



**HAL**  
open science

## Plataformas Micro-Fotonicas Monitoreando Transiciones de Fase en Sistemas Biologicosy Alimentarios

Rigoberto Castro -Beltran, Lucas Garnier, Arnaud Saint-Jalmes, Hervé Lhermite, Anne-Laure Fameau, V. Vié, Eric Gicquel, Hervé Cormerais, Bruno Bêche

► **To cite this version:**

Rigoberto Castro -Beltran, Lucas Garnier, Arnaud Saint-Jalmes, Hervé Lhermite, Anne-Laure Fameau, et al.. Plataformas Micro-Fotonicas Monitoreando Transiciones de Fase en Sistemas Biologicosy Alimentarios. XVII encuentro Participacion de la Mujer en la Ciencia, May 2020, Guanajuato, México. pp.1-7. hal-02492533

**HAL Id: hal-02492533**

**<https://hal.science/hal-02492533v1>**

Submitted on 8 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## PLATAFORMAS MICRO-FOTÓNICAS MONITOREANDO TRANSICIONES DE FASE EN SISTEMAS BIOLÓGICOS Y ALIMENTARIOS

R. Castro-Beltran<sup>a\*</sup>, L. Garnier<sup>a\*</sup>, A. Saint-Jalmes<sup>b\*</sup>, H. Lhermite<sup>c</sup>, A.-L. Fameau<sup>d</sup>, V. Vié<sup>b</sup>, E. Gicquel<sup>b</sup>, H. Cormerais<sup>c,e</sup>, **B. Bêche<sup>b,c\*</sup>**

- [cbrigoberto@fisica.ugto.mx](mailto:cbrigoberto@fisica.ugto.mx), [bruno.beche@univ-rennes1.fr](mailto:bruno.beche@univ-rennes1.fr), [arnaud.saint-jalmes@univ-rennes1.fr](mailto:arnaud.saint-jalmes@univ-rennes1.fr), [lucas.garnier@univ-rennes1.fr](mailto:lucas.garnier@univ-rennes1.fr)

<sup>a</sup> Universidad de Guanajuato, Departamento de Ingeniería Física, División de Ciencias e Ingenierías-León, Gto, México. <sup>b</sup> Univ Rennes, CNRS, IPR (Institut de Physique de Rennes) - UMR 6251, F-35000 Rennes, France. <sup>c</sup> Univ Rennes, CNRS, IETR (Institut d'Electronique et de Télécommunication de Rennes) - UMR 6164, F-35000 Rennes, France. <sup>d</sup> INRA-BIA, Biopolymères Interactions Assemblages, 44316 Nantes, France. <sup>e</sup> Centrale/Supelec, Campus de Rennes, 35510 Cesson-Sévigné, France.

**Palabras clave:** Resonadores, Lab-On-a-Chip, ácidos grasos

### RESUMEN

En este trabajo se presenta la detección y seguimiento dinámico de la transición de fase de varias sustancias a través de sistemas ópticos integrados. Las propiedades de este tipo de sistemas, como plataformas integradas a escala micrométrica para el análisis de especies bioquímicas, puede ser utilizada en la industria biológica, cosmética y alimentaria. También conocidos como laboratorios en un chip (Lab-On-a-Chip - LOC) donde, el sistema transductor está basado de resonadores ópticos y guías de ondas los cuales, están inmersos en los procesos químicos descritos, detectan los cambios (homogéneos) del ambiente a través de variaciones en el índice de refracción. Estos cambios estarán asociados a las propiedades fisicoquímicas intrínsecas de las sustancias cubriendo el resonador óptico. Este trabajo presenta la habilidad de este tipo de plataformas para monitorear y seguir los cambios en las transiciones de fase supramoleculares de una solución acuosa de ácidos grasos (12-hydroxystearic acid, in association with amino-pentanol: C5/12HSA) a partir de diferentes condiciones de temperatura. Este tipo ácidos grasos tienen actualmente un impacto muy prometedor en la industria farmacéutica y alimentaria ya que, se presentan como sistemas moleculares (biocompatibles) para la liberación de sustancias de forma controlada por lo que, el control y seguimiento de dichos cambios es de gran importancia para este tipo de procesos y aplicaciones bioquímicas. A diferentes temperaturas, de 17 a 24 °C y, con un tratamiento estadístico y automatizado de la información, proveniente de los espectros de resonancia del resonador óptico inmerso en la solución acuosa, el sistema LOC registra la respuesta térmica de la solución basada en ácidos grasos y los diferentes regímenes fisicoquímicos del mismo. Estos resultados obtenidos por el sistema LOC son comparados por un reómetro con la finalidad de estudiar las propiedades viscoelásticas de la solución bajo las mismas condiciones de temperatura.

Los resultados son comparativos en términos de la temperatura de transición de fase de este tipo de sustancias, confirmando que el sistema LOC basado en resonadores ópticos es capaz de igualar aquellos métodos de análisis comerciales y ampliamente utilizados. Sin embargo, los resultados obtenidos por el LOC muestran comportamientos inherentes a la respuesta completa de la solución como función de la temperatura que no se perciben a través de los estudios de viscosidad. Si bien los datos de viscosidad exhibieron una transición bastante suave y monótona, el comportamiento fue más nítido y no monótono en términos de propiedades ópticas, lo que nos permitió identificar sin ambigüedades el punto fisicoquímico de transición de fase en un régimen intermedio entre 18.5 y 20°C. Estos experimentos de transición morfológica representan una oportunidad única para ampliar el número de técnicas disponibles que estudian estos sistemas a través de técnicas ópticas integradas con oportunidades potenciales de detección en tiempo real y trabajando en un volumen de muestreo bajo.

## INTRODUCCIÓN

Para la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria, por citar algunos ejemplos, es primordial tener un control absoluto sobre la protección y transporte de especies bioquímicas [1,2]. Por ejemplo, para la industria farmacéutica, el empaquetamiento, transporte y liberación de fármacos de forma selectiva, representa una capacidad extraordinaria del mismo para realzar su efecto, por ejemplo, en una población celular particular con preferencia sobre otras. Para que esto sea posible, el fármaco debe estar diseñado para atacar componentes celulares específicos. De esta forma, podemos plantar tres escenarios como soluciones potenciales para que el transporte y liberación se lleven a cabo de forma eficiente: 1) que el “empaque” bioquímico del fármaco este superficialmente activado con los enlaces químicos adecuados para que reconozcan a cierta proteína objetivo presentes en las células específicas, 2) que la protección del fármaco atienda a estímulos de temperatura y acidez de tal forma que se puedan diseñar este tipo de sistemas bioquímicos a partir de procesos de ingeniería molecular avanzado para que esto ocurra de forma programada y 3) un sistema molecular híbrido con las capacidades de los puntos 1) y 2) en donde el fármaco aumenta su biodisponibilidad y ambos procesos cooperan hacia un mismo objetivo común y se involucran en el mismo proceso. En este sentido, el proceso de microencapsulación es un procedimiento útil para el empaquetamiento, aislamiento y protección de compuestos bioquímicos, y las estructuras supramoleculares auto ensambladas, como micelas, vesículas o fases lamelares, representan una oportunidad extraordinaria para la encapsulación de sustancias bioquímicas [3,4].

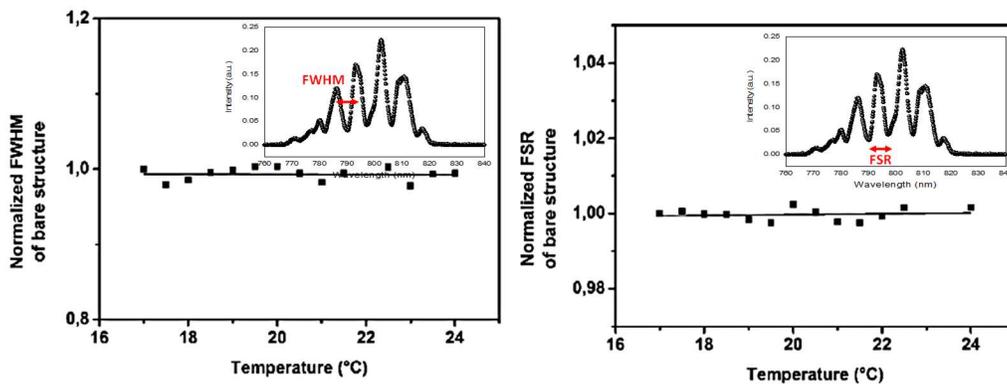
Los ácidos grasos son muy importantes para una gran cantidad de aplicaciones biotecnológicas que van desde fuentes de combustible para animales hasta portadores de medicamentos [3]. Cualquiera que sean las aplicaciones, estas dependen del control completo de las estructuras supramoleculares auto ensambladas intrínsecas, regidas por la forma en que las moléculas pueden empaquetarse y organizarse a sí mismas [3,4]. A su vez, estos sistemas pueden moldearse en varias formas que oscilan desde fluidos hasta pastas. Cada forma estará asociada a propiedades específicas de volumen como comportamiento térmico y viscosidad. Algunas de las numerosas técnicas convencionalmente utilizadas para estudiar las propiedades de las estructuras supramoleculares son: Reología, Dispersión de rayos X de gran angular (WAXS) y calorimetría diferencial de barrido (DSC), entre otras más. A pesar de que la información obtenida de dichas técnicas es complementaria en términos del proceso de caracterización de estos materiales, estos equipos son costosos y no robustos, lo cual, limita las aplicaciones potenciales de dichos materiales, por ejemplo, la aplicación y seguimiento en tiempo real de las diferentes transiciones de fase bioquímica in situ de los mismos. Por estas razones, la implementación de nuevas técnicas de caracterización capaces de monitorear en tiempo real estos cambios de fase, que además sean compactas y que el consumo energético para operarlas sea mínimo, tienen oportunidades únicas respecto a las ya comerciales y ampliamente utilizadas como las descritas arriba [5,6].

Técnicas ópticas a base de dispositivos integrados es la propuesta de este trabajo para el seguimiento de las transiciones de fase de una solución acuosa de ácidos C5/12HSA. Los cambios estructurales de esta solución se monitorearon al variar la temperatura del sistema de 17°C a 25°C [5]. Existen en el estado del arte diferentes configuraciones de elementos transductores basados en sistemas ópticos integrados, por citar algunos, cantilevers, interferómetros, tapered optical waveguides, resonadores, entre otras [6,7]. Brevemente, un elemento transductor en un chip integrado, cumple la función específica de convertir la información del estímulo externo a una señal conocida propia del experimento, por ejemplo, voltaje, cambio en frecuencia, tiempo, índice de refracción, entre otras. Por lo general, los transductores ópticos como tapered optical waveguides y resonadores, presentan estos cambios a partir de variaciones del índice de refracción efectivo y presentan su sensibilidad como unidades de índice de refracción (URI) [7].

Las formas de detección, sobre aquellas referidas al seguimiento de reconocimientos de especies bioquímicas, se dan a partir de dos configuraciones: activación superficial o a través de detección homogénea. La activación superficial permite una selección específica de especies bioquímicas mientras que, en la detección homogénea, el cambio en la señal del elemento transductor se debe principalmente a reconocimientos no específicos de especies, temperaturas, PH, entre otros, que modifiquen las propiedades de guiado de luz en estos sistemas [5]. Para sistemas que atienden al proceso de detección basado en el seguimiento homogéneo, es de suma importancia que la

respuesta del sensor no se vea afectada por otros factores externos o respuestas inherentes a los mismos como la temperatura. De esta forma, es primordial que el chip integrado cuente con propiedades específicas de respuesta a cambios de temperatura las cuales, para el rango de respuestas experimentales, no represente un compromiso en la interpretación del estímulo externo [8].

A manera de ejemplo, la figura 1 representa la respuesta térmica de un dispositivo transductor integrado en forma de estadio, fabricado a base de un fotoresina comercial (UV210). El seguimiento en las propiedades más relevantes en los espectros de resonancia de este dispositivo como: ancho de banda (FWHM) y rango espectral libre (FSR), no mostraron cambios a diferentes estímulos térmicos cuando el chip se sometió de 16°C a 25°C [8].

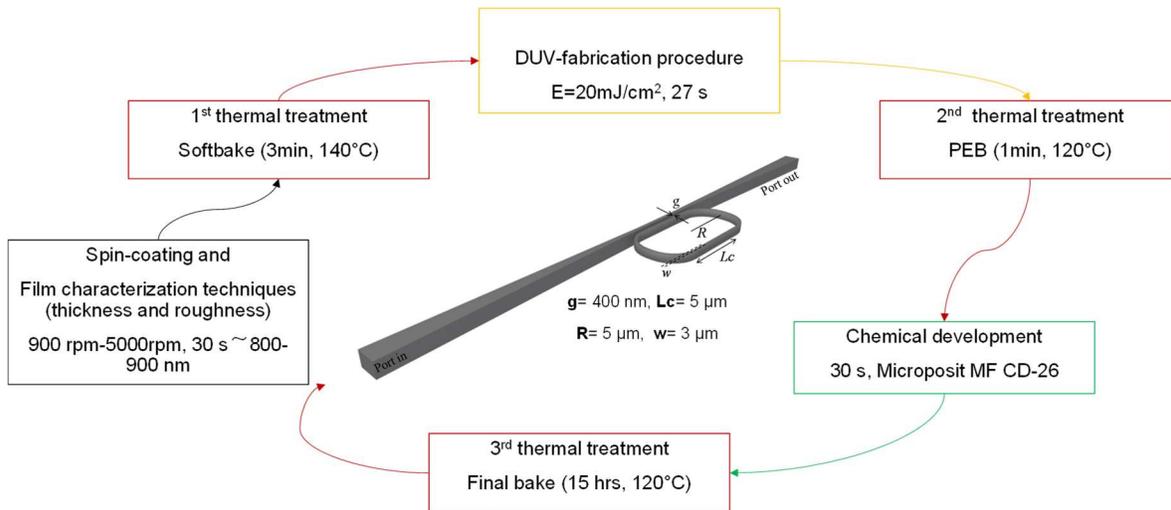


**Figura 1.** Seguimiento de las propiedades más importantes del espectro de resonancia (FWHM y FSR) en función de la temperatura [16-25]°C. Los insets en las figuras resaltan los significados del rango espectral libre y el ancho de banda de una de las resonancias de la microcavidad.

Este material, fotoresina comercial UV210, será utilizada en este trabajo para la fabricación de los dispositivos integrados en forma de cavidades estadio. Estos dispositivos serán superficialmente cubiertos por la solución de ácidos grasos C5/12HSA con la finalidad de monitorear las transiciones de fase de estos al variar la temperatura del sistema de 17-25°C.

## DISPOSITIVO INTEGRADO Y CARACTERIZACIÓN ÓPTICA

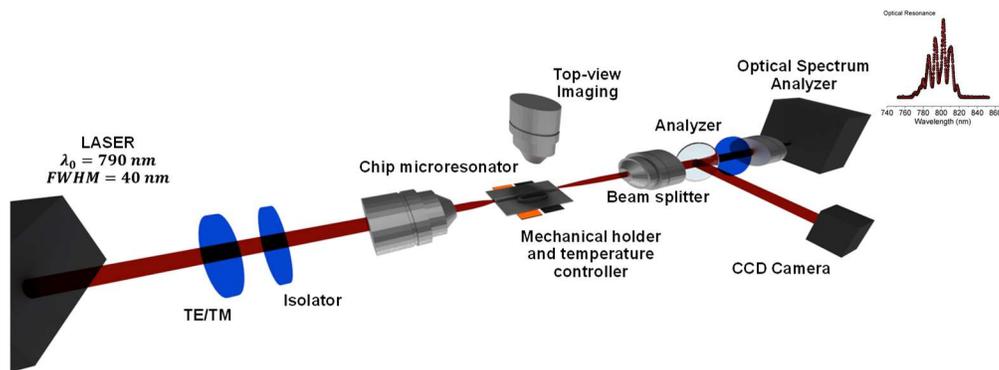
El dispositivo integrado a base de un microresonador en forma de estadio fue fabricado utilizando la fotoresina comercial UV210 a partir de procedimientos de fabricación basados en fotolitografía de UV profundo (DUV) [5,8]. Este material presenta un índice de refracción más pequeño respecto a otros también comerciales como SU8. Esto es una ventaja desde el punto de vista del uso de estas plataformas como dispositivos de detección bioquímica en donde, el modo electromagnético de propagación cubre un área más grande a través de la guía de onda lo cual implica una mejor detección ya que la profundidad de penetración del modo soportado también se extiende hacia la superficie a partir de campo evanescente. El dispositivo resonador descansa sobre una oblea de SiO<sub>2</sub>/Si con una capa de SiO<sub>2</sub> de 1 μm de espesor obtenida por oxidación térmica. Esta capa es de esta forma el revestimiento inferior para las guías de onda. El proceso de fabricación y los detalles geométricos del dispositivo se muestran en la figura 2.



**Figura 2.** Presentación del dispositivo integrado basado en un microresonador en forma de estadio con esquema en bloques del proceso de fabricación. PEB es el acrónimo en inglés de tratamiento térmico después de la exposición.

El proceso de fabricación abarca desde la limpieza de la oblea de SiO<sub>2</sub>/Si hasta el revelado y 3<sup>er</sup> y último tratamiento térmico del dispositivo que le permite mejorar las propiedades de dureza y reticular aquellas regiones que no se reticularon durante el proceso de exposición UV y el 2<sup>do</sup> tratamiento térmico.

El dispositivo integrado basado en un microresonador en forma de estadio se caracterizó ópticamente a través del diagrama experimental mostrado en la figura 3.



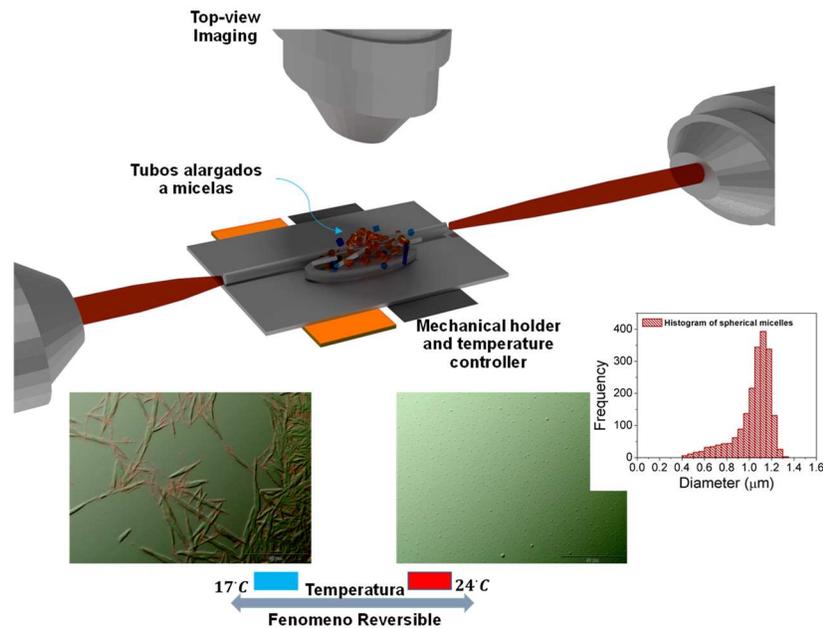
**Figura 3.** Diagrama experimental para la caracterización de los dispositivos fotónicos a base de microresonadores. El inset de la figura muestra uno de los espectros de resonancia típico de los microresonadores.

Los dispositivos microresonadores se colocan en una plataforma mecánica a la cual nombraremos región de inyección óptica como se muestra en la figura 3. El láser utilizado es un diodo láser de banda ancha con forma gaussiana centrado en una longitud de  $\lambda_0 = 790 \text{ nm}$  con un ancho de línea de 40 nm. Tanto los objetivos de microscopio de inyección, colección y el dispositivo son controlados por nano-posicionadores piezoeléctricos. Antes de inyectar luz al dispositivo, la luz pasa por un sistema de polarizadores en donde se polariza con TE. El chip integrado descansa sobre un sistema mecánico conductor en donde se encuentra inmerso un termopar para controlar la temperatura del experimento. La luz resultante, a la salida del dispositivo, se divide por un divisor de haz para registrar

con una cámara CCD el modo propagante y su espectro resonante. Finalmente, una vez que la luz pasa por el analizador, el espectro óptico se registra en el analizador de espectros óptico (OSA). El espectro de resonancia, inset en la figura 3, nos permite visualizar y registrar varias resonancias. Al cambiar la temperatura del termopar, el espectro cambia las posiciones relativas de las resonancias y las asocia al valor de la temperatura programado en el termopar. A partir del registro de los espectros de resonancia en tiempo real de las posiciones de las resonancias, el FSR y el ancho de línea de estas son registradas conforme la temperatura del sistema cambia y a partir de un código computacional desarrollado en nuestros laboratorios utilizando la plataforma de Matlab, es posible controlar el analizador de espectro de forma remota, registrar y analizar estadísticamente dichos espectros [8]. Los cálculos y señal de procesamiento se realizan en cada adquisición de espectro con lo cual, se extrae el FSR, ancho de la resonancia y factor de calidad Q como función de la temperatura.

## RESULTADOS

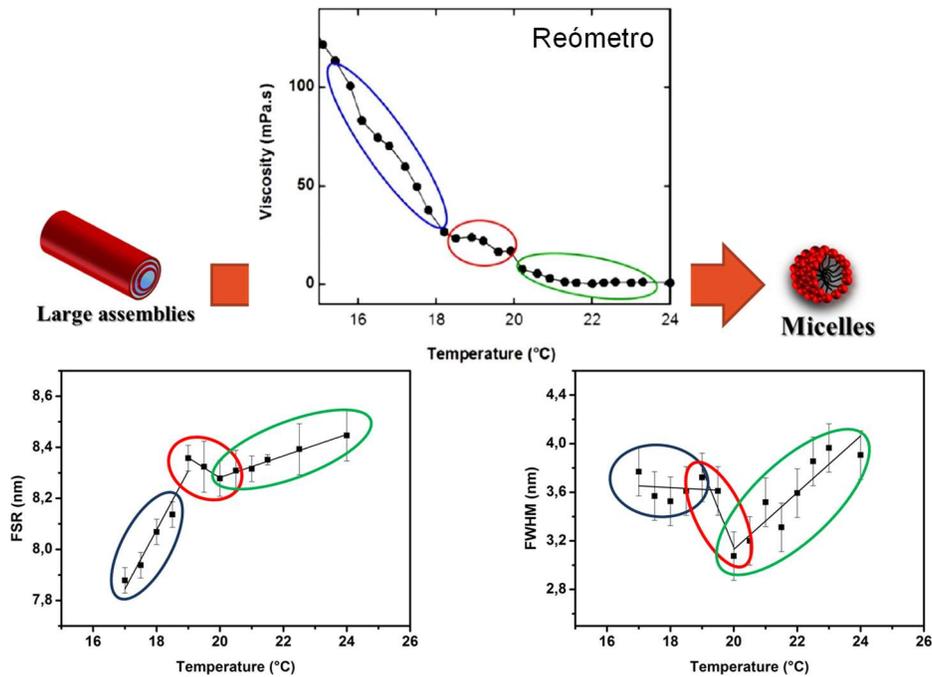
Al depositar una gota con la solución híbrida C5/12HSA sobre la superficie del microresonador, el OSA, controlado por un sistema remoto por computadora, registra el cambio en las propiedades más importantes del espectro resonante del mismo. Una vez que la temperatura del dispositivo cambia, la configuración y arreglo molecular de la solución va de micro-micelas a microtubos, figura 4. Las mediciones se realizan en el rango [17-25] ° C, con una variación de paso cada 0.5 ° C.



**Figura 4.** Representación realizada del experimento variando la temperatura. Presentación de las micelas, el histograma de sus diámetros y finalmente una fotografía de los tubos alargados a la temperatura de 17 C.

La Fig.4 muestra una representación realizada del experimento y de las múltiples configuraciones geométricas que ocurren cuando la solución va de micelas a tubos alargados y viceversa. El inset en la figura representa el histograma de los tamaños de las micro-micelas a 24 °C, en donde predominan a esta temperatura micelas con diámetros  $\sim 1 \mu m$ . Las imágenes de los microtubos y micro-micelas se obtuvieron manteniendo constante las temperaturas de 17 °C y 24 °C respectivamente. La figura 4 resalta también que el sistema de detección se basa en el método de detección homogénea en donde, toda la etapa de transición es detectada en tiempo real conforme la temperatura varía.

Los resultados de la evolución en los parámetros de FSR y FWHM se muestran finalmente en la figura 5.



**Figura 5.** (superior) Evolución de la viscosidad, a partir de estudios reológicos, de la solución híbrida C5/HSA conforme al temperatura aumenta. (inferior) Respuesta en los parámetros ópticos FSR y FWHM a partir de los cambios morfológicos presentes en la solución híbrida conforme la temperatura aumenta.

La gráfica superior de la figura 5 muestra un estudio reológico convencional sobre la dinámica de la viscosidad del sistema bajo estudio C5/HSA conforme este se somete a varias temperaturas. El estudio demuestra que la viscosidad disminuye en un factor  $\sim 100$  cuando la temperatura varía de 16 a 22 °C. Este comportamiento puede asociarse con una disminución de micro-tubos y un aumento micelas en el sistema. El rango de temperatura de 18 a 20 °C es conocido como el rango de temperaturas de transición donde el sistema experimenta probablemente una condición intermedia entre la cantidad de estructuras asociadas a micro-tubos y micelas. De esta forma,  $T > 20$  °C estará asociado con una solución micelar mientras que,  $T < 20$  °C estarán asociados a estructuras más grandes en la solución.

Las gráficas de la parte inferior de la figura 5 son los resultados más sobresalientes del estudio dinámico a partir del chip integrado a base de un microresonador transductor. Los rangos de temperatura que registran la transición coinciden con aquellos mostrados por el estudio reológico por lo que este tipo de resultados son comparativos y validan el experimento óptico. Ambos procesos de caracterización revelaron una transición a medida que  $T$  varía. Las tasas de variación de los parámetros ópticos FWHM y FSR (como se muestran en las gráficas inferiores de la figura 5) muestran además un cambio de signos a medida que aumenta la temperatura, mientras que la viscosidad solo evoluciona de manera monótona. Este comportamiento en las propiedades ópticas más importantes del resonador hace que los tres regímenes se identifiquen mejor a partir del chip óptico que a través de estudios reológicos convencionales [1,9].

## CONCLUSIONES

En este trabajo se presentan el estudio y seguimiento de transición de fase a través de un resonador óptico integrado, de una solución híbrida a base de ácidos grasos C5/12HSA. El estudio dinámico de transición de fase a partir de cambios en la temperatura del sistema requiere que la respuesta de este tipo de chips integrados sea independiente a los rangos de temperatura donde se llevará a cabo el estudio; como se muestra en este trabajo. El comportamiento termosensible C5 /12HSA se controló mediante el protocolo experimental general en el que se recopilaron y evaluaron estadísticamente un conjunto de espectros mostrando la evolución de las principales propiedades ópticas del resonador como FSR y FWHM. Las mediciones mostraron que la transición de temperatura ocurre en dos pasos, con un régimen intermedio entre 18,5 ° C y 20 ° C. Mostramos que estos resultados ópticos pueden estar directamente relacionados con los cambios morfológicos del tensioactivo que pasa de tubos alargados autoensamblados a micelas. Un estudio reológico de la evolución de la viscosidad complementario validó los datos obtenidos por el sistema óptico integrado. Además, los resultados a partir del dispositivo mostraron este presenta mayor precisión para revelar todos los detalles de la transición, mientras que la sonda reológica apenas detecta estos cambios.

## REFERENCIAS

1. C.V. Kulkarni, Lipid self-assemblies and nanostructured emulsions for cosmetic formulations, *Cosmetics* 3 (37) (2016) 1–15.
2. C. Salerno, D.A. Chiappetta, A. Arechavala, S. Gorzalczy, S.L. Scioscia, C. Bregni, "Lipid-based microtubes for topical delivery of Amphotericin B", *Colloids Surf. B* 107 (2013) 160– 66.
3. A.-L. Fameau, F. Cousin, L. Navailles, F. Nallet, F. Boué, J.-P. Douliez, "Multiscale structural characterizations of fatty acid multilayered tubes with a temperature-tunable diameter", *J. Phys. Chem. B* 115 (2011) 9033–9039.
4. A.-L. Fameau, F. Cousin, A. Saint-Jalmes, "Morphological transition in fatty acid self-assemblies: A process driven by the interplay between the chain melting and surface-elating process of the hydrogen bonds", *Langmuir* 33 (2017) 12943–12951.
5. R. Castro Beltran, N. Huby, V. Vié, H. Lhermite, L. Camberlein, E. Gaviot, B. Bêche, "A laterally coupled UV210 polymer racetrack micro-resonator for thermal tunability and glucose sensing capability", *Adv. Device Mater.* 1 (2015) 80–87.
6. H.K. Hunt, A.M. Armani, "Label-free biological and chemical sensors, *Nanoscale*" 2 (2010) 1544–1559.
7. C. Delezoide, M. Salsac, J. Lautru, H. Leh, C. Nogues, J. Zyss, M. Buckle, I. Ledoux-Rak, C.T. Nguyen, "Vertically coupled polymer microracetrack resonators for label-free biochemical sensors", *IEEE Photonics Technol. Lett.* 24 (2012) 270–272.
8. Q. Li, V. Vié, H. Lhermite, E. Gaviot, C. Bourlieu, A. Moréac, D. Morineau, D. Dupont, S. Beauvils, B. Bêche, "Polymer resonators sensors for detection of sphingolipid gel/fluid phase transition and melting temperature measurement," *Sensors Actuators A* 263 (2017) 707–717.
9. R. Castro-Beltrán a, L. Garnier b, A. Saint-Jalmes b, H. Lhermite c, H. Cormerais c,d, A.-L. Fameau, E. Gicquel b, B. Bêche, "Microphotonics for monitoring the supramolecular thermoresponsive behavior of fatty acid surfactant solutions", *Optics Communications* 468 (2020) 125773.