

ПРИМЕНЕНИЕ РАДИОТЕХНИКИ И ЭЛЕКТРОНИКИ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

УДК 535.8

ВОЛОКОННЫЙ РЕФРАКТОМЕТР ДЛЯ МОНИТОРИНГА ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ¹

© 2023 г. Д. П. Судас^а, *, П. И. Кузнецов^а, К. М. Голант^а

^а Фрязинский филиал Института радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН,
пл. Введенского, 1, Фрязино, Московская область, 141190 Российская Федерация

*E-mail: Dmitriisudas@mail.ru

Поступила в редакцию 17.05.2023 г.

После доработки 17.05.2023 г.

Принята к публикации 25.05.2023 г.

Показана возможность оценки влияния внешних условий, таких как содержание глюкозы в растворе и внешнее освещение, на жизнедеятельность сине-зеленых водорослей с контролем в режиме реального времени. С помощью изготовленных волоконных сенсоров исследованы временная зависимость, длящаяся более 40 ч, и изменения показателя преломления суспензии, содержащей микроводоросли *Chlorella Vulgaris*, в процессе их жизнедеятельности.

DOI: 10.31857/S0033849423100169, EDN: DNRINC

1. ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ

Отдельное направление в сенсорике на основе волоконных рефрактометров посвящено работе с живыми клетками [1] и бактериями [2]. Зная, что спектральное положение резонанса затухающей моды (LMR) зависит от оптической плотности среды, окружающей датчик, можно определить ряд параметров, определяющих жизненный цикл изучаемых биологических объектов. Например, некоторая модификация чувствительной поверхности волоконного сенсора LMR позволяет определять специфический тип антител, присутствующих в анализируемом растворе [1]. Вопрос определения абсолютного количества (сухой массы) остро стоит при выращивании микроводорослей, пригодных во многих областях. Измерение этих параметров в режиме реального времени при культивировании микроводорослей с помощью полностью волоконных рефрактометров поможет быстро оценить и определить эффективность ростовых процессов. Однако в процессе своей жизнедеятельности исследуемые клетки могут и будут перемещаться в жидкости и удаляться от чувствительной части, поэтому для корректного измерения необходим способ удержания их на поверхности сенсора. Оптический пинцет – проверенный метод воздействия на нано- и микрочастицы [3]. Возникает явление, при котором частицы, под действием оптического излучения, стремятся

переместиться в точку с наибольшей интенсивностью оптического поля и оставаться в ней.

2. ЭКСПЕРИМЕНТЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ

Многомодовое волокно собственного производства с диаметром кварцевой сердцевины 95 мкм и фторсиликатной светоотражающей оболочкой подвергали химическому утонению на участке длиной 3...5 мм с использованием малотоксичного полирующего состава [4]. После предварительной очистки от защитного полимера утоненный участок волокна (тейпер) длиной около 3.0 мм несколько раз заливали водным раствором травителя на основе смеси фторида (NH_4F) и сульфата аммония ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$). Для нанесения пленочного покрытия был использован метод химического парового осаждения из металлоорганических соединений (MOCVD). В качестве газа-носителя и источника окислителя использовался воздух, прошедший через осушитель при атмосферном давлении. Источником олова служило органическое тетраэтилолово (Et_4Sn), окислителем – кислород воздуха. Синтез проводили при температуре 335°C. С учетом разбавляющего потока суммарная линейная скорость газовой смеси в реакторе составляла 10 см/с.

Для реализации эффекта оптического пинцета в волокно с датчиком через оптический разветвитель вводили излучение самодельного волоконного лазера с длиной волны генерации 1553 нм и выходной мощностью 10 мВт (рис. 1). Живые микроводоросли *Chlorella Vulgaris* хранили в виде

¹ Работа удостоена премии на 19-м конкурсе молодых ученых имени Ивана Анисимкина.

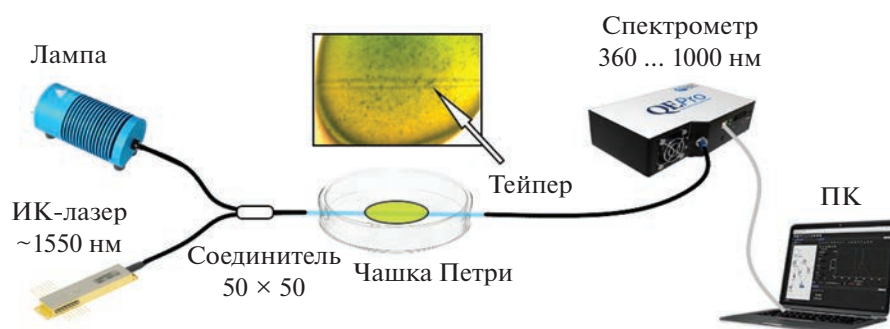


Рис. 1. Схема тестирования различных растворов на волоконном рефрактометре.

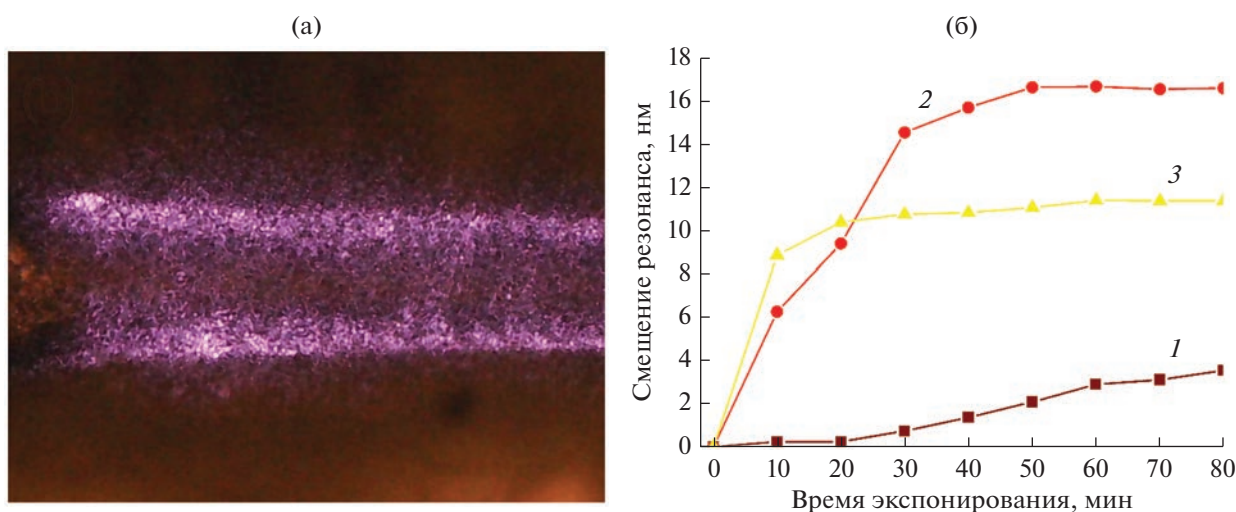


Рис. 2. Фотография тейпера с покрытием SnO_2 в жидкости, содержащей микроводоросли, сразу после погружения в раствор с клетками (а); смещение положения LMR в воде с микроводорослями (б), вызванное действием оптического пинцета от: 1 — лампы накаливания, 2 — источника суперконтинуума, 3 — волоконного лазера.

замороженной суспензии, содержащей помимо водорослей и воды некоторые питательные вещества. Средний размер клеток микроводорослей составлял 4 мкм. Исследуемые суспензии содержали концентрацию сухой массы в пределах от 0.7 до 9 кг/м³.

На рис. 2 представлены оптически увеличенные изображения участка поверхности тейпера, погруженного в жидкость, содержащую микроводоросли. Рассеянное неоднородной поверхностью за счет адгезии клеток ИК-излучение создает характерное свечение, видимое на фотографии (см. рис. 2а). Под действием затухающего оптического поля клетки микроводорослей притягиваются к поверхности тейпера вблизи оголенной сердцевины волокна и группируются при максимуме радиального градиента на границе. В результате часового воздействия лазерного излучения, микроводоросли плотно прилипли к поверхности тейпера, вызывая сильное рассеивание лазерного света. На рис. 2б дано сравнение сдвига

LMR в водном растворе, содержащем хлореллу. Сдвиг вызван концентрированием клеток на поверхности сенсора, эффектом оптического пинцета при введении излучения от различных источников в волокно.

Смещение LMR также можно использовать для абсолютного контроля таких параметров, как показатель преломления смеси с хлореллой и количество сухого вещества этой водоросли. Калибровочный график положения резонанса в зависимости от показателя преломления жидкости на основе водных растворов NaCl показан на рис. 3а. Точки можно аппроксимировать линейно из-за относительно небольшого интервала показателя преломления. Используя полученную линейную зависимость, можно получить примерный показатель преломления жидкости, содержащей 1.6 кг/м³ сухой массы хлореллы, равный 1.34329 (рис. 3а, точка со стрелкой). На основании данных о смещении резонанса для разных концентраций клеток хлореллы был проведен эксперимент по контролю

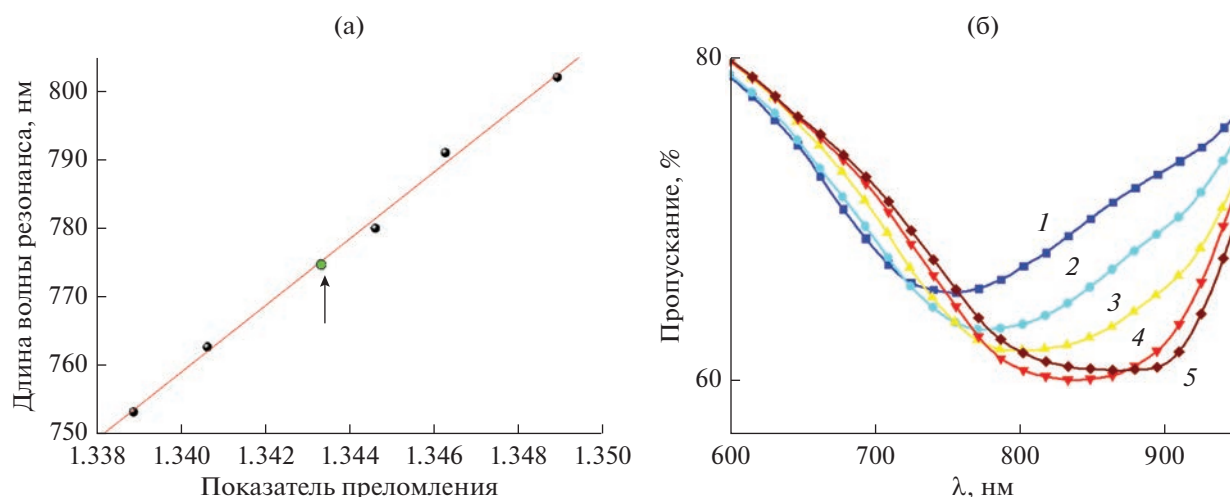


Рис. 3. Характеристика растворов с микроводорослями с помощью LMR: зависимость положения резонанса от показателя преломления водных растворов различных концентраций NaCl (а), спектры пропускания датчика в растворах с различной концентрацией сухой массы хлореллы (б): 0.776 (1), 1.615 (2), 2.756 (3), 3.936 (4), 5.140 кг/м³ (5).

сухой массы в процессе размножения микроводорослей. В зависимости от условий окружающей среды, таких как доступность света для фотосинтеза и углерода для пищи, хлорелла со временем добавляет различное количество массы. В оптимальных условиях зеленые водоросли полностью делятся за 24 ч. На рис. 4 представлено смещение резонанса при различных условиях окружающей среды. Жидкости термостатировали при температуре около $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

Взвесь, в которой находится хлорелла, содержит небольшое количество глюкозы и аминокислот, чтобы после разморозки у водорослей было

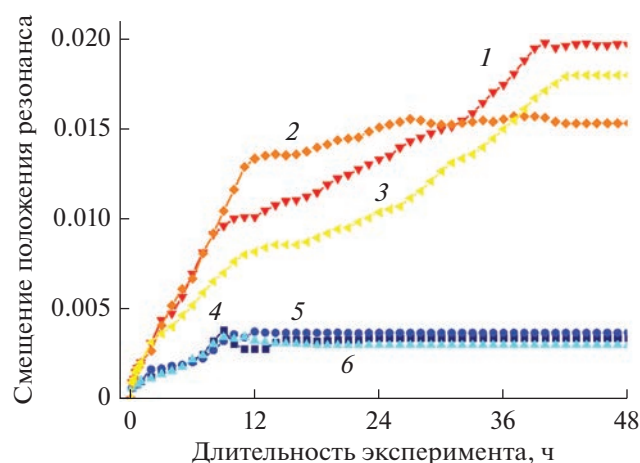


Рис. 4. Зависимость сдвига резонанса в водных растворах с хлореллой от времени при различных условиях внешней среды: с использованием внешнего источника света и дополнительной глюкозой в растворе (1–3) и с использованием только внешнего источника света (4–6).

достаточно питания. В течение первого часа происходит оседание водорослей, сопровождающееся активным сдвигом резонанса. При облучении внешним светом в течение первых 9...11 ч происходит деление клеток, сопровождающееся повышением показателя преломления. При недостатке питания большая часть водорослей погибает, а оставшиеся организмы успевают поглотить оставшуюся глюкозу из жидкости, благодаря чему показатель преломления пограничного слоя уменьшится. Можно сделать вывод, что на этом активная жизнь останавливается. При добавлении в раствор глюкозы для большего количества корма, равного количеству сухой массы водорослей в растворе, сдвиг в первые 9...11 ч более значителен. При сравнении с предыдущими испытаниями рост клеток хлореллы увеличился более чем в два раза. После стадии активного роста часть клеток отмирает, но пищи еще достаточно для продолжения жизни, но более медленными темпами. После 40-го часа положение резонанса стабилизируется. В то же время, если не используется ни дополнительное питание, ни внешнее освещение, то после установления резонанс смещается в противоположную сторону, после чего к 4-му часу стабилизируется. Это означает, что кроме расщепления глюкозы из жидкости активной жизнедеятельности не происходит. На основании полученных результатов можно сделать вывод, что условия не были оптимальными для полного деления, но хорошо прослеживается и фиксируется их влияние на увеличение живой массы хлореллы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С помощью изготовленных волоконных сенсоров исследована временная зависимость, для-

щаяся более 40 ч, а также изменения показателя преломления суспензии, содержащей микроводоросли *Chlorella Vulgaris*, в процессе их жизнедеятельности. Для концентрации клеток в зоне чувствительности сенсора применялся эффект оптического пинцета из травленной боковой поверхности многомодового оптического волокна с использованием источников суперконтинуума и лазера с генерацией вблизи третьего окна прозрачности телекоммуникационного диапазона. Показана возможность оценки влияния внешних условий, таких как содержание глюкозы в растворе и внешнее освещение, на жизнедеятельность сине-зеленых водорослей с контролем в режиме реального времени. При этом чувствительность в диапазоне 1.33...1.35 составила 4850 нм/единицу показателя преломления. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что при помощи изготовленных волоконных сенсоров возможно оценивать различные способы выращивания микроводорослей в режиме реального времени.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИРЭ им. В.А. Котельникова РАН (№ 075-01110-23-01).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Socorro A.B., Corres J.M., Del Villar I. et al. // Sensors and Actuators B: Chemical. 2012. V. 174. P. 263.
2. Dandapat K., Tripathi S.M., Chinifooroshan Y. et al. // Opt. Lett. 2016. V. 41. № 18. P. 4198.
3. Ashkin A., Dziedzic J.M., Bjorkholm J.E. et al. // Opt. Lett. 1986. V. 11. № 5. P. 288.
4. Kuznetsov P.I., Sudas D.P., Yapaskurt V.O. et al. // Optical Materials Express. 2021. V. 11. № 8. P. 2650.