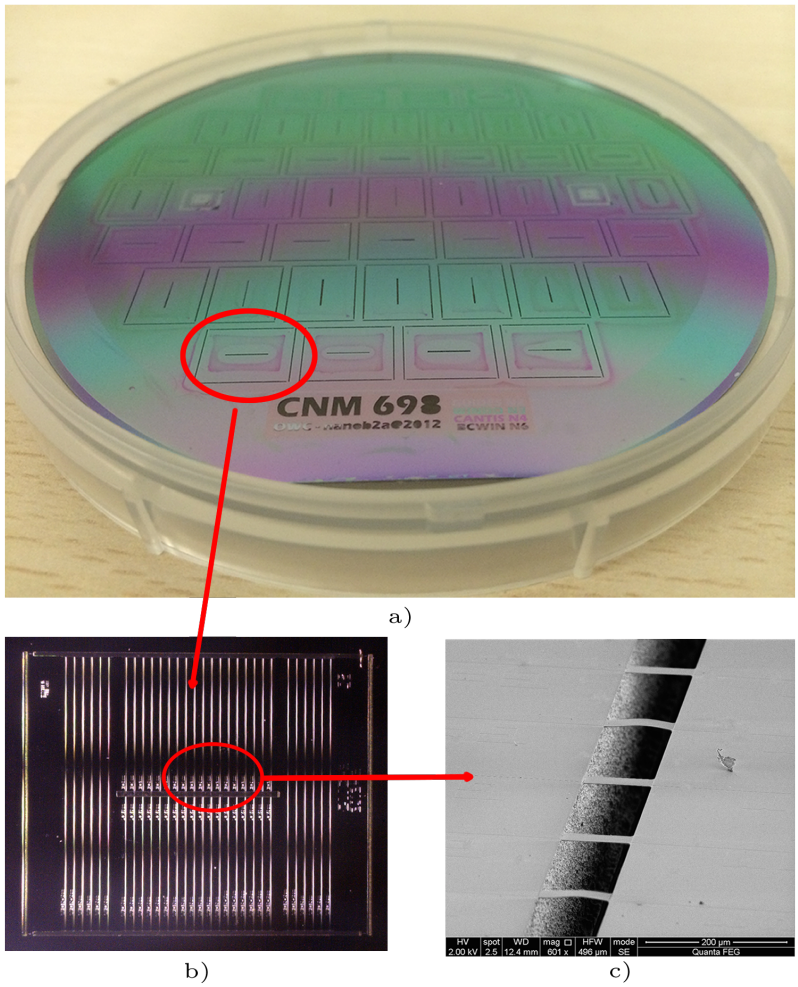
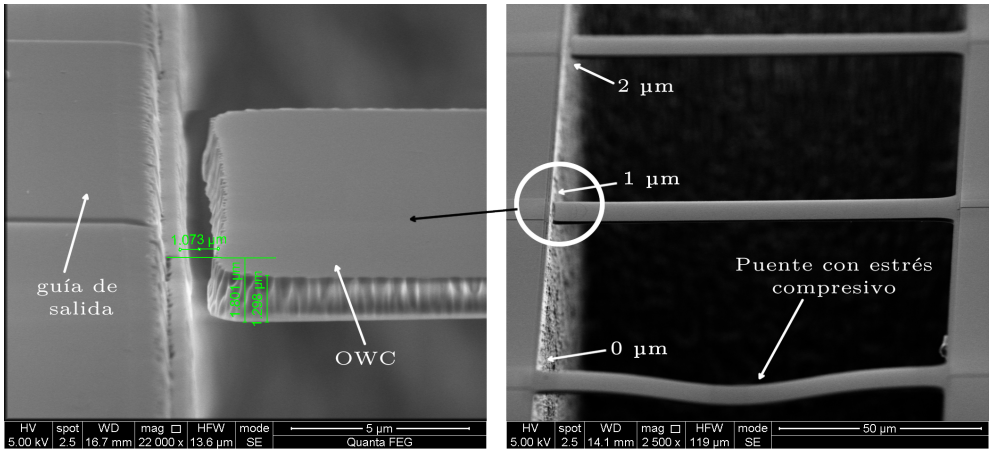


Figura 4.15: Resultado de la fabricación de los dispositivos: a) oblea con 43 *chips*; b) *chip* con 18 OWC y guías de referencia; c) imagen de SEM de la zona de la ventana con los cantilevers ópticos



a) b)

Figura 4.16: Imagen de SEM de los cantilevers ópticos: a) Detalle de la distancia de *gap* y la deflexión del OWC; b) Conjunto de cantilevers con distancia de *gap* de 0 μm, 1 μm y 2 μm

gracias a los *chips* que contienen distintas longitudes de OWC, donde a partir de las medidas tomadas mediante imágenes de SEM (figura 4.17), se observó una diferencia de espesor de 300 nm en el centro del microcantilever entre los OWC de longitud 100 μm (figura 4.17-a) y los de longitud 150 μm y 200 μm (figura 4.17-c). Por este motivo solo se consideraron los OWC de 100 μm de longitud en los estudios de caracterización óptica.

La variación del espesor de los OWC se presenta en la figura 4.18. Las medidas realizadas con SEM mostraron que el espesor de los microcantilever de 100 μm de lago, variaba en torno a las 1,2 μm en el anclaje hasta los 550 nm en el centro del microcantilever en las obleas donde el espesor del microcantilever debía de ser 250 nm. Para los microcantilevers de 350 nm de espesor, su espesor en el anclaje se encuentra sobre las 1,3 μm y 700 nm en el centro. En la figura 4.18 se muestra una imagen de la vista superior realizada con un microscopio óptico donde se puede apreciar esta variación en el espesor de los microcantilever observando las marcas de interferencia que genera la luz cuando se refleja en el microcantilever.

Junto con la deflexión inicial producida por la gradiente de espesor, el sobre-ataque de silicio además provocó la generación de zonas en voladizo, tanto en el anclaje del microcantilever como en la guía de recogida, tal y como se muestra en la figura 4.14. Este efecto también se trasladó a la zona de entrada y salida del chip, generando imperfecciones en los extremos de las guías, tal y

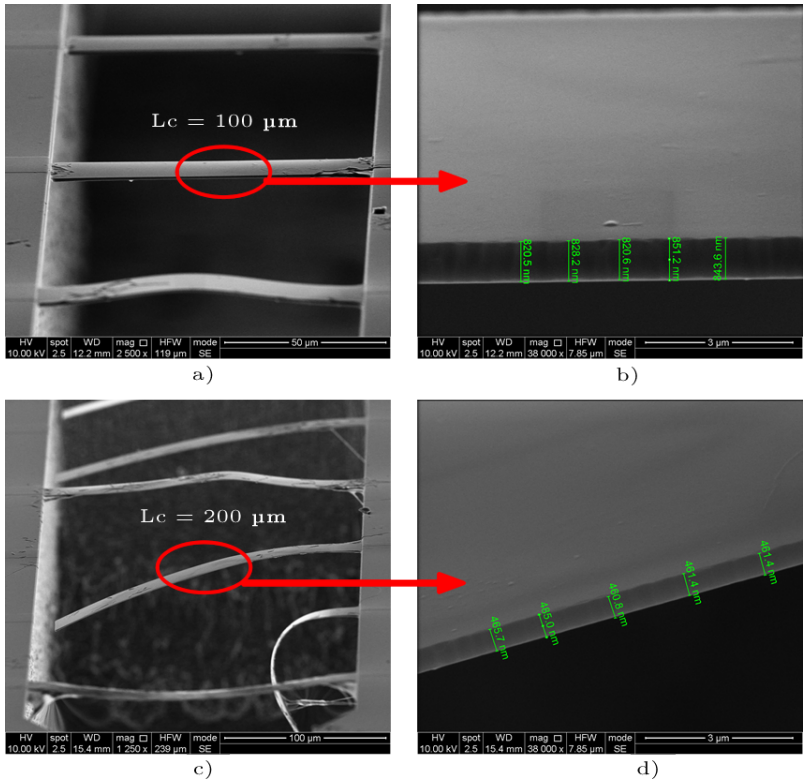
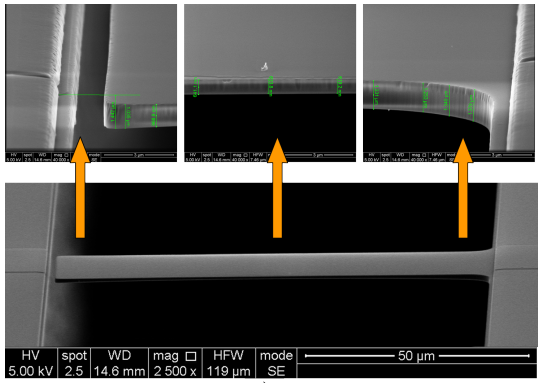


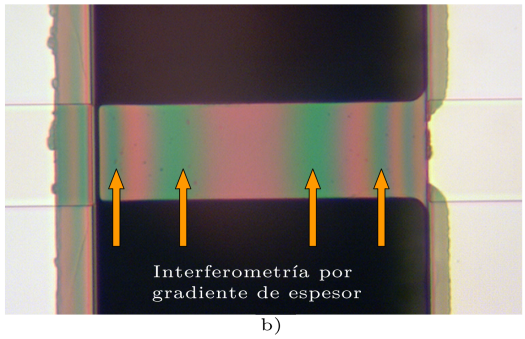
Figura 4.17: Deflexión inicial de los OWC: a) longitud 100 μm; b) espesor en la zona central de OWC de longitud 100 μm; c) longitud 200 μm d) espesor en la zona central de OWC de longitud 200 μm.

como muestra la figura 4.19. Estas imperfecciones introducen un componente aleatorio en la eficiencia de acople de la luz en la guía de entrada. La solución fue aplicar un pulido óptico en los cantos de entrada y salida del chip.

A pesar de la elevada deflexión inicial de los dispositivos de longitud 150 μm y 200 μm, los de 100 μm poseen una deflexión inicial muy cercana a cero, lo que permite emplearlos como elemento transductor, situándolos en una zona sensible de su curva de respuesta a la deflexión, según las simulaciones realizadas. Junto con la baja deflexión inicial, y tal y como se analizará en los siguientes apartados, los dispositivos son capaces de trasmitir la luz desde la guía de entrada a la de salida con la eficiencia suficiente como para poder obtener la respuesta del cantilever óptico frente a la deflexión de su extremo libre.



a)



b)

Figura 4.18: Diferencias del espesor del microcantilever generado por el sobre-ataque del silicio: a) imagen SEM de un microcantilever; b) interferencia causada por el gradiente de espesor del microcantilever.

4.7. Pulido de chip

Durante el proceso de fabricación, la liberación de los microcantilevers generó el sobre-ataque del silicio de la oblea debilitando las zonas de entrada y salida de las guías de ondas, afectando directamente a la eficiencia de acople del haz de entrada y la guía de onda. Esta situación se muestra en la figura 4.20.

La solución del problema pasa por realizar un proceso de pulido óptico de los cantos del chip que contienen las entradas y salidas de las guías. Para ello se emplea una pulidora (Logitech CL50 - figura 4.21) que contiene un plato giratorio que posee un papel especial para pulido donde se sitúa la superficie a pulir. El chip se instala en un soporte, similar a una celda de flujo, que protege los microcantilevers durante el proceso. Este soporte se une a una plataforma micrométrica empleando cera caliente, permitiendo nivelar la cara a pulir con el plato giratorio antes de que se solidifique la cera.

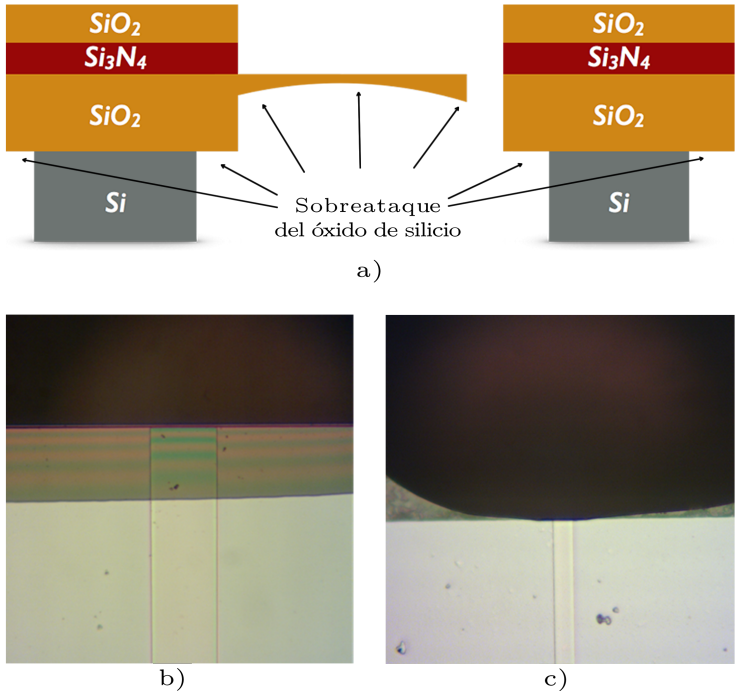


Figura 4.19: Efecto del sobre-ataque producido en la fabricación de los dispositivos: a) esquema del sobre-ataque; b) guía de entrada en voladizo; c) guía de entrada defectuosa.

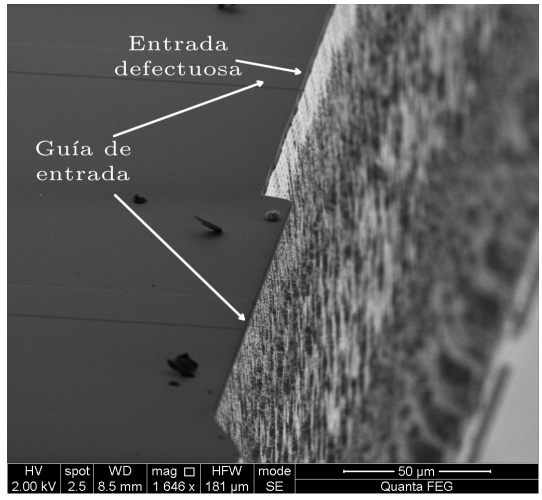


Figura 4.20: Estado de las guías de entradas debido al ataque profundo de silicio

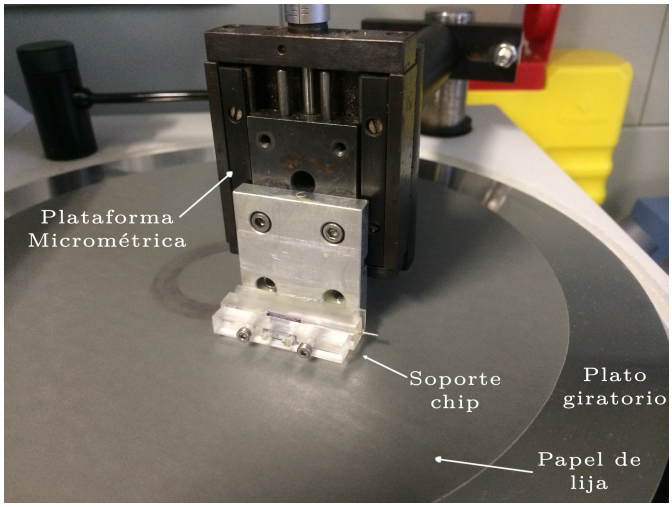


Figura 4.21: Pulidora con el soporte para realizar el proceso de pulido de los chips.

El proceso de pulido consta de tres fases en las que se aplica papel de pulido de diferentes rugosidades en el siguiente orden: 9 μm, 3 μm y 0,3 μm, a una velocidad de 50 revoluciones por minuto, mientras se añade agua para eliminar los residuos del proceso. La plataforma micrométrica permite acercar el canto a pulir al papel de lija a medida que el proceso avanza, y la presión ejercida contra el papel de pulir determina el tiempo de cada proceso, aunque de forma general se encuentra en torno a los cinco minutos. La figura 4.22 muestra las entradas de una guías antes y después del pulido.

El beneficio de realizar este proceso se observa en la figura 4.23, donde se muestra la media de las medidas realizadas en las guías de referencia de un chip según su anchura antes del pulido óptico, tras el pulido de la entrada y finalmente el pulido de la salida. Se puede apreciar como el proceso de pulido mejora casi 10 veces la potencia que alcanza el fotodetector y por lo tanto al microcantilever, lo que impacta positivamente en la relación señal ruido del sistema.

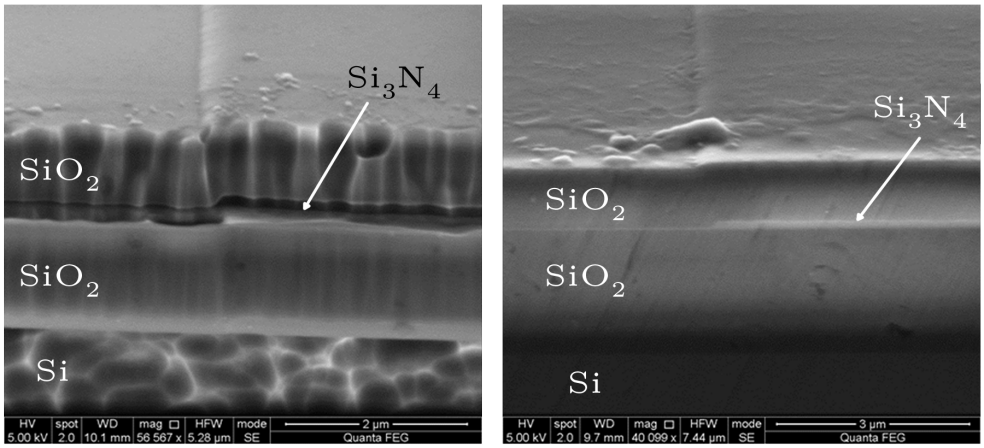


Figura 4.22: Proceso del pulido de las entradas y salida de las guías a) previo al pulido; b) después del pulido.

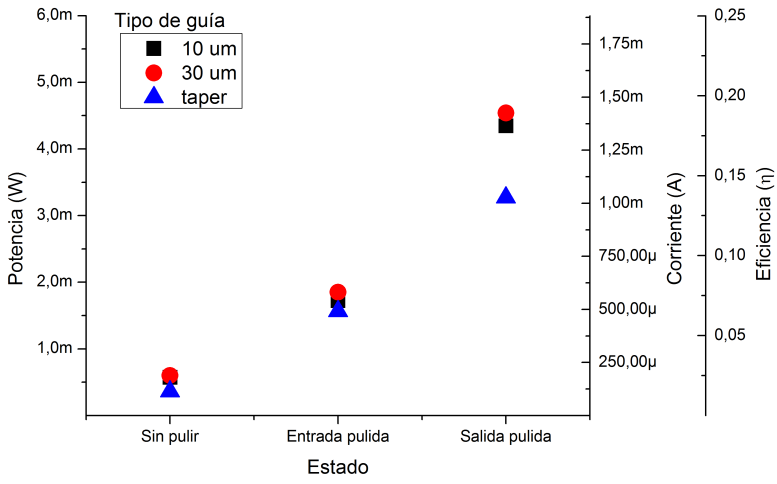


Figura 4.23: Mejora introducida al aplicar el pulido óptico a las guías de entrada y salida (Medidas realizadas empleando el sistema experimental del Capítulo 5).

Capítulo 5

Sistema experimental: diseño, implementación y caracterización

La monitorizarción de la respuesta de los cantilevers ópticos al introducir las muestra a analizar requiere de la implementación de un sistema experimental. En la figura 5.1 se muestra el diagrama de bloques del sistema experimental, compuesto por cinco subsistemas: el sistema de generación y control del foco del haz láser, el sistema central con la celda de flujo y el control de selección del dispositivo, el sistema detector de la respuesta, el sistema de amplificación y adquisición de la señal, y finalmente, la aplicación de control que gestiona los subsistemas.

El diseño del sistema experimental se ha realizado empleando un programa CAD (Autodesk Inventor) con el fin de verificar el correcto ensamblaje de todos los elementos antes de la fabricación de las piezas necesarias (ver figura 5.2 y figura 5.6).

5.1. Fuente de luz y sistema de enfoque

La solución adoptada para introducir la luz en la guía de onda emplea objetivos de microscopio que focalizan un haz de luz generado por una fuente coherente. El sistema óptico empleado se muestra en la figura 5.3, como fuente de luz se emplea un diodo láser (Mitsubishi ML101J27) con una longitud de onda de 660 nm y una potencia máxima de 120 mW, instalado en un soporte que lo alimenta a través de un controlador de corriente (Thorlabs TLD001) y mantiene su temperatura de trabajo constante empleando una célula peltier

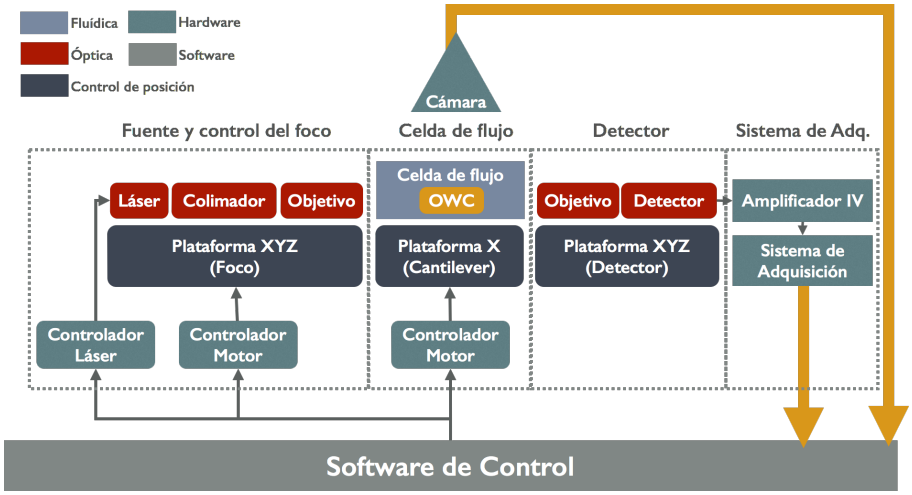


Figura 5.1: Diagrama de bloques del sistema experimental.

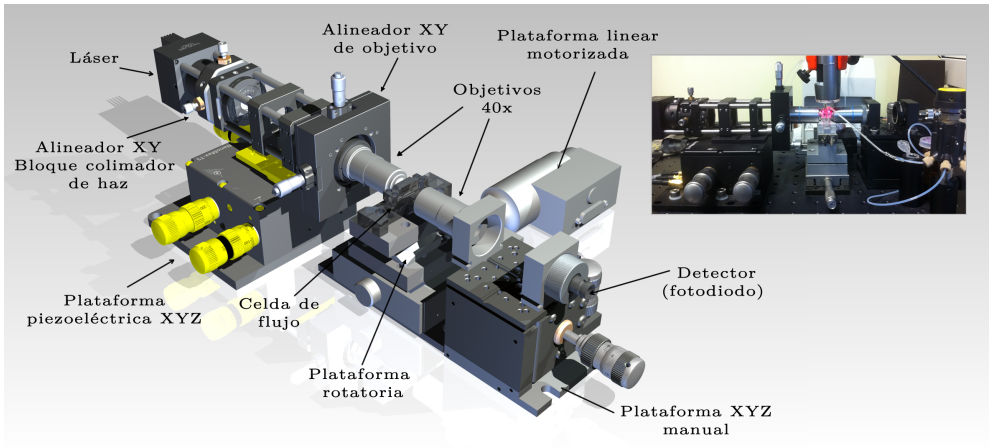


Figura 5.2: Componentes mecánicos del sistema experimental.

gestionada por un controlador de temperatura (Thorlabs TEC200).

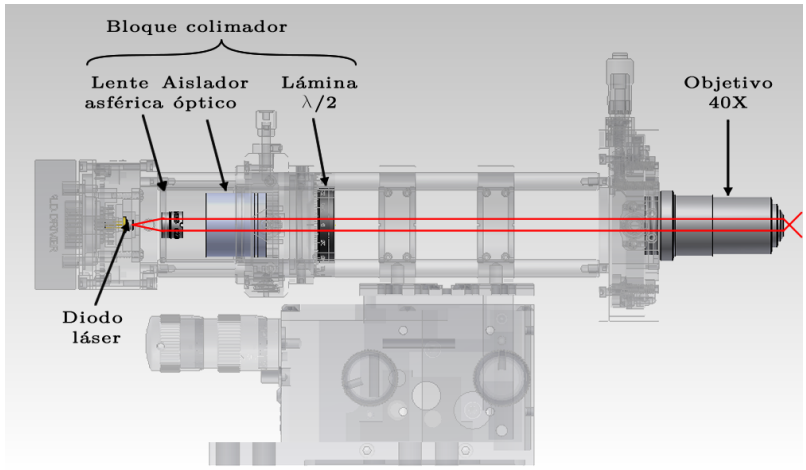


Figura 5.3: Sistema de fuente de luz y control de enfoque.

A la salida del diodo láser se obtiene un haz con distribución de potencia gausiana con forma elíptica con una relación de aspecto de 1,7 ($\theta_{max}/\theta_{min}$). Éste haz se expande con un ángulo máximo de 20º, que pasa por un bloque colimador compuesto por una lente asférica (Thorlabs C220TME-B) separada del diodo láser a su distancia focal (11 mm), permitiendo obtener un haz colimado de 3,28 mm y 1,92 mm de diámetro en su eje mayor y menor respectivamente. Una vez el haz es colimado se emplea un aislador óptico (Thorlabs IO–3D–670-VLP) que bloquea los haces reflejados en los siguientes elementos ópticos y que desestabilizarían la emisión del diodo láser en el caso de que estos alcanzaran la cavidad resonante. Por último una lámina $\lambda/2$ (Thorlabs WPH05M–670), instalada en un adaptador rotatorio (Thorlabs CRM1/M), se sitúa a la salida del aislador para controlar la polarización del haz introducido en el chip. El bloque colimador se situa sobre un alineador XY (Thorlabs CXY1) que permite alinear el eje de salida del láser con el del bloque colimador.

El haz colimado se focaliza con un objetivo (Leica 40x/0,66) con una apertura numérica de 0,66 y distancia focal de 0,36 cm, alcanzando un tamaño de haz mínimo teórico de 724 nm, definido por el límite de difracción expresado en la ecuación 5.1, donde λ es la longitud de onda del láser, f la distancia focal del objetivo y D es el diametro del haz de entrada. De esta forma se realiza el acople de la luz en la guía de onda de entrada al dispositivo. Este objetivo esta instalado sobre un alineador XY (Thorlabs ST1XY-S) para poder ajustar

correctamente la entrada del objetivo con el haz colimado.

$$Sz = \frac{\lambda f}{D} \tag{5.1}$$

El diodo láser, el bloque colimador y el sistema de enfoque se sitúan sobre una plataforma motorizada XYZ (Thorlabs MAX312/M). Este motor piezoeléctrico posee una resolución de 20 nm y un recorrido máximo de 20 μm, lo que permite realizar un enfoque preciso del haz.

5.2. Celda de flujo y sistema de fluídica

En el sistema central se sitúa el chip de microcantilevers dentro de la celda de flujo (ver figura 5.4). El sellado de la ventana donde se encuentran los microcantilevers se realiza empleando una lámina de polímero orgánico (polydimethylsiloxane o PDMS). De esta forma se genera en la celda un volumen de 8 μl. La celda posee dos orificios por la parte superior y uno por la parte inferior. Uno de los orificios superiores actúa como entrada de líquido y los otros dos como salidas, lo que favorece el completo llenado de la ventana donde se encuentran los microcantilevers (ver figura 5.4-b).

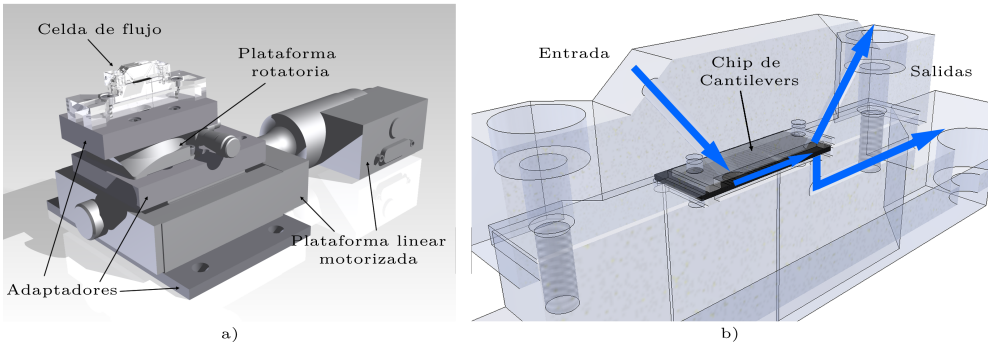


Figura 5.4: Sistema central donde se situa la celda de flujo con el chip de microcantilevers: a) elementos del subsistema; b) corte transversal de la celda de flujo.

Este subsistema se encuentra sobre dos plataformas, una rotatoria (Newport M-RS40) que permite ajustar el ángulo de entrada del haz en el chip y una segunda plataforma con movimiento linear (PI M126.PD1) que permite la selección del microcantilever dentro del chip. Para la integración de ambas plataformas se han diseñado piezas adaptadoras que han sido fabricadas mediante impresión 3D.

El flujo de líquido hasta la celda se realiza mediante una bomba peristáltica (Gilson MinuPuls 3) que crea un flujo constante y controlado en la celda, que puede variar entre los 0,3 $\mu l/min$ hasta los 30 $\mu l/min$. El flujo empleado dependerá del la naturaleza del experimento. Una válvula de inyección (INDEX V–451) permite crear tres circuitos diferentes, dependiendo del estado de conmutación de una selector con dos posiciones: "carga" e "inyección". En el estado de "carga" el medio sin analito o disolución buffer se introduce de forma directa en la celda de flujo desde un reservorio, impulsado por la bomba peristáltica. Al mismo tiempo es posible cargar un bucle de 250 μl con el analito. En la posición de "inyección" la conmutación del circuito hace que la entrada de disolución buffer pase por el bucle impulsando su contenido hacia la celda de flujo.

Finalmente en la parte superior se sitúa una cámara (Dino-Lite AM413TL) con aumento variable (5X - 20X), que permite monitorizar en tiempo real el guiado de la luz en el microcantilever así como el estado de llenado de la celda de flujo.

5.3. Sistema detector de señal

El subsistema detector de señal esta compuesto por un objetivo (Leica 40x/0,66) que recoge el haz de salida de la respuesta del dispositivo, y lo traslada hasta un fotodiodo (Thorlabs SM05PD1A) que posee una eficiencia de $0,43\ W/A$ a la longitud de onda 660 nm. Un diafragma filtra la luz ambiente que pueda alcanzar la zona sensora del fotodiodo Este subsistema se instala sobre un plataforma XYZ manual para poder ajustar el haz de salida del chip en el fotodiodo (ver figura 5.5)

5.4. Sistema de adquisición

El fotodiodo es conectado a un amplificador comercial con ganancia variable (Thorlabs PDA200C) que convierte a voltaje la corriente generada por el fotodiodo. La respuesta en frecuencia en función de la ganancia del amplificador se muestra en la Tabla 5.2. La señal transformada y amplificada es adquirida por una tarjeta de adquisición comercial (National Instruments, PCI–6259), capaz de adquirir la señal con una resolución de 16 bits con una frecuencia de muestreo máxima de 1.25 MSPS, gestionada por la aplicación de control del sistema experimental.

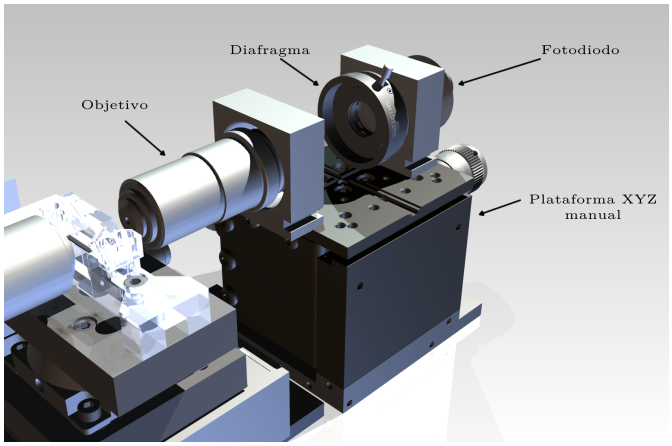


Figura 5.5: Sistema detector del haz de respuesta del cantilever óptico.

Tabla 5.1: Especificaciones del amplificador PDA200C.

Final de escala	Resolución	Ancho de banda (3dB)
10 mA	1 μA	500 kHz
1 mA	100 nA	250 kHz
100 μA	10 nA	70 kHz
10 μA	1 nA	5 kHz
100 nA	10 pA	1 kHz

5.5. Aplicación de control

El objetivo fundamental de la aplicación de control es la adquisición de la señal de respuesta de los microcantilevers y su almacenamiento en un fichero digital para su posterior análisis. Para realizar esta tarea la aplicación controla los elementos del sistema experimental (como las plataformas motorizadas, la tarjeta de adquisición, el láser y la cámara), otorgando al usuario el control de los elementos más importantes del sistema.

La aplicación ha sido desarrollada en el lenguaje gráfico de programación Labview [92], empleando el paradigma de programación orientada a objetos LVOOP . Este paradigma permite obtener un código más modular y, por lo tanto, mucho más reusable, facilitando tareas de depuración o escalado del sistema gracias a las características como el encapsulamiento de los datos, la herencia de clases, el polimorfismo o la abstracción. El diseño de la arquitectura interna de la aplicación implementa diversos patrones de diseño que hacen uso de LVOOP, como el *productor-consumidor* o *Factoria Abstracta* (*Abstract Factory*) [93].

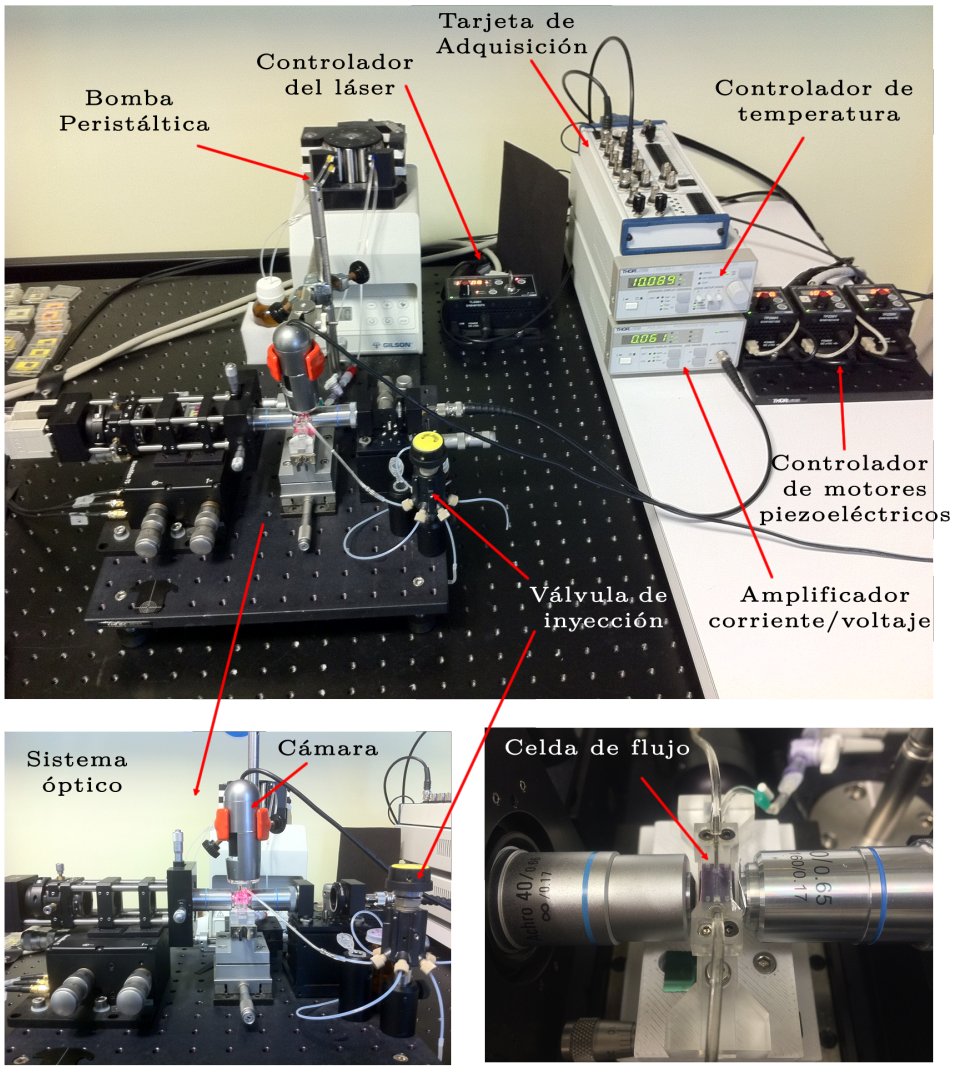


Figura 5.6: Sistema experimental empleado para la caracterización y deducción de la respuesta de los cantilever ópticos.

5.5.1. Arquitectura del software

La descripción de una aplicación de software es una tarea compleja que requiere del análisis del sistema a implementar desde diferentes perspectivas, entendiendo un sistema como la combinación de elementos físicos, usuarios y la propia aplicación software. Para poder llevar a cabo esta tarea se hace uso del lenguaje unificado de modelado (UML). Este es un lenguaje de modelado de sistemas software, de cierta forma estandarizado, cuyo objetivo es organizar el proceso de diseño mediante diagramas que reflejen las ideas de una forma convencional y fácil de entender. Para ello el UML se compone de un conjunto de diagramas que analizan al sistema desde las diferentes perpectivas: diagrama de clases, de objetos, de casos de uso, de estados, de secuencia, de actividades, de colaboración, de componentes y de distribución. En este trabajo se hace uso de diagramas de clases y diagramas de actividades para exponer la solución del problema planteado.

5.5.1.1. Diagrama de clases

En la figura 5.7 se muestra el diagrama UML de las clases que componen la aplicación de control del sistema experimental. Las uniones con el rombo representan las relaciones de *agregación* entre las clases, es decir las clases de las que esta compuesta la clase raíz.

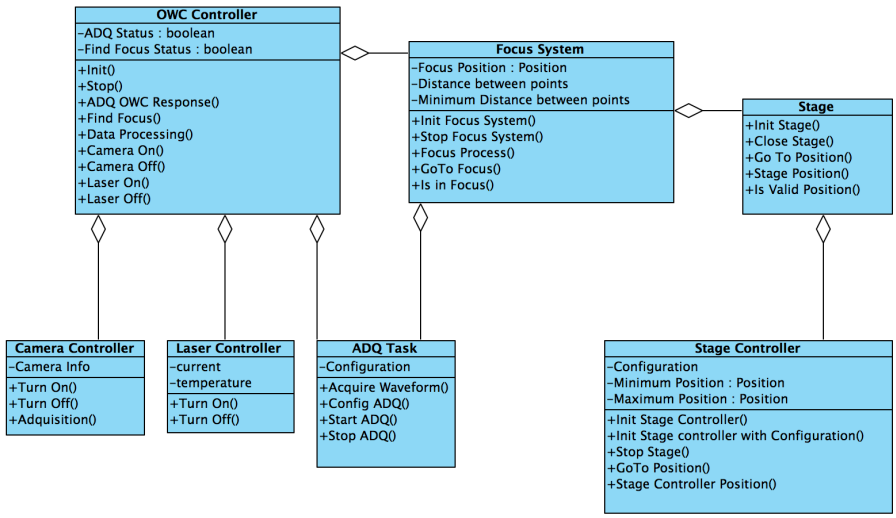


Figura 5.7: Diagrama UML de agregaciones de la aplicación de control.

En esta estructura la clase *OWC Controller* es la encargada de gestionar los recursos del sistema para poder realizar las tareas solicitadas por el usuario.

Para ello la clase está compuesta por objetos de otras clases que realizan tareas especificas como el sistema de búsqueda de foco *(Focus System)*, las tareas de adquisición *(ADQ Task)*, el controlador del láser *(Laser controller)* y el controlador de la cámara *(Camera controller)*. De esta forma se cumple uno de los principios del diseño de sistemas basados en la programación orientada a objetos: "El principio de responsabilidad única", donde cada objeto debe tener una y solo una responsabilidad en el sistema [94].

La clase *Focus System* es encargada de gestionar el alineamiento del foco en la entrada de la guía de onda. La realización de esta tarea se realiza con el método *Focus Process* que implementa el algoritmo presentado en la sección 5.5.4, sincronizando dos objetos que le apoyan en su tarea: uno de la clase destinada a la adquisición de datos *(ADQ task)* y otro que gestiona el movimiento de la plataforma XYZ *(Stage)*.

Las clases *Camera Controller* y *Laser Controller* son las encargadas de gestionar el encendido y apagado de la cámara y el láser respectivamente.

La estructura mostrada en la figura 5.7 permite la abstracción de la capa hardware (HAL), gracias a la implementación de un patrón de diseño denominado *Abstract Factory*, por el que es posible ampliar las capacidades de un sistema sin la necesidad de modificar el código anteriormente escrito. En este caso las clases que acceden a recursos físicos del sistema, como la cámara, la tarjeta de adquisición o las plataformas motorizadas, están representadas por clases abstractas y posteriormente especificadas en clases heredadas que implementan los métodos específicos para el acceso al *hardware* empleado. Esto permite intercambiar un elemento físico, como por ejemplo un controlador de un motor de una marca por otro, sin la necesidad de modificar la estructura de la aplicación.

5.5.1.2. Diagrama de actividades

El diagrama UML de actividades se muestra en la figura 5.8 representando el ciclo de vida de la aplicación, y los distintos estados en la que se puede encontrar en un momento determinado.

Tras la apertura de la aplicación por parte del usuario se realiza la *Inicialización del sistema*, donde se configuran los objetos necesarios y donde los elementos de la interfaz se establecen en un estado conocido. Una vez que el proceso de *Inicialización* ha finalizado, la ruta de ejecución se divide en cuatro hilos, encargados de atender las peticiones de la interfaz de usuario, la tarea de adquisición, el procesamiento y almacenamiento de los datos adquiridos y la búsqueda de la máxima eficiencia de acople. La implementación en Labview

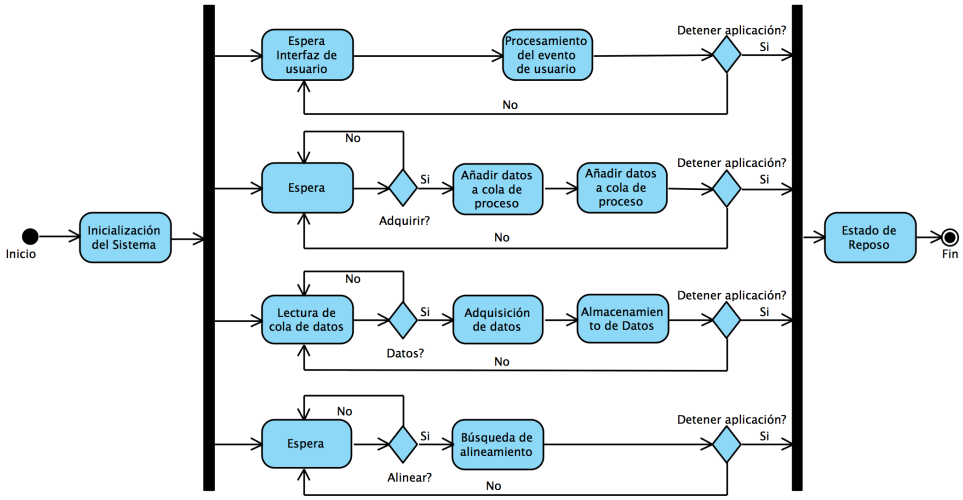


Figura 5.8: Diagrama UML de actividades de la aplicación.

de estos hilos se realiza mediante cuatro bucles paralelos, donde en función del estado de la aplicación se ejecutaran unos u otros métodos de la clase *OWC controller*.

5.5.2. Interfaz de usuario

El control de la interfaz de usuario se muestra en la figura 5.9. Esta es la parte de la aplicación que activa las órdenes que el usuario desea que realice el sistema en un determinado instante. Estas tareas son:

- Control de encendido y apagado de la cámara y las plataformas motorizadas.
- Monitor de la cámara,
- Configuración de los motores
- Configuración del láser
- Configuración de la adquisición
- Monitorización de la respuesta del OWC

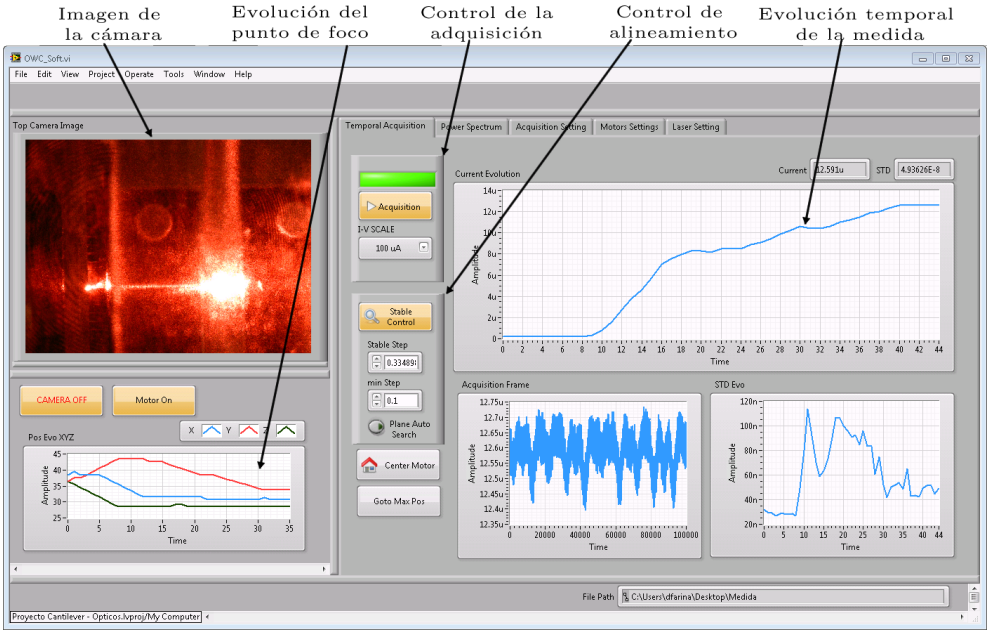


Figura 5.9: Interfaz de usuario de la aplicación de control del sistema experimental.

La implementación del control de la interfaz hace uso de una estructura de atención a eventos. Una vez que el usuario acciona algún elemento de la interfaz gráfica, se ejecuta el evento asociado a dicha acción.

5.5.3. Sistema de adquisición y tratamiento de datos

El sistema de adquisición está compuesto principalmente por las funciones de acceso a la tarjeta de adquisición comercial (National Instruments PCI–6269), que son activados cuando el usuario inicia la medida desde la interfaz de usuario. En ese instante el hilo de ejecución que atiende los eventos de la interfaz solicita el fichero donde se almacenará la medida, configurará la tarea de adquisición con la frecuencia de muestreo y el número de muestras por adquisición, y finalmente activa un indicador interno *flag* que inicia el proceso de adquisición continua en un hilo paralelo de ejecución.

La adquisición y el tratamiento de los datos involucran a dos hilos de ejecución en la arquitectura del software, implementando un patrón de diseño de *software* denominado *productor - consumidor* (ver figura 5.10).

La adquisición de datos se realiza de forma síncrona en un bucle *foor-time-*

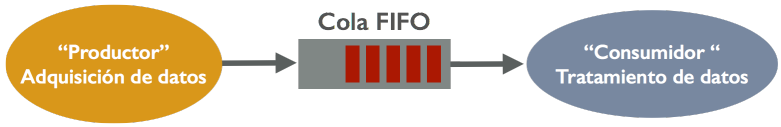


Figura 5.10: Diagrama productor-consumidor implementado en la adquisición y tratamiento de los datos.

loop, que se repite según la frecuencia de adquisición de muestras seleccionada desde la interfaz. Tras la adquisición de la trama de datos, estos se introducen en una cola de mensajes de tipo FIFO (primero en entrar primero en salir), implementando la parte de *productor* del patrón de diseño *productor-consumidor*.

Otro hilo de ejecución paralelo monitoriza el estado de la cola de mensaje, en el caso de la existencia de datos en la cola, estos se procesan calculando el valor medio y la desviación estándar para ser representadas en la interfaz y seguidamente son almacenados en un fichero seleccionado por el usuario al inicio del proceso de adquisición.

Antes de iniciar cada adquisición se pide acceso a un semáforo para el acceso a la tarjeta de adquisición. Esto elimina accesos múltiples a los recursos, ya que el sistema de enfoque y el de adquisición comparten la tarjeta de adquisición.

5.5.4. Sistema automático de focalización

El espesor de la guía de entrada de nitruro de silicio tiene unas dimensiones máximas de 180 μm, por lo tanto, el control sobre la posición del foco del haz láser a la entrada del chip es crítica. Para realizar esta tarea se emplea la plataforma XYZ motorizada (Thorlabs MAX312/M), junto con un algoritmo de control que situa el foco del haz en la entrada de la guía manteniendo la máxima eficiencia de acople en el tiempo, corrigiendo las posibles desviaciones producidas por cambios de temperatura o histéresis en el motor piezoeléctrico.

Dado que es imposible monitorizar realmente la posición del motor, la máxima eficiencia se obtiene por métodos indirectos, buscando el máximo de potencia a la salida del dispositivo. Para ello se supone un perfil láser gausiano y que el objetivo focaliza la luz describiendo un cono con un punto en el que el diámetro del haz se hace mínimo. El movimiento del motor traslada este punto de foco en el espacio y debe coincidir con la entrada de la guía.

El algoritmo de enfoque automático implementa un proceso iterativo basado

en el método simplex de Nelder-Mead, tomando como función de respuesta la salida de la potencia óptica [95]. La representación gráfica del algoritmo se muestra en la figura 5.11.

Partiendo desde una posición inicial $p_0 = (x_0, y_0, z_0)$, seleccionada manualmente por el usuario, se traslada el motor describiendo un cubo de 3x3x3 elementos separados una distancia Δd_0 centrados en p_0 (figura 5.11-a). En cada uno de estos puntos se adquiere la respuesta del dispositivo, obteniendo una distribución de intensidad en el espacio. El punto de máxima intensidad p_1 será el nuevo centro del cubo en la próxima iteración.

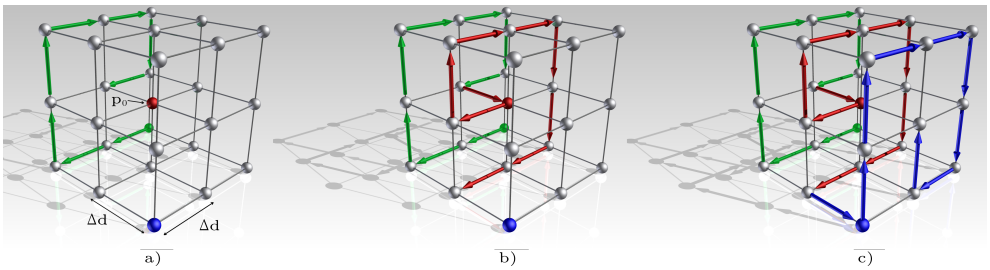


Figura 5.11: Representación gráfica del algoritmo de búsqueda de la máxima eficiencia de acople: a) plano inicial; b) plano central; c) plano final.

De forma general, en el caso de que el nuevo punto p_i corresponda con el punto central de la iteración anterior p_{i-1}, la distancia Δd_{i-1} disminuye un factor F hasta que Δd alcanza un valor mínimo Δd_{min}. Tanto el valor del factor F como la distancia Δd_{min} dependen de la calidad del perfil del haz láser y de la eficiencia de acople, por lo que se han determinado experimentalmente, obteniendo un valor de $F = 3$ y $\Delta d_{min} = 20\ nm$.

Empleando este algoritmo la máxima eficiencia de acople se alcanza en unos segundos y proporciona reproducibilidad en la eficiencia de acoplamiento que sería imposible en caso de un enfoque manual, permitiendo la caracterización de los dispositivos fabricados. En la figura 5.9 se muestra la respuesta del sistema durante el proceso de alineación automática del sistema y como se mantiene la señal constante en el tiempo.

5.5.5. Sistemas de medidas multiplexadas

La capacidad de realizar medidas multiplexadas permite obtener la respuesta de los dispositivos y compararlas bajo las mismas condiciones de temperatura, flujo, cantidad de analito, etc, permitiendo la realización de medidas de control. La estrategia de multiplexación empleada se basa en la lectura secuencial de la respuesta de los dispositivos.

Para el desarrollo de la aplicación de medidas multiplexadas se ha hecho uso del *Actor framework*, un marco de trabajo basado en el modelo matemático de colas denominado *Modelo Actor*. Este modelo esta destinado a la ejecución concurrente de procesos (*actores*) que se comunican mediante un sistema de colas de mensajes.

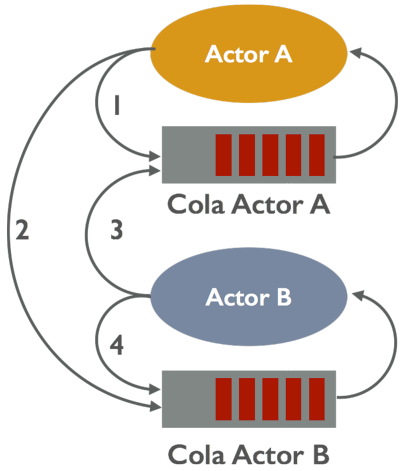


Figura 5.12: Esquema de colas implementada por el *Modelo Actor*.

El esquema fundamental de la comunicación entre dos actores en el *Actor Framework* se muestra en la figura 5.12. Cada actor posee una cola de entrada de mensaje y una referencia a la cola del otro actor, de esta forma es posible establecer la comunicación mediante mensajes. Tanto los actores como los mensajes son clases definidas por el *Actor Framework* que poseen los métodos necesarios para trabajar con las colas de mensajes. La ventaja del uso de este *framework* es su gran capacidad de concurrencia y la capacidad de balanceo de carga de procesamiento en caso necesario, como desventaja el desarrollo de la aplicación requiere un diseño más complejo.

La arquitectura propuesta para el uso del *framework* es similar a la mostrada en la sección 5.5.1, solo que se ha implementado el sistema de colas. Junto con este desarrollo se incorpora la funcionalidad de selección del dispositivo dentro del chip, de esta forma el sistema de enfoque es capar de seleccionar el dispositivo y ajustar su foco antes de cada medida.

El sistema de multiplexado temporal de medidas tiene la ventaja de ser flexible, permitiendo seleccionar los dispositivos a medir, sin embargo el coste temporal de pasar de un dispositivo a otro limita el número de dispositivos a medir. Este coste, con el sistema en una fase muy temprana de desarrollo, se

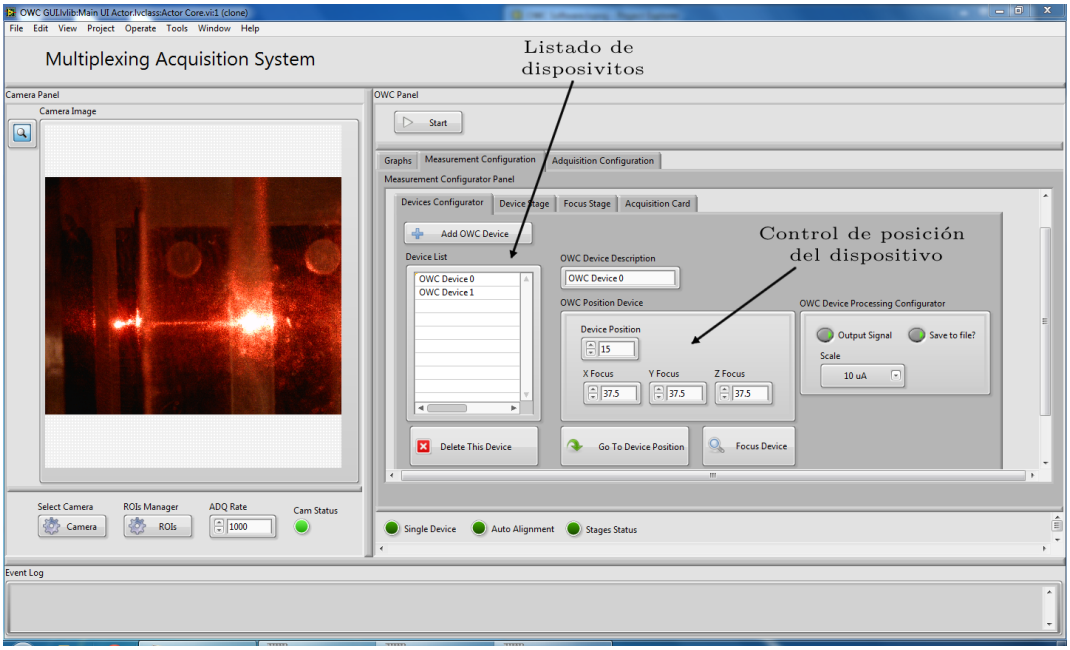


Figura 5.13: Panel para la configuración de la posición de los dispositivos seleccionados para realizar una medida.

ha calculado que es de tres segundos por medida, tiempo en el que el sistema debe posicionar el dispositivo a medir, ajustarle su foco y adquirir la señal de respuesta.

5.6. Caracterización del sistema experimetal

El diodo láser empleado posee una potencia óptica de 120 mW, sin embargo esta potencia decae a medida que el haz atraviesa los distintos elementos ópticos. Para obtener la potencia óptica que representa la respuesta del microcantilever es necesario caracterizar la atenuación que introduce cada elemento del sistema, esquematizados según la figura 5.14, donde se representa la potencia óptica y la atenuación en cada punto del sistema. Para simplificar las operaciones con la potencia y la atenuación se trabajará en decibelios.

A la salida del objetivo de enfoque se ha obtenido una potencia de $P_{in} = 30{,}1\ mW (14{,}8\ dBm)$, empleando un medidor de potencia óptica (Thorlabs PM100D). Esto determina que la atenuación introducida por el tratamiento inicial del haz es de $-6\ dB$.

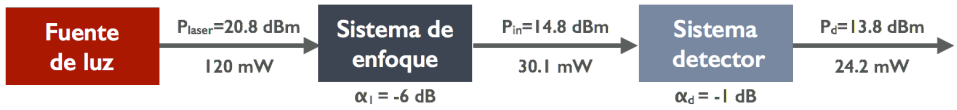


Figura 5.14: Atenuación de los elementos ópticos del sistema.

Para obtener la atenuación que introduce el sistema detector se enfrentan el objetivo de entrada y el de salida, obteniendo una potencia a la salida del segundo objetivo de $P_d = 24{,}2\ mW(13{,}8\ dBm)$, lo que significa unas pérdidas de $\alpha_d = -1\ dB$ en el sistema detector. Esta última medida se realizó con el fotodiodo del sistema experimental, de donde se obtuvo una corriente de 7,6 mA, lo que implica que la eficiencia del fotodetector es de 0.314 A/W.

Las atenuaciones que se producen en el dispositivo se pueden diferenciar entre las pérdidas causadas por la eficiencia de acoplamiento y de propagación de la luz en la guía de onda α_g, y las pérdidas producidas por la propia eficiencia del cantilever óptico α_η, relacionadas directamente con su deflexión. Las primeras pueden ser calculadas a partir de las guías de referencia existentes en cada chip, a partir de estas es posible obtener la atenuación debida a la deflexión del microcantilever.

En la figura 5.15 se muestran los valores de potencia y atenuación que intervienen en la medida de un dispositivo. En el caso de las guías de referencia la atenuación equivale a α_g y en el caso de cantilevers ópticos la atenuación es la suma $\alpha_g + \alpha_\eta$. La potencia a la salida del chip P_{out} se ve atenuada por el sistema detector en el factor α_d, anteriormente calculado.

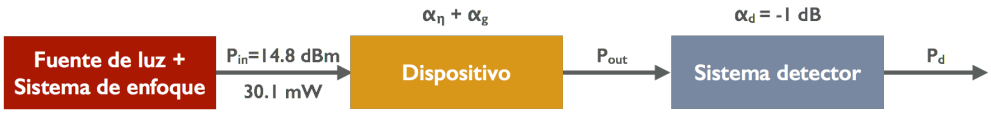


Figura 5.15: Atenuación introducida en el dispositivo.

La atenuación que introduce cada microcantilever y, por lo tanto, su eficiencia se puede obtener a partir de la potencia detectada por el fotodiodo según la ecuación 5.2:

$$\alpha_\eta = P_d - P_{in} - \alpha_g - \alpha_d \tag{5.2}$$

5.6.1. Sistema de control del foco

La eficiencia de acople entre el haz de excitación y la entrada de la guía de onda es fundamental para poder realizar medidas con los dispositivos diseñados. Aunque el ajuste del punto de máxima eficiencia puede aproximarse manualmente, es muy complejo alcanzar la reproducibilidad en medidas sucesivas, con el inconveniente que ello supone para permitir la comparación entre distintos dispositivo.

Por ello, se ha desarrollado el sistema de estabilización expuesto en la sección 5.5.4. En la figura figura 5.16-a se muestra la respuesta durante el proceso de búsqueda del foco en una guía de referencia. El proceso de ajuste comienza con un cubo con distancias entre sus elementos de $\Delta d_0 = 256\ nm$ hasta que alcanza un distancia mínima de $\Delta d_i = 20\ nm$. Bajo estas condiciones se puede observar como el sistema alcanza el máximo de eficiencia de acople en apenas 50 segundos, estabilizando la señal en unos 100 segundos. Estos tiempo pueden variar dependiendo del punto inicial.

En la figura 5.16-b se muestra el impacto del control de enfoque en el ruido del sistema. Una vez alcanzado el máximo de potencia, el algoritmo de enfoque mantiene la señal en 4,6 mW con un ruido de 17,4 μW. Con el fin de analizar el impacto del sistema de enfoque en el ruido del sistema se detiene el algoritmo de control de enfoque manteniendo la adquisición. Aunque en los primeros instantes el ruido se ve reducido a 7,8 μW, en pocos segundos la señal comienza a decaer, duplicándose el ruido inicial hasta los 35,5 μW. Pasados 200 segundos desde la desactivación se activa nuevamente el sistema de control de enfoque recuperando rápidamente la señal inicial.

La figura 5.16-c muestra el valor de la desviación estándar de cada adquisición, esto representa el ruido debido al movimiento mecánico de la plataforma que controla el foco. En esta gráfica se observa como mientras el control de foco esta en funcionamiento, el ruido de la señal adquirida posee un valor constante en torno a los 10,1 μW, mientras que una vez que se detiene el proceso de ajuste, durante el primer minuto, el ruido decae hasta 3,5 μW y luego incrementa hasta los 16,5 μW.

La figura 5.17-a muestra el mismo proceso anteriormente descrito pero esta vez empleando un microcantilever. Se observa el mismo patrón, aunque con una pequeña deriva causada por los efecto térmicos en el microcantilever. El nivel de ruido una vez alcanzado el punto óptimo de foco es de 68.8 nW, que tras detener el ajuste del foco se reduce hasta los 12.1 nW durante los primeros 30 segundos.

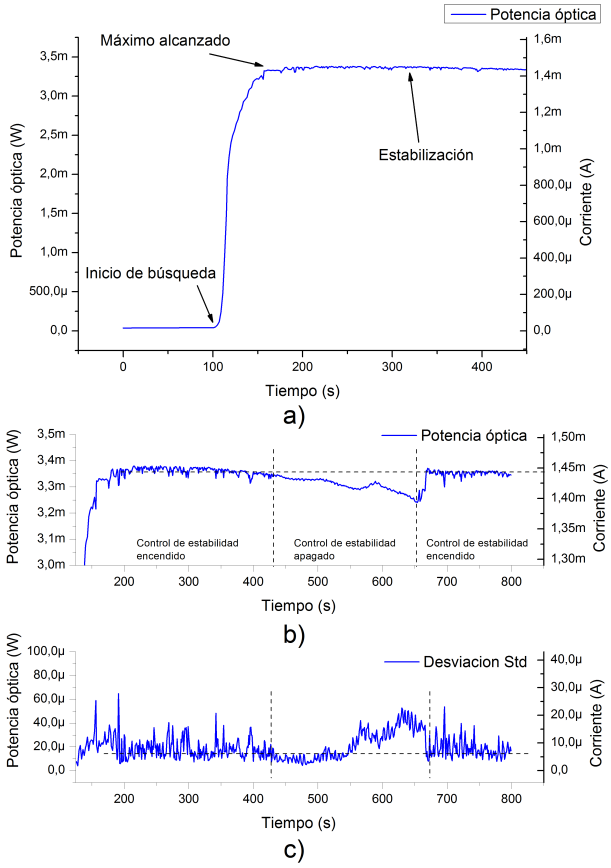


Figura 5.16: Evolución del proceso de estabilización de señal: a) búsqueda del máximo acoplamiento y estabilización; b) ruido causado por el control de enfoque.

5.6.2. Análisis del ruido

El análisis del ruido del sistema permite obtener la Mínima Deflexión Detectable (MDD), definida como la deflexión que genera un cambio de potencia en el detector igual a la potencia de ruido, lo que equivale a igualar la relación señal ruido a la unidad. La MDD se relaciona con la densidad de ruido de deflexión (DND) por la ecuación 5.3:

$$DMD = \frac{MDD}{\sqrt{\Delta f}} \tag{5.3}$$

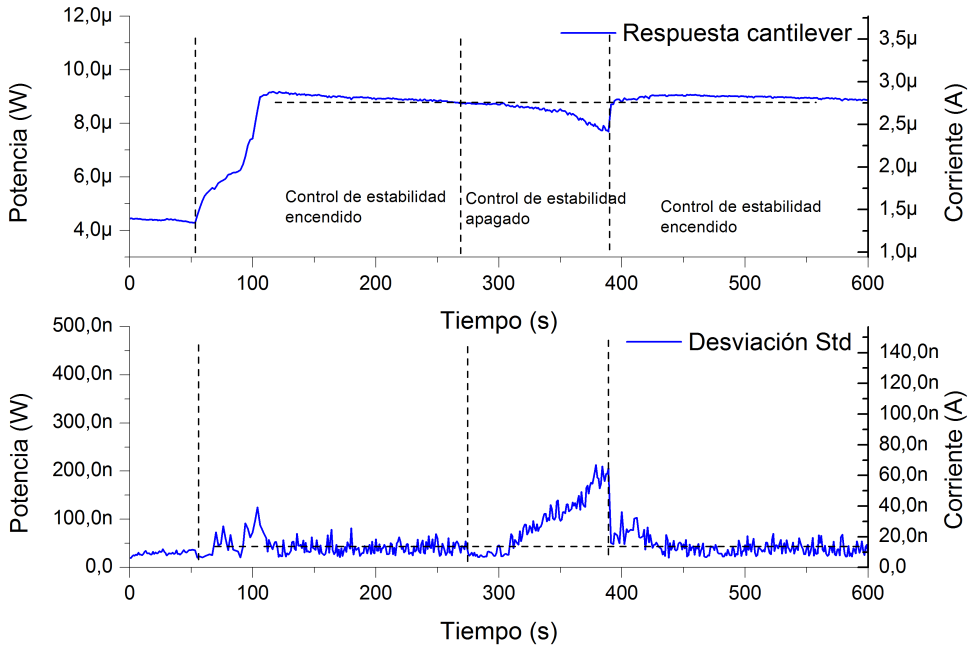


Figura 5.17: Evolución del proceso de estabilización de señal en un cantilever óptico.

La relación señal ruido (SNR) del sistema se define como la relación entre la variación de potencia debida a la deflexión del cantilever y la potencia de ruido:

$$SNR = \frac{\Delta P_{out}/\Delta z}{N} \tag{5.4}$$

La variación mínima de corriente detectable i_{MDD} viene dada por la ecuación 5.5:

$$i_{MDD} = \eta \cdot P_{in} \cdot S \cdot MMD \cdot \gamma \tag{5.5}$$

donde η es la eficiencia del dispositivo, P_{in} es la potencia de entrada al cantilever, S la sensibilidad y γ la eficiencia del fotodetector.

Considerando que el sistema trabaja en modo estático, las fuentes de ruido del sistema se deben al ruido del sistema láser N_l, la amplitud de ruido térmico

del cantilever N_t, el ruido debido al flujo de líquido en la celda que induce un movimiento al cantilever N_{flw}, el ruido del fotodiodo N_{sn}, el ruido del sistema de amplificación N_{amp} y el ruido de cuantificación de la tarjeta de adquisición N_{adq}:

$$N_{total} = N_l + N_t + N_{flw} + N_{sn} + N_{amp} + N_{adq} \tag{5.6}$$

El mínimo ruido esta limitado por el *ruido shot* del fotodiodo, producido por la generación de electrones debida a la variación de la incidencia de fotones en su área sensora. Su valor depende tan solo de la potencia óptica recibida y puede ser calculado como:

$$< i_{sn} >= \sqrt{2ei_d\Delta f} \tag{5.7}$$

Donde e representa la carga del electrón ($1{,}6 \cdot 10^{-19}\ C$), i_d es la corriente que circula por el fotodiodo y Δf el ancho de banda. Considerando un ancho de banda de 1 Hz el valor de MDD se puede escribir como:

$$MDD = \sqrt{\frac{2e}{\eta P_{in} S^2 \gamma}} \tag{5.8}$$

Para realizar los cálculos se selecciona un microcantilever de 350 nm de espesor y una distancia de *gap* de 1 μm y una guía de onda de 130 nm. Considerando un desplazamiento nulo de su extremo libre, a partir de las simulaciones realizadas, se obtiene una sensibilidad óptica de $S = 4{,}88{\cdot}10^5\ m^{-1}$ y una eficiencia $\eta = 0{,}197$. A partir de la potencia de entrada al microcantilever de $P_{in} = 3{,}5\ mW$ y la eficiencia del fotodetector $\gamma = 0,314\ A/W$, se puede obtener una deflexión mínima detectable de 78,8 fm.

De las hojas de características del amplificador (Thorlabs PDA200C) se extrae que el ruido máximo RMS es del 0,02 % respecto a la escala de amplificación (Tabla 5.2). Considerando los microcantilevers diseñados con una $\eta = 0{,}197$ y con el valor de $P_{in} = 3{,}5\ mW$, el fondo de escala del amplificador es de 1 mA, lo que determina que el valor de MDD es de 1,9 nm. Este valor de MDD indica que el sistema de detección no es capaz de capturar el ruido térmico de los microcantilevers diseñados, que se encuentran en el orden de los picómetros (Tabla 5.3).

Tabla 5.2: Especificaciones del amplificador PDA200C.

Final de escala	Resolución	Ancho de banda (3dB)	Ruido (RMS)
10 mA	1 μA	500 kHz	2 μA
1 mA	100 nA	250 kHz	200 nA
100 μA	10 nA	70 kHz	20 nA
10 μA	1 nA	20 kHz	2 nA
1 μA	100 pA	5 kHz	200 pA
100 nA	10 pA	1 kHz	20 pA

El ruido del sistema láser está gobernado por el sistema de control de foco, analizado en la sección 5.6.1. Este introduce un movimiento mecánico que se traduce en una oscilación de la potencia a la salida del dispositivo.

Tabla 5.3: Ruido termico del cantilever ($\eta_{z0} = 0{,}197$, $S_{z0} = 4{,}88 \cdot 10^5 [m^{-1}]$).

Longitud del cantilever	ΔZ_{min}	Ruido [%]
100 μm	8,142 pm	$3{,}97 \cdot 10^{-4}$
150 μm	30,13 pm	$1{,}47 \cdot 10^{-3}$
200 μm	82,64 pm	$4{,}03 \cdot 10^{-3}$

Atendiendo al ruido de cuantificación de la tarjeta de adquisición, dada su resolución de 16 bit en una escala de ± 10 V, esta corresponde a un escalón de cuantificación de 0,30 mV, 6 veces inferior al ruido del amplificador.

Capítulo 6

Evaluación del cantilever óptico como biosensor

Una vez diseñados y fabricados los microcantilevers ópticos es necesario realizar distintos experimentos que permitan caracterizarlos para comprobar la validez del modelo empleado en su diseño, para ello, en este capítulo se presenta la caracterización de los microcantilevers, estudiando la respuesta de dos de los aspectos importantes, la respuesta frente a la deflexión y la influencia del cambio de índice de refracción del medio en el que se encuentran los dispositivos.

Finalmente se verifica la utilidad del dispositivo como biosensor, estudiando su respuesta ante la formación de monocapas autoensambladas (tioles) sobre su superficie, y ante la formación consecutivas de capas de polielectrolitos con cargas opuestas sobre la superficie. Para concluir, se realiza la detección de la hormona de crecimiento (hGH) y la regeneración de la capa receptora empleando previamente procesos de silanización del óxido de silicio para la biofuncionalización de la superficie.

6.1. Caracterizacion de los OWC

En la caracterización de los cantilever ópticos uno de los aspectos mas importantes es la respuesta frente a la deflexión. Para obtener este dato es fundamental caracterizar las guías de referencia existentes en el chip donde se encuentra el microcantilever, lo que determinará la potencia que alcanza el microcantilever.

Para obtener la respuesta de los cantilever ópticos frente a su deflexión se ha forzado la deflexión del extremo libre empleando otro microcantilever, y se han comparado los resultados con la simulación de dispositivos en las mismas condiciones.

Dada la importancia del índice de refracción en el guiado de la luz se realiza el análisis del cambio de índice del medio que rodea al microcantilever, empleado soluciones de etanol-agua y comparando los resultados con la simulaciones para el caso de los microcantilevers reales.

6.1.1. Caracterización de las guías de referencia

Antes de comenzar con las medidas de los cantilever ópticos es necesario obtener la cantidad de potencia óptica que alcanza al microcantilever, para ello, tal y como se expuso en la sección 5.6, es necesario obtener la potencia que trasmiten las guías de referencia, lo que nos permitirá obtener la atenuación debida a la eficiencia de acople de la señal óptica en el chip.

Realizando las medidas de las guías de referencia de 130 nm de espesor y ordenándolas según la anchura se puede construir la Tabla 6.1, donde se refleja la potencia óptica media detectada en cada punto del sistema (figura 5.15). Se observa como las atenuaciones α_g se encuentran sobre los –8 y –9 dB que equivalen a una eficiencia de acople de señal del 10 % y del 15 % según la guía empleada. De esta forma es posible obtener la potencia óptica que alcanza a los microcantilevers. Estos valores varían en función del chip empleado, por lo que es necesario realizar las medidas de las guías de referencia para determinar la atenuación α_g.

Tabla 6.1: Potencia óptica detectada en las guías de referencia según su anchura.

Tipo de guía	$P_{out} = P_c$	α_g	P_d	Eficiencia de acople
10 μm	4,2 mW	–8.6 dB	3,3 mW	13.9 %
30 μm	4,8 mW	–8 dB	3,8 mW	15.9 %
Taper	3,5 mW	–9.4 dB	2,8 mW	11.6 %

6.1.2. Caracterización de la deflexión

La caracterización de los cantilevers ópticos por la medida directa de su respuesta en sus condiciones iniciales de deflexión tiene una gran incertidumbre, ya que se desconoce la posición inicial del microcantilever y, por lo tanto, la eficiencia máxima que pueden alcanzar.

Para obtener la respuesta del cantilever óptico en función de su desplazamiento se emplea un microcantilever mecánico externo que "empuja" al cantilever óptico por su extremo libre. Este microcantilever mecánico tiene 1 μm de espesor, 200 μm de largo y 40 μm de ancho, y se controla por medio de una plataforma nano-posicionadora (Thorlabs MAX312/M), donde se sitúa una estructura que sostiene el microcantilever mecánico y lo coloca perpendicular al cantilever óptico a caracterizar. Dos cámaras permiten controlar la posición del microcantilever mecánico para situarlo en el extremo del cantilever óptico con gran precisión. El montaje experimental se muestra en la figura 6.1-a.

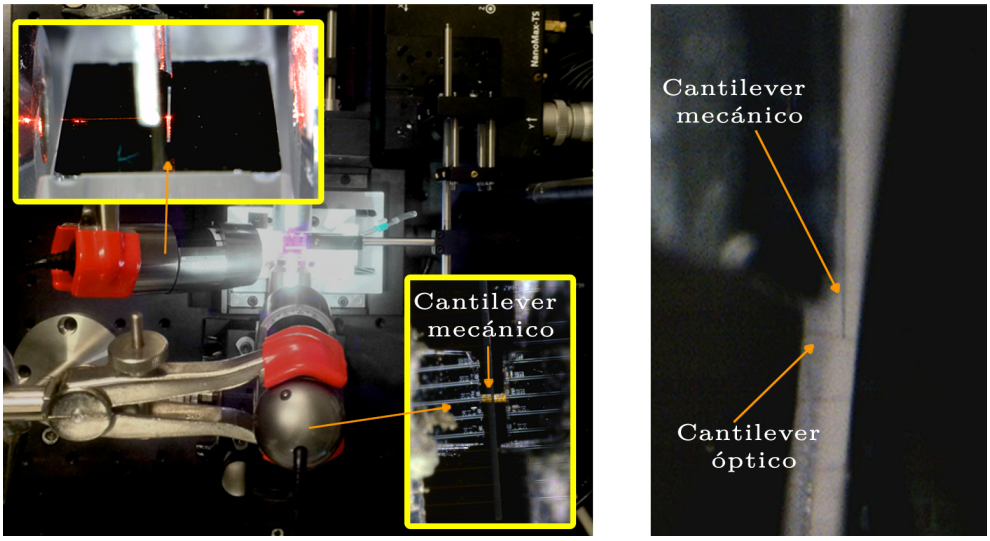


Figura 6.1: Sistema experimental para la caracterización de la deflexión del cantilever: a) vista superior del sistema experimental con las imágenes de las cámaras para el alineamiento del microcantilever mecánico con el cantilever óptico; b) deflexión del cantilever óptico forzado por el cantilever mecánico.

Aplicando un movimiento vertical del microcantilever mecánico se fuerza la deflexión del cantilever óptico, obteniendo su respuesta frente a la deflexión. Ajustando la amplitud de este movimiento se puede obtener la respuesta del cantilever óptico en función del desplazamiento de su extremo libre. En la figura 6.1-b se muestra una imagen en el momento que el microcantilever mecánico produce la deflexión del cantilever óptico (Para poder obtener la imagen se ha apagado el láser).

En la figura 6.2 se muestra la respuesta de un microcantilever de 100 μm de longitud, una distancia de *gap* $L_g = 1$ μm y con un espesor de 1 μm en

el anclaje, 518 *nm* en el centro del microcantilever y 872 *nm* en su extremo libre. El ruido observado se debe a la vibración entre el cantilever óptico y el microcantilever mecánico. Para poder comparar los resultados obtenidos de los experimentos se han realizado las simulaciones considerando las dimensiones reales de los dispositivos (línea discontinua en la figura 6.2). La diferencia entre ambas curvas se deben a la variación de eficiencia debida a las pérdidas por la propagación y las pérdidas en la interfaz guía-cantilever.

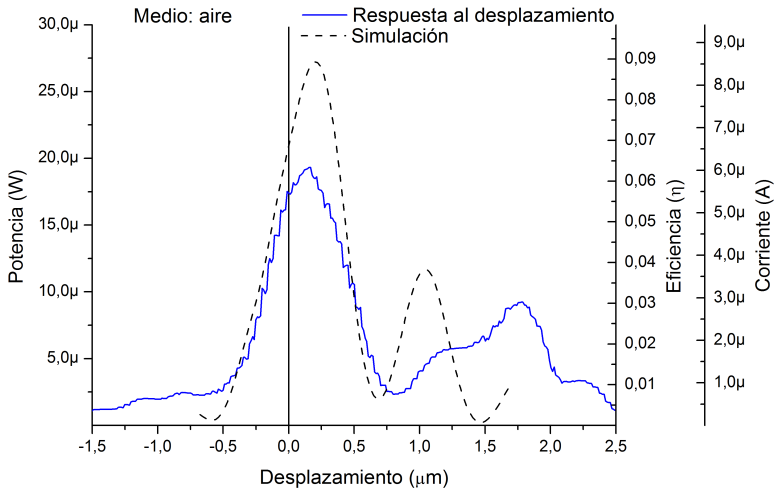


Figura 6.2: Respuesta de los microcantilevers fabricados en función del desplazamiento y comparación entre la medida realizada y la simulación.

Para obtener la MDD de un microcantilever real es necesario obtener la simulación de la deflexión en agua para el microcantilever con las dimensiones obtenidas de la fabricación (figura 6.3). De estas figura se obtiene el valor de la eficiencia del microcantilever, $\eta = 0{,}05$, y una $S = 1{,}128 \cdot 10^5$. Considerando el ruido del sistema de adquisición empleando el control de foco, la MDD posee un valor de 11,1 *nm*. Esta pérdida de sensibilidad se debe fundamentalmente al elevado espesor del cantilever óptico en el anclaje y en su extremo libre.

6.1.3. Resultados del cambio de índice de refracción

El cantilever óptico se comporta como el núcleo de una guía de onda, y el medio que lo rodea actúa como su cubierta, por lo tanto, las variaciones de índice de refracción que se producen en este medio externo afecta al modo propagado en el cantilever óptico. En los procesos de interacción biomolecular es muy común la variación del índice de refracción de las disoluciones *buffers*

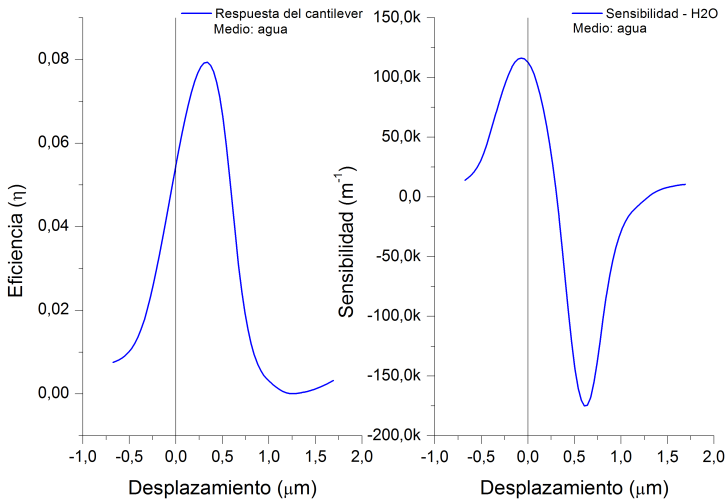


Figura 6.3: Eficiencia y sensibilidad del cantilever en agua.

donde se transporta las sustancias a evaluar. El objetivo en el diseño de los cantilevers ópticos es minimizar la respuesta a estas variaciones en el cambio de índice de refracción del medio, y de esta forma obtener únicamente la respuesta producida por la deflexión debida a la interacción biomolecular.

En la figura 6.4 se muestra la respuesta de un microcantilever frente a distintos cambios de índices de refracción, creados mediante la mezcla de etanol y agua a distintas concentraciones de 1 %, 5 %, 10 %, 25 % y 50 %, que representan los cambios de índices mostrados en la Tabla 6.2.

Tabla 6.2: Valores de índice de refracción absoluto (n) de la concentración de etanol en agua.

Concentración Etanol	Índice de refracción (n)	Variación del indice de refracción
1 %	1.3335	$5{,}5 \cdot 10^{-4}$
5 %	1.3357	$2{,}75 \cdot 10^{-3}$
10 %	1.3385	$5{,}5 \cdot 10^{-3}$
25 %	1.3467	$1{,}37 \cdot 10^{-2}$
50 %	1.3605	$2{,}75 \cdot 10^{-2}$

En la figura se puede observar la interferencia sufrida entre los modos de propagación del microcantilever, generando oscilaciones de la respuesta para los cambios de índice de refracción de $2{,}75 \cdot 10^{-2}$ RIU (50 % Etanol-Agua) y $1{,}37 \cdot 10^{-2}$ RIU (25 % Etanol-Agua). Estas variaciones se deben

al espesor de la zona del anclaje y del extremo libre del microcantilever, donde se excitan varios modos de propagación en el cantilever óptico, lo que genera la respuesta de interferencia estudiada en la sección 3.5.5. Sin embargo, observando la respuesta del cantilever óptico al cambio de índice de refracción de $5{,}5 \cdot 10^{-4}$ RIU (1 % Etanol-Agua), se observa que la variación en la eficiencia del dispositivo es inferior al 0.1 %, obteniendo una sensibilidad muy inferior a la que poseen otros sistemas de detección basados en el campo evanescente, como el sensor de resonancia de plasmón superficial (SPR) o biosensores interferométricos, capaces de detectar variaciones de 10^{-8} RIU.

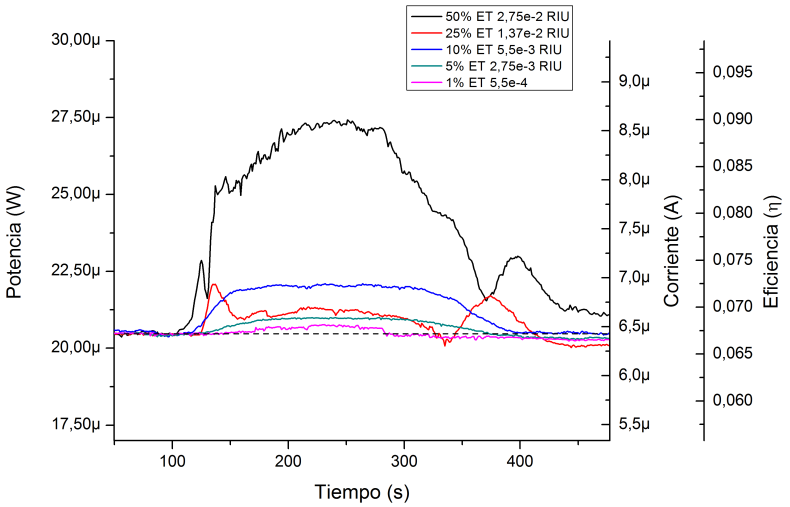


Figura 6.4: Respuesta del dispositivo frente al cambio de índice de refracción del medio que rodea al cantilever óptico.

De este estudio se concluye que, aunque el cantilever óptico puede detectar cambios de índice de refracción en el medio que lo rodea, estos deben poseer un valor superior a $5{,}5 \cdot 10^{-4}$ RIU. Esto permite identificar la respuesta originada por el estrés superficial generado por la interacción biomolecular, evaluando el cambio de intensidad neto de la señal de salida, sin confundirla con el cambio de índice de refracción ocasionado por la interferencia entre los modos de propagación al interactuar con capa bioreceptora inmovilizada en la superficie del cantilever óptico.

6.2. Evaluación de interacciones biológicas

La detección de interacciones biológicas es el objetivo fundamental del diseño de los cantilever ópticos. Empleando el sistema experimental expuesto en la Capítulo 5 es posible monitorizar la respuesta de los procesos en tiempo real. En este capítulo se describen los experimentos realizados con el dispositivo para la detección de interacciones biomoleculares, empleando procedimientos ya conocidos y testados en el laboratorio. Estos procedimiento consisten en la creación de una capa receptora de tioles sobre una superficie de oro, la creación de capas de polielectrolitos y la detección de la hormona de crecimiento hGH, demostrando de esta forma su aplicación como biosensor.

6.2.1. Materiales y métodos

Compuestos. Carboxyethylsilanetriol Sosium Salt (CTES) (ABCR, Alemania), Etanol EtOH 99 % (Panreac, España), acido clorhídrico HCl 35–38 % (Poch S.A, Polonia), *bobine serum albumin* (BSA) (Sigma Aldrich, Alemania), hGH de tipo recombinante, compuesta exclusivamente por la isoforma hGH 22kDa (Harbor-Ucka Medical Center, EEUU), anticuerpo monoclonal (mAb-hGH) que reconoce todas las isoformas (obtenido y caracterizado por el Departamento de Inmunología y Oncología del Centro nacional de Biotecnología, CSIC), *N-Hydroxysulfosuccinimide* (NHS) 98 % (Sigma Aldrich, Alemania), fluorescein isothiocyanate conjugate bovine albumin (FTIC-BSA) (Sigma Aldrich, Alemania), ácido nítrico HNO_3 (Panreac, España), buffer fosfato salino (PBS) (10mM de fosfato, 2.9mM KCl, 137mM NaCl, pH 7.4 (Sigma Aldrich, Alemania), *1-ethyl-3-[3-dymetilaminopropyl]carbodiimide* (EDC) (Sigma Aldrich, Alemania), *poly(diallyldimethylammonium chloride)* (PDDA) 409030–1L MW = 400k–500k (Sigma-Aldrich, Alemania), *poly(sodium 4-styrenesulfonate)* (PSS) 243051–100G MW = 70k (Sigma-Aldrich, Alemania), agua ultra pura (Milli-Q) obtenida desde un generador (Millipore, EEUU).

Limpieza de los dispositivos. El proceso de limpieza permite preparar la superficie para la inmovilización de la capa receptora, necesario para el posterior tratamiento químico de la superficie. El proceso consiste en la sucesión de pasos de limpieza con diferentes soluciones de 5 minutos de duración, a una temperatura de 80º, llevados a cabo en el siguiente orden: tricloro, acetona, etanol y agua. Tras el ultimo paso de limpieza de agua se elimina cualquier resto empleando nitrógeno.

Silanización y biofuncionalización de la superficie. El proceso de silanización permite la activación química de superficies de silicio capaces de enlazar posteriormente los receptores biológico. Para realizar esta tarea se hace uso de un compuesto silano Carboxyethylsilanetriol Sosium Salt (CTES), cuya

metodología ha sido puesta a punto en nuestro grupo de investigación [96]. El proceso de silanización (figura 6.5) comienza con la limpieza de los dispositivos antes de pasar a la oxidación de la superficie, aplicando 1 hora de plasma de ozono (UV/Ozone ProCleaner, BioForce NanoSciences EEUU) seguido de un baño de ácido nítrico (HNO_3) al 20 % durante 25 minutos a 75º. Seguidamente se limpia el chip con agua Milli-Q y comienza el proceso de silanización, que puede realizarse en flujo o de forma *ex-situ*. Para ello se emplea una solución de 0.5 % de CTES, que reacciona con el óxido formado, produciendo un compuesto silano que termina en un grupo carboxilo (figura 6.5). La activación de este grupo carboxilo se realiza empleando una solución de EDC/NHS, lo que permite obtener un enlace peptidíco entre la superficie y un grupo amino de la biomolécula receptora, en este caso se emplea una solución con 18 $\mu g/ml$ el anticuerpo monoclonal anti-hGH de la hormona de crecimiento. Finalmente se produce la reacción antígeno-anticuerpo al introducir la hormona de crecimiento (hGH), cuya respuesta depende de la concentración de la hormona.

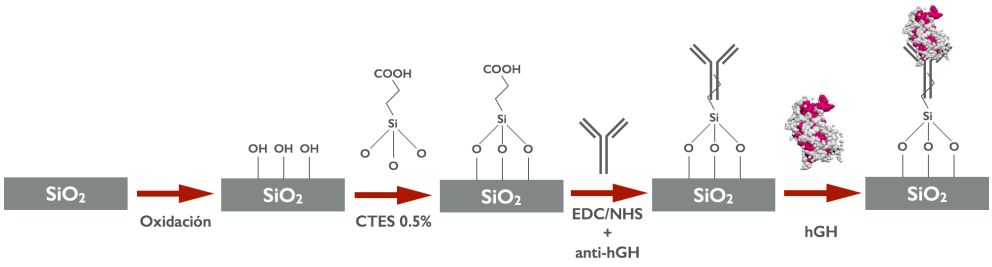


Figura 6.5: Proceso de silanización y biofuncionalización.

Plataforma de biodeposición. La deposición selectiva de la proteína como la BSA sobre la superficie superior del microcantilever se realizó empleando la plataforma de biodeposición NanoeNabler (BioForce NanoSciences USA)(ver figura 6.6). Esta plataforma permite la deposición de gotas de tamaño de entre 1 hasta 60 μm con una resolución de 20 nm. Para ello emplea un microcantilever similar a los de AFM pero con un canal que traslada por capilaridad una muestra de un reservorio situado en su anclaje hasta su extremo. El tamaño de la gota depende del tiempo de contacto y de la fuerza con la que la punta del microcantilever contacta con la superficie. Durante el proceso de deposición la humedad de equipo está controlada. Todo el proceso se controla a través de un programa informático.

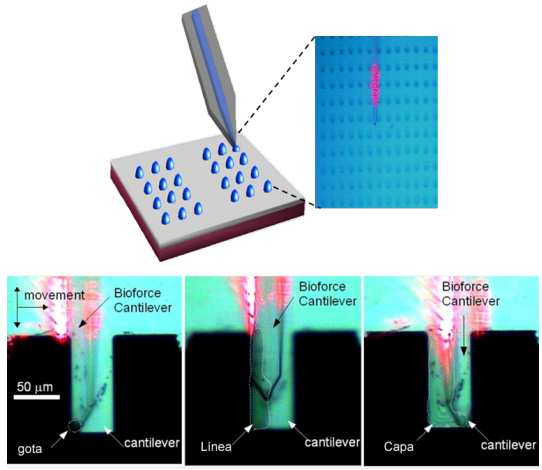


Figura 6.6: Proceso de funcionalización de un cantilever empleando la plataforma de biodeposición.

6.2.2. Inmovilizacion de tioles

Uno de los procesos más empleados para funcionalizar superficies es el uso de monocapas autoensambladas (SAM) de tioles, donde el grupo azufre del tiol establece un enlace covalente de gran afinidad con el oro.

Para verificar la deflexión del microcantilever generada por el estrés superficial por la inmovilización de los tioles, se ha incorporado una capa de oro de 20 nm, en la cara superior de un cantilever óptico con una longitud de 100 μm, mediante evaporación por haz de electrones. Previamente a la evaporación del oro y, para favorecer la adhesión de la capa de oro, se evaporó 2 nm de titanio entre el oxido de silicio de la superficie del microcantilever y la capa de oro. Aunque estas capas absorben una parte de la luz que se propaga por el microcantilever, es la forma más sencilla de observar una deflexión causada por la inmovilización de una capa receptora en el microcantilever.

En la figura 6.7 se muestra la evolución temporal del proceso de ensamblamiento: inicialmente el microcantilever se encuentra en un flujo de 20 $\mu L/min$ de agua, donde se inyecta 0,5 mg/ml de la solución del tiol *SH-PEG-COOH*, con un índice de refracción (n_{tiol} = 1,3326) muy similar al del agua. En esta figura se observa la respuesta del dispositivo, generando un cambio de potencia de 1,07 μW. Se puede observar como la respuesta de la deflexión es mucho más rápida que la causada por cambios de índices de refracción, tal y como se observó en la sección 6.1.3. Una vez que termina de fluir la solución de tioles, el microcantilever vuelve a estar en agua, realizando

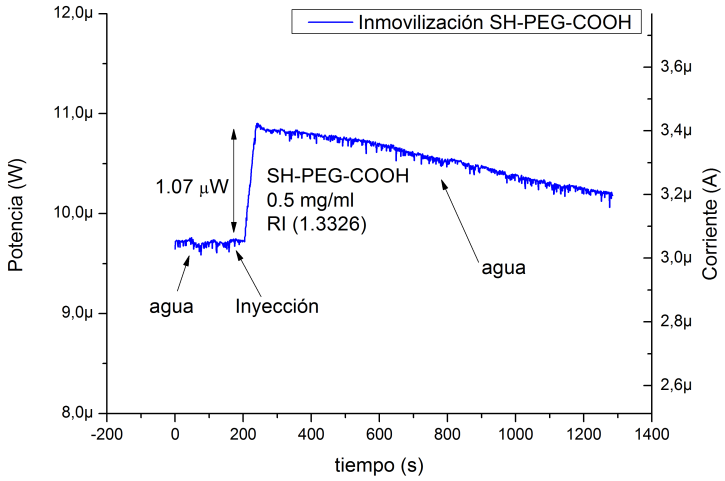


Figura 6.7: Inmovilización del tiol *SH-PEG-COOH* en la superficie metalizada del cantilever óptico.

un lavado de tioles que no se han unido covalentemente al oro, apreciandose una ligera deriva en la señal de respuesta.

6.2.3. Inmovilización de polielectrolitos

La deposición de polielectrolitos permite incorporar monocapas sucesivas de aproximadamente 1 nm de espesor con gran uniformidad a la superficie del microcantilever [97]. Esta deposición genera una diferencia de estrés entre las superficies del dispositivo.

Para realizar este proceso, es necesario bloquear una de las superficies del cantilever óptico, de tal forma que la formación de las capas de polielectrolitos se realice en solo una de sus caras y, de esta forma, generar una diferencia de estrés superficial entre ambas superficies del microcantilever. El bloqueo de la superficie se realiza en un microcantilever de 100 μm de longitud, evaporando 20 nm de oro en la cara superior para posteriormente inmovilizar una capa de tioles tal y como se ha expuesto anteriormente en la sección 6.2.2. Finalmente se bloquea la capa de tioles, y por lo tanto la superficie superior del cantilever óptico, mediante la proteína anti-CRP, realizando este proceso de forma *ex-situ* para asegurar un buen recubrimiento de la superficie a bloquear.

Una vez bloqueada la superficie de oro se introduce un polielectrolito con

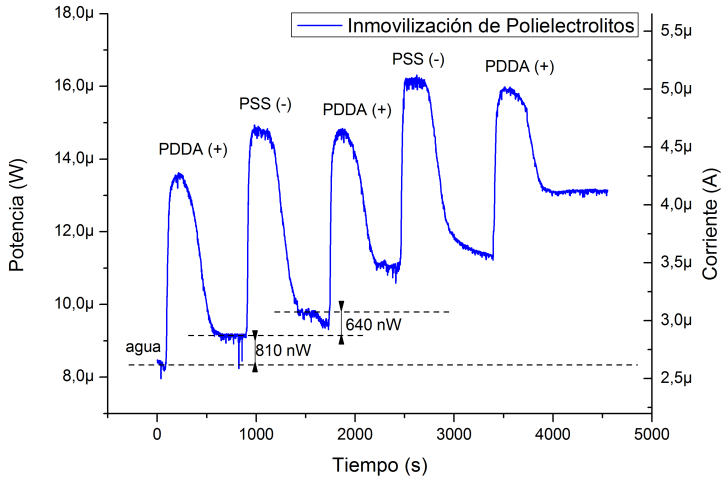


Figura 6.8: Proceso de inmovilización de capas de polieletrolitos de distintas cargas.

carga positiva (*poly(diallyldimethylammonium chloride)* (PDDA)), diluido al 2 % en agua, inmovilizándose en la parte inferior del microcantilever (SiO_2), esta respuesta se muestra en la figura 6.8, donde se observa una variación de potencia de 810 nW. Tras esta inmovilización se inyecta un polielectrolito con carga negativa (*poly(sodium 4-styrenesulfonate)* (PSS)), generando una variación de potencia óptica de 640 nW. Este proceso se repite dos veces respondiendo de la misma forma a la inmovilización.

6.2.4. Medida de hormona de crecimiento hGH

En la medida de detección de la hGH se prescinde del oro con el fin de reducir las pérdidas de potencia óptica transmitida en el cantilever óptico. En su lugar se ha bloqueado la superficie superior del microcantilever con la proteína *bobine serum albumin* (BSA), empleando el sistema de nano-biodeposición.
Para optimizar el proceso de inmovilización de la proteína se realizaron estudios de fluorescencia empleando una proteína fluorescente *fluorescein isothiocyanate conjugate bovine albumin* (FTIC-BSA). El resultado se muestra en la figura 6.9, donde se ha inmovilizado la proteína fluorescente en la superficie de óxido de silicio de los microcantilever *CN2* y *CN3*, tomando como control el microcantilever *CN1*.

Una vez bloqueada la superficie superior, el proceso de biodetección ocurre

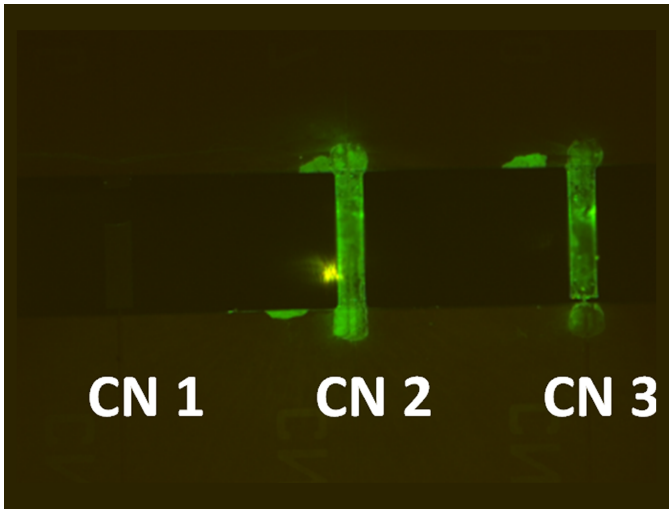


Figura 6.9: Imagen de fluorescencia para verificar la inmovilización de la proteína en la superficie de óxido de silicio del cantilever óptico. El microcantilever CN1 se considera el control, el CN2 y el CN3 han sido procesados con la proteína fluorescente

en la capa inferior del cantilever óptico. Para ello se realiza un proceso de silanización en flujo, que permite monitorizar la inmovilización del receptor biológico en el óxido de silicio expuesto. La respuesta de este proceso se muestra en la figura 6.10-a, y consiste en introducir un compuesto silano CTES al 0.5 %, que se inmoviliza en el óxido de silicio formando una monocapa ordenada. En este proceso el microcantilever sufre una ligera deflexión. Para verificar que la activación química es completa se repite el proceso de inyección del CTES, sin que se produzca ninguna deflexión.

El CTES posee un grupo *COOH* al que se une el anticuerpo mAb-hGH. Para poder realizar esta unión es necesario activar este grupo *COOH* mediante la inyección de una solución de EDC/NHS en MES. Este proceso se muestra en la figura 6.10-b. Una vez activado los grupos *COOH* se introduce una solución de PBS con 18 $\mu g/ml$ de anticuerpo mAb-hGH, produciendo un cambio de 670 nW. El valle en la señal de respuesta que existe al final del proceso se debe al cambio de índice producido por la entrada de agua en la celda durante el proceso del cambio agua-PBS/proteína-agua.

Una vez formada la capa de anticuerpos receptora, se procede a la detección de la hormona de crecimiento mostrada en la figura 6.11-a. La inyección de una concentración de 6,6 $\mu g/ml$ de hGH que se une al mAb-hGH genera un

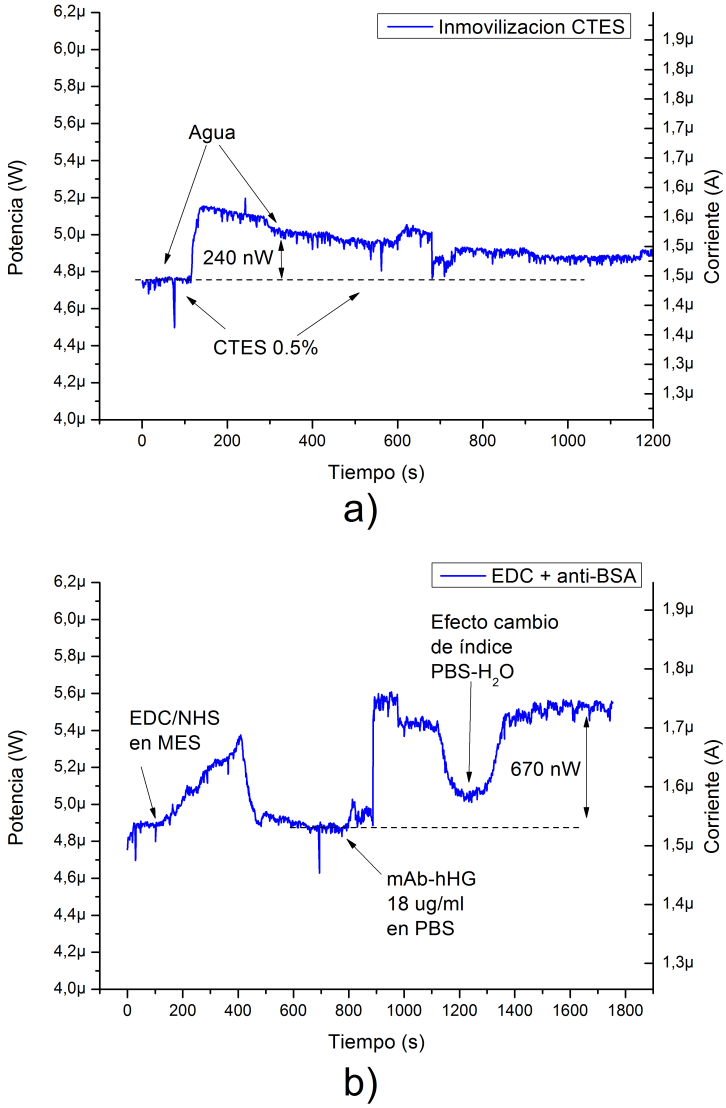


Figura 6.10: Respuesta del microcantilever en el proceso de silanización: a) inmovilización del CTES; b) inmovilización del anti cuerpo monoclonal mAb-hGH.

cambio de potencia de $360nW$. Posteriormente se realiza una regeneración de la superficie receptora, rompiendo el enlace entre la hormona y el anticuerpo, inyectando una solución de ácido clorhídrico HCl 10 mM, de tal forma que el microcantilever recupera su posición anterior a la detección de la hormona, y la superficie se encuentra preparada par realizar una nueva detección.

Para comprobar la actividad de la capa receptora tras la regeneración se vuelve a inyectar una nueva solución de hGH, con una concentración de 5 $\mu g/ml$ (figura 6.11-b). Esta nueva inyección produce un cambio de potencia de 850 μW verificando el ciclo de regeneración. Este incremento de la detección es común cuando se trabaja con inmovilizaciones de superficies, dado que la primera vez los bioreceptores pueden contener componentes que bloqueen la primera detección, por lo que se suele realizar ciclos de limpieza con HCl antes de comenzar los estudios.

El proceso de detección de la interacción biomolecular presentada permite validar el transductor opto-mecánico como un sistema biosensor, que junto con la optimización de los procesos presentados, permitirán el estudio de las fuerzas presentes en las interacciones biomoleculares.

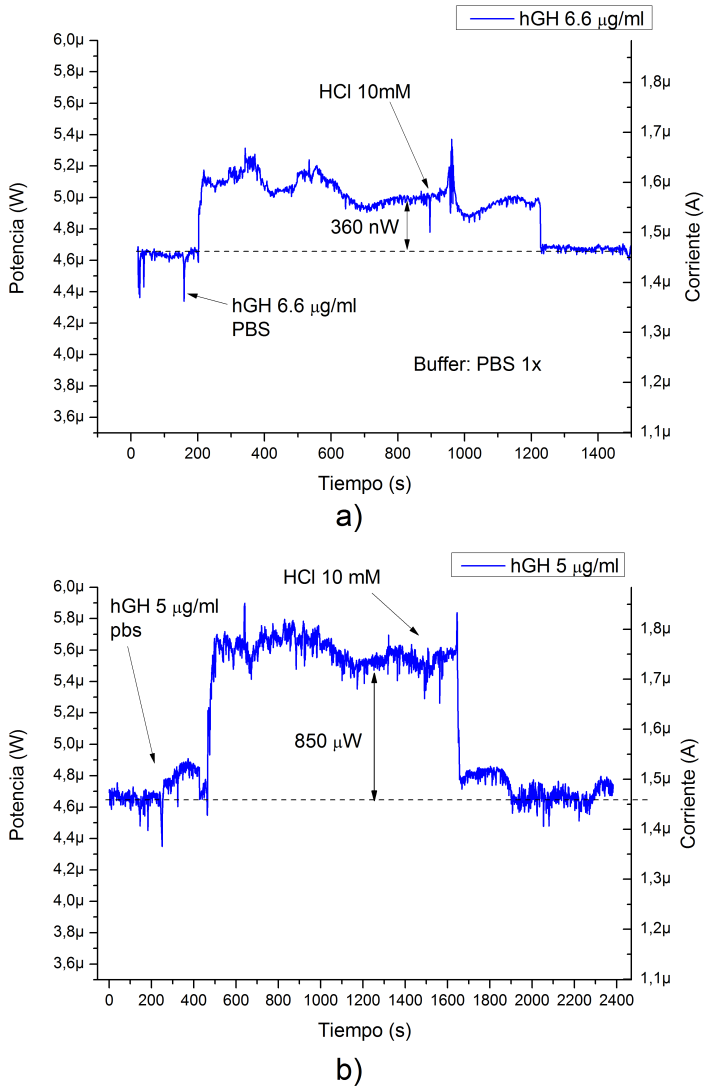


Figura 6.11: Detección de la proteína hGH y regeneración de la superficie con HCl: a) 6,6 $\mu g/ml$ hGH; b) 5 $\mu g/ml$ hGH.

Capítulo 7

Conclusiones y perspectivas futuras

7.1. Conclusiones generales

El desarrollo de sistemas biosensores ha abierto nuevas vías de investigación que abarcan multitud de ramas de la química, la biología y la medicina, permitiendo la detección de problemas en los estadios iniciales de su formación, o ayudando a la compresión de las reacciones que intervienen en los procesos bioquímicos.

Los biosensores basados en microcantilevers han permitido estudiar distintos procesos que se producen en este tipo de reacciones, desde la detección de mutaciones en el ADN hasta el estudio de las fuerzas que intervienen en una unión antigeno-anticuerpo. Sin embargo la complejidad de su uso y la dificultad para interpretar sus respuestas sigue siendo uno de los principales inconvenientes para su expansión, a pesar de su gran sensibilidad.

El trabajo de tesis he pretendido alcanzar el objetivo de validación de los microcantilevers con sistema de detección ópto-mecánica como biosensor, para ello se ha desarrollado el análisis completo del dispositivo opto-mecánico, y su optimización para su operación en modo estático. El trabajo tuvo como inicio una fase preliminar de estudio donde se ideó su principio de funcionamiento y se comprobó su viabilidad.

La simulación de los dispositivos permitió obtener su respuesta segun los distintos parámetros que afecta a la sensibilidad mecánica y óptica. Atendiendo a la sensibilidad mecánica, es bien conocido que el espesor de un microcantilever de una longitud dada juega un papel fundamental, aumentando su sensibilidad

de forma inversamente proporcional.

El análisis de la sensibilidad óptica del microcantilever viene determinada fundamentalmente por su espesor y por la distancia de *gap* L_c, sin embargo la eficiencia juega un papel fundamental en la relación señal ruido del dispositivo. Maximizar estos dos parámetros pasa por alcanzar el comportamiento monomodal del microcantilever, evitando los problemas derivados de la interferencia producida por la propagación de varios modos, atenuando la influencia de la variación del índice de refracción del medio que rodea al microcantilever.

Para la fabricación de los dispositivos optimizados se diseñó un juego de máscaras litográficas y los pasos necesarios que permitieron la fabricación de los microcantilevers en la Sala Blanca del Centro Nacional de Microelectrónica de Barcelona (CNM) del CSIC, reconocida con la etiqueta Instalación Nacional Científico Técnica Singular (ICTS). Los dispositivos obtenidos de la fabricación permitieron el guiado de la luz en los microcantilevers, gracias a la optimización de las dimensiones en la interfaz entre la guía de entrada y el microcantilever, así como la protección de las guías de ondas de entrada y recogida mediante una cubierta de óxido de silicio. Estos logros permitieron realizar la caracterización de los dispositivos y determinar su sensibilidad, a pesar de no alcanzar la sensibilidad obtenida por simulaciones, debido al espesor no homogéneo de los microcantilevers, producido por un sobre ataque de silicio en el proceso de fabricación.

Para la caracterización de los dispositivos se desarrolló un sistema experimental capaz de detectar las variaciones de potencia debidas a la deflexión. Su diseño en un programa CAD ha permitido la integración de todos los componentes ópticos y mecánicos. Una aplicación de control adquiere las señales y controla los elementos del sistema, la sincronización de esas dos tareas se implementan en un sistema de auto-enfoque del haz de excitación en la guía de entrada del microcantilever, permitiendo la reproducibilidad de los niveles de potencia óptica y la estabilidad en el tiempo. El software también permite la realización de medidas multiplexadas, sin embargo, debido a la elevada diferencia entre la eficiencia de las guías de referencia y los microcantilever, no se ha podido aplicar experimentalmente con éxito, debido a que el amplificador de señal no posee ganancia programable.

Empleando el sistema experimental, se han caracterizado los dispositivos fabricados, comparándolos con los obtenidos de las simulaciones, empleando para ello las dimensiones de los dispositivos fabricados, demostrando la validez del modelo empleado. En este aspecto se ha obtenido la respuesta de los microcantilevers en función de su deflexión y su influencia con el cambio de

índice de refracción del medio que lo rodea. Este hito permite sentar las bases de cocimientos para optimizar el diseño sin incurrir en gastos de fabricación.

Finalmente, se ha demostrado la capacidad del microcantilever como biosensor, empleando diversas técnicas de inmovilización de la capa receptora que hacen uso del oro como superficie de anclaje, así como el uso de procesos de silanización para la funcionalización del óxido de silicio del microcantilever. Respecto al uso del oro se ha demostrado la respuesta a la inmovilización de una capa de tioles, y la deflexión debida a la interacción entre las cargas de polielectrolitos. Empleando protocolos de silanización, se ha realizado la detección de la hormona de crecimiento hGH, aplicando ciclos de regeneración.

El desarrollo de este proyecto ha permitido adquirir conocimientos en multitud de áreas, como la simulación de fenómenos físicos, diseño de procesos de fabricación a nivel de oblea, diseños CAD, ha permitido el estudio de patrones de diseño, arquitectura y metodologías empleada en la industria del software y entrar en contacto con procesos químicos y biológicos.

7.2. Perspectivas futuras

El análisis, diseño, fabricación y verificación del cantilever óptico ha permitido adquirir los conocimientos necesarios y entender los parámetros más importantes del dispositivo. En este proceso se han detectado posibles mejoras que permitirían aumentar su sensibilidad.

Desde el punto de vista de la fabricación, optimizar los procesos para obtener cantilevers ópticos con los espesores deseados es uno de los retos más importantes para poder alcanzar los niveles de sensibilidad necesarios según la aplicación biosensora. Al mismo tiempo, plantear nuevas estrategias que permitan medir de forma simultánea el dispositivo junto con señales de referencias ayudará a comprender mucho mejor su respuesta.

El sistema experimental ha demostrado que es capaz de medir la respuesta del dispositivo, sin embargo el uso de un sistema de control de temperatura puede mitigar derivas ocasionadas por la variación de temperatura entre las distintas muestras que fluyen a través del sensor. En esta misma área, el desarrollo de la electrónica es uno de los objetivos de la siguiente etapa del desarrollo. El uso de electrónica comercial ha permitido invertir tiempo en el análisis del dispositivo, y de esta forma demostrar su principio de funcionamiento. Sin embargo el desarrollo de instrumentación con menor nivel de ruido y con mayor ancho de banda permitirá mejorar la deflexión mínima detectable y ampliar las capacidades del biosensor para trabajar en

modo dinámico. En este sentido el desarrollo de la instrumentación adecuada permitiría ajustar la ganancia de los amplificadores para adaptarse a la potencia y, de esta forma, permitir medidas multiplexadas de matrices de cantilevers ópticos.

Otra vía de estudio se centra en el transporte de sustancias hasta el microcantilever. La optimización por medio de simulaciones y técnicas de fabricación de la micro-fluídica, pueden ayudar a mejorar la sensibilidad al optimizar el comportamiento del microcantilever en contacto con un flujo de líquido, asegurando un buen transporte de masas hasta la superficie del dispositivo.

En el ámbito de la caracterización de los dispositivos, los protocolos empleados para la activación de la capa receptora han sido inicialmente optimizados para otro biosensores ópticos empleados en el grupo de investigación donde se ha desarrollado este trabajo. Aunque la respuesta obtenida valida el uso del microcantilever como biosensor, la naturaleza de la detección es completamente diferente, dado que su respuesta depende de las fuerzas generadas entre los elementos inmovilizados. Por lo tanto la optimización de las capas receptoras permitirá maximizar su respuesta.

Parte I

Apéndices

Apéndice A

Mecánica continua

La Mecánica de Medios Continuos (MMC) es la rama de la física que propone un modelo unificado que describe el comportamiento mecánico y cinemático de sólidos deformables, rígidos o fluidos. Los primeros modelos matemáticos de la MMC fueron formulados por Cauchy en el siglo XIX. Es bien conocido que los materiales están compuestos por un conjunto de moléculas y estas por átomos que se encuentran espaciados entre ellos. Por lo tanto, a nivel atómico la materia es discontinua, sin embargo la mecánica continua hace la aproximación de materiales continuos, sin embargo, a nivel macroscópico estas discontinuidades entre los átomos se desprecian y se consideran *materiales continuos*.

La aproximación de *material continuo* permite aplicar las leyes físicas fundamentales, conservación de la masa, del momento y la energía, por lo que pueden ser aplicadas al modelo matemático de la mecánica continua. Las propiedades físicas de los materiales son aportadas por las relaciones constitutivas, por lo que se puede obtener las ecuaciones diferenciales que describen el comportamiento del material.

Dentro de la mecánica de solido continuo se sitúa la mecánica de sólidos deformables, y dentro de esta a la teoría de la elasticidad. Esta rama de la física estudia el comportamiento de los cuerpos deformables cuando se les aplican fuerzas que modifiquen su forma. Su desarrollo comenzó a principios del siglo XX gracias a G.G. Stoney, con su trabajo experimental con películas delgadas de metales [69] y Timoshenko que presento su teoría de la elasticidad [98].

Para el análisis de la teoría de la elasticidad se emplea el tensor de estrés y

de deformación, estos tensores se relacionan mediante la ley de Hooke a través del tensor de elasticidad.

A.1. Estrés mecánico

En la mecánica continua se define el estrés mecánico como la cantidad física que expresa las fuerzas que ejercen las partículas de un material entre si, esto es la fuerza media por unidad de superficie existente entre partículas de un material continuo, y por lo tanto, tiene unidades de presión. Aunque su definición hace uso de las fuerzas entre las partículas, estas se consideran lo suficientemente pequeñas para poder emplear la mecánica continua, pero lo suficientemente grandes para ignorar los efectos cuánticos y el movimiento de las moléculas.

A.2. Tensor de estrés

El estrés se define por el *tensor de estrés de Cauchy* o simplemente tensor de estrés $\boldsymbol{\sigma}$, que describe la distribución de fuerzas de un punto interno del sólido bajo pequeñas deformaciones. Este tensor de estrés de segundo orden del tipo (2,0), es una función lineal que permite conocer el vector de estrés T en una superficie de vector normal n.

$$T = \boldsymbol{\sigma}(\boldsymbol{n}) \tag{A.1}$$

Si se emplea un sistema de coordenadas cartesiano el tensor de estrés $\boldsymbol{\sigma}$ se puede escribir como una matriz 3x3 de números reales:

$$\boldsymbol{\sigma} = \begin{bmatrix} \sigma_{xx} & \sigma_{xy} & \sigma_{xz} \\ \sigma_{yx} & \sigma_{yy} & \sigma_{yz} \\ \sigma_{zx} & \sigma_{zy} & \sigma_{zz} \end{bmatrix} \tag{A.2}$$

Considerando un volumen cúbico diferencial perteneciente a un sólido arbitrario y que está sometido a las fuerzas del resto del sólido que le rodea, su tamaño es tal que las fuerzas y momentos no varían con la superficie de este y la fuerza de cada cara es igual pero de signo contrario a la de la superficie opuesta. En este caso, las componentes del tensor σ_{ij} representan las direcciones del estrés de la cara i en la dirección j, esta representación se puede observar en la figura A.1.

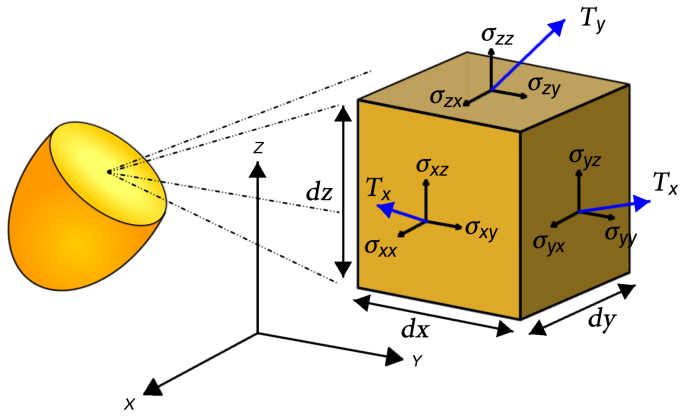


Figura A.1: Tensor de estrés.

Según esta nomenclatura las componentes σ_{xx}, σ_{yy} y σ_{zz} son las componentes normales a la cara del elemento diferencial, denominadas estrés normal. El resto de componentes de estrés σ_{ij} representan los estrés de corte.

Dado que se ha considerado un sólido continuo en equilibro estático, este debe cumplir el principio de conservación del momento lineal y el principio de conservación del momento angular, por lo tanto, la suma de momento debe ser igual a 0:

$$\sum \vec{M} = 0 \tag{A.3}$$

Esto implica que el tensor de estrés es simétrico, es decir $\sigma_{ij} = \sigma_{ji}$, por lo que el número de componentes del tensor de estrés se reducen a 6.

A.3. Tensor de deformación

El tensor de deformación es un tensor simétrico de orden 2 que caracteriza el cambio de forma y volumen de un cuerpo:

$$\boldsymbol{E} = \begin{bmatrix} \varepsilon_{xx} & \varepsilon_{xy} & \varepsilon_{xz} \\ \varepsilon_{yx} & \varepsilon_{yy} & \varepsilon_{yz} \\ \varepsilon_{zx} & \varepsilon_{zy} & \varepsilon_{zz} \end{bmatrix} \tag{A.4}$$

En sólidos sometidos a pequeñas deformaciones se emplea el tensor

infinitesimal de deformaciones. Cuando un sólido se somete a una deformación la posición de cada punto del sólido generalmente es modificada. Por lo tanto, el desplazamiento de cada punto esta definido por un vector que une el punto inicial y el punto final. Este desplazamiento esta descrito por funciones de desplazamiento u_x, u_y y u_z que afectan a cada eje y que se representan un campo vectorial de desplazamiento u.

El tensor de deformación se puede escribir de forma general como:

$$\varepsilon_{ij} = \frac{1}{2}\left(\frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i}\right) \tag{A.5}$$

Donde i y j representa cada eje de coordenada, por lo que $\boldsymbol{u} = (u_x, u_y, u_y)$ y las coordenadas de cada punto se representan por $\boldsymbol{r} = (x_1, x_2, x_3) = (x, y, z)$. Por lo tanto, las seis componentes del vector de deformación son:

$$\begin{cases} \varepsilon_{xx} = \dfrac{\partial u_x}{\partial x}, \quad \varepsilon_{yy} = \dfrac{\partial u_y}{\partial y}, \quad \varepsilon_{zz} = \dfrac{\partial u_z}{\partial z} \\ \varepsilon_{xy} = \varepsilon_{yx} = \dfrac{1}{2}\left(\dfrac{\partial u_x}{\partial y} + \dfrac{\partial u_y}{\partial x}\right) \\ \varepsilon_{xz} = \varepsilon_{zx} = \dfrac{1}{2}\left(\dfrac{\partial u_x}{\partial z} + \dfrac{\partial u_z}{\partial x}\right) \\ \varepsilon_{yz} = \varepsilon_{zy} = \dfrac{1}{2}\left(\dfrac{\partial u_y}{\partial z} + \dfrac{\partial u_z}{\partial y}\right) \end{cases} \tag{A.6}$$

Los elementos de la diagonal del tensor de deformación ε_{ii} representan los cambios normales a cada superficie del elemento diferencial, y los elementos ε_{ij} representan las deformaciones angulares.

En la figura A.2 se presenta el modelo unidimensional de una barra sometida a una fuerza axial que produce un aumento de la distancia entre los puntos a y b.

Para obtener una solución única y continua del sistema de ecuaciones (A.6), compuesto por seis ecuaciones que dependen de las funciones de desplazamiento u_x, u_y y u_z, se busca una ecuación que relacione a las componentes del tensor de deformación entre si, ya que normalmente las componentes del vector de desplazamiento son desconocidas. Para obtener estas relaciones se aplican segundas derivadas a las ecuaciones anteriores, lo que da lugar a las *relaciones*

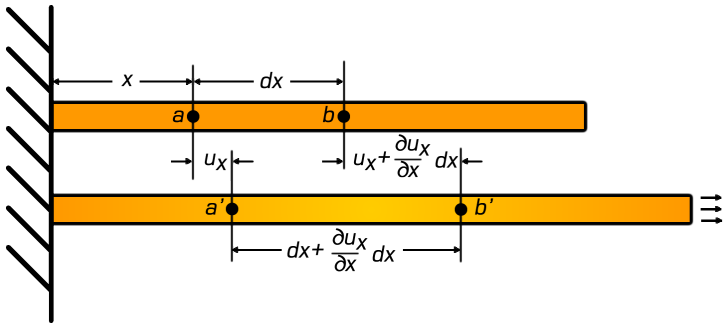


Figura A.2: Tensor deformación para una barra deformada.

de compatibilidad de Saint-Venant:

$$\forall i,j,k,l: \quad \frac{\partial^2 \varepsilon_{ij}}{\partial x_k \partial x_k} + \frac{\partial^2 \varepsilon_{kl}}{\partial x_i \partial x_j} = \frac{\partial^2 \varepsilon_{il}}{\partial x_k \partial x_j} + \frac{\partial^2 \varepsilon_{kj}}{\partial x_i \partial x_l} \tag{A.7}$$

Donde *i,j,k,l* toman valores del 1 al 3 y siendo $\boldsymbol{r} = (x_1, x_2, x_3) = (x, y, z)$. La ecuación A.7 genera 81 ecuaciones de las cuales tan solo 6 son linealmente independientes:

$$\left.\begin{aligned}
\frac{\partial^2 \varepsilon_{xx}}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 \varepsilon_{yy}}{\partial x^2} &= \frac{\partial^2 \varepsilon_{xy}}{\partial x \partial y} \\
\frac{\partial^2 \varepsilon_{yy}}{\partial z^2} + \frac{\partial^2 \varepsilon_{zz}}{\partial y^2} &= \frac{\partial^2 \varepsilon_{yz}}{\partial y \partial z} \\
\frac{\partial^2 \varepsilon_{zz}}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \varepsilon_{xx}}{\partial z^2} &= \frac{\partial^2 \varepsilon_{xz}}{\partial x \partial z} \\
2\frac{\partial^2 \varepsilon_{xx}}{\partial y \partial z} &= \frac{\partial}{\partial x}\left(-\frac{\partial^2 \varepsilon_{yz}}{\partial x} + \frac{\partial^2 \varepsilon_{xz}}{\partial y} + \frac{\partial^2 \varepsilon_{xy}}{\partial z}\right) \\
2\frac{\partial^2 \varepsilon_{yy}}{\partial z \partial x} &= \frac{\partial}{\partial y}\left(-\frac{\partial^2 \varepsilon_{yz}}{\partial x} + \frac{\partial^2 \varepsilon_{xz}}{\partial y} + \frac{\partial^2 \varepsilon_{xy}}{\partial z}\right) \\
2\frac{\partial^2 \varepsilon_{zz}}{\partial x \partial y} &= \frac{\partial}{\partial z}\left(-\frac{\partial^2 \varepsilon_{yz}}{\partial x} + \frac{\partial^2 \varepsilon_{xz}}{\partial y} + \frac{\partial^2 \varepsilon_{xy}}{\partial z}\right)
\end{aligned}\right\} \tag{A.8}$$

A.4. Relación entre el estrés y la deformación

El tensor de deformación está relacionado con el tensor de estrés mediante las ecuaciones de Hooke generalizadas. En el caso de una barra sometida a un

proceso de estiramiento o compresión simple, la ley de Hooke se escribe de la forma:

$$\sigma_x = E\varepsilon_x \tag{A.9}$$

Donde E es el módulo de Young del material, cuyas magnitudes son de fuerza por unidad de superficie N/m^2. Para el caso general en tres dimensiones, la ley de Hooke generalizada relaciona el tensor de estrés con el tensor de deformación a través de otro nuevo tensor, el tensor de elasticidad α, por lo tanto, la Ley de Hooke para el caso de 3 dimensiones se puede escribir como:

$$\sigma_{ij} = \sum_{k,l} c_{ijkl}\varepsilon_{kl} \tag{A.10}$$

Donde *i,j,k,l* toman valores de *x,y,z*. Este tensor de elasticidad es un tensor de orden cuatro, que representa las propiedades del material y a menudo depende de parámetros como la temperatura o presión. Este tensor es constante y simétrico bajo el intercambio de i por j y de k por l, dada por la simetría de los tensores de estrés y deformación.

Junto con esta simetría, considerando medios homogéneos e isótropos, se definen las ecuaciones de la ley de Hooke generalizada como:

$$\begin{cases} \varepsilon_{xx} = \dfrac{1}{E}[\sigma_{xx} - \nu(\sigma_{yy} + \sigma_{zz})] \\ \varepsilon_{yy} = \dfrac{1}{E}[\sigma_{yy} - \nu(\sigma_{xx} + \sigma_{zz})] \\ \varepsilon_{zz} = \dfrac{1}{E}[\sigma_{zz} - \nu(\sigma_{xx} + \sigma_{yy})] \\ \varepsilon_{xy} = \dfrac{(1+\nu)}{E}\sigma_{xy} \\ \varepsilon_{yz} = \dfrac{(1+\nu)}{E}\sigma_{yz} \\ \varepsilon_{xz} = \dfrac{(1+\nu)}{E}\sigma_{xz} \end{cases} \tag{A.11}$$

Donde E es el módulo de Young anteriormente descrito y ν es el coeficiente

de Poisson. La forma matricial de la ecuación A.11 toma la siguiente forma:

$$\begin{bmatrix} \varepsilon_{xx} \\ \varepsilon_{yy} \\ \varepsilon_{zz} \\ \varepsilon_{xy} \\ \varepsilon_{yz} \\ \varepsilon_{xz} \end{bmatrix} = \frac{1}{E} \begin{bmatrix} 1 & -\nu & -\nu & 0 & 0 & 0 \\ -\nu & 1 & -\nu & 0 & 0 & 0 \\ -\nu & -\nu & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1+\nu & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1+\nu & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1+\nu \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \sigma_{xx} \\ \sigma_{yy} \\ \sigma_{zz} \\ \sigma_{xy} \\ \sigma_{yz} \\ \sigma_{xz} \end{bmatrix} \tag{A.12}$$

Y la relación inversa es:

$$\begin{bmatrix} \sigma_{xx} \\ \sigma_{yy} \\ \sigma_{zz} \\ \sigma_{xy} \\ \sigma_{yz} \\ \sigma_{xz} \end{bmatrix} = \frac{E}{(1+\nu)(1-2\nu)} \begin{bmatrix} 1-\nu & \nu & \nu & 0 & 0 & 0 \\ \nu & 1-\nu & \nu & 0 & 0 & 0 \\ \nu & \nu & 1-\nu & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1-2\nu & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1-2\nu & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1-2\nu \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \varepsilon_{xx} \\ \varepsilon_{yy} \\ \varepsilon_{zz} \\ \varepsilon_{xy} \\ \varepsilon_{yz} \\ \varepsilon_{xz} \end{bmatrix} \tag{A.13}$$

La ecuación A.13 se puede escribir de forma general como:

$$\sigma_{ij} = 2G\varepsilon_{ij} + \lambda\varepsilon_{kk}\delta_{ij} \quad \text{Donde} \quad \begin{cases} \delta_{ij} = 1 \quad \forall i = j, \quad \delta_{ij} = 0 \forall \quad i \neq j \\ G = \dfrac{E}{2(1+\nu)} \\ \lambda = \dfrac{\nu E}{(1+\nu)(1-2\nu)} \\ \varepsilon_{kk} = (\varepsilon_{xx} + \varepsilon_{yy} + \varepsilon_{zz}) \end{cases} \tag{A.14}$$

Donde δ_{ij} es la *delta de Kronecker*, λ es el primer parámetro de las *constantes de Lamé* y G es el módulo de elasticidad transversal y segunda *constante de Lamé.*

Apéndice B

Procesos de Fabricación

B.1. MARC-PXA - Marcado de obleas

Marcado de las obleas para su identificación durante el proceso de fabricación. Se indica el número de *RUN* seguido del número de oblea.

B.2. NETG-GEN - Limpieza general

Proceso para eliminar restos orgánicos y de óxidos, que consiste en la inmersión de las obleas durante 10 minutos en una solución de ácido sulfúrico y agua oxigenada ($H_2SO_4 + H_2O_2$), llamada *piraña*, seguido de un ataque de ácido fluorídrico al 10 % durante 10 segundos que elimina óxidos superficiales. Finalmente se colocan en una cascada de agua desionizada.

B.3. NETG-SIM - Limpieza simple

Proceso de limpieza de las obleas similar al general (*NETG-GEN*) donde tan solo se realiza la limpieza con el baño de *piraña* (ácido sulfúrico + agua oxigenada) y se elimina el baño de ácido fluorídrico (*HF*) al 10 %. Se suele emplear cuando el material que se encuentra descubierto puede ser atacado por el *HF*.

B.4. OHC-XXX - Crecimiento de óxido de silicio

Crecimiento de oxido de silicio térmico por ambas caras de la oblea con un espesor variable *XXX*, definido en las indicaciones del *RUN*.

B.5. DNITAAA - Deposición estándar de 180 nm de nitruro de silicio

Proceso de deposición de 180 nm de nitruro de silicio por vapor químico en baja presión LPCVD. La deposición se realiza por ambas caras de la oblea.

B.6. DNITXXX - Deposición semiestandar de nitruro de silicio LPCVD

Similar a la *DNITAAA* pero para un espesor diferente indicado en las notas de la etapa del *RUN*.

B.7. FOTO-FCD - Fotolitografía

Proceso de fotolitografía para definir una máscara en una oblea. Se debe indicar la máscara a emplear y la cara donde se aplica, el tipo y espesor de la resina y las observaciones necesarias para procesar la etapa. El proceso consiste en diversos pasos:

1. Eliminación de la humedad de la oblea.
2. Deposición por centrifugado de la resina indicada.
3. Secado de la resina.
4. Alineamiento y insolación de la máscara con una alienadora Canon PLA600, haciendo uso de las marcas de alineamiento. Si es la primera máscara no es necesario el alineamiento pero si la insolación.
5. Secado con estufa.
6. Revelado de la resina en un baño con enjuage en cascadas.
7. Secado de la oblea.

B.8. FOTO-ESP - Fotolitografía especial

Proceso de fotolitografía para definir una máscara en una oblea. Es muy similar al *FOTO-FCD*, salvo que se introduce en caso de que se necesite dar indicaciones especiales a los técnicos de sala blanca. Se puede configurar el tipo y espesor de la resina, espesor de la resina y las observaciones necesarias para procesar la etapa.

B.9. FOTO-FKD - Fotolitografía doble cara

Fotolitografía que se realiza en una cara pero alineando la máscara con motivos de la otra cara. Los pasos que se siguen son similares a los de la etapa *FOTO-FCD*.

B.10. GGIR-ESP - Grabado seco especial

Grabado seco por RIE. Grabado anisotrópico donde se indica, la cara y el material a grabar, además del espesor deseado. Es necesario indicar el sustrato que existe tras el grabado. El equipo empleado en este proceso es el Alcatel GIR 160

B.11. DEC-RESI - Decapado de resina

Eliminación de la resina de la oblea por medio de plasma de oxígeno. El equipo empleado este proceso es el TEPLA.

B.12. DIAMIOX11 - Deposición de óxido PECVD TEOS 1:1

Deposición de óxido TEOS 1:1. Se debe indicar el espesor de la capa de óxido en un intervalo de $50nm$ hasta las 3,5 μm, y la cara de la oblea. Esta operación se realiza en el equipo AMI-DEP.

B.13. PGIOXXXX - Grabado seco de óxido

Etapa que aplica un ataque seco al oxido de silicio mediante RIE, de espesor (XXX) y cara indicada en la etapa del *RUN*. Se debe indicar el sustrato restante tras el proceso de grabado. Esta etapa se realiza en el equipo Alcatel GIR 160.

B.14. PGIOXGUI - Grabado seco de óxido de silicio

Etapa que aplica un ataque seco al oxido de silicio en la cara indicada mediante *RIE*, el espesor se indicada en la información de la etapa del *RUN*. Se debe indicar el sustrato que restante tras el proceso de grabado y el espesor de la resina. Esta etapa se realiza en el equipo Alcatel GIR 160.

B.15. QGOXRXXX - Grabado húmedo de óxido

Proceso húmedo para grabar una profundidad *XXX* o decapado completo de óxido de silicio, para lo cual se sumergen las obleas en una mezcla comercial de SiOEtch, por lo que el ataque se produce por ambas caras, si no se protege. Tras el proceso se enjuagan las obleas en una cascada de agua y se secan.

B.16. GHUM-ESP - Grabado húmedo especial

Proceso de grabado húmedo, donde se debe indicar la cara, el material y el espesor a grabar, junto con el material de sustrato y el material existente en la cara opuesta al grabado.

B.17. PRE-GRAV - Mejora de la resina

Se trata la resina con un plasma de oxigeno durante 30 segundos, de esta forma se prepara la superficie de la resina para soportar grabados húmedos y cuando el área de grabado es inferior a las 10 μm^2. Durante este proceso la resina se reduce entre las 300 μm y las 500 μm, por lo que hay que tener en cuenta el espesor inicial de la resina para que soporte los pasos posteriores a este tratamiento.

B.18. QUAD-ESP - Grabado seco especial

Etapa para grabados seco en RIE donde se deben describir las condiciones bajo las que se debe procesar la etapa, así como el material y la cara a grabar, el sustrato y el tipo de máscara a emplear.

B.19. P601DEEP - Grabado profundo de silicio

Etapa para grabar en seco silicio. Se emplea el equipo Alcatel 601.

B.20. MZ550ING - Deposición de Aluminio

Proceso de deposición de metal por pulverización catódica (*sputtering*), donde se produce la condensación del material en fase vapor en la oblea, a una temperatura controlable entre los 100º y los 500º. Los metales que pueden ser depositados son aluminio, aluminio/cobre, aluminio/silicio. Este proceso se realiza en el equipo *Leybold HZ550*, donde las obleas se procesan de forma individual.

B.21. AMRIEING - Ataque seco de ingenieria

Ataque seco por *RIE* que se realiza en el equipo AMI, se deben indicar el espesor y el material a atacar, así como el sustrato y el tipo de máscara existente.

B.22. QGALCXXX - Grabado humedo de aluminio

Grabado húmedo de aluminio y cobre 0.5 %. En el proceso las obleas se sumergen en un baños a 55º en una solución comercial que contiene ácido fosfórico, ácido acético, ácido fluorobórico, ácido nítrico y agua

Una vez finalizado se pasan por una cascada de agua ionizada y se secan por centrifugado, en el equipo *rinser-dryer*, o en una estufa.

B.23. MSTMHING - Micromecanizado de silicio en TMAH

Grabado húmedo anisotrópico de silicio empleando Hidróxido de Tetrametilamonio (*TMAH*) al 25 % y 80º de temperatura. Esta solución posee una gran selectividad del silicio respecto al óxido de silicio y el nitruro de silicio.

Es necesario indicar el espesor del grabado, así como la cara a grabar y el tipo de protección de la cara opuesta al grabado (soporte, cera, ambas o ninguna), además del proceso de control del espesor de ataque (por tiempo, por capa selectiva, SOI[1] u otros).

[1]Siglas de "Silicon on Insulator"

Bibliografía

[1] L C Clark, Jr and C Lyons. Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 102:29–45, October 1962.

[2] 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. *Advances in Optical Technologies*, 2008:1–7, 2008.

[3] K. E Zinoviev, A. B Gonzalez-Guerrero, C. Dominguez, and L. M Lechuga. Integrated bimodal waveguide interferometric biosensor for label-free analysis. *Journal of Lightwave Technology*, 29(13):1926–1930, July 2011.

[4] Matthew S. Luchansky, Adam L. Washburn, Teresa A. Martin, Muzammil Iqbal, L. Cary Gunn, and Ryan C. Bailey. Characterization of the evanescent field profile and bound mass sensitivity of a label-free silicon photonic microring resonator biosensing platform. *Biosensors and Bioelectronics*, 26(4):1283–1291, December 2010.

[5] Jirí Homola. Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species. *Chemical reviews*, 108(2):462–493, February 2008.

[6] Shengbo Sang, Yuan Zhao, Wendong Zhang, Pengwei Li, Jie Hu, and Gang Li. Surface stress-based biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 51:124–135, January 2014.

[7] Borja Sepúlveda, Paula C. Angelomé, Laura M. Lechuga, and Luis M. Liz-Marzán. LSPR-based nanobiosensors. *Nano Today*, 4(3):244–251, June 2009.

[8] D. Duval, J. Osmond, S. Dante, C. Dominguez, and L. Lechuga. Grating couplers integrated on mach-zehnder interferometric biosensors operating in the visible range. *Photonics Journal, IEEE*, PP(99):1–1, 2013.

[9] M. Iqbal, M.A. Gleeson, B. Spaugh, F. Tybor, W.G. Gunn, M. Hochberg, T. Baehr-Jones, R.C. Bailey, and L.C. Gunn. Label-free biosensor arrays based on silicon ring resonators and high-speed optical scanning instrumentation. *IEEE Journal on Selected Topics in Quantum Electronics*, 16(3):654–661, 2010.

[10] Brian Cunningham, Peter Li, Bo Lin, and Jane Pepper. Colorimetric resonant reflection as a direct biochemical assay technique. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 81(2–3):316–328, January 2002.

[11] Karolyn M. Hansen and Thomas Thundat. Microcantilever biosensors. *Methods*, 37(1):57–64, September 2005.

[12] Babak Ziaie, Antonio Baldi, Ming Lei, Yuandong Gu, and Ronald A Siegel. Hard and soft micromachining for BioMEMS: review of techniques and examples of applications in microfluidics and drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(2):145–172, February 2004.

[13] R. Gomez-Sjoberg, D.T. Morisette, and R. Bashir. Impedance microbiology-on-a-chip: Microfluidic bioprocessor for rapid detection of bacterial metabolism. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 14(4):829–838, August 2005.

[14] Liju Yang, Padmapriya P. Banada, Mohammad R. Chatni, Kwan Seop Lim, Arun K. Bhunia, Michael Ladisch, and Rashid Bashir. A multifunctional micro-fluidic system for dielectrophoretic concentration coupled with immuno-capture of low numbers of listeria monocytogenes. *Lab on a Chip*, 6(7):896–905, June 2006.

[15] C. H. Kua, Yee Cheong Lam, C. Yang, and Kamal Youcef-Toumi. Review of bio-particle manipulation using dielectrophoresis. *Biomicrofluidics*, January 2005. Singapore-MIT Alliance (SMA).

[16] Rashid Bashir. BioMEMS: state-of-the-art in detection, opportunities and prospects. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(11):1565–1586, September 2004.

[17] Shantanu Bhattacharya, Jaesung Jang, Liju Yang, Demir Akin, and Rashid Bashir. Biomems and nanotechnology-based approaches for rapid detection of biological entities. *Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology*, 15(1):1–32, 2007.

[18] Martin S. Gerstel and Virgil A. Place. Drug delivery device, June 1976. U.S. Classification 604/890.1, 424/449, 424/483; International Classification A61K9/70, A61K9/00, A61M37/00; Cooperative Classification A61M2037/0023, A61K9/0021, A61M37/0015; European Classification A61M37/00M, A61K9/00M5B.

[19] Eric Nuxoll. BioMEMS in drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(11–12):1611–1625, November 2013.

[20] M.J. Heller. An active microelectronics device for multiplex DNA analysis. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine*, 15(2):100–104, March 1996.

[21] H Jacob. Localization of the given m2as ingestible capsule in the GivenS diagnostic imaging system. *The American Journal of Gastroenterology*, 96(9):S106–S107, September 2001.

[22] Andrea Moglia, Arianna Menciassi, Marc Oliver Schurr, and Paolo Dario. Wireless capsule endoscopy: from diagnostic devices to multipurpose robotic systems. *Biomedical Microdevices*, 9(2):235–243, April 2007.

[23] Dolores Ceballos, Antoni Valero-Cabré, Elena Valderrama, Martin Schüttler, Thomas Stieglitz, and Xavier Navarro. Morphologic and functional evaluation of peripheral nerve fibers regenerated through polyimide sieve electrodes over long-term implantation. *Journal of biomedical materials research*, 60(4):517–528, June 2002.

[24] James D. Weiland, Wentai Liu, and Mark S. Humayun. Retinal prosthesis. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 7(1):361–401, 2005.

[25] G. Binnig, C. F. Quate, and Ch. Gerber. Atomic force microscope. *Physical Review Letters*, 56(9):930, March 1986.

[26] J. P. Cleveland, S. Manne, D. Bocek, and P. K. Hansma. A nondestructive method for determining the spring constant of cantilevers for scanning force microscopy. *Review of Scientific Instruments*, 64(2):403–405, February 1993.

[27] Wen-Hwa Chu, M. Mehregany, and R L Mullen. Analysis of tip deflection and force of a bimetallic cantilever microactuator. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 3(1):4, 1993.

[28] John Elie Sader. Surface stress induced deflections of cantilever plates with applications to the atomic force microscope: Rectangular plates. *Journal of Applied Physics*, 89(5):2911, 2001.

[29] John Elie Sader. Frequency response of cantilever beams immersed in viscous fluids with applications to the atomic force microscope. *Journal of Applied Physics*, 84(1):64 –76, July 1998.

[30] Frederick Gittes and C. F. Schmidt. Thermal noise limitations on micromechanical experiments. *European Biophysics Journal*, 27(1):75–81, 1998.

[31] F. M. Battiston, J. P. Ramseyer, H. P. Lang, M. K. Baller, Ch. Gerber, J. K. Gimzewski, E. Meyer, and H. J. Güntherodt. A chemical sensor based on a microfabricated cantilever array with simultaneous resonance-frequency and bending readout. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 77(1-2):122–131, June 2001.

[32] J. Fritz, M. K. Baller, H. P. Lang, H. Rothuizen, P. Vettiger, E. Meyer, H.-J. Güntherodt, Ch Gerber, and J. K. Gimzewski. Translating biomolecular recognition into nanomechanics. *Science*, 288(5464):316–318, April 2000.

[33] Kyung Wook Wee, Ghi Yuun Kang, Jaebum Park, Ji Yoon Kang, Dae Sung Yoon, Jung Ho Park, and Tae Song Kim. Novel electrical detection of label-free disease marker proteins using piezoresistive self-sensing micro-cantilevers. *Biosensors and Bioelectronics*, 20(10):1932–1938, April 2005.

[34] J. Thaysen, A. D. Yalçinkaya, P. Vettiger, and A. Menon. Polymer-based stress sensor with integrated readout. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 35(21):2698, November 2002.

[35] J. Thaysen, A. Boisen, O. Hansen, and S. Bouwstra. Atomic force microscopy probe with piezoresistive read-out and a highly symmetrical wheatstone bridge arrangement. *Sensors and Actuators A: Physical*, 83(1-3):47–53, May 2000.

[36] Natalija Backmann, Christian Zahnd, Francois Huber, Alexander Bietsch, Andreas Plückthun, Hans-Peter Lang, Hans-Joachim Güntherodt, Martin Hegner, and Christoph Gerber. A label-free immunosensor array using single-chain antibody fragments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(41):14587–14592, October 2005.

[37] Jong Wook Noh, Ryan R Anderson, Seunghyun Kim, Weisheng Hu, and Gregory P Nordin. Sensitivity enhancement of differential splitter-based transduction for photonic microcantilever arrays. *Nanotechnology*, 21(15):155501, April 2010.

[38] Stephan T. Koev, William E. Bentley, and Reza Ghodssi. Interferometric readout of multiple cantilever sensors in liquid samples. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 146(1):245–252, 2010.

[39] Sven Kelling, François Paoloni, Juzheng Huang, Victor P. Ostanin, and Stephen R. Elliott. Simultaneous readout of multiple microcantilever arrays with phase-shifting interferometric microscopy. *Review of Scientific Instruments*, 80(9):093101, September 2009.

[40] Kartik Srinivasan, Houxun Miao, Matthew T. Rakher, Marcelo Davanço, and Vladimir Aksyuk. Optomechanical transduction of an integrated silicon cantilever probe using a microdisk resonator. *Nano Letters*, 11(2):791–797, February 2011.

[41] C. L Britton Jr., R. L Jones, P. I Oden, Z Hu, R. J Warmack, S. F Smith, W. L Bryan, and J. M Rochelle. Multiple-input microcantilever sensors. *Ultramicroscopy*, 82(1–4):17–21, February 2000.

[42] Alicia Johansson, Gabriela Blagoi, and Anja Boisen. Polymeric cantilever-based biosensors with integrated readout. *Applied Physics Letters*, 89(17):173505, 2006.

[43] Jeong Hoon Lee, Kyo Seon Hwang, Jaebum Park, Ki Hyun Yoon, Dae Sung Yoon, and Tae Song Kim. Immunoassay of prostate-specific antigen (PSA) using resonant frequency shift of piezoelectric nanomechanical microcantilever. *Biosensors and Bioelectronics*, 20(10):2157–2162, April 2005.

[44] Dongna Shen, Jung-Hyun Park, Joo Hyon Noh, Song-Yul Choe, Seung-Hyun Kim, Howard C. Wikle III, and Dong-Joo Kim. Micromachined PZT cantilever based on SOI structure for low frequency vibration energy harvesting. *Sensors and Actuators A: Physical*, 154(1):103–108, August 2009.

[45] Gerhard Meyer and Nabil M. Amer. Novel optical approach to atomic force microscopy. *Applied Physics Letters*, 53(12):1045, 1988.

[46] Yuan Huang, Hong Liu, Kai Li, Yanyun Chen, Qingchuan Zhang, and Xiaoping Wu. The influence of refractive index change on a micro-cantilever bio/chemical sensor system based on optical lever read-out method. *Sensors and Actuators A: Physical*, 148(1):329–334, November 2008.

[47] Jana Wehrmeister, Achim Fuß, Frank Saurenbach, Rüdiger Berger, and Mark Helm. Readout of micromechanical cantilever sensor arrays by fabry-perot interferometry. *Review of Scientific Instruments*, 78(10):104105, October 2007.

[48] H. Koyama, F. Oohira, M. Hosogi, G. Hashiguchi, T. Hamada, and K. Suga. 2d cantilever array SPM using optical interference. In *Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems Conference, 2007. TRANSDUCERS 2007. International*, pages 2413–2416, June 2007.

[49] Jean-Paul Faure, Ludovic Noirie, and Eric Ollier. A 8x8 all optical space-switch based on a novel 8x1 MOEMS switching module. In *Optical Fiber Communication Conference and International Conference on Quantum Information*, 2001 OSA Technical Digest Series, page WX5. Optical Society of America, March 2001.

[50] H. Ibrahim and R. Fayek. Adaptive MOEMS for dynamic beam focusing. In *2006 Conference on Optoelectronic and Microelectronic Materials and Devices*, pages 216–219, December 2006.

[51] D.L. Dickensheets and Gordon S. Kino. Silicon-micromachined scanning confocal optical microscope. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 7(1):38–47, March 1998.

[52] D.L. Dickensheets. MOEMS-based instruments for in-situ scanning confocal microscopy. In *The 14th Annual Meeting of the IEEE Lasers and Electro-Optics Society, 2001. LEOS 2001*, volume 1, pages 68–69 vol.1, 2001.

[53] K. Zinoviev, C. Dominguez, J.A. Plaza, V.J.C. Busto, and L.M. Lechuga. A novel optical waveguide microcantilever sensor for the detection of nanomechanical forces. *Journal of Lightwave Technology*, 24(5):2132–2138, May 2006.

[54] Kirill Zinoviev, Jose Antonio Plaza, Víctor Cadarso, Laura M. Lechuga, and Carlos Dominguez. Butt coupled microcantilever in sensing applications. pages 618607–618607, April 2006.

[55] Jong Wook Noh, Ryan Anderson, Seunghyun Kim, Jaime Cardenas, and Gregory P. Nordin. In-plane photonic transduction of silicon-on-insulator microcantilevers. *Optics Express*, 16(16):12114–12123, 2008.

[56] Maria Nordstrom, Dan A. Zauner, Montserrat Calleja, J. Hubner, and Anja Boisen. Integrated optical readout for miniaturization of cantilever-based sensor system. *Applied Physics Letters*, 91(10):103512–103512–3, September 2007.

[57] Chengkuo Lee, Jayaraj Thillaigovindan, Chii-Chang Chen, Xian Tong Chen, Ya-Ting Chao, Shaohua Tao, Wenfeng Xiang, Aibin Yu, Hanhua Feng, and G.Q. Lo. Si nanophotonics based cantilever sensor. *Applied Physics Letters*, 93(11):113113–113113–3, September 2008.

[58] Guiming Zhang, Libo Zhao, Zhuangde Jiang, Shuming Yang, Yulong Zhao, Enze Huang, Rahman·Hebibul, Xiaopo Wang, and Zhigang Liu. Surface stress-induced deflection of a microcantilever with various widths and overall microcantilever sensitivity enhancement via geometry modification. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 44(42):425402, October 2011.

[59] Dominik Kramer. Dependence of surface stress, surface energy and surface tension on potential and charge. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 10(1):168–177, December 2007.

[60] Robert C. Cammarata. Surface and interface stress effects in thin films. *Progress in Surface Science*, 46(1):1–38, May 1994.

[61] R Shuttleworth. The surface tension of solids. *Proceedings of the Physical Society. Section A*, 63(5):444–457, May 1950.

[62] Josiah Willard Gibbs. *Scientific Papers of J. Willard Gibbs ...* Longmans, Green and co, 1906.

[63] A. I. Rusanov. Surface thermodynamics revisited. *Surface Science Reports*, 58(5–8):111–239, September 2005.

[64] Pierre Müller and Andrés Saúl. Elastic effects on surface physics. *Surface Science Reports*, 54(5–8):157–258, August 2004.

[65] E. M. Gutman. On the thermodynamic definition of surface stress. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 7(48):L663, November 1995.

[66] D. J. Bottomley, Lasse Makkonen, and Kari Kolari. Incompatibility of the shuttleworth equation with hermann's mathematical structure of thermodynamics. *Surface Science*, 603(1):97–101, January 2009.

[67] Lasse Makkonen. Misinterpretation of the shuttleworth equation. *Scripta Materialia*, 66(9):627–629, May 2012.

[68] Andrew N. Cleland. *Foundations of Nanomechanics*. Springer, 1 edition, November 2002.

[69] G. G. Stoney. The tension of metallic films deposited by electrolysis. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 82(553):172–175, May 1909.

[70] Don W. Dareing and Thomas Thundat. Simulation of adsorption-induced stress of a microcantilever sensor. *Journal of Applied Physics*, 97(4):043526, 2005.

[71] K. Dahmen, S. Lehwald, and H. Ibach. Bending of crystalline plates under the influence of surface stress — a finite element analysis. *Surface Science*, 446(1–2):161–173, February 2000.

[72] K. Dahmen, H. Ibach, and D. Sander. A finite element analysis of the bending of crystalline plates due to anisotropic surface and film stress applied to magnetoelasticity. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 231(1):74–84, May 2001.

[73] Ji Zang and Feng Liu. Theory of bending of si nanocantilevers induced by molecular adsorption: a modified stoney formula for the calibration of nanomechanochemical sensors. *Nanotechnology*, 18(40):405501, October 2007.

[74] Mohd Zahid Ansari and Chongdu Cho. A study on increasing sensitivity of rectangular microcantilevers used in biosensors. *Sensors*, 8(11):7530–7544, November 2008.

[75] Stefan Kirstein, Michael Mertesdorf, and Monika Schönhoff. The influence of a viscous fluid on the vibration dynamics of scanning near-field optical microscopy fiber probes and atomic force microscopy cantilevers. *Journal of Applied Physics*, 84(4):1782–1790, August 1998.

[76] F. R. Blom. Dependence of the quality factor of micromachined silicon beam resonators on pressure and geometry. *Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures*, 10(1):19, January 1992.

[77] Stephen Timoshenko. *Vibration Problems in Engineering*. London; printed in U.S.A., 2 edition, 1937.

[78] Hosaka H., Itao K., and Kuroda S. Damping characteristics of beam-shaped micro-oscillators. *Sensors and Actuators A: Physical*, 49(1):87–95, 1995.

[79] Kianoush Naeli and Oliver Brand. Dimensional considerations in achieving large quality factors for resonant silicon cantilevers in air. *Journal of Applied Physics*, 105(1):014908–014908–10, January 2009.

[80] Jeffrey L. Hutter and John Bechhoefer. Calibration of atomic force microscope tips. *Review of Scientific Instruments*, 64(7):1868–1873, July 1993.

[81] T. Itoh and T. Suga. Minimum detectable force gradients of piezoelectric microcantilever. *Journal of micromechanic and microengineering*, 5(3):231–236, September 1995.

[82] S. J. O'Shea. Atomic force microscopy stress sensors for studies in liquids. *Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures*, 14(2):1383, March 1996.

[83] Eugene Hecht. *Optics*. Addison Wesley, 4 edition, August 2001.

[84] K. Zinoviev, C. Dominguez, J. A. Plaza, V. Cadarso, and L. M. Lechuga. Light coupling into an optical microcantilever by an embedded diffraction grating. *Applied Optics*, 45(2):229–234, 2006.

[85] Comsol multiphysics.

[86] Autodesk inventor.

[87] Solidworks.

[88] Y. Arntz, J. D. Seelig, H. P. Lang, J. Zhang, P. Hunziker, J. P. Ramseyer, E. Meyer, M. Hegner, and Ch Gerber. Label-free protein assay based on a nanomechanical cantilever array. *Nanotechnology*, 14(1):86, January 2003.

[89] G. G. Yaralioglu, A. Atalar, S. R. Manalis, and C. F. Quate. Analysis and design of an interdigital cantilever as a displacement sensor. *Journal of Applied Physics*, 83(12):7405, 1998.

[90] Klayout.

[91] Compugraphics.

[92] Labview.

[93] Erich Gamma, Richard Helm, Ralph Johnson, and John Vlissides. *Design Patterns: Elements of Reusable Object-Oriented Software*. Pearson Education, October 1994.

[94] Robert C. Martin. *Clean code: A Handbook of Agile Software Craftsmanship*. PRENTICE HALL, Upper Saddle River, NJ, edición: 1 edition, June 2008.

[95] J. A. Nelder and R. Mead. A simplex method for function minimization. *The Computer Journal*, 7(4):308 –313, 1965.

[96] Ana Belén González-Guerrero, Mar Alvarez, Andrés García Castaño, Carlos Domínguez, and Laura M. Lechuga. A comparative study of inflow and micro-patterning biofunctionalization protocols for nanophotonic silicon-based biosensors. *Journal of Colloid and Interface Science*, 393:402–410, March 2013.

[97] Marinus A. Otte, Borja Sepúlveda, Weihai Ni, Jorge Pérez Juste, Luis M. Liz-Marzán, and Laura M. Lechuga. Identification of the optimal spectral region for plasmonic and nanoplasmonic sensing. *ACS Nano*, 4(1):349–357, January 2010.

[98] Stephen Timoshenko. *Theory of elasticity.* McGraw-Hill, New York, 2d ed. edition, 1951.

Listado de acrónimos

Listado de acrónimos

μ-TAS	Micro Sistemas de Análisis Total *(μ-TAS)*.
AFM	Microscopio de Fuerzas Atómicas *(Atomic Force Microscope)*.
BioMEMS	Sistemas Biológico o Biomedicos Micro-Electro-Mecánicos *(Micro-Electro-Mechanical System)*.
BSA	*bobine serum albumin*.
CMOS	semiconductor complementario de óxido metálico *Complementary Metal-Oxide-Semiconductor*.
CTES	carboxyethylsilanetriol Sosium Salt (CTES).
DMD	Deflexión Mínima detectable.
EDC	*1-ethyl-3-[3-dymetilaminopropyl]carbodiimide* (EDC).
FIB	Ataque con haz de iones *(Focused Ion Beam)*.
FIFO	Primero en entrar, primero en salir *(First In First Out)*.
HAL	Abstracción de la capa hardware *(Hardware Abstraction Layer)*.

hGH	Hormona de crecimiento *(Human Growth Hormone)*.
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry.
LOD	Límite de Detección *(Limit Of Detection)*.
LPCVD	Deposición química en fase vapor a baja presión *(Low Pressure Chemical Vapor Deposition)*.
LVOOP	Implementación del paradigma de programación orientada a objetos en Labview.
mAb-hGH	anticuerpo monoclonal hGH.
MDD	Mínima deflexión detectable.
MEMS	Sistemas Micro-Electro-Mecánicos *(Micro-Electro-Mechanical System)*.
MMC	Mecánica de Medios Continuos.
MOEMS	Sistemas Micro-Opto-Electro-Mecánicos.
NEMS	Sistemas Nano-Electro-Mecánicos *(Nano-ElectroMechanical Systems)*.
NHS	*N-Hydroxysulfosuccinimide* (NHS).
OWC	Cantilever óptico *"Optical Waveguide Cantilever"*.
PBS	Tampon o Buffer fosfato salino *(Phosphate Buffer Saline)*.
PDDA	*poly(diallyldimethylammonium chloride)* (PDDA).
PDMS	*Polidimetilsiloxano*.
PECVD	Deposición química en fase vapor asistida por plasma *(Plasma-Enhaced Chemical Vapor Deposition)*.
PSA	Antígeno Prostático Específico *(Prostate Specific Antigen)*.
PSD	detector sensible a la posición *(Position Sensitive Detector)*.
PSS	*poly(sodium 4-styrenesulfonate)* (PSS).

RIE	Ataque por ion reactivo *(Reactive Ion Etching)*.
RIU	Unidades de índice de refracción *(Refractive Index Units)*.
SAM	monocapas auto-ensambladas *(Self-Assembled monolayers)*.
SEM	Microscopio electrónico de barrido (SEM) *(Scanning Electron Microscope)*.
SPM	Microscopio de Sonda de Barrido *(Scanning Probe Microscopy)*.
SPR	Resonancia de plasmón superficial *(Surface Plasmon Resonance)*.
UML	Lenguaje unificado de modelado *(Unified Modeling Language)*.
VCELS	Láser de cavidad vertical y emisión vertical *"Vertical-Cavity Surface-Emitting Laser"*.