

## ZASTOSOWANIE SPRZĘGACZA ŚWIATŁOWODOWEGO W ANALIZIE CHEMICZNEJ

Dorota Stadnik<sup>1</sup>, Artur Dybko<sup>2</sup>

W pracy opisano nową konstrukcję sprzęgacza światłowodowego wykonanego z włókien polimerowych zatopionych w płytce polimerowej umożliwiającą integrację z mikrostrukturami przepływowymi. Sprzęgacz testowano jako czujnik zmian stężenia sacharozy oraz w pomiarach absorbancji. Podstawową zasadą działania tego czujnika jest zmiana efektywności sprzężenia w zależności od współczynnika załamania światła medium przepływającego przez mikrokanal utworzony między światłowodami.

### 1. WSTĘP

Przeptywowe struktury mikromechaniczne są kluczowymi elementami miniaturowanych systemów do kompleksowej analizy chemicznej lub biomedycznej (tzw. mikro TAS lub mTAS, *Total Analysis System*). Jedną z zalet stosowania mTAS-ów jest integracja kolejnych etapów analitycznych takich jak: pobieranie próbki, rozdzielenie składników, reakcja chemiczna, detekcja sygnału analitycznego i analiza danych, w jednym analitycznym mikrouządzeniu (*lab-on-a-chip*). Oprócz analizy chemicznej głównym kierunkiem zastosowań mTAS-ów jest biochemia, analiza kliniczna, medycyna, badania DNA i profili białkowych [1-2].

Idea kompleksowej analizy wieloskładnikowej pojawiła się na początku lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku [3-4]. Początkowo struktury mikromechaniczne wytwarzano z krzemu lub krzemu połączonego ze szkłem, stosując tradycyjną technologię mikromechaniki krzemowej. Zaletą wykorzystania sys-

---

<sup>1</sup> Instytut Technologii Materiałów Elektronicznych, 01-919 Warszawa, ul. Wólczyńska 133, e-mail: stadnik@itme.edu.pl

<sup>2</sup> Politechnika Warszawska, Katedra Chemii Analitycznej, 00-664 Warszawa, ul. Noakowskiego 3, e-mail: dybko@ch.pw.edu.pl

temów mikromechanicznych w analizie chemicznej, w porównaniu z klasycznymi metodami, jest zmniejszenie objętości próbki, skrócenie czasu analizy oraz zmniejszenie zużycia odczynników. Jednak prowadzone dotychczas badania ujawniły nowe problemy związane z hydrodynamiką płynów i występowaniem nowych zjawisk w mikrokanalach, a także z brakiem odporności chemicznej struktur krzemowych na różne składniki analizowanych próbek. Poza tym technologia łączenia struktur krzemowych, tzw. *bonding*, nie jest wystarczająco kompatybilna z substancjami chemicznymi immobilizowanymi w mikrokanalach lub mikroreaktorach. Tradycyjny *bonding* termiczny lub anodowy, który jest procesem wysokotemperaturowym, może wpływać destrukcyjnie na reagenty znajdujące się w układzie. Dlatego przez wiele lat rozwoju mikrosystemów, czujniki chemiczne rzadko były stosowane jako detektory [5-6]. Obecnie do konstrukcji mTAS-ów stosuje się również materiały polimerowe: poli(dimetylosiloksan) (PDMS), poli(metakrylan metylu) (PMMA), poli(tetrafluoroetylen) (PTFE), poliwęglan, poliiimid [7-8].

Istnieje wiele metod detekcji, zarówno elektrochemicznych jak i optycznych, które są wykorzystywane w mTAS-ach. Większość z nich stanowi miniaturową wersję dobrze znanych detektorów stosowanych w klasycznej analizie instrumentalnej. Bardzo obiecującą metodą jest spektrometria mas, szczególnie w analizie białek [9]. Przegląd elektrochemicznych metod detekcji, ze szczególnym uwzględnieniem techniki amperometrycznej został opublikowany w pracy [10]. Metody optyczne, łącznie z fluorescencją wzbudzaną laserowo, są również często wykorzystywane do detekcji sygnału analitycznego w mTAS-ach. W metodach tych klasyczne elementy i urządzenia optoelektroniczne (lasery, fotodetektory) są połączone z mikrostrukturą przepływową za pomocą światłowodu transmitującego promieniowanie do mikrokanatu. Metody fluorescencyjne, chociaż wykazują wysoką czułość, w wielu przypadkach wymagają wcześniejszego przygotowania próbki, ponieważ nie wszystkie analizowane związki chemiczne wykazują zdolność do emisji promieniowania fluorescencyjnego [1-2, 11].

Zastosowanie światłowodów w analizie chemicznej datuje się od momentu pojawienia się pierwszego artykułu o światłowodowym czujniku chemicznym, czyli od początku lat osiemdziesiątych XX wieku [12]. W światłowodowych sensorach chemicznych światłowód służy albo tylko jako medium transmisyjne (*extrinsic sensor*) albo jako element, zmieniający właściwości propagacyjne na skutek oddziaływania analitu z reagentem znajdującym się w zmodyfikowanym płaszczu optycznym (*intrinsic sensor*) [13]. Istnieją również konstrukcje, w których światłowody tworzą sprzęgacz z aktywną warstwą osadzoną w strefie sprzężenia, mającą zdolność selektywnej adsorpcji cząsteczek analitu [14-15]. Bezpośrednie umieszczenie światłowodowych sensorów chemicznych

w mikrostrukturach przepływowych wydaje się trudnym zadaniem z powodu problemów inżynierskich i technologicznych.

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie nowej idei zastosowania światłowodów w mikrostrukturach przepływowych. Światłowody polimerowe wprowadzone do takiej struktury tworzą kanał przepływowy dla badanej próbki oraz służą jako detektor, którego zasada działania oparta jest na sprzęganiu mocy optycznej między światłowodami. Podział mocy optycznej między dwa włókna zmienia się wraz ze zmianą współczynnika załamania światła medium przepływającego przez mikrokanal lub w wyniku zmian absorpcji światła przez badane medium.

## 2. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

### 2.1. Odczynniki

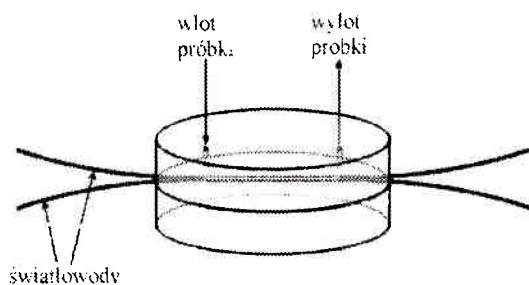
Do przygotowania mikrostruktur przepływowych stosowano poli(dimetylosiloksan) (Sylgard 184, Dow Corning). Roztwór podstawowy sacharozy o stężeniu (40%) przygotowano przez rozpuszczenie odpowiedniej odważki sacharozy (Sigma-Aldrich) w wodzie destylowanej. Roztwory o niższych stężeniach przygotowano metodą rozcieńczania roztworu podstawowego. W pomiarach absorpcyjnych używano roztworu błękitu bromotymolowego (BTB, Fluka) o stężeniu 0.1%.

### 2.2. Konstrukcja sprzęgacza światłowodowego

Komercyjnie dostępne sprzęgacze światłowodowe wytwarza się techniką spawania lub stapiania: dwa odcinki światłowodów ułożone równolegle skreca się i stapiając rozciąga w jeden falowód [16-17]. Następnie obszar stapiania pokrywa się odpowiednim pokryciem, zapewniającym właściwą pracę sprzęgacza, wytrzymałość mechaniczną i ochronę przed niekorzystnym wpływem środowiska zewnętrznego. Strefa przewężenia umożliwi transformację mocy optycznej z jednego włókna do drugiego. Większość sprzęgaczy światłowodowych posiada współczynnik podziału mocy optycznej 50:50% tzn. moc optyczna sygnału wprowadzona dowolnym włóknom jest rozdzielana równomiernie między dwa włókna (istnieją również sprzęgacze ze współczynnikiem podziału mocy 10:90%).

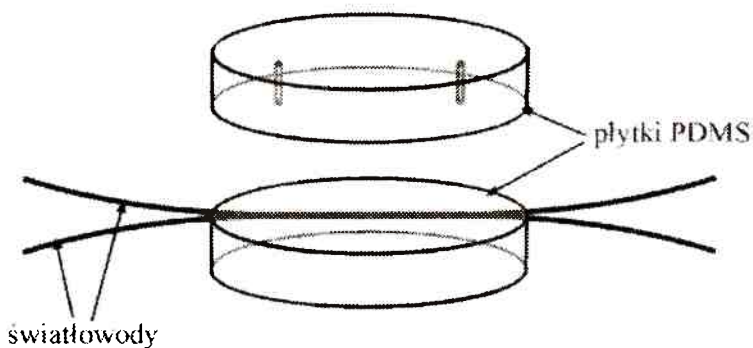
Podstawową zasadą działania światłowodowego sprzęgacza chemicznego jest zmiana efektywności sprzężenia (współczynnika podziału mocy) na skutek zmian wartości współczynnika załamania światła medium przepływającego między światłowodami.

W celu zapewnienia kompatybilności z mikrostrukturami przepływowymi, sprzęgacz światłowodowy będący przedmiotem niniejszej pracy został wytworzony w płytkach polimerowych z PDMS-u. Poli(dimetylosiloksan) jest dwukomponentowym lakierem termoutwardzalnym, składającym się z oligomeru (składnik A) i odczynnika sieciującego (składnik B). Po wymieszaniu składników A i B w określonej proporcji, zachodzą reakcje chemiczne prowadzące do powstania usieciowanego polimeru, z jednoczesnym nadaniem odpowiedniego kształtu. Taki sposób przetwórstwa wymaga wykonania odpowiednich form. W przypadku sprzęgacza, który jest strukturą dwuelementową (Rys.1) przygoto-

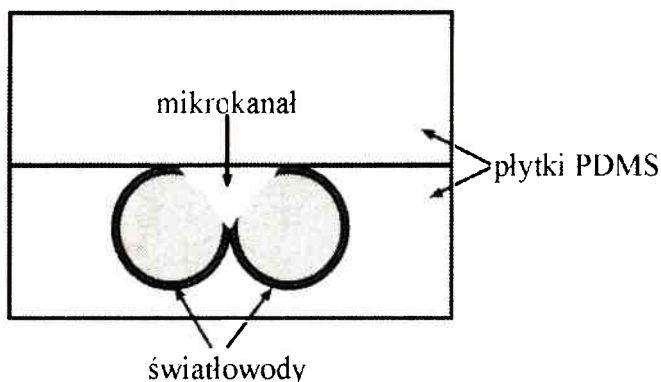


**Rys.1.** Schemat konstrukcji sprzęgacza światłowodowego (bez zachowania skali).

wano dwie różne formy. W jednej z nich w specjalnie wyprofilowanych rowkach umieszczono równoległe dwa odcinki światłowodów z poli(metakrylanu metylu) o średnicy 1 mm. Druga forma została tak zaprojektowana, aby wytworzona w niej płytka płaskorównoległa posiadała otwory umożliwiające wprowadzenie badanej próbki do struktury. Formy wypełniono lakierem i prowadzono proces sieciowania w temperaturze 50°C przez 4 h. W wyniku tego procesu powstały dwie płytki polimerowe przedstawione na Rys. 2. Następnie, aby uzyskać sprzężenie światłowodów, ich płaszcze i rdzenie częściowo usunięto mechanicznie tworząc jednocześnie mikrokanał przepływowy (Rys.3). W ostatnim etapie płytki polimerowe poddawano obróbce w plazmie tlenowej i łączono ze sobą. Otrzymano jednolitą, trwałą mechanicznie strukturę przedstawioną na Rys.1.



Rys. 2. Elementy konstrukcyjne sprzęgacza (bez zachowania skali).

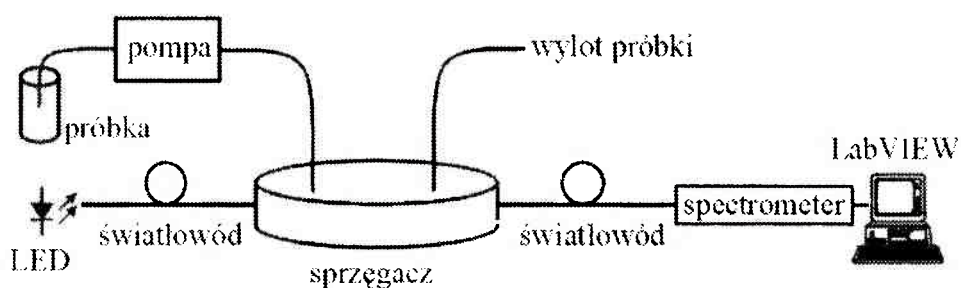


Rys. 3. Przekrój poprzeczny sprzęgacza (bez zachowania skali).

Prototypowy sprzęgacz posiada następujące parametry: średnica płytek PDMS wynosi 7 cm, a ich grubość 6 mm, całkowita długość drogi sprzężenia optycznego wynosi  $\sim 3$  cm, natomiast objętość mikrokanalu – 3 ml. Zasada działania sprzęgacza opiera się na mechanizmie sprzężenia pola fali elektromagnetycznej między dwoma światłowodami tzn. między światłowodem głównym i sprzęganym. Efektywność sprzężenia zależy, podobnie jak dla zwykłych sprzęgaczy, od odległości między rdzeniami sprzęganych światłowodów i długości drogi sprzężenia, ale również od współczynnika załamania światła medium przepływającego mikrokanalem utworzonym między światłowodami. Po połączeniu światłowodu głównego ze źródłem światła, a światłowodu sprzęganego z fotodetektorem zaobserwowano zmiany sygnału w funkcji współczynnika załamania światła powietrza lub cieczy znajdującej się w mikrokanale.

### 2.3. Układ pomiarowy

Układ pomiarowy przedstawiono na Rys.4. Analizowany roztwór był pompowany do sprężacza z szybkością 0.6 ml/min za pomocą pompy perystaltycznej (Minipuls 3, Gilson). Ze względu na spektralne właściwości światłowódów polimerowych jako źródło światła stosowano czerwoną diodę elektroluminescencyjną (LED). Dioda ta zamontowana została w specjalnym zasilaczu ze stabilizacją mocy optycznej. Światłowód transmituje promieniowanie optyczne

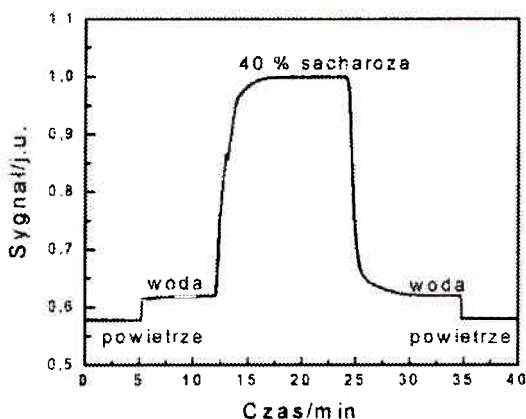


Rys. 4. Schemat układu pomiarowego.

do sprężacza (w obszar sprężania). Światło po oddziaływaniu z analizowaną próbką jest zbierane przez światłowód sprężany i transmitowane do spektrometru (Control Development Inc.) ze stabilizacją temperaturową. W celu zminimalizowania szumów termicznych, temperaturę fotodetektora utrzymywano na poziomie  $-15^{\circ}\text{C}$ . Praca całego układu pomiarowego była nadzorowana przez specjalną aplikację wykonaną w środowisku pomiarowym LabVIEW (National Instruments). Większość prezentowanych wykresów zawiera wyniki w jednostkach umownych, uzyskanych przez normalizację wartości sygnału do jego wartości maksymalnej.

### 3. WYNIKI I DYSKUSJA

Pomiary przeprowadzono pompując przez mikrostrukturę powietrze, wodę, roztwory BTB o różnym pH lub roztwory sacharozy o stężeniu 5 – 40%. Na Rys.5 przedstawiono wyniki pomiarów, wykonanych dla roztworu o największym stężeniu sacharozy. Pierwszy sygnał został zarejestrowany w czasie przepływu powietrza przez sprężacz. Jego mała wartość jest wynikiem małej



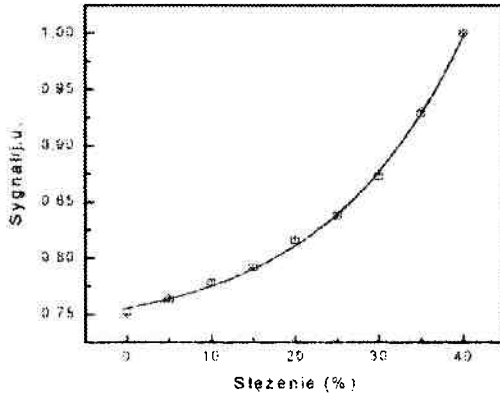
Rys. 5. Przebieg zmian sygnału w czasie dla różnych mediów przepływających przez układ pomiarowy.

efektywności sprzężenia, wynikającej z wielkości współczynnika załamania światła, który dla powietrza atmosferycznego wynosi  $\sim 1$ . Następnie obserwowano niewielki wzrost sygnału, który został spowodowany wprowadzeniem do układu wody ( $n \approx 1.33$ ). Największe zmiany sygnału zaobserwowano, gdy w obszarze sprzężenia pojawił się 40% roztwór sacharozy ( $n \approx 1.4$ ). Wyniki te potwierdzają użyteczność sprzęgacza do detekcji zmian współczynnika załamania światła. Po zarejestrowaniu pomiaru dla roztworu sacharozy przez układ ponownie pompowano kolejno wodę i powietrze. Powrót wartości sygnału do poprzedniego poziomu potwierdza, że wytworzona struktura charakteryzuje się powtarzalnością sygnału.

Czas odpowiedzi sprzęgacza zależy od rodzaju medium, jakie jest pompowane przez układ. Jeśli pomiary rozpoczynano od wody, to odpowiedź była bardzo szybka, jeśli analizowanym medium była sacharoza, odpowiedź przedłużała się do około 5 min. Podobna sytuacja występowała, kiedy zmieniano próbkę roztworu sacharozy na czystą wodę. Całkowity czas odpowiedzi zależy również od szybkości przepływu. Doświadczalnie ustalono, że przekroczenie szybkości powyżej 3 ml/min może spowodować uszkodzenie struktury i wyciek próbki z mikrokanatu.

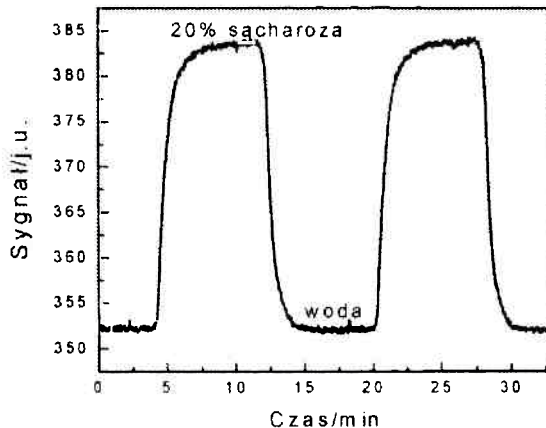
Kolejną serię pomiarów wykonano dla roztworów o różnym stężeniu sacharozy. Krzywa kalibracji sprzęgacza dla roztworów sacharozy została przedstawiona na Rys.6. Przed wprowadzeniem 5% roztworu sacharozy do układu pompowano wodę destylowaną. Czas odpowiedzi sprzęgacza wynosił  $\sim 2$  min, co jest wartością kilka razy mniejszą w porównaniu z pomiarami wstępnymi. Spowodowane jest to mniejszym gradientem stężeń sacharozy i co się z tym wiąże krótszym czasem ustalania się równowagi. Podobne odpowiedzi zaobserwowano podczas pomiarów dla pozostałych roztworów. Sygnał osiągał te same

wartości (w granicach błędu pomiarowego) nie wykazując histerezy. Otrzymana krzywa kalibracyjna jest krzywą eksponentalną, a nie liniową. Świadczy to o zgodności otrzymanych danych z danymi literaturowymi [18].



Rys. 6. Krzywa kalibracji sprzęgacza dla roztworów sacharozy.

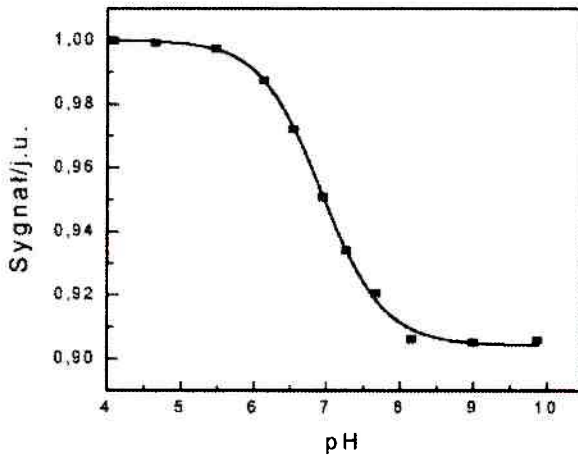
W celu zbadania powtarzalności zmian sygnału do struktury pompowano na przemian wodę i 20% roztwór sacharozy. Wykonano 10 cykli pomiarowych w czasie, których nie zaobserwowano istotnych różnic w poziomach sygnałów. Dla zwiększenia czytelności na Rys.7 zaprezentowano tylko 2 cykle pomiarowe.



Rys. 7. Przebieg zmian sygnału w czasie dla wody i 20% roztworu sacharozy.



Skonstruowany sprzęgacz wykorzystano również jako detektor do pomiarów zmian absorbancji. Pomiarzy przeprowadzono dla roztworów o różnym pH, zawierających stałe stężenie błękitu bromotymolowego. Wyniki tych pomiarów obrazuje krzywa kalibracji przedstawiona na Rys.8. Liniowość w zakresie 6.2-7.5 pH jest zgodna z danymi literaturowymi [19]. Niestety względne zmiany sygnału były niewielkie, czego przyczyną mogło być zbyt małe stężenie BTB w próbkach.



Rys. 8. Krzywa kalibracji sprzęgacza dla roztworów BTB o różnym pH.

#### 4. PODSUMOWANIE

W pracy opisano nową ideę konstrukcji sprzęgacza światłowodowego, w którym obszar sprzęgania wykorzystano jako strefę detekcji w pomiarach chemicznych. Sprzęgacz wytworzony został w przepływowej mikrostrukturze z PDMS-u. Światłowody w tym układzie pełnią podwójną rolę: tworzą mikrokanal przepływowy dla analitu i jednocześnie stanowią detektor. Użyteczność sprzęgacza została potwierdzona w pomiarach zmian stężenia sacharozy. Główną wadą tej metody pomiarowej jest zależność wyników od temperatury, czego przyczyną jest zależność współczynnika załamania światła od temperatury. Doświadczalnie wykazano, że sprzęgacz może być wykorzystany również jako detektor w pomiarach absorbancji. Przedstawiony układ charakteryzował się krótkim czasem odpowiedzi oraz powtarzalnością sygnału w czasie. W zależności od zastosowania, cały system pomiarowy może być modyfikowany przez

zmianę diody elektroluminescencyjnej na źródło światła białego lub spektrometru na fotodiode krzemową. Konstrukcja sprzęgacza może być w przyszłości modyfikowana przez zmianę typu lub/i średnicę włókien, długości drogi sprzężenia lub odległości między światłowodami.

*Praca była finansowana w ramach Programu Priorytetowego Politechniki Warszawskiej „Mikrosystemy: konstrukcje, technologie, projektowanie”*

## LITERATURA

- [1] Van den Berg A., Olthuis W., Bergveld P. (eds.): *Proceedings of the mTAS 2000 (Micro Total Analysis Systems 2000)*, Kluwert Academic Publishing, Boston/London, 2000
- [2] Van den Berg A.: *Proceedings of the mTAS 2002 (Micro Total Analysis Systems 2002)*, Kluwert Academic Publishing, Boston/London, 2002
- [3] Manz A., Graber N., Widmer H.M.: *Sens. Actuators B*. 1990, 1, 244
- [4] Manz A., Harrison D.J., Verpoorte E.M.J., Fettingner J.C., Paulus A., Ludi H., Widmer H.M.: *J. Chromatogr. B*. 1992. 539, 253
- [5] Boehm S., Olthuis W., Bergveld P.: *Microchim. Acta*, 2000, 134. 237
- [6] Tantra R., Manz A.: *Anal. Chem.*, 2000, 72, 2875
- [7] Becker H., Locascio L.E.: *Talanta*, 2002. 56. 267
- [8] A. de Mello: *Lab on a Chip*, 2002.2. 31N
- [9] Ramsey R.S., Ramsey J.M.: *Anal. Chem.*, 1997.69, 1174
- [10] J. Wang: *Talanta*, 2002, 56, 223
- [11] Schwarz M.A., Hauser P.C.: *Lab on a Chip*, 2001.1, 1
- [12] Wolfbeis O.S. (ed.): *Fiber optic chemical sensors and biosensors*, Vol. 1 and 2, CRC, Boca Raton, 1991
- [13] Seitz W.R.: *Crit. Rev. in Anal. Chem.*, 1988. 19. 135
- [14] Gerdt D.W., Herr J.C.: *US Patent 5.494.798*. 1996
- [15] Henning M.: *Sensors and Materials*, 2002. 14. 339
- [16] Szustakowski M.: *Elementy techniki światłowodowej*, WNT, Warszawa, 1992
- [17] Jędrzejewski K., Lewandowski L.: *Elektronika*, 2, 2002. 40
- [18] Dane katalogowe, Sigma-Aldrich
- [19] Dean J.A.: *Analytical chemistry handbook*, McGraw-Hill Professional, 1995