



*Российская Академия Наук*

Отделение физических наук

**А.В. Крайский, В.А. Постников, Т.Т. Султанов,  
Т.В. Миронова, А.А. Крайский, М.А. Шевченко,  
Р.А. Захарян**

**Голографические сенсоры  
для определения  
компонентов  
водных растворов**

Москва 2017

УДК 66.974.434  
ББК 24.5  
Г60

ISBN 978–5–906906–19–9

© Российская академия наук, 2017  
© А.В. Крайский, В.А. Постников,  
Т.Т. Султанов, Т.В. Миронова,  
А.А. Крайский, М.А. Шевченко,  
Р.А. Захарян, 2017

# Голографические сенсоры для определения компонентов водных растворов

## Holographic sensors for determining components of aqueous solutions.

А.В. Крайский <sup>1</sup>, В.А. Постников <sup>2</sup>, Т.Т. Султанов <sup>1</sup>, Т.В. Миронова <sup>1</sup>,  
А.А. Крайский <sup>1</sup>, М.А. Шевченко <sup>1</sup>, Р.А. Захарян <sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН РАН Физический институт им. П.Н.Лебедева, Москва,  
kraiski@sci.lebedev.ru

<sup>2</sup> ФГБУН «НИИ физико-химической медицины», ФМБА России,  
Москва

<sup>3</sup> Тарусский филиал Института общей физики РАН России, Москва

A.V. Kraiski, V.A. Postnikov, T.T. Sultanov, T.V. Mironova,  
A.A. Kraiski, M.A. Shevchenko

**Аннотация.** В работе содержится краткий обзор публикаций по голографическим сенсорам. Обсуждаются вопросы выбора рабочего режима сенсоров и определения параметров этих сенсоров по их спектральным данным. Кратко изложено современное состояние колориметрического способа измерения распределения длины волны узкополосного излучения по поверхности по ее цифровому изображению. Приведены результаты измерений отклика многоячейстого сенсора (до 24 ячеек) при заполнении ячеек различными растворами: водно-спиртовой раствор с различным содержанием спирта, плазма крови с различным содержанием глюкозы.

**Abstract.** A brief review of publications on holographic sensors is done. The problems of the choice of sensor operating mode are discussed as well as the determination of the sensors parameters from their spectral data. The current state of the colorimetric method is reviewed, which is used for measuring the wavelength distribution of narrow-band radiation along the sensor surface from its digital image. The article presents the results of measurements of the multi-cell sensor response (up to 24 cells), the cells being filled by various solutions: aqueous-alcoholic solution of different concentrations and blood plasma with different concentrations of glucose.

**Ключевые слова:** голографические сенсоры, колориметрический метод, определение концентрации, растворы, водно-спиртовой раствор, плазма крови, глюкоза. **Keywords:** holographic sensors, colorimetric method, determination of the concentration, aqueous-alcoholic solution, blood plasma, glucose.

### Введение

Важность контроля содержания глюкозы в крови для предотвращения осложнений диабета хорошо известна. В большинстве методов измерения глюкозы используется фермент глюкозооксидаза. Однако применение таких тестовых систем имеет ряд ограничений, вызванных неустойчивостью из-за денатурации фермента, трудностей, связанных со стерилизацией при использовании в естественных условиях, а также их стоимостью. Поэтому в течение последних 10-20 лет широко ведутся исследования по разработке новых типов диагностических принципов и устройств без использования ферментов как для медицинских целей, так и для применения в лабораторной и производственной сферах. Достаточно широко в этих целях разрабатываются сенсоры на основе оптических методов регистрации изменения свойств «умных» гидрогелей [1-27]. Одно из достоинств их в том, что с их помощью можно достаточно просто определять концентрации тестируемых веществ, как с помощью приборов, так и визуально.

К таким сенсорам относятся голографические сенсоры [1-3] и сенсоры на основе фотонных кристаллов [4-5]. Эти сенсоры могут применяться для измерения кислотности (pH) водных растворов, содержания ионов тяжелых металлов [6-9], содержания глюкозы в крови [8-13] и в других биологических жидкостях [14-15], наличия спор бактерий [16-17], метаболитов [18], роста бактерий [19-20], влажности [21-22], для анализа лактата в плазме крови [23]. Особняком стоит разработка голографических сенсоров на основе гидрофобной матрицы для определения содержания горючих углеводородных газов в воздухе [24].

Голографические сенсоры являются усовершенствованием давно известных (уже полвека) денисиюковских голограмм на основе фоточувствительных эмульсий бромида серебра и представляют собой нанокompозитные материалы, состоящие из полимерной гидрогелевой пленки, в нанопорах которой размещаются наночастицы серебра, образующие периодические слои так, что при

отражении белого света отражается только компонента излучения, резонансная периоду слоев (см., например, [3]). Специфичность отклика сенсора реализуется из-за того, что в пленку встроены вещества, обеспечивающие селективное взаимодействие с искомым компонентом анализируемой смеси, что приводит к набуханию или сжатию гидрогелевой матрицы. Результатом этого является изменение периода слоев, что сопровождается изменением отражаемой длины волны, т.е. изменением цвета сенсора. Изготавливаются они, как правило, в фоточувствительных галогидосеребряных эмульсиях при экспозиции голограммы плоской волны во встречных пучках. Интерференционные слои располагаются с небольшим наклоном к плоскости голограммы. Затем проходит обычный цикл проявления и фиксирования. Возможна также последующая отбелка.

В ряду оптических сенсоров голографические сенсоры обладают рядом преимуществ. Они имеют достаточно высокую чувствительность, просты в использовании, имеют хорошую точность, обратимы и могут применяться многократно.

## **Цели работы**

Основная цель наших исследований – разработать сенсоры для измерения глюкозы в крови и других биологических жидкостях невысокой стоимости и удобных в работе. Развитие работ на этой основе может привести к созданию широкого спектра многокомпонентных анализаторов и простых тестовых пластинок для визуального контроля условий транспортировки и хранения вакцин и культур бактерий, ферментов и других биологических объектов, плазмы крови, продуктов питания, контроля качества воды, пищевых продуктов и многого другого.

## **Об экспериментальных условиях**

Нами исследовались матрицы различного состава и конструкции. Ряд матриц на основе акриловой кислоты чувствителен к кислотности и ионной силе, а на основе аминифенилборной кислоты и к глюкозе. Голограммы получали экспонированием гидрогелевой фотоэмульсии, закрепленной на стеклянной подложке во встречных пучках излучения He-Ne лазера мощностью 15 мВт с помощью обычного фотографического процесса [1,28-31].

Спектры отражения и пропускания регистрировали с помощью спектрометра с оптоволоконным входом FSD-8 при освещении голограммы светом лампы накаливания.

Были исследованы отклики голограмм на кислотность раствора, на концентрацию ряда ионов металлов 1-ой, 2-ой групп и тяжелых металлов, на воду различного происхождения (водопроводная, дистиллированная, минеральная), на содержание этилового спирта в водном растворе, на содержание глюкозы в модельных растворах и плазме крови. [31]. Кроме того, было изучено поведение сенсоров в ряде переходных процессов.

### О режиме работы и определении параметров голографического сенсора

При работе с голографическим сенсором важно выбрать параметры сенсора так, чтобы обеспечить правильный режим его работы. Точность измерения длины волны (один из главных параметров сенсора) должна быть достаточной для измерений тестируемого компонента раствора. С одной стороны при работе с малогабаритным спектральным прибором, аппаратная функция которого имеет спектральную ширину около 5 нм, достаточно точности измерений длины волны от десятых долей нанометра до нанометра.

С другой стороны точность измерений длины волны напрямую связана со спектральной шириной линии отражения. Спектральная ширина зависит от параметров голографического слоя. Характер этой зависимости нетрудно понять при малой дифракционной эффективности голограммы, когда при рассмотрении структуры отраженной волны можно пренебречь ослаблением излучения при распространении его вглубь голографического слоя.

Будем считать распределение показателя преломления  $n(x)$  по глубине  $x$  синусоидальным

$$n(x) = n_0 + \Delta n \cos\left(2\pi \frac{x}{\Lambda} + \varphi_0\right), \quad (1)$$

где  $n_0$  – среднее значение показателя преломления среды,  $\Delta n$  ( $\ll n_0$ ) – амплитуда переменной части показателя преломления,  $\Lambda$  – период изменения показателя преломления,  $\varphi_0$  – начальная фаза, несущественная для рассматриваемого вопроса [32]. В этом

случае получается простое выражение для ширины линии отражения на половине высоты максимума:

$$\Delta\lambda = 0.886 \frac{\lambda^2}{2n_0 H} = 0.886 \frac{\lambda}{N}, \quad (2)$$

где  $N$  – число интерференционных слоев (число периодов),  $H$  – толщина голографического слоя,  $\lambda$  – длина волны положения максимума. Интенсивность в максимуме линии составляет

$$I_{\max} = I_0 \left( \pi \frac{\Delta n}{2n_0} \frac{H}{\Lambda} \right)^2, \quad (3)$$

где  $I_0$  – интенсивность падающего на голограмму излучения.

Для увеличения точности измерений мы должны увеличивать число слоев, т.е. толщину голографического слоя. При длине волны 600 нм и показателе преломления 1.33 ширина линии 20 нм соответствует толщине 6 мкм (26 интерференционных слоев), а ширине линии 5 нм соответствует толщина голографического слоя 24 мкм (106 интерференционных слоев). С увеличением числа слоев (т.е. с увеличением толщины) одновременно будет увеличиваться и интенсивность отраженного излучения в максимуме, т.е. дифракционная эффективность (ДЭ)  $\eta = I/I_0$ . Для измерительных целей ДЭ должна быть достаточной для нормальной работы регистрирующей системы. Вместе с тем при большой ДЭ излучение не проникает внутрь голографического слоя из-за ослабления, что уменьшает число эффективных интерференционных слоев, формирующих отраженную волну. Это приводит к уширению спектра, т.е. понижению точности. Реально изменения ширины линии не существенны в пределах значений  $\eta \leq 0.1$ . Если ширина линии еще не достигла необходимого значения, а ДЭ достигла своего предела, то можно воспользоваться, тем, что величина ДЭ определяется не толщиной слоя, а произведением  $\Delta n \cdot H$  и, казалось бы, можно сужать линию, понижая амплитуду переменной части показателя преломления и оставляя ДЭ неизменной. Но на увеличение толщины существует ряд других ограничивающих моментов. Одним из важных является то, что при увеличении толщины у нас будет увеличиваться время установления стационарного состояния компонентов раствора по всему

слою. Как правило, оптимальная толщина пленки в сухом состоянии составляет несколько мкм, при набухании в анализируемом растворе - 20-30 мкм. С ДЭ может возникнуть и ряд других проблем. Например, при работе с голографическими сенсорами имеется одна особенность, связанная режимом работы сенсора. В процессе титрования при изменении кислотности раствора дифракционная эффективность может измениться почти на порядок [31]. Это может быть связано только с увеличением амплитуды переменной части показателя преломления. Если в исходном состоянии ДЭ близка к предельно допустимому значению, то при замене раствора может произойти резкое увеличение амплитуды переменной части показателя преломления что приведет к выходу из режима слабого отражения и к уменьшению эффективного числа слоев, что надо иметь в виду.

Выше сказанное показывает, что надо уметь определять параметры голограммы. К основным параметрам относятся период интерференционных слоев, амплитуда переменной части показателя преломления, толщина голографического слоя. Их можно вычислить с помощью спектральных данных. Если ДЭ не велика ( $< 0.1$ ), то мы можем получить все необходимые параметры с помощью соотношений (2-3). В противном случае вместо реальной толщины мы получаем значение эффективной толщины, которая тем меньше реальной, чем больше ДЭ. В этом случае для получения реальной толщины из спектральных данных надо применять более адекватный подход. Из выражения (2), зная ширину линии отражения можно получить число интерференционных слоев, а зная среднее значение показателя преломления – и толщину голографического слоя.

Зная ДЭ, мы можем определить амплитуду переменной части показателя преломления. Процедура получения ДЭ понятна, но наиболее просто определять ее, когда она не слишком мала так, что в спектре пропускания голографического слоя виден провал, связанный с брэгговским отражением. Тогда для не поглощающих и не рассеивающих голографических слоев он будет в точности соответствовать линии брэгговского отражения и ДЭ есть просто отношение глубины провала к среднему уровню пропускания вблизи провала (рис. 1). Такие условия выполняются, например, для отбеленных голограмм. Следует отметить, что в процессе работы, особенно при переходе из одного стационарного состояния в другое (при перемещении сенсора из одного раствора в другой, например, при регенерации сенсора) часто происходит неодно-



родное изменение набухания голографического слоя. Причины этого достаточно очевидны. Прежде всего, происходит замена состава раствора внутри слоя вблизи поверхности сенсора, граничащей с раствором. К тому же скорость диффузии отдельных компонентов раствора может сильно различаться. Внутри слоя по мере изменения состава раствора происходят химические реакции, как с участием элементов матрицы, так и без их участия. Для установления стационарного состояния с однородным набуханием требуется некоторое время. Такие процессы могут быть причиной сильного изменения формы линий отражения [31]. Искажения могут также проявиться в большем или меньшем уширении линии отражения. Ясно, что времена этих процессов увеличиваются с толщиной голографического слоя.

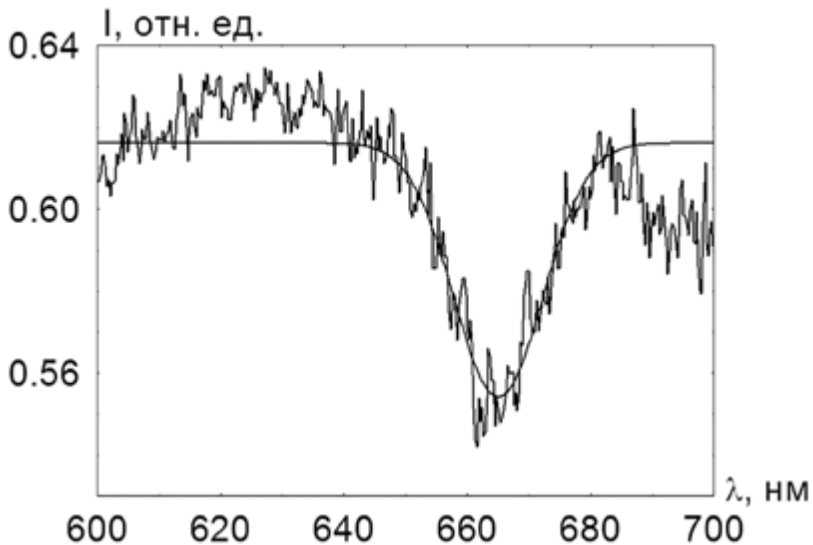


Рис. 1. Спектр пропускания голографического сенсора. Сплошная гладкая кривая – аппроксимация спектра (по методу наименьших квадратов) постоянным фоном с провалом из-за брэгговского отражения.

Спектр пропускания отбеленной голограммы показан на рис. 1. Для идеального слоя форма спектра отражения должна иметь вид функции  $(\sin(x)/x)^2$ . Однако реальный спектр отражения хороших слоев в стационарных условиях не имеет характерной формы этой

функции, но неплохо описывается гауссовой функцией с шириной от 6 до 20 нм [31]. Это, по-видимому, связано с неидеальностью голограммы и конечной шириной аппаратной функции спектрального прибора (около 5 нм). Для спектра на рис.1, аппроксимирующую функцию выбирали в виде постоянного фона (его уровень - 1 подгоночный параметр) и гауссова провала (3 подгоночных параметра: глубина, положение минимума и ширина). Подгонка параметров этой функции дает следующее: положение максимума  $\lambda = 665.2$  нм, ширина провала  $\Delta\lambda = 17.08$  нм, дифракционная эффективность  $\eta = 0.100$ . Число слоев составляет 34.5, толщина эмульсии 8.63 мкм (показатель преломления для среды составляет 1.33). Из выражения (3) получаем амплитуду переменной части показателя преломления  $\Delta n = 0.0077$ . Т.о. по формальным признакам мы находимся в пределах применимости выражений (2-3).

### Колориметрический способ измерения длины волны по цифровому изображению

Существенным преимуществом голографических сенсоров перед многими другими является относительная простота использования их в качестве многоканальных сенсоров. Это определяется локальностью отклика и, при соответствующем выборе конструкции, возможно одновременное проведение различных измерений в разных точках поверхности. Наиболее доступно – одновременное определение тестируемого компонента в различных растворах, однако возможно и определение различных компонентов одного и того же раствора, либо и то и другое. В зависимости от решаемых задач это можно делать, помещая анализируемые образцы в различных областях сенсора, свойства которого одинаковы, либо изменяя свойства самого сенсора в различных точках. До настоящего времени мы работали с сенсорами первого типа. На голограмму, расположенную горизонтально чувствительным слоем вверх, помещалась накладка толщиной около 10 мм, в которой высверливались сквозные отверстия диаметром около 2 мм. Отверстия располагались в узлах квадратной сетки с периодом около 3.5 мм, образуя матрицу 4x6 отверстий. При наложении такой матрицы на чувствительный слой сенсора формировались ячейки объемом около 30 мкл. Свет подводился снизу через подложку голограммы. Через нее же проводились измерения спектра. В ячейки вводили по 5 мкл раствора. Конструкция обеспечивала возможность выдерживать растворы в ячейках достаточно долго (часами). Возможны и другие

конструкции. Измерения можно проводить с помощью миниспектрометра с оптоволоконным входом. Однако, это - достаточно трудоемкий процесс, требующий много времени и не позволяющий контролировать все ячейки одновременно. Для реализации всех возможностей такой конструкции был предложен и разработан колориметрический способ измерения распределения длины волны узкополосного светового излучения, отраженного от поверхности сенсора, по его цифровому цветному изображению, полученному, например, с помощью цифрового фотоаппарата [33-34]. Суть способа состоит в том, что поскольку отраженное голограммой излучение узкополосно (спектральная ширина до 20 нм), то по соотношению сигналов в цветовых компонентах пикселя изображения можно однозначно определить длину волны (строго говоря - среднюю длину волны). (Для монохроматического излучения, вообще говоря, достаточно всего 2 типа селективно чувствительных сенсоров.) Фотоаппарат требуется откалибровать, т.е. построить характеристики, с помощью которых по значению цветовых компонент пикселя определяется длина волны. Калибровку проводили по набору цифровых фотографий спектра лампы накаливания с известным расположением длин волн [34], полученному с помощью используемого фотоаппарата. В процессе работы выяснилось, что в бытовых форматах (bmp, jpg, jpeg, tiff и т.п.) одной и той же длине волны, при различной суммарной интенсивности излучения, может соответствовать различное значение цветности. Поэтому пришлось работать в трехмерном пространстве: нижняя координатная плоскость содержала оси интенсивности и цветности, вертикальной осью была ось длин волн. В таком трехмерном пространстве строилась характеристическая поверхность, т.е. поверхность, связывающая интенсивность и цветность отклика фотоаппарата в какой либо точке калибровочного изображения спектра лампы накаливания, с длиной волны света, действовавшей на этот пиксель приемной матрицы при экспозиции. При определении длин волн на изображении поверхности измеряемой голограммы, зная интенсивность и цветность, по характеристической поверхности определялась длина волны. При последовательном переборе всех пикселей строилось изображение в длинах волн, т.е. получалась карта длин волн.

Такой метод измерений работает лишь в том спектральном диапазоне, в котором, во-первых, во всех точках есть ненулевые отклики сенсоров хотя бы двух групп, и, во-вторых, с изменением длины волны света цветность изменяется монотонно. Оказалось, что при работе в бытовых форматах сигналы сенсоров искажаются процес-

сором фотоаппарата так, что в значительной спектральной области размером около 30 нм нет перекрытия чувствительностей красного и синего сенсоров, и, следовательно, есть спектральная область, где есть ненулевой отклик только у одной группы сенсоров. На этом участке цветность не изменяется, и он не пригоден для измерения длин волн. Такими же свойствами обладали два десятка фотоаппаратов разных моделей, которые мы исследовали. Для работы мы использовали участок желтой области спектра 570-600 нм.

Точность определения длин волн составляла 0.16 нм [34] на мегапиксельном изображении, что позволяет контролировать однородность голографического слоя. Была зарегистрирована поверхность голограммы площадью около 2 кв. см в переходном режиме при замене раствора спирта с меньшей концентрацией на раствор с большей концентрацией. При этом регистрировались заметные пространственные крупно- и мелкомасштабные неоднородности. Уровень пространственных шумов в стационарном состоянии был в несколько раз ниже, и составлял от 0.16 нм для мелкомасштабных неоднородностей до 0.32 нм для крупномасштабных.

Переход к работе в RAW-формате [35] позволил расширить рабочий диапазон до 455-625 нм, т.е. более чем в 5 раз. Это явилось следствием того, что в этом формате мы работаем с данными, неискаженными компьютером фотоаппарата. В этом диапазоне есть перекрытие чувствительностей красной и синей групп сенсоров фотоаппарата, отсутствуют спектральные области, где ненулевой отклик есть только у одной группы сенсоров, и цветность изменяется монотонно при изменении длины волны. В этом формате практически отсутствует и зависимость цветности от интенсивности при постоянной длине волны. Поэтому, в принципе, можно работать с более простой характеристической функцией в двумерном пространстве цветность - длина волны. Среднеквадратичный разброс определения длин волн в подавляющей части этого диапазона составил от 0.3 до 2.0 нм.

На рис. 2 показаны результаты определения длин волн колориметрическим способом для строки из 4-х ячеек, содержащих водно-спиртовой раствор с содержанием спирта: 6.25%, 12.5%, 25%, 37.5%. Слева вверху в 1-ом ряду показана фотография этой строки. Концентрация спирта увеличивалась слева направо. Изображения имели цвета красный, оранжевый, зелено-голубой и голубой. Во втором ряду показано построенное изображение в длинах волн (т.е. карта длин волн). Более коротким длинам волн соот-

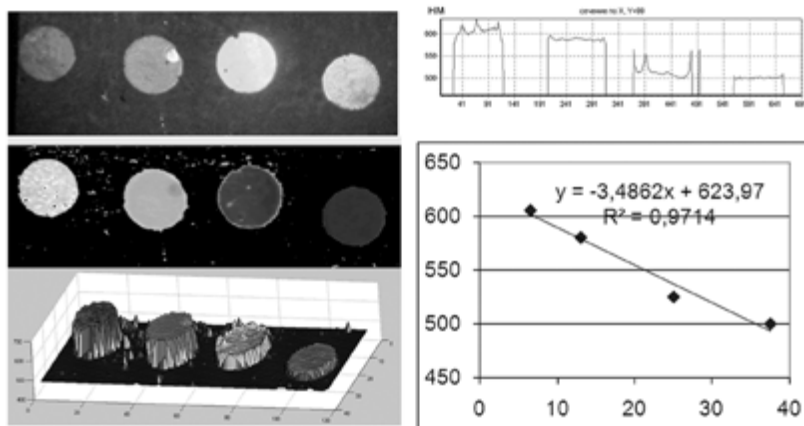


Рис.2. Слева сверху в 1-м ряду - фотография строки из 4-х ячеек, содержащих водно-спиртовой раствор с содержанием спирта: (слева - направо) 6.25%, 12.5%, 25%, 37.5%. 2-ой ряд - карта длин волн. Более темные тона серого - более короткие длины волн. 3-й ряд - карта длин волн в изометрической проекции. Координаты в плоскости изображения – в относительных единицах. Справа сверху - сечение карты длин волн, проведенное через все ячейки, по оси абсцисс – номера пикселей, по оси ординат – длины волн в нм. Внизу - зависимость длины волны отклика от концентрации спирта. По оси абсцисс – содержание спирта, %. По оси ординат – длина волны, нм.

ветствуют более темные тона серого. В третьем ряду показана карта длин волн в изометрической проекции. Справа сверху показано сечение карты длин волн, проведенное через все ячейки. Внизу показана зависимость длины волны отклика от концентрации спирта. Чувствительность составила 3.48 нм/(спирт.%). Наблюдаемое изменение длины волны (от 606 до 500 нм) составило 106 нм.

На рис. 3 показана фотография набора 6x4 ячеек, заполненных раствором 0,5% уксусной кислоты. Этот эксперимент был проведен для проверки однородности свойств голограммы. В таблице 1, в верхних 4-х строках приведены данные откликов, измеренные с помощью спектрометра. В двух нижних строках приведены средние значения и стандартные отклонения для каждого из столбцов таблицы, которые характеризуют степень однородности откликов ячеек. Слева в тех же строках показаны среднее значение и стандартное отклонение для всей совокупности 24 ячеек. Стандартное отклонение всей совокупности составило 1.7 нм.

## Голографические сенсоры для определения компонентов водных растворов

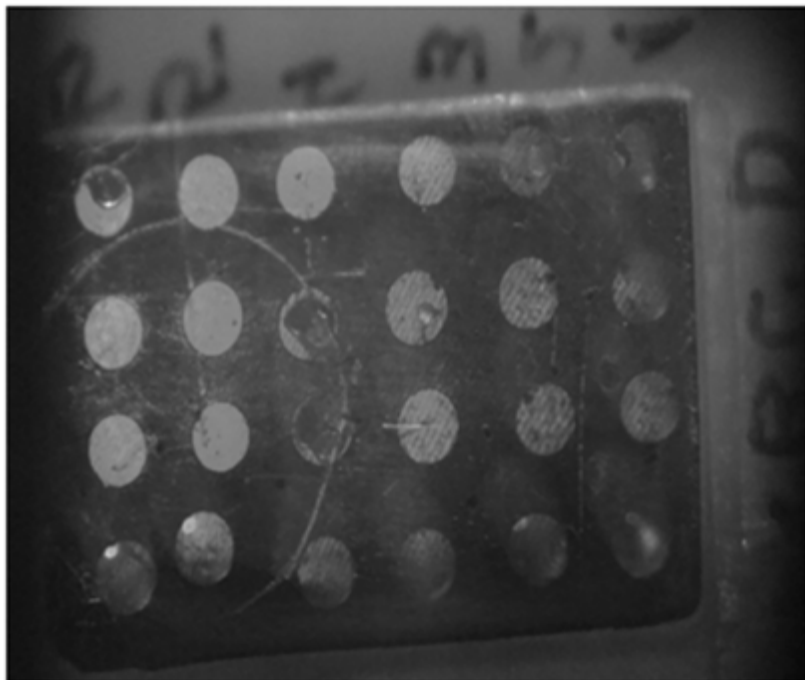


Рис. 3. Фотография набора 6x4 ячеек, заполненных раствором 0,5% уксусной кислоты. Схема нумерации ячеек и величины откликов в них показана в Таблице 1.

Табл. 1. Схема нумерации ячеек и величины откликов в них для фотографии набора 6x4 ячеек, заполненных раствором 0,5% уксусной кислоты.

	AcOH					
	1	2	3	4	5	6
a	645,6	642,4	643,1	641	640,6	643,4
b	645,4	640,6	641,7	640,9	640,6	641,4
c	645,4	644	641,1	640,4	640,6	642,2
d	644,5	642,6	641,2	642,6	640,1	641,9
Среднее, нм						
642,2	645,2	642,4	641,8	641,2	640,5	642,2
1,7	0,5	1,7	0,9	1	0,3	0,8
Примечание. Нижние 2 строки – результаты статистического анализа (более подробно см текст).						

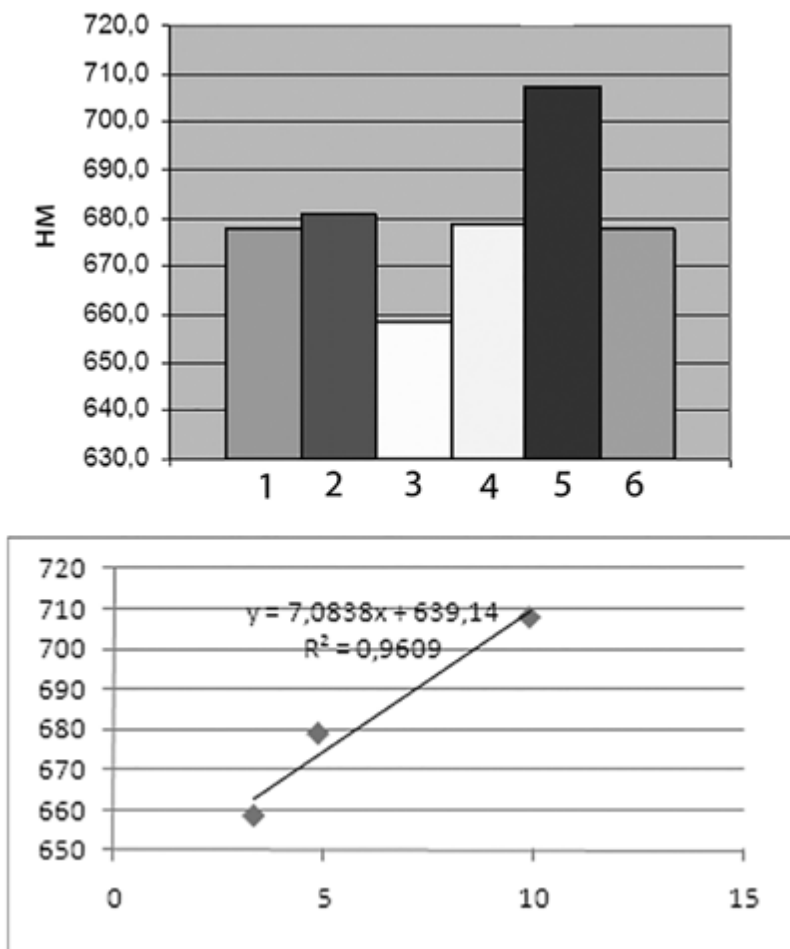


Рис. 4. Результаты для плазмы крови в одной строке ячеек. Схема заполнения ячеек в таблице 2. Вверху – диаграмма отклика, по оси абсцисс – номер ячейки. Внизу – зависимость длины волны отклика от концентрации глюкозы.

На рис. 4 в одной строке ячеек показаны результаты измерения концентрации глюкозы в плазме крови с помощью спектрометра. В таблице 2 приведена схема распределения образцов плазмы крови по ячейкам и значения откликов. В три ячейки (1,2,6) для контроля однородности чувствительности голограммы помещали один и тот же раствор уксусной кислоты. В ячейки 3,4,5 были помещены образ-

цы плазмы крови с известным содержанием глюкозы. Для этого сенсора чувствительность к глюкозе в плазме крови составила 7 нм/мМ.

Табл. 2 . Схема заполнения ячеек. Для ячеек с плазмой крови приведено значение концентрации глюкозы в мМ.

1	2	3	4	5	6
AcOH	AcOH	3,32	4,86	9,9	AcOH

Существенным является то, что в биологических жидкостях, как правило, содержится заметное количество различных ионов. Величина отклика зависит от ионного состава раствора, так, при увеличении ионной силы раствора (содержания NaCl) от 0 до 0,15 М, что соответствует содержания ионов в организме человека, чувствительность сенсоров снижается более чем на порядок, что существенно ограничивает возможности практического применения сенсоров глюкозы для определения содержания глюкозы. Однако, как показано в [36], чувствительность этих сенсоров к шестиатомному сорбиту почти на два порядка выше чувствительности к глюкозе, при этом, при увеличении содержания ионов в растворе, величина отклика снижается примерно в два раза. При подборе реакций, приводящих к восстановлению глюкозы до сорбита в биологических жидкостях, на основе голографических сенсоров можно получить более чувствительный сенсор для определения глюкозы.

В эксперименте 0,3 мл сыворотки крови образцов с известным содержанием глюкозы предварительно разбавляли до 10 мл 0,25 М ацетатно-аммонийным буфером с pH 8,4, содержащим модификатор для восстановления глюкозы до сорбита. Результаты определения содержания сорбита в модифицированных образцах сыворотки крови практически совпадают с определением сорбита в контрольных растворах сорбита в том же буфере. Чувствительность составила для модельного раствора сорбита 437.2 нм/мМ, а в сыворотке – 427.7 нм/мМ.

Чувствительность сенсора в этих условиях – более 400 нм/мМ, позволяет ожидать увеличения воспроизводимости определения глюкозы в плазме крови до 0,02 мМ в области физиологически значимого содержания глюкозы 0-30 мМ, что существенно выше точности современных лабораторных методов определения глюкозы.



## **О точности измерений**

При определении концентрации глюкозы важной является оценка точности проведенных измерений. Точность измерений характеризуется величиной случайной и систематической погрешности их результатов. В соответствии с требованиями к качеству клинических лабораторных исследований (ГОСТ Р ИСО 5725-1) при оценке точности измерений необходимо знать систематическую погрешность и случайную составляющую погрешности. Случайная составляющая погрешности результата измерения характеризует прецизионность, т.е. степень близости друг к другу независимых результатов измерений, полученных в конкретных регламентированных условиях. По требованию ГОСТ Р ИСО 5725-1 целевое значение случайной погрешности при определении концентрации глюкозы в сыворотке – 1,63-4,88 %, предельно допустимое значение – 2,23-8%. Целевое значение систематической погрешности 1,26-3,78%, предельно допустимое 1,97-6,80%.

По требованию международного стандарта ISO15197-2013 для электронных глюкометров, при содержании глюкозы свыше 5.55 ммоль/л не менее 95% результатов глюкометра должны отклоняться от результатов эталонного анализатора не более, чем на 15%, а при содержании глюкозы до 5.55 ммоль/л – на 0.83 ммоль/л. Предел относительного стандартного отклонения измерений таких анализаторов составляет 1-2%.

Для определения случайной составляющей погрешности измерений (прецизионности) данного метода, в работе с помощью голографического сенсора записывались спектры отражения в стационарных условиях с интервалом 30 сек. Затем измерялись положения их максимумов двумя способами – вручную и по параметрам аппроксимирующей функции, затем определялось стандартное отклонение. В эксперименте, описанном в [37] с чувствительностью матрицы к глюкозе 58,14 нм/мМ стандартное отклонение (СО) для 10 последовательных измерений обоими методами составило 0,05 нм. Это соответствует прецизионности определения глюкозы в разведенном растворе – 0,86 мкМ, или 0,015 мМ в исходном растворе, что составляет 0,3%. Следует отметить, что СО в данном случае является характеристикой регистрирующей части установки и, из общих соображений, не должна зависеть от чувствительности сенсора. При максимальной чувствительности, которая составляла 440 нм/мМ, прецизионность определения глюкозы в исследуемом растворе должна увеличиться.

## Голографические сенсоры для определения компонентов водных растворов

Определение систематической погрешности проводилось в модельном растворе, в фосфатном буфере с pH 7,4, содержащем 0,15М NaCl. Образцы с известным содержанием глюкозы в диапазоне от 5мМ до 20мМ проходили необходимую пробоподготовку. Образцы с известным содержанием глюкозы в диапазоне от 5мМ до 20мМ проходили необходимую пробоподготовку, полностью переводившую глюкозу в сорбитол. Далее этот образец разводился в фосфатном буфере с pH 7,4, содержащем 0,15 мМ NaCl с понижением концентрации глюкозы в 10 раз и раствор пропусклся через сенсор. В результате были получены соответствующие длины волн для всех концентраций образцов. Также пропускался калибровочный раствор, концентрационная зависимость длины волны которого аппроксимировалась логарифмической функцией. Результаты показаны на рис. 5. По калибровочной кривой определялись концентрации исследуемых образцов и систематическая погрешность измерений, среднее значение которой на всем диапазоне исследуемых концентраций составило 3%. Представляется, что данная характеристика может быть улучшена путем увеличения объемов использованных в процессе пробоподготовки растворов.

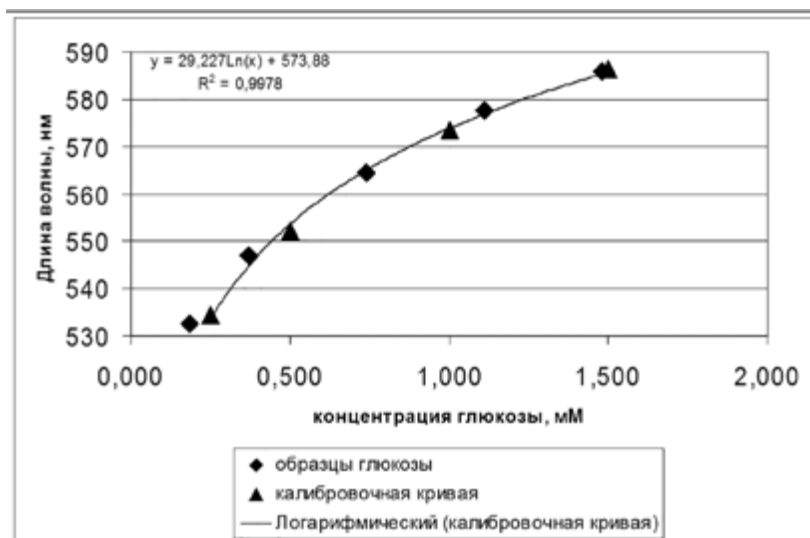


Рис. 5. Градуировочная кривая и образцы глюкозы с различной концентрацией.

Таким образом, величина случайного разброса, или прецизионности, голографического метода в 7 раз превышает минимальные предельно допустимые значения этого параметра по стандартам для лабораторных исследований и в 3-6 раз для эталонных анализаторов. При максимальной чувствительности, данная величина может быть улучшена еще на порядок.

Систематическая погрешность метода более чем в 2 раза меньше максимального предельно допустимого значения этого параметра по стандартам для лабораторных исследований и в 50 раз для глюкометров.

## **Заключение**

Голограммы, записанные в «умных полимерных» гидрогелях, (голографические сенсоры) являются удобным оптическим способом контроля изменения свойств гидрогелей, происходящих при контакте с компонентами водных растворов. Локальность отклика сенсоров позволяет на их основе конструировать многоканальные голографические сенсоры для анализа состава большого количества образцов. С помощью колориметрического метода, по цифровой фотографии поверхности сенсора, можно определять длину волны света, отраженного от всех ячеек одновременно. При работе с голографическими сенсорами важно контролировать режим работы голограммы. Параметры голограммы (толщина голограммы, переменная часть показателя преломления) можно определять с помощью параметров спектров пропускания. Точность определения содержания глюкозы может приближаться к точности лабораторных приборов.

## Список литературы

1. *Marshall A.J., Lowe Ch.R., et al.*, J.Phys.Condens.Matter., 18, 619–626; (2006), и патент США №5989923 от 23.11.1999, *Lowe Ch.R., Millington R.B., Bluth J., Mayes J.E.*
2. *Millington R, Mayes A, Blyth J, and Lowe C.* A Holographic sensor for Proteases. Anal. Chem. 1995; 67, 4229–4233
3. *Mayes A, Blyth J, Kyrolloinen-Reay M, Millington R. and Lowe C.* A holographic alcohol sensor. Anal. Chem. 1999; 71, 3390–3396
4. *Holtz J, Asher S.* Polymerized colloidal crystal hydrogel films as intelligent chemical sensing materials. Nature. 1997; 389, 829–32.
5. *Reese E, Baltusavich M, Keim J, Asher S.* Development of an intelligent polymerized crystalline colloidal array colorimetric reagent. Anal Chem. 2001; 73, 5038–42.
6. *Marshall A, Young D, Kabilan S, Hussain A, Blyth J. and Lowe C.* Holographic sensors for the determination of ionic strength. Analytica Chimica Acta. 2004; 527(1), 13–20
7. *González B, Christie G, Davidson C, Blyth J. and Lowe C.* Divalent metal ion-sensitive holographic sensors. Analytica Chimica Acta. 2005; 528(2), 219–228
8. *Alexeev V, Sharma A, Goponenko A, Das S, Lednev I, Wilcox C, et al.* High ionic strength glucose-sensing photonic crystal. Anal Chem 2003; 75, 2316–23.
9. *Asher S, Alexeev V, Goponenko A, Sharma A, Lednev I, Wilcox C, et al.* Photonic crystal carbohydrate sensors: low ionic strength sugar sensing. J Am Chem Soc 2003; 125, 3322–9.
10. *Kabilan S, Marshall A, Sartain F, Lee M.-C, Hussain A, Yang X, Blyth J, Karangu N, James K, Zeng J, Smith D, Domschke A. and Lowe C.* Holographic glucose sensors. Biosensors and Bioelectronics. 2005; 20(8), 1602–1610
11. *Yang X, Lee M.-C, Sartain F, Pan X, Lowe C.R.* Designed Boronate Ligands for Glucose-Selective Holographic sensors. Chem. Eur. J. 2006; 12, 8491–8497
12. *Horgan A, Marshall A, Kew S, Dean K, Creasey C. and Kabilan S.* Crosslinking of phenylboronic acid receptors as a means of glucose selective holographic detection. Biosensors and Bioelectronics. 2006; 21(9), 1838–1845
13. *Worsley G, Tourniaire G, Medlock K, Sartain F, Harmer H, Thatcher M, Horgan A, and Pritchard J.* Continuous Blood Glucose Monitoring with a Thin-Film Optical Sensor. Clinical Chemistry. 2007; 53(10), 1820–26
14. *Yang X, Pan X, Blyth J, Lowe C.R.* Towards the real-time monitoring of glucose in tear fluid: Holographic glucose sensors with reduced interference from lactate and pH. Biosensors and Bioelectronics. 2008, 23, 899–905
15. *Alexeev VL, Das S, Finegold DN, Asher SA.* Photonic crystal glucose-sensing material for noninvasive monitoring of glucose in tear fluid. Clin Chem. 2004; 50, 2362–9.

16. *Bhatta D, Christie G, Madrigal-González B, Blyth J. and Lowe C.R.* Holographic sensors for the detection of bacterial spores. *Biosensors and Bioelectronics*. 2007; 23(4), 520–527
17. *Bhatta D, Christie G, Blyth J, Lowe C.R.* Development of a holographic sensor for the detection of calcium dipicolinate-A sensitive biomarker for bacterial spores. *Sensors and Actuators*. 2008; B 134, 356–359
18. *Marshall AJ, Young DS, Blyth J, Kabilan S, and Lowe CR.* Metabolite-Sensitive Holographic Biosensors. *Anal. Chem.* 2004; 76 (5), 1518–1523
19. *Lee M-C, Kabilan S, Hussain A, Yang X, Blyth J, and Lowe CR.* Glucose-Sensitive Holographic sensors for Monitoring Bacterial Growth. *Anal. Chem.* 2004; 76 (19), 5748–5755
20. *Bell LL, Seshia AA, Davidson CA, Lowe CR.* Integration of holographic sensors into microfluidics for the real time pH sensing of *L. casei* metabolism. *Procedia Engineering*. 2010; 5, 1352–1355
21. *Naydenova I, Jallapuram R, Toal V, Martin S.* Characterisation of the humidity and temperature responses of a reflection hologram recorded in acrylamide-based photopolymer. *Sensors and Actuators*. 2008; B 139(1), 35–38
22. *Cody D, Naydenova I, Mihaylova E.* New non-toxic holographic photopolymer material. *J. Opt.* 14 (2012) 015601 (4pp)
23. *Sartain FK, Yang X, Lowe CR.* Holographic lactate sensor. *Anal Chem.* 2006;78(16),5664–70
24. *Martinez-Hurtado J.L., Davidson C.A.B., Blyth J., Lowe Ch.R.* *Langmuir*, v. 26, 15694–15699 (2009).
25. *Gang Ye, Xiaogong Wang.* Glucose sensing through diffraction grating of hydrogel bearing phenylboronic acid groups. *Biosensors and Bioelectronics* 26 (2010) 772–777
26. *Chongdee Thammakheta, Panote Thavarungkula, Proespichaya Kanatharanaa.* Development of an on-column affinity smart polymer gel glucose sensor. *Analytica Chimica Acta* 695 (2011) 105–112
27. *B.Mattiasson et al.,* Optical responses, permeability and diol-specific reactivity of thin polyacrylamide gels containing immobilized phenylboronic acid. *Polymer* 49 (2008) 1444–1454
28. *V.A.Postnikov, A.V.Kraiskii, T.T.Sultanov, V.E.Tikhonov.* Hydrogel holographic sensors sensitive to an acid media. XVIII International school-seminar “Spectroscopy of molecules and crystals” 20.09–28.09.2007, Berezovo, Crimea, Ukraine, Abstracts p.261.
29. *A.B. Крайский, В.А. Постников, Т.Т. Султанов, В.Е. Тихонов.* Разработка биосенсорных голографических датчиков на основе гидрогелей для количественного определения компонентов в биологических жидкостях. Тезисы доклада в Сб. Конференции «Фундаментальные науки – медицине», Москва, 3–4 декабря, 2007 г., 79–80.

30. А.В. Крайский, Т.Т. Султанов, В.А. Постников, А.В. Хамидулин, В.В. Денискин, В.Е. Тихонов. Разработка сенсорных голографических датчиков на основе гидрогелей для количественного определения компонентов в биологических жидкостях. Альманах клинической медицины, т.17, ч.2, с. 108–111., М., 2008

31. А.В. Крайский, В.А. Постников, Т.Т. Султанов, А.В. Хамидулин. Голографические сенсоры для диагностики компонентов растворов. Квантовая электроника, 40, №2 (2010), с.178–182. A.V. Kraiskii, V.A. Postnikov, T.T. Sultanov, A.V. Khamidulin. Holographic sensors for diagnostics of solution components., Quantum Electronics 40 (2) 178–182 (2010)

32. А.А. Крайский, А.В. Крайский, «Определение параметров голографического слоя по его спектральным характеристикам», *Квант. электроника*, 2016, 46 (6), 558–566. A A Kraiskii, A V Kraiskii, “Determination of the parameters of a holographic layer by its spectral characteristic”, *QUANTUM ELECTRON*, 2016, 46 (6), 558–566. DOI: 10.1070/QEL14915 Идентификационный номер: WOS: 000378928200014, ISSN: 1063-7818, eISSN: 1468-4799

33. А.В. Крайский, Т.В. Миронова, Т.Т. Султанов, В.А. Постников, В.И. Сергиенко, В.Е. Тихонов. Способ измерения длины волны узкополосного светового излучения колориметрическим способом. Патент РФ № 2390738 с приоритетом от 21.05.2008.

34. А.В. Крайский, Т.В. Миронова, Т.Т. Султанов. Измерение поверхностного распределения длины волны узкополосного излучения колориметрическим методом. Квантовая электроника, 40, №7 (2010), с.652–658. A.V. Kraiskii, T.V. Mironova, T.T. Sultanov. Measurement of the surface wavelength distribution of narrow-band radiation by a colorimetric method. *Quantum Electronics* 40 (7) 652–658 (2010)

35. А.В. Крайский, Т.В. Миронова, Т.Т. Султанов. Измерение длины волны узкополосного излучения при обработке цифровых фотографий в RAW-формате. Квантовая электроника, 42, №12 (2012), с.1137–1139. A.V. Kraiskii, T.V. Mironova, T.T. Sultanov. Narrow-band radiation wavelength measurement by processing digital photographs in RAW format. *Quantum Electronics* 42 (12), 1137-1139, (2012)

36. Постников В.А., Тихонов В.Е., Крайский А.В., Шевченко М.А., Сергиенко В.И. Голографические сенсоры для определения глюкозы в модельных средах и сыворотке крови. Известия ВУЗов ФИЗИКА, (2015), т.58 № 11/3, с.58–60.

37. Г.В. Зайцева, А.Р. Зарицкий, М.М. Кириченко, М.А. Краснова, А.В.Крайский, В.А.Постников, М.А.Шевченко. Эффекты уменьшения концентрации глюкозы в плазме крови после насыщения крови кислородом. Краткие сообщения по физике ФИАН, М.,2017, № 6, с.3.



Отделение физических наук

А.В. Крайский, В.А. Постников, Т.Т. Султанов,  
Т.В. Миронова, А.А. Крайский, М.А. Шевченко,  
Р.А. Захарян

**Голографические сенсоры для определения  
компонентов водных растворов**

Формат 60 x 84/16  
Гарнитура Таймс  
Усл. печ. л. 1,4. Усл. изд. л. 0,9  
Тираж 20 экз.

Издатель – Российская академия наук

Подготовлено к печати  
Управлением научно-издательской деятельности РАН

Отпечатано на оборудовании Управления делами РАН

Издано в авторской редакции

Издается в соответствии с распоряжением  
президиума Российской академии наук  
от 24 октября 2017 г. №10106-765,  
распространяется бесплатно.