

文章编号 1004-924X(2015)08-2158-06

基于表面开孔光纤的集成式亚硝酸盐微流荧光传感器

赵恩铭¹, 李恩涛¹, 滕平平², 刘春兰¹, 郭小慧¹, 李松¹, 杨兴华^{1*}

(1. 哈尔滨工程大学理学院, 黑龙江哈尔滨 150001;

2. 哈尔滨第一机械集团设计研究所, 黑龙江哈尔滨 150056)

摘要:利用中空悬挂芯光纤研制了一种将荧光猝灭反应区建立在空心光纤内部的光纤集成荧光在线微流传感器。利用CO₂激光器在光纤表面刻蚀微孔,使得试剂可由微孔注入光纤内部并混合形成稳定的微流。在悬挂芯光纤纤芯倏逝场的激发下,指示剂分子产生荧光,所产生的荧光被耦合到纤芯内部并在出射端被检测。文中利用光纤内部的荧光猝灭反应实验确定了亚硝酸盐溶液的浓度。结果显示:微流可在短时间通过光纤,传感器能以较快的速度检测溶液浓度。另外,当亚硝酸盐溶液的浓度为0.1~2.6 mmol/L时,荧光猝灭程度与溶液浓度呈较好的线性关系,结果证明了该集成式光纤内微流控传感器方案用于微量荧光检测的可行性。

关键词:微结构光纤;光纤集成;光纤传感器;荧光传感器;微流传感器

中图分类号: TN253 **文献标识码:** A **doi:** 10.3788/OPE.20152308.2158

Integrated microfluidic nitrite fluorescence optical fiber sensor based on optical fiber with microholes on surface

ZHAO En-ming¹, LI En-tao¹, TENG Ping-ping², LIU Chun-lan¹, GUO Xiao-hui¹, LI Song¹, YANG Xing-hua^{1*}

(1. College of Science, Harbin Engineering University, Harbin 150001, China;

2. Design Research Institute of Harbin First Machinery

Manufacturing Group, Co., Ltd., Harbin 150056, China)

* Corresponding author, E-mail: yangxh@hrbeu.edu.cn

Abstract: An in-fiber integrated fluorescence online optofluidic sensor was developed by using a hollow optical fiber with a suspended core, in which the micro-region of the sensor for fluorescence quenching reaction was built in the hollow optical fiber. Microholes on the surface of the fiber were etched by a CO₂ laser, the fluorescence reagents could be injected into the optical fiber via the microholes and was mixed to form stable microflows in the fiber. Concurrently, indicator molecules were excited by the evanescent field of the suspended core, the fluorescence was well coupled into the core and was detected in the exited end. The concentration of nitrite was determined by fluorescence quenching reaction during optofluidic reaction in the optical fiber. Experimental results indicate that the microflows could flow through the optical fiber in a short time, therefore, the sensor detects the solution concentration in a fast response rate. Moreover, the fluorescence response of the sensor is nearly linear depending on

收稿日期:2015-03-20;修订日期:2015-05-11.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 61405043, No. 61377085);中国博士后科学基金资助项目(No. 2014M551217);黑龙江省自然科学基金资助项目(No. F201405, No. F201338);中央高校基本科研业务费资助项目

the concentration of nitrate in the range of 0.1–2.6 mmol/L, which reveals the feasibility of the integrated in-fiber optofluidic method for trace fluorescence detection.

Key words: microstructured optical fiber; fiber integration; optical fiber sensor; fluorescence sensor; microfluidic sensor

1 引言

微流控光学,即光学和微流控的结合应用,是目前快速发展的科学领域。它将微流控和现代光学的优势相结合,从而实现了良好的微流控制、大的表面积-体积比和光路集成^[1-3]。基于微流控光学的微反应器可以获得均匀的光分布,充分实现流体和光之间的相互作用,特别适用于加快化学和环境分析、生物合成、药物输送、DNA 操纵和病毒检测的反应速率^[4]。

近年来,具有空气孔结构的微结构光纤成为了光纤传感器领域的研究热点^[5-7]。这种光纤具有采样量小、结构简单等特点,适用于微量分析^[8-9]。由于微结构光纤纤芯的一部分倏逝场分布于微孔内,纤芯的倏逝场能使光和样品互相作用,并获得高比表面积。另一方面,荧光检测已广泛应用于化学、生物学和医学等领域^[10]。该技术以分子相互作用为基础,如能量转移、碰撞作用和分子重排等方式^[11-14],与其它技术相比,具有灵敏度高,装置结构简单等优势^[15]。

本文将以上3种技术相结合,基于自行设计的悬挂芯光纤研制了一种集成式光纤微流控荧光传感器,并利用空心光纤中悬挂纤芯的倏逝波场实现了微流体和波导之间的在线荧光耦合。本装置利用 CO₂ 激光器在光纤表面打孔,通过控制光纤纤芯的所在位置、激光器的功率和加工次数,在不损坏光纤纤芯的前提下实现光纤表面的开孔,从而构造了荧光微流体的流动通道。最后利用该装置对亚硝酸盐的浓度进行了检测。亚硝酸盐是一种存在于食品、水和生物样本中重要的目标分析物,它可以导致如胃癌等严重疾病^[16]。在本设计中,亚硝酸盐会与碘离子在光纤内部反应生成碘,碘与过量的碘离子生成 I₃⁻ 离子。I₃⁻ 和罗丹明 6G(Rh6G) 形成缔合物^[17],Rh6G 的荧光由于重原子效应而猝灭,从而建立了亚硝酸盐与荧光强度的关系。由于荧光猝灭反应发生在光纤内部,故亚硝酸盐浓度由耦合到纤芯内的荧光强度确定。

2 原理和实验装置

实验采用的悬挂芯光纤由实验室设计并拉制,包括空气孔结构和悬挂纤芯。光纤的外径为 350 μm,内径为 210 μm,纤芯的直径是 40 μm,中空结构作为微反应腔。为了确保试剂进入光纤并在微反应腔内发生荧光猝灭反应,本文利用 CO₂ 激光器在光纤表面打开两孔作为入口,如图 1 所示。同时,光纤的另一端也有类似的孔作为出口,用于使反应后的液体流出。为了保护悬挂芯光纤的结构,在刻蚀过程中光纤纤芯位置远离加工位点。扫描电子显微镜测量得到的微孔形态均匀,直径约为 90 μm。如图 2(a) 所示,入口 i 和 ii 之间的距离是 1 cm,微反应区的长度约为 5 cm,本文设计光纤传感器结构时考虑到了连接器的尺寸、两种溶液混合发生的化学反应以及流通阻力等实际因素。为了形成密闭的微反应区,利用光纤熔接机加热微孔 i 和 iii 外侧的部位,并形成塌陷,构建一个液体流通的通道。



图 1 空心悬挂芯光纤开孔结构图

Fig. 1 Sketch of microholes on surface of optical fiber

图 2(a) 给出了微流控荧光传感器的装置结构示意图。光纤通过作为入口和出口的塑料连接器固定在石英基板上。实验中将 Rh6G 溶液和浓盐酸混合,亚硝酸盐和碘化钾(KI)混合,之后分别将两种溶液装入容量为 5 mL 的注射器,并且用聚四氟乙烯(PTFE)毛细管插在两入口的连接器的上。然后溶液可以由毛细管经由微孔注入光纤,注入流量由注射泵控制。随着试剂的注射,荧光试剂被激发产生荧光,并通过倏逝场耦合到纤芯中进行传导。实验中,光纤提供了足够长的纤芯用于荧光的激发和收集。纤芯中的光在接收端

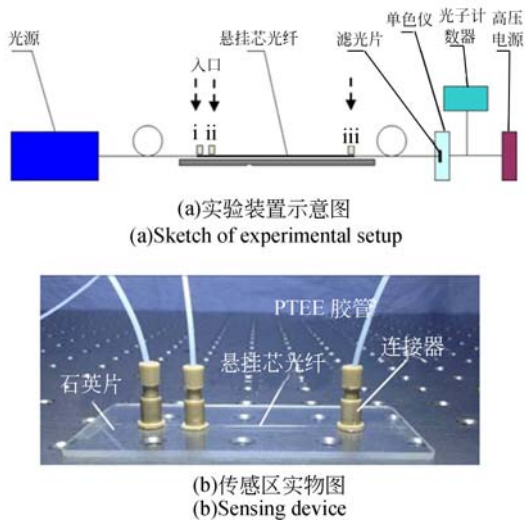


图 2 表面开孔光纤的微流荧光传感器

Fig. 2 Microfluidic fluorescence sensor based on optical fiber with microholes on surface

通过单色仪和光电倍增管来检测 (PMT, R2949, 偏置电压为 $-1\ 150\ \text{V}$)。实验所制作的传感装置实物如图 2(b) 所示。

3 光纤中微流体速度场的数值模拟

根据光纤微结构参数对光纤内的微流特性进行了模拟仿真。雷诺数为流动的重要参数,其计算公式如下:

$$Re = \frac{\rho v D}{\mu} = \frac{QD}{\nu A}, \quad (1)$$

其中: ρ 为流体密度, v 是特征速度, Q 是体积流量 ($2 \times 10^{-9}\ \text{m}^3/\text{s}$), μ 是流体黏度, D 是光纤内径 ($2 \times 10^{-4}\ \text{m}$), A 是横截面面积, ν 是运动黏度 ($1 \times 10^{-6}\ \text{m}^2/\text{s}$)。经计算, Re 数为 12.7, 远小于 2.3×10^3 , 所以在该光纤内部微流为层流。利用有限元法来模拟流动状态, 层流模型和不可压缩 Navier-Stokes 方程为:

$$\rho(u \cdot \nabla)u = \nabla \cdot [-pI + \mu(\nabla u + (\nabla u)^T)] + F, \quad (2)$$

$$p \nabla \cdot u = 0, \quad (3)$$

其中: ρ 为流体密度, u 是速度场, p 是压力, μ 是动力黏度; F 是体积力, 如重力。

光纤轴向平面动态流速场如图 3(a) 所示。两种溶液在入口 ii 混合之后混合速度叠加为原来的 2 倍 ($v_2 = 2v_1$)。在入口 i 与入口 ii 之间以及

入口 ii 与出口 iii 之间的速度场都是均匀的。这表明在注射泵产生的压力差下, 液体可顺利注入悬挂芯光纤内部, 并能够克服毛细作用力, 在光纤内稳定流动。光纤横截面的流速场分布 (取入口 ii 与出口 iii 之间) 如图 3(b) 所示, 可见从光纤的中心到悬挂芯的速度分布呈梯度变化, 数值从约 $70\ \text{mm/s}$ 下降到约 $10\ \text{mm/s}$ 。由于流动时间由靠近纤芯的流速决定, 故光纤内部的物质传输在 5 s 内结束, 表明微流可在短时间通过光纤。

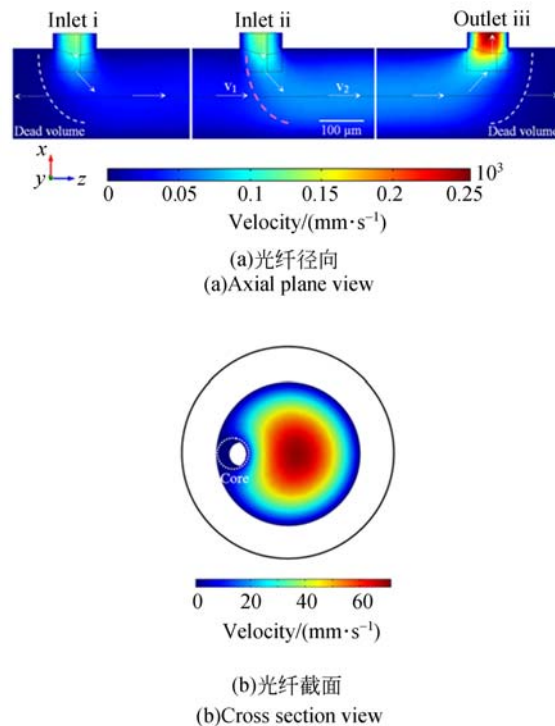


图 3 光纤截面流速场的仿真结果

Fig. 3 Simulation results of flow velocity field in fiber

4 光纤内样品的在线微流检测

利用注射在光纤表面分别泵注入两种液体: 一种溶液为酸化的 Rh6G 溶液, 另一种溶液为 KI 和样品的混合溶液。Rh6G 标准溶液 ($5 \times 10^{-4}\ \text{mol/L}$) 和 KI 标准溶液均利用 100 mL 的容量瓶, 取 0.024 g 溶质溶于去离子水中制备而成。使用前, 将溶液稀释至 0.49 mmol/L。其中, 亚硝酸盐样品作为氧化剂, 以稀释的 100 mmol/L 浓度作为标准溶液。将稀释的 2.5 mL KI 溶液与 2.5 mL 亚硝酸盐溶液混合, 5 mL 染料标准溶液与 10

μL 浓盐酸混合。在注射泵的压力下,将上述两种溶液以 $60 \mu\text{L}/\text{min}$ 的速率注入到光纤内部。

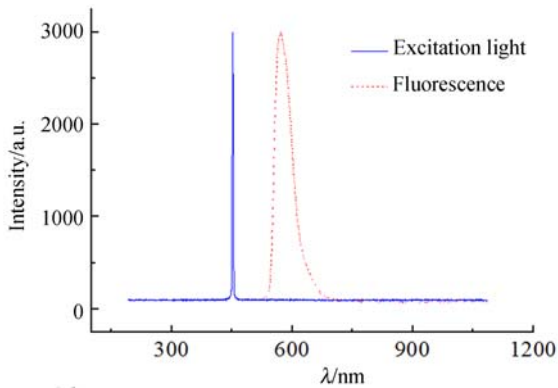


图 4 激发光和 Rh6G 荧光光谱

Fig. 4 Spectra of excitation light and Rh6G fluorescence

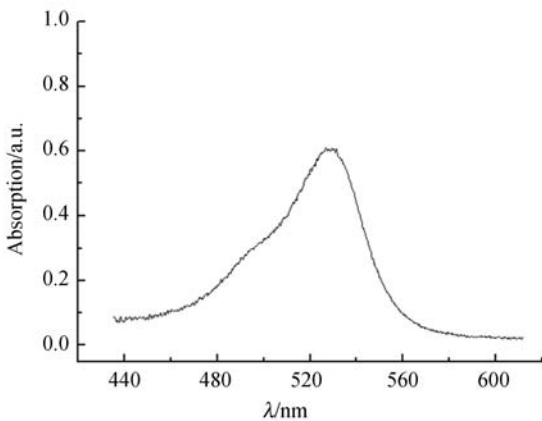


图 5 Rh6G 吸收光谱

Fig. 5 Absorption spectrum of Rh6G

激发光源的光谱和 Rh6G 溶液的荧光光谱如图 4 所示,图 5 为 Rh6G 溶液的吸收光谱。由图 5 可知,Rh6G 溶液在 580 nm 之前有一个很宽的吸收带,为了消除激发光对荧光检测的影响,这里选择一个工作波长为 452 nm 的高强度蓝色激光二极管(1 W)作为激发光源。Rh6G 溶液注入光纤后,在倏逝场的作用下指示分子被激发并发出明显的荧光。同时,荧光被耦合到纤芯内并沿着光纤传输。最后,利用光纤末端的探测器检测荧光。由 Rh6G 荧光光谱可以观察到在 575 nm 附近有一个最大发射峰。

当含有不同浓度的亚硝酸盐样品溶液注入光纤时,KI、亚硝酸盐和 Rh6G 之间发生荧光猝灭化学反应。亚硝酸盐注入后,Rh6G 荧光强度显著降低,荧光波长无明显变化。但当亚硝酸盐和 KI 单独注入光纤时,Rh6G 的荧光强度无明显变化。亚硝酸盐样品注入到光纤得到的响应曲线如图 6 所示。亚硝酸盐的浓度由荧光猝灭的程度确定,猝灭程度可由 $(I_0 - I)/I_0$ 表示,其中 I 和 I_0 分别为有无猝灭剂时的荧光强度。当荧光猝灭是动态时,其强度与猝灭剂浓度有关。因此本文中荧光猝灭程度 $(I_0 - I)/I_0$ 与亚硝酸盐溶液浓度成正比。当亚硝酸盐的浓度约在 $0.1 \sim 3.1 \text{ mmol/L}$ 时,该传感器的荧光响应曲线近似是线性的,重复性较好,偏差约在 5% 以内。

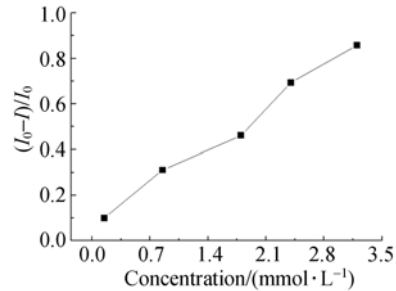


图 6 光纤微流荧光传感器响应曲线

Fig. 6 Response curve of microfluidic fluorescent optical fiber sensor

5 结 论

本文设计了一种基于空心结构悬挂芯光纤的集成式荧光在线微流传感器。该传感器的特点是在不损坏光纤内部纤芯的前提下,在光纤表面构造微孔,使得荧光微流体注入光纤内部,并利用荧光猝灭反应检测亚硝酸盐。结果表明:液体能够在这种光纤内部混合形成稳定的微流。同时,在微流腔内通过纤芯的倏逝场激发 Rh6G,被激发出来的光波被有效地耦合到纤芯并且沿着纤芯传播,最终在光纤的末端被探测。当亚硝酸盐溶液的浓度在 $0.1 \sim 2.6 \text{ mmol/L}$ 时,该传感器的荧光响应曲线近似为线性,具有较好的检测能力。这种光纤微孔结构也可用于构建其它类型(如气体的荧光猝灭反应)的集成式光纤微流荧光传感器。

参考文献:

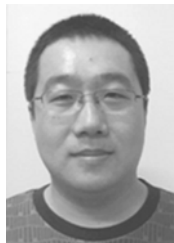
- [1] LIU S, ZHAO Y, PARK J W, *et al.*. Correlated electrical and optical analysis of single nanoparticles and biomolecules on a nanoporegated optofluidic chip [J]. *Nano Lett.*, 2014, 14(8): 4816-4820.
- [2] PERSICHETTI G, TESTA G, BERNINI R. Optofluidic jet waveguide enhanced Raman spectroscopy [J]. *Sens. Actuators B*, 2015, 207: 732-739.
- [3] BERTUCCI A, MANICARDI A, CANDIANI A, *et al.*. Detection of unamplified genomic DNA by a PNA-based microstructured optical fiber (MOF) Bragg-grating optofluidic system [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2015, 63: 248-254.
- [4] RODRÍGUEZ-RUIZ I, LLOBERA A, VILA-PLANAS J, *et al.*. Analysis of the structural integrity of SU-8-based optofluidic systems for small-molecule crystallization studies [J]. *Anal. Chem.*, 2013, 85 (20): 9678-9675.
- [5] QIAN W, ZHAO C, WANG Y, *et al.*. Partially liquid-filled hollow-core photonic crystal fiber polarizer [J]. *Opt. Lett.*, 2011, 36 (16): 3296-3298.
- [6] WANG Y, WANG D, LIAO C, *et al.*. Temperature-insensitive refractive index sensing by use of micro Fabry-Pérot cavity based on simplified hollow-core photonic crystal fiber [J]. *Opt. Lett.*, 2013, 38 (3): 269-271.
- [7] 赵明富, 王念, 罗彬彬, 等. 可同时测量蔗糖浓度和温度的组合光纤光栅传感器[J]. *中国光学*, 2014, 7(3):476-482.
- ZHAO M F, WANG N, LUO B B, *et al.*. Simultaneous measurement of temperature and concentration of sugar solution based on hybrid fiber grating sensor[J]. *Chinese Optics*, 2014,7(3):476-482. (in Chinese)
- [8] ENGLISH F V, GRABKA M, LANCASTER D G, *et al.*. Magnetic field interaction with guided light for detection of an active gaseous medium within an optical fiber [J]. *Opt. Express*, 2013, 21(2): 2491-2499.
- [9] 赵恩铭, 郑瑶, 刘岩鑫, 等. 基于内壁芯光纤的调制器件 [J]. *光学精密工程*, 2013, 21(4):884-888.
- ZHAO E M, ZHENG Y, LIU Y X, *et al.*. Modulator device based on optical fiber with core on inner wall [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2013, 21(4):884-888. (in Chinese)
- [10] 肖海斌, 赵进辉, 袁海超, 等. 同步荧光光谱结合 CARS 变量优选预测猪肉中四环素残留量 [J]. *光学精密工程*, 2013, 21(10): 2513-2519.
- XIAO H B, ZHAO J H, YUAN H CH, *et al.*. Determination of tetracycline content in pork by synchronous fluorescence spectroscopy with CARS method [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2013, 21(10): 2513-2519. (in Chinese)
- [11] XU S, XU S H, ZHU Y S, *et al.*. A novel up-conversion, fluorescence resonance energy transfer biosensor (FRET) for sensitive detection of lead ions in human serum [J]. *Nanoscale*, 2014, 6: 12573-21579.
- [12] 赵进辉, 袁海超, 洪茜, 等. 基于纳米银粒子增强荧光测定鸭肉中土霉素残留量[J]. *光学精密工程*, 2014, 22(11): 2902-2907.
- ZHAO J H, YUAN H CH, HONG X, *et al.*. Determination of oxytetracycline content in duck meat using silver nanoparticle enhanced fluorescence [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2014, 22(11): 2902-2907. (in Chinese)
- [13] HAN J, XU M, WANG B, *et al.*. Low dose detection of γ radiation via solvent assisted fluorescence quenching [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2014, 136(13): 5090-5096.
- [14] SHI X, GU W, PENG W, *et al.*. Sensitive Pb^{2+} probe based on the fluorescence quenching by graphene oxide and enhancement of the leaching of gold nanoparticles [J]. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2014, 6(4): 2568-2575.
- [15] WANG Q, WANG W, LEI J P, *et al.*. Fluorescence quenching of carbon nitride nanosheet through its interaction with DNA for versatile fluorescence sensing [J]. *Anal. Chem.*, 2013, 85

(24): 12182-12188.

- [16] NAWROCKI J, ANDRZEJEWSKI P. Nitrosamines and water [J]. *J. Hazard. Mater.*, 2011, 189 (1-2): 1-18.

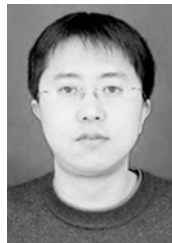
- [17] JIANG Z, SUN S, KANG C, *et al.*. A new and sensitive resonance-scattering method for determination of trace nitrite in water with rhodamine 6G [J]. *Anal Bioanal. Chem.*, 2005, 381: 896-900.

作者简介:



赵恩铭(1977—),男,黑龙江哈尔滨人,博士,讲师,2000年、2005年于黑龙江大学分别获得学士、硕士学位,2013年于哈尔滨工程大学获得博士学位,主要研究方向为光纤传感。E-mail: zhaoenming@hrbeu.edu.cn

通讯作者:



杨兴华(1979—),男,黑龙江哈尔滨人,博士,副教授,2002年、2005年于东北师范大学分别获得学士、硕士学位,2008年于中国科学院西安光学精密机械研究所获得博士学位,主要研究方向为光纤传感、光学材料和微纳材料。E-mail: yangxh@hrbeu.edu.cn

(版权所有 未经许可 不得转载)