

Применение фотонно-кристаллических волноводов с поллой сердцевиной в качестве биологических сенсоров

А.В.Малинин, Ю.С.Скибина, В.В.Тучин, М.В.Чайников, В.И.Белоглазов, И.Ю.Силохин, А.А.Занишевская, В.А.Дубровский, А.А.Долмашкин

Представлены результаты разработки и исследования нового типа фотонно-кристаллического волновода с поллой сердцевиной и радиально увеличивающимся диаметром капилляров в структурной оболочке. Волновод обладает специфическим спектром пропускания и может быть использован в качестве эффективного анализатора биологической среды.

Ключевые слова: фотонно-кристаллический волновод с поллой сердцевиной, спектры пропускания, биологические сенсоры.

1. Введение

Фотонно-кристаллические волноводы (ФКВ) [1–4] по сути являются оптическими волноводами [5–8], отличающимися от широко известных классических кварцевых световодов рядом конструктивных особенностей, а также принципом распространения оптического излучения. Фотонно-кристаллический волновод в поперечном сечении воспроизводит структуру двумерного фотонного кристалла [9–11]. В последнее время фотонные кристаллы – диэлектрические среды с пространственной модуляцией диэлектрической проницаемости среды – находят применение при решении биомедицинских задач [12, 13].

ФКВ с поллой сердцевиной могут быть изготовлены различными методами. Например, структура ФКВ может быть сформирована сверлением определенным образом расположенных отверстий в кварцевой заготовке. В наших исследованиях использовались волокна, изготовленные из боросиликатного стекла с помощью техники последовательных перегажек [14] структур в подобии. Такое стекло имеет показатель преломления 1.519 на длине волны 550 нм.

Оптические свойства ФКВ нетипичны для оптических волноводов. Спектр пропускания ФКВ с поллой сердцевиной напрямую зависит от геометрии структурной оболочки поллой сердцевины. Поскольку структурная оболочка представляет собой двумерный фотонный кристалл, в

спектре пропускания ФКВ формируются фотонные запрещенные зоны. Поллая сердцевина в структуре волновода по сути является дефектом решетки кристалла, в котором направляемые моды локализуются без возможности покинуть структуру волновода.

Внутренняя структура ФКВ – это среда с пространственной модуляцией диэлектрической проницаемости, а значит, и показателя преломления (пусть с удалением от оси симметрии волновода показатель преломления принимает только два значения: n_1 и n_2). Тогда, заполняя каналы волновода жидкостью, можно варьировать одно из значений показателя преломления. В принципе, изменение значения показателя преломления должно приводить к существенному изменению спектра отражения от структурной оболочки и, следовательно, спектрального состава пропускаемого поллой сердцевиной излучения. Присутствие в сердцевине молекул поглотителя или рассеивающих частиц также должно оказывать существенное влияние на пропускание излучения. Возможность получить оптический отклик на изменение сразу нескольких параметров среды открывает перспективу использования ФКВ в качестве чувствительных элементов для комплексного анализа биологических жидкостей. При этом, в силу конструктивных особенностей волновода, для анализа требуется малое количество материала (десятки микролитров).

Нами разработан и создан новый тип ФКВ с увеличивающимся от оси симметрии волновода к периферии радиусом капилляров в структурной оболочке (рис.1). Спектр пропускания ФКВ с радиально увеличивающимися

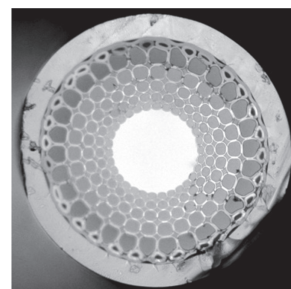


Рис.1. Поперечное сечение ФКВ с радиально расположенными капиллярами. Внешний диаметр волновода 1013 мкм, диаметр поллой сердцевины 284 мкм, диаметр каналов первого ряда 1.15 мкм, толщина стенки капилляра 2.28 мкм.

А.В.Малинин, Ю.С.Скибина. Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; ООО НПП «Наноструктурная технология стекла», Россия, 410033 Саратов, просп. 50 лет Октября, 101

В.В.Тучин. Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; Институт проблем точной механики и управления РАН, Россия, 410028 Саратов, ул. Рабочая, 24; e-mail: tuchinv@mail.ru

М.В.Чайников, В.И.Белоглазов, И.Ю.Силохин. ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла», Россия, 410033 Саратов, просп. 50 лет Октября, 101

А.А.Занишевская. Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского», Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83

В.А.Дубровский, А.А.Долмашкин. Саратовский государственный медицинский университет им. В.И.Разумовского, Россия, 410710 Саратов, ул. Б.Казачья, 112

ся каналами всегда характеризуется «гребенчатой» формой. Механизм распространения света по такому волноводу заключается в отражении излучения с различными длинами волн от разных слоев внутренней структуры волновода [13, 15].

Цель настоящей работы – выявление оптического отклика на изменение оптических свойств заполняющей каналы ФКВ среды (поглощения на определенных длинах волн, показателя преломления и рассеяния). При этом представляется важной задача раздельного определения характера влияния каждого из параметров среды на спектральные характеристики волновода.

2. Влияние показателя преломления среды на спектральные характеристики ФКВ

Спектральные характеристики ФКВ зависят как от геометрии его внутренней структуры, так и от увеличения (уменьшения) показателя преломления среды, заполняющей каналы волновода (рис.2). Все спектральные характеристики волноводов, представленные в настоящей работе, измерены на экспериментальной установке, схема которой приведена на рис.3. В качестве источника излучения использовалась галогеновая лампа белого света. Образец ФКВ закреплялся на трехкоординатной подвижной платформе. Для ввода излучения в полую сердцевину волновода применялся микрообъектив (40^х). Спектральный состав излучения, выходящего из образца, определялся с помощью спектроанализатора Ocean Optics HR4000.

Для определения влияния показателя преломления среды на спектральные характеристики ФКВ изучались спектры пропускания идентичных образцов волноводов с диаметром полой сердцевины 266 мкм и длиной 50 мм, заполненных водным раствором глюкозы. Концентрация глюкозы в растворе, вводимом в полую сердцевину волновода, увеличивалась от образца к образцу. Выбор водного раствора глюкозы в качестве тестовой среды обусловлен возможностью получения растворов с показателями преломления в диапазоне 1.33 – 1.39 и отсутствием поглощения света молекулами глюкозы в видимой области спектра. На рис.4,*a* представлены два спектра пропускания идентичных образцов ФКВ после заполнения сердцевины растворами глюкозы с различными показателями преломления.

Чувствительность ФКВ к изменению показателя преломления среды выражается в смещении максимумов интенсивности в спектре пропускания волновода при изменении показателя преломления среды, заполняющей каналы волновода. Это можно объяснить, представив структурную оболочку ФКВ в виде набора диэлектрических цилиндров, последовательно вложенных друг в друга. Тогда показатель преломления среды попеременно от слоя к слою принимает значение либо n_1 , либо n_2 . Пусть n_1 – показатель преломления среды, заполняющей полую серд-

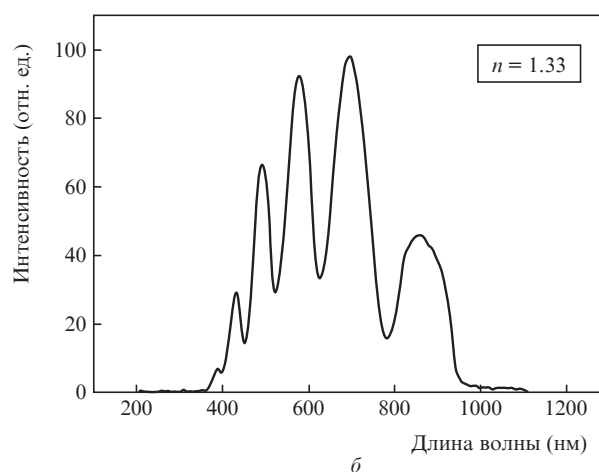
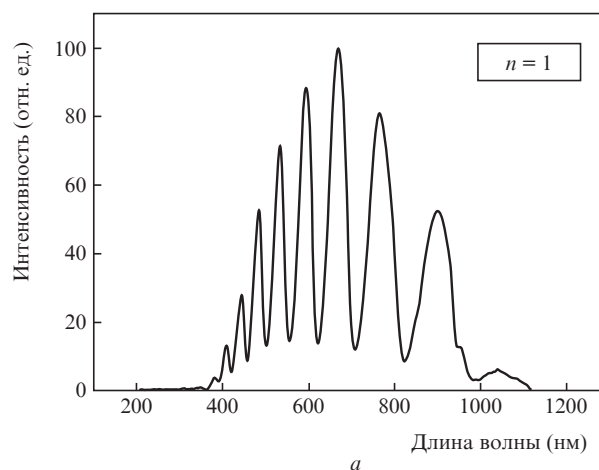


Рис.2. Спектры пропускания образцов ФКВ с внешним диаметром 720 мкм и диаметром полой сердцевины 266 мкм. Каналы волновода заполнены воздухом (*a*) и водой (*b*).

цевину волновода и каналы структурной оболочки, n_2 – показатель преломления материала, из которого изготовлен волновод (в данном случае стекла). Свет, вводимый в полую сердцевину волновода, падая под некоторым углом θ на слоистую структуру, в результате брэгговской дифракции [16, 17] отражается от нее. При этом необходимым условием отражения является выполнение соотношения

$$2dn_1 \sin \theta = m\lambda, \tag{1}$$

где d – толщина слоя; λ – длина волны падающего света; m – целое число. Следовательно, изменение n_1 влечет за собой изменение значений λ , удовлетворяющих условию (1). При увеличении показателя преломления среды, заполняющей каналы структурной оболочки ФКВ, спектр отражения оболочки трансформируется, соответственно изме-

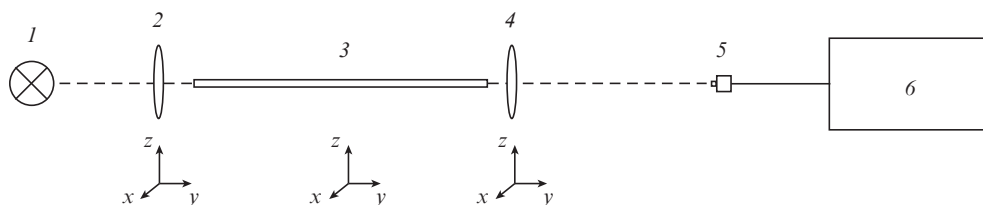


Рис.3. Принципиальная схема экспериментальной установки: 1 – источник излучения, 2 – микрообъектив для ввода излучения, 3 – образец ФКВ; 4 – микрообъектив для сбора излучения; 5 – оптоволоконный кабель с коллиматором, соединенный с анализатором спектра; 6 – анализатор спектра излучения. Элементы 2–4 монтировались на подвижных платформах.

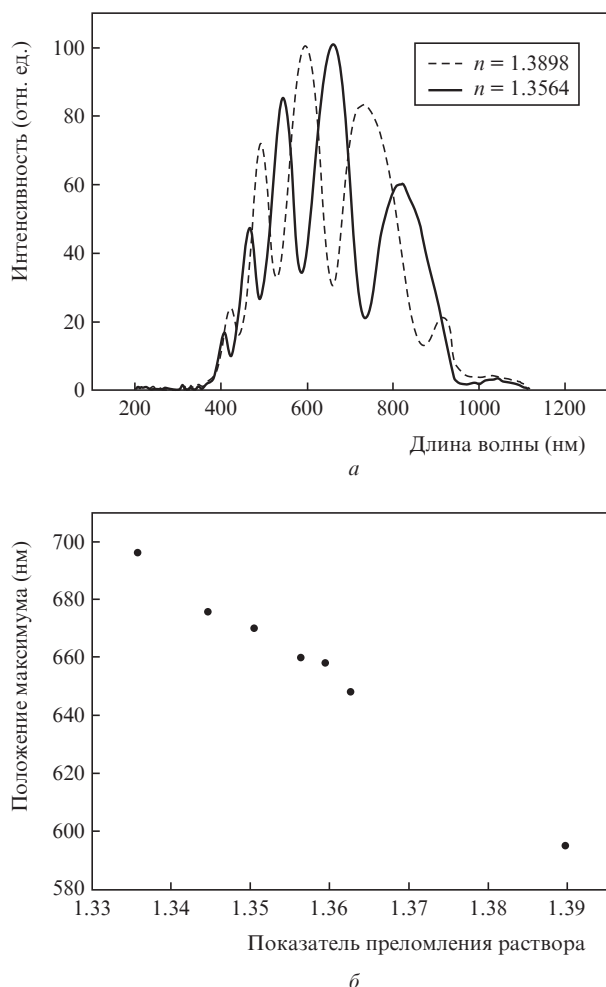


Рис.4. Спектры пропускания образцов ФКВ, заполненных растворами глюкозы с различными показателями преломления (а) и смещение локального максимума интенсивности в спектре пропускания ФКВ с ростом показателя преломления (б).

няется и спектральный состав излучения на выходе из волновода.

3. Влияние концентрации поглотителя оптического излучения на спектральные характеристики ФКВ

Благодаря наличию у ФКВ полой сердцевины, в которую можно ввести раствор, содержащий молекулы поглотителя оптического излучения, и локализации направляемых световых мод в ее пределах, ФКВ можно использовать в качестве инструмента для фотометрического анализа. На практике при проведении спектрофотометрического анализа растворов обычно применяются стандартные кварцевые кюветы толщиной до 10–50 мм, что требует значительных объемов исследуемого вещества. При использовании ФКВ в качестве протяженной кюветы можно проводить аналогичное исследование, зондируя слой поглощающей среды толщиной в несколько единиц и даже десятков сантиметров при очень малом объеме вещества. Так, для заполнения ФКВ с полой сердцевинной большого диаметра (250 мкм) длиной 50 мм требуется объем жидкости ~ 10 мкл (объем стандартной кварцевой кюветы составляет ~ 3.5 мл). Увеличение толщины зондируемого слоя ведет к большему ослаблению зондирующего свето-

вого пучка, что дает возможность анализировать растворы с низким коэффициентом поглощения и низкой концентрацией. ФКВ с полой сердцевинной также могут найти применение в спектрофотометрическом анализе с использованием люминесцентных зондов.

Ослабление интенсивности оптического излучения в коллимированном пучке, проходящем через слой поглощающей среды, описывается законом Бугера–Ламберта–Бера:

$$I(l) = I_0 \exp(-\epsilon c L), \quad (2)$$

где I_0 – интенсивность падающего пучка света; L – толщина слоя вещества; ϵ – молярный коэффициент поглощения; c – концентрация поглотителя.

С целью оценки и сравнения эффективности фотометрического метода анализа растворов были получены спектры пропускания водного раствора цианкобаламина при заполнении им кварцевой кюветы толщиной 10 мм и ФКВ длиной 50 мм. Водный раствор цианкобаламина сильно поглощает излучение в видимом диапазоне длин волн. Один из максимумов поглощения раствора приходится на 550 нм, молярный коэффициент поглощения на этой длине волны составляет $12\,700 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. В эксперименте использовались растворы с концентрациями 0.001, 0.003, 0.005 и 0.007 мг/мл.

На рис.5,а представлен спектр оптического излучения, прошедшего через кварцевую кювету с водным рас-

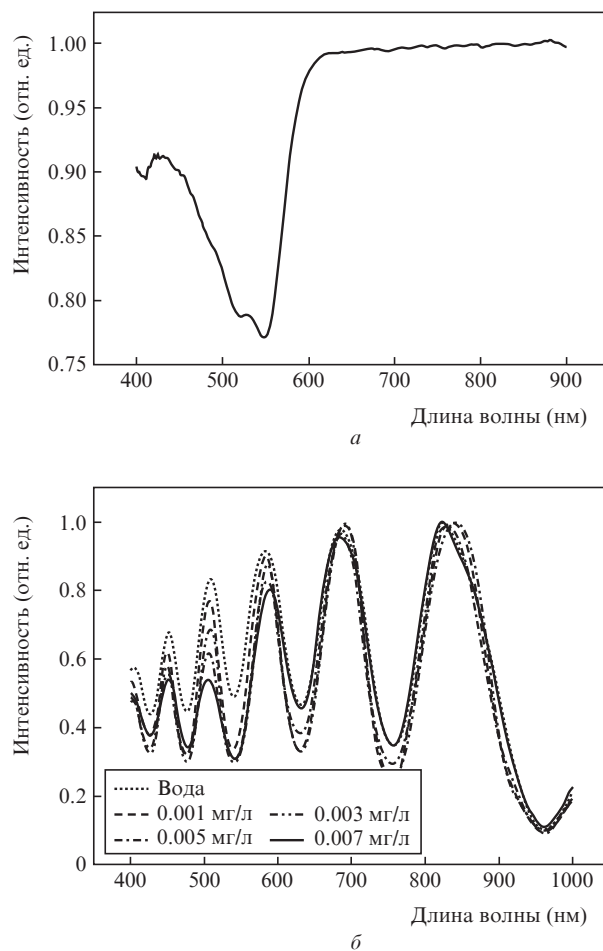


Рис.5. Спектры пропускания стандартной кварцевой кюветы (а) и идентичных образцов ФКВ (б), заполненных водными растворами цианкобаламина.

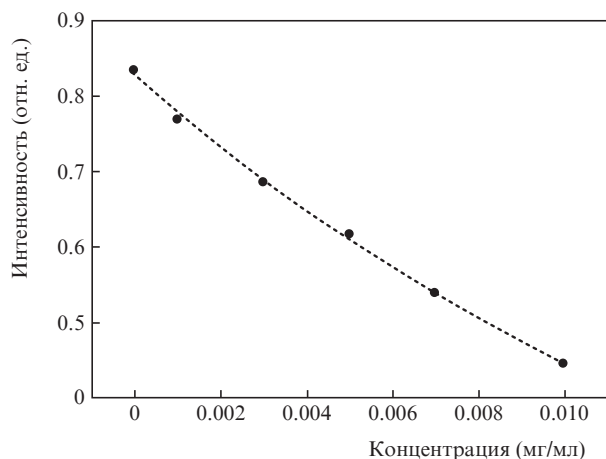


Рис.6. Зависимость интенсивности оптического излучения на длине волны 507 нм от концентрации раствора цианокобаламина.

втором цианокобаламина, нормированный на спектр пропускания кюветы с чистым растворителем. На рис.5,б показаны спектры пропускания образцов ФКВ с поллой сердцевиной диаметром 284 мкм с каналами, заполненными растворами цианокобаламина различной концентрации. С увеличением концентрации вводимого раствора наблюдается понижение максимума интенсивности в спектре пропускания волновода, попадающего в полосу поглощения раствора. Полученные значения высоты максимумов нормировались на максимум пропускания волновода при заполнении его каналов чистым растворителем. На рис.6 представлена зависимость полученной в эксперименте нормированной интенсивности на длине волны 507 нм от концентрации раствора.

4. Влияние рассеяния на распространение излучения в ФКВ

Оптические свойства (показатель преломления, коэффициент поглощения) среды, заполняющей полую сердцевину ФКВ, оказывают значительное влияние на спектральные характеристики волновода. Увеличение показателя преломления среды ведет к смещению полос пропускания, поглощение – к затуханию излучения в сердцевине в пределах определенных спектральных областей. Влияние рассеяния выражается в ухудшении пропускания излучения во всем видимом диапазоне длин волн. Введение рассеивающих частиц в полую сердцевину приводит к ослаблению интенсивности прошедшего по волноводу излучения. Фотоны, изменившие направление распространения после акта рассеяния, либо распространяются по сердцевине волновода в обратном направлении к источнику излучения, либо покидают сердцевину, уходя в оболочку волновода, т.к. угол между направлением распространения и поверхностью оболочки уже не удовлетворяет условию брэгговского отражения.

На регистрации изменения пропускания ФКВ при увеличении концентрации рассеивающих частиц в поллой сердцевиной волновода основан метод определения группы крови человека.

Кровь человека – это непрозрачная, мутная среда, состоящая из 55 об.% плазмы и 45 об.% клеток. В крови содержится много типов клеток, которые влияют на рассеяние света. Примерно 99% всех клеток составляют эритроциты – безъядерные клетки, имеющие форму двояко-

вогнутого диска диаметром 5.7–9.3 мкм [18] и толщиной 1.7–2.4 мкм [19].

Эритроциты человека содержат многочисленные групповые антигены, образующие групповые системы, среди которых наибольшее значение для медицинской практики имеет система АВО. В эту групповую систему входят два антигена эритроцитов, обозначаемые А и В, и два типа антител плазмы: анти-А (а) и анти-В (b). В крови одного человека антиген А и антитела а (либо антиген В и антитела b) содержаться не могут, т.к. взаимодействие этих специфических белков привело бы к слипанию эритроцитов – реакции агглютинации. Наличие определенных агглютиногенов (антигенов) и агглютининов (антител) в крови донора и реципиента определяет совместимость при переливании крови.

При реакции агглютинации в крови образуются комплексы эритроцитов, содержащие от нескольких единиц до нескольких десятков красных кровяных клеток. В классическом методе определения групп крови образование или отсутствие таких комплексов после добавления специфических агглютинирующих сывороток к цельной крови является индикатором принадлежности исследуемой крови к определенной группе. Однако реакция агглютинации не всегда выражена четко в силу возможной малой активности используемой агглютинирующей сыворотки либо происходит по прошествии продолжительного времени. Хотя процент ошибок при определении группы крови с помощью классического метода минимален, разработка автоматического метода, позволяющего получить быстрый отклик даже на слабую реакцию агглютинации и, что также важно, значительно сократить объем исследуемой пробы и расход агглютинирующей сыворотки, является актуальной задачей.

Оптические свойства крови (в том числе и рассеяние света) в основном определяются присутствием эритроцитов. Одним из подходов к описанию рассеяния в крови является теория переноса излучения [12, 20], в которой вводятся следующие понятия: коэффициент поглощения μ_a , коэффициент рассеяния μ_s и фактор анизотропии g (средний косинус угла рассеяния элементарного объема среды). Эти характеристики определяются размерами эритроцитов, действительной и мнимой частями комплексного показателя преломления $(n + i\chi)$ эритроцитов (рис.7) и плазмы крови [18]. Согласно [21], коэффициент рассеяния

$$\mu_s = (1 - H) \sum_{i=0}^M N_i \sigma_{si}, \tag{3}$$

где H – гематокрит; M – число объемных фракций эритроцитов; N_i – число частиц i -го диаметра в единице объема среды; σ_{si} – сечение рассеяния частиц i -го диаметра.

При положительной реакции агглютинации эритроцитов большое число образующихся эритроцитарных комплексов оседает в тестовой пробирке. Как следствие, снижается количество эритроцитов, находящихся во взвешенном состоянии в растворе, что приводит, в соответствии с (3), к уменьшению коэффициента рассеяния среды.

В эксперименте смесь, состоящая из разбавленной физиологическим раствором крови и агглютинирующей сыворотки, вводилась в полую сердцевину образца ФКВ. Образец волновода подвергался воздействию излучения от широкополосного источника, и регистрировалась интенсивность излучения на выходе в диапазоне длин волн

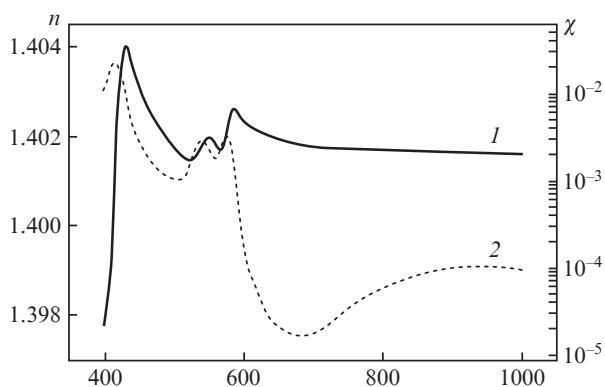


Рис.7. Зависимости действительной (1) и мнимой (2) частей показателя преломления эритроцитов от длины волны [13].

400–700 нм. Разбавление цельной крови до гематокрита ниже 1% физиологическим раствором проводилось в первую очередь для того, чтобы получить выходные значения интенсивности излучения, достаточные для проведения анализа. Первый раствор изготавливался добавлением агглютинирующей сыворотки группы А в пробирку с цельной кровью группы В (положительная реакция агглютинации) и разбавлением физиологическим раствором до гематокрита 0.8% после десятиминутной инкубации. Второй раствор готовился по тому же алгоритму, но с использованием агглютинирующей сыворотки группы В (отрицательная реакция агглютинации в пробирке).

На рис.8 изображены усредненные спектры пропускания идентичных образцов ФКВ с диаметром полой сердцевины 270 мкм, заполненных полученными растворами. Из рисунка видно, что максимальная интенсивность излучения на выходе из образца ($\lambda = 662$ нм) в случае положительной реакции агглютинации достигает значения 55 единиц, а в случае отрицательной реакции – 29 единиц, т.е. отношение выходных интенсивностей излучения для разных реакций I_+/I_- равно 1.9. Представленные на рис.8 спектры – это результат усреднения по пяти полученным

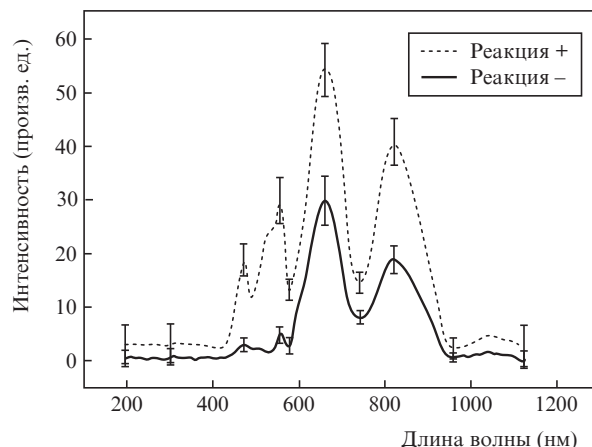


Рис.8. Усредненные спектры пропускания идентичных образцов ФКВ с диаметром полой сердцевины 270 мкм, заполненных продуктами положительной (+) и отрицательной (-) реакций агглютинации эритроцитов.

спектрам пропускания идентичных образцов волноводов длиной 50 мм для каждого раствора. Все полученные значения интенсивности приведены в табл.1.

Для дифференциации реакций можно воспользоваться правилом трех стандартных отклонений и ввести интервал δ , определяемый неравенством

$$\langle Y \rangle - 3S_n \leq \delta \leq \langle Y \rangle + 3S_n. \quad (4)$$

Согласно (4), для длины волны излучения $\lambda = 662$ нм реакцию агглютинации можно считать положительной, если измеренное значение интенсивности оптического излучения на длине волны попадает в интервал 51.62–58.57, либо отрицательной – при попадании измеренного значения в интервал 26.61–33.29.

5. Заключение

Получены данные о влиянии оптических свойств жидких сред (растворов, биологических жидкостей), заполняющих внутреннюю структуру ФКВ с полой сердцевиной, на спектральные характеристики волноводов. Экспериментально установлено, что увеличение показателя преломления среды приводит к смещению областей пропускания образцов ФКВ. Присутствие даже незначительного количества поглощающего вещества в полой сердцевины ФКВ вызывает сильное затухание излучения в спектральном диапазоне, соответствующем области поглощения. Рассеяние излучения в среде, заполняющей полую сердцевину ФКВ, приводит к затуханию оптического сигнала в волноводе во всем диапазоне длин волн. Установление зависимости затухания от длины волны излучения и размера рассеивающих частиц требует дополнительных исследований.

Основываясь на полученных экспериментальных данных, можно заявить о возможности использования ФКВ в качестве чувствительных датчиков (сенсоров), в частности, для систем автоматического определения группы крови человека. Реализация автоматизированной методики определения группы крови требует проведения большого количества дополнительных исследований при использовании образцов крови от разных доноров. Однако уже сейчас понятно, что несложный в реализации метод изготовления ФКВ с полой сердцевиной с заданной конфи-

Табл.1. Оценка погрешности измерения интенсивности оптического излучения ($\lambda = 662$ нм), выходящего из образцов ФКВ, заполненных растворами продуктов реакций крови и стандартных сывороток (изготовлены по протоколу 1).

Реакция агглютинации +/- (№ образца)	Y_i	$\langle Y \rangle$	$(Y_i - \langle Y \rangle)^2$	S_n	Δ	ϵ (%)
Реакция + (1)	55.687		0.406			
Реакция + (2)	50.845		17.682			
Реакция + (3)	55.037	55.05	1.502	1.142	4.878	8.86
Реакция + (4)	57.067		4.071			
Реакция + (5)	56.612		2.441			
Реакция - (1)	29.221		0.531			
Реакция - (2)	31.112		1.351			
Реакция - (3)	31.043	29.952	1.195	1.113	4.555	15.21
Реакция - (4)	32.396		5.986			
Реакция - (5)	25.987		15.704			

Примечание. Y_i – координата локального максимума интенсивности излучения на длине волны 662 нм, определенная из экспериментальных данных (i – номер измерения); $\langle Y \rangle$ – среднее арифметическое значений Y_i ; S_n – среднеквадратичная погрешность результата серии измерений; Δ – границы доверительного интервала (погрешность результата измерений); ϵ – относительная погрешность результата измерений.

гурацией внутренней структуры в перспективе может позволить решить проблему простого и надежного автоматизированного определения группы крови.

1. Russell P.S.J. *Science*, **299**, 358 (2003).
2. Knight J.C., Broeng J., Birks T.A., Russell P.St.J., Knight J.C. *Science*, **282**, 1476 (1998).
3. Bjarklev A., Broeng J., Bjarklev A.S. *Photonic crystal fiber* (New York: Kluwer Acad. Publ., 2003).
4. Beloglazov V.I., Langhoff N., Tuchin V.V., Bjeoumikhov A., Bjeoumikhova Z., Wedel R., Skibina N.B., Skibina Yu.S., Chainikov M.V. *J. X-Ray Sci. Technol.*, **13** (4), 171 (2005).
5. Желтиков А.М. *УФН*, **170**, 1203 (2000).
6. Желтиков А.М. *УФН*, **174**, 73 (2004).
7. Желтиков А.М. *УФН*, **176**, 623 (2006).
8. Желтиков А.М. *УФН*, **177**, 737 (2007).
9. Joannopoulos J., Villeneuve P.R., Fan S. *Nature*, **386**, 143 (1997).
10. Yablonovitch E. *Phys. Rev. Lett.*, **58**, 2059 (1987).
11. John S. *Phys. Rev. Lett.*, **58** (23), 2486 (1987).
12. Тучин В.В. *Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях*: 2-е изд. (М.: Физматлит, 2010).
13. Скибина Ю.С., Тучин В.В., Белоглазов В.И., Штейнмайер Г., Бетге Й.Л., Веделл Р., Лангхофф Н. *Квантовая электроника*, **41**, 284 (2011).
14. Beloglazov V.I., Chainikov M.V., Skibina Yu. S., Tuchin V.V. *J. X-Ray Sci. Technol.*, **13** (4), 178 (2005).
15. Skibina J.S., Iliev R., Bethge J., Bock M., Fischer D., Beloglasov V.I., Wedell R., Steinmeyer G. *Nature Photon.*, **2**, 679 (2008).
16. Долганов П.В., Масалов В.М., Самаров Э.Н., Дмитриенко В.Е., Долганов В.К., Емельченко Г.А. *ФТТ*, **49** (9), 1622 (2007).
17. Федотов В., Селькин А.В., Баженова А.Г. *Труды МФТИ*, **1**, 120 (2009).
18. Borovoi A.G., Naats E.I., Opper U.G. *J. Biomed. Opt.*, **3**, 364 (1998).
19. Кириллин М.Ю., Приезжев А.В. *Квантовая электроника*, **32** (10), 883 (2002).
20. Тучин В.В. *УФН*, **167**, 517 (1997).
21. Schmitt J.M., Kumar G. *Appl. Opt.*, **37**, 2788 (1998).