



A.-F. OBATON

# Développement d'un moyen d'interrogation de biocapteurs photoniques sur la base d'un interféromètre en lumière incohérente

## *Development of an optical low coherence interferometer based interrogation technique for photonic biosensors*

Anne-Françoise OBATON, Yacouba SANOGO et Jimmy DUBARD

Laboratoire commun de métrologie LNE-CNAM (LCM), LNE, 29 Avenue Roger Hennequin, 78197 Trappes Cedex, France, anne-francoise.obaton@lne.fr.

### Résumé

L'article décrit une nouvelle technique d'interrogation de biocapteurs photoniques pour des applications dans le domaine de la santé. La première partie présente un type de biocapteurs photoniques : un micro-résonateur cyclique planaire en polymère, en forme d'hippodrome, couplé verticalement à un guide rectiligne servant d'entrée et de sortie pour la lumière. Afin, d'être adapté à des applications biologiques, le capteur est inséré dans une cellule optofluidique et sa surface est fonctionnalisée. La deuxième partie de l'article décrit l'interféromètre en lumière incohérente sensible à la phase du LNE, proposé comme nouvelle technique d'interrogation de ce type de biocapteurs. Développé initialement pour caractériser métrologiquement des composants fibrés utilisés dans le domaine des télécommunications, cet interféromètre de Michelson doté d'une source large bande a été adapté à ce type d'applications. Les résultats préliminaires dans un environnement biologiques mettent en évidence la pertinence de la technique et des microrésonateurs pour des applications dans le domaine de la santé.

**MOTS CLÉS** : MÉTROLOGIE OPTIQUE, INTERFEROMÈTRE, BIOCAPTEUR PHOTONIQUE.

### Abstract

*This article describes a new technique to interrogate photonic biosensors for applications in the field of health. The first part presents a type of photonic biosensors: a planar, cyclic microresonator in polymer, shaped racetrack, coupled vertically to a straight waveguide used as input and output for the light. In order, to be adapted for biological applications, the sensor is inserted into an optofluidic cell and its surface is functionalized. The second part of the article describes the phase sensitive optical low coherence interferometer of LNE, proposed as a new interrogation technique of this type of biosensors. Originally developed*

*to characterize, from a metrological point of view, fibre's components used in the field of telecommunications, this Michelson interferometer with a broadband source has been adapted to such applications. Preliminary results in a biological domain highlight the relevance of this technique and of these microresonators for applications in the field of health.*

**KEY WORDS**: OPTICAL METROLOGY, INTERFEROMETER, BIOPHOTONIC SENSOR.

### 1. Introduction

Ces dernières années le Laboratoire national de métrologie et d'essais (LNE) a développé un réflectomètre en lumière incohérente (ou *Optical Low Coherence Reflectometer* (OLCR) en anglais) pour caractériser, d'un point de vue métrologique, des composants macroscopiques utilisés dans le domaine des télécommunications optiques [1].

Pour suivre les recommandations du rapport « Métrologie du futur », publié en 2004 par l'Académie des Technologies, et répondre à des besoins d'amélioration et de diversification des moyens de mesures ou de détection dans le domaine de la santé, il a été décidé d'élargir les possibilités d'investigation de l'OLCR à l'interrogation de biocapteurs photoniques microscopiques. Ainsi, en collaboration avec l'École Normale Supérieure (ENS)

de Cachan<sup>1</sup>, est développé un dispositif combinant leur capteur à la technique d'interrogation du LNE pour la biodétection spécifique de protéines. Il s'agit de détecter avec une grande sensibilité des biomolécules cibles en solution aqueuse et d'accéder en temps réel à la cinétique de certaines réactions biochimiques (changement de conformation<sup>2</sup>, par exemple) dans différentes conditions environnementales.

Passant du domaine des télécommunications optiques à celui de la santé et des composants macroscopiques aux composants microscopiques, ce sujet de recherche demeure cependant dans le domaine de l'optique guidée. En effet, il s'agit d'un biocapteur photonique à base de microrésonateur couplé à un guide d'onde rectiligne permettant son interrogation. Ce type de composants est largement répandu dans le domaine des télécommunications optiques [2, 3] et commence à se généraliser dans le domaine de la biodétection [4–7]. Cependant, leur interrogation par la technique OLCR pour des applications en biologie n'a encore jamais été proposée à ce jour. Il existe plusieurs techniques photoniques de caractérisation de molécules chimiques et biologiques. Les principales sont la spectroscopie par fluorescence [8], l'accroissement de diffusion Raman par effet de surface (*Surface-Enhanced Raman Scattering* (SERS) en anglais) [9], la résonance de plasmon de surface (ou *Surface Plasmon Resonance* (SPR) en anglais) [10] ou encore, plus récente, une méthode interférométrique (*Dual Polarization Interferometry* (DPI) en anglais) [11]. Toutes ces techniques ont des temps de réponse ( $t_r$ ) trop longs pour observer les changements de conformation des molécules et souffrent d'un manque de sensibilité et de résolution pour détecter des molécules en faible quantité. Les meilleures performances de détection atteintes sont de l'ordre de  $1 \text{ pg/mm}^2$ . L'objectif de ce sujet de recherche est donc d'adapter les microrésonateurs ainsi que la technique OLCR afin d'observer des changements de conformation des protéines ( $t_r < 100 \text{ ms}$ ,  $v > 0,15 \text{ m/s}$ ) et détecter des concentrations ( $< 1 \text{ pg/mm}^2$ ) que les méthodes existantes ne permettent pas. Les atouts principaux de l'OLCR sont de fournir des informations dans le domaine spatial mais également dans le domaine spectral et plus particulièrement sur la phase du signal optique.

Le développement de ce nouveau dispositif permettra au LNE d'acquérir une nouvelle expertise dans le domaine des capteurs photoniques pour détecter des espèces biologiques. Par ailleurs, le LNE bénéficiera d'une nouvelle méthode de référence pour ces capteurs : ce qui lui offrira de nouveaux potentiels de raccordements en biologie.

Cette étude débute. Il sera donc présenté dans cet article le principe et le type de microrésonateur approprié

<sup>1</sup> Collaboration avec le groupe « Composants et technologies pour la photonique » du Laboratoire de Photonique Quantique et Moléculaire (LPQM) et le groupe « Enzymologie et cinétique structurale » du Laboratoire de Biotechnologie et Pharmacologie Appliquées (LPBA) de l'ENS de Cachan.

<sup>2</sup> Changement de conformation : changement d'état, remaniement de la structure.

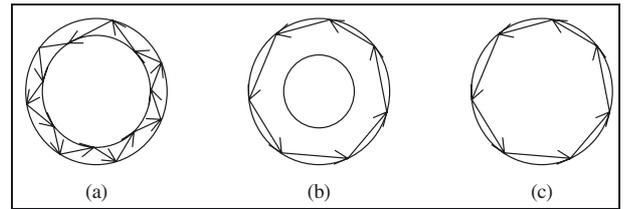


Fig. 1. – Schéma du confinement de la lumière par réflexion interne totale dans trois types de microrésonateurs circulaires (a) micro-anneau en régime modes guidés, (b) micro-anneau en régime modes de galerie, (c) micro-disque en régime modes de galerie.

à des applications biocapteurs photoniques. La technique OLCR ainsi que les adaptations nécessaires à l'interrogation de ces nouveaux composants seront décrites. Enfin, les premiers résultats obtenus seront montrés.

## 2. Biocapteur photonique à base de microrésonateur

### 2.1. Principe d'un microrésonateur

Un microrésonateur est une cavité dans laquelle la lumière injectée est confinée, ce qui permet de stocker son énergie et ainsi d'accumuler suffisamment de signal pour la détecter. Plus sa taille est petite, plus il est performant. Or un capteur biophotonique nécessite, d'une part une grande longueur d'interaction entre la lumière injectée et la solution à analyser, et d'autre part d'être de petite taille pour détecter de faibles quantités. En conséquence, le microrésonateur est un composant parfaitement adapté comme capteur pour les applications en biophotoniques.

Il existe deux familles de microrésonateurs. La première famille correspond aux cavités de type Fabry-Pérot, c'est-à-dire constituées de deux surfaces réfléchissantes parallèles. Les ondes contra-propagatives génèrent une onde stationnaire permettant le stockage de l'énergie. La deuxième famille, quant à elle, correspond aux cavités dites cycliques (bague, « hippodrome », sphère...) à l'intérieur desquelles une seule onde progressive, rebouclant sur elle-même, permet le stockage de l'énergie. Dans ces microrésonateurs cycliques, la lumière est confinée par réflexion interne totale et deux types de modes sont susceptibles de se propager : les modes guidés (fig. 1a) et les modes de galerie (fig. 1b et c) (en anglais *Whispering Gallery Modes* (WGM)).

Les performances d'un microrésonateur sont symbolisées par son facteur de qualité  $Q$ . Plus  $Q$  est grand, plus la limite de détection du capteur est basse et sa sensibilité est grande.

### 2.2. Choix du type de microrésonateur et mise en configuration pour des applications en biophotonique

Un microrésonateur utilisé pour des applications biocapteurs doit avoir un facteur de qualité élevé. Cependant,

cette condition ne suffit pas ; il doit également être facilement interrogeable. Cela implique qu'il faut, d'une part, pouvoir facilement injecter la lumière dans la cavité et la récupérer et, d'autre part, pouvoir faire circuler sur sa surface la solution à analyser. Pour simplifier l'interprétation de sa signature optique, il faut également qu'il fonctionne en régime monomode. Enfin, il faut qu'il soit relativement simple à fabriquer et que cette fabrication ne soit pas trop onéreuse. Ces deux derniers points font référence au processus et à la méthode de fabrication.

### 2.2.1. *Transfert et détection de la réponse du microrésonateur : couplage vertical avec un guide d'onde rectiligne*

Afin de pouvoir l'interroger, le microrésonateur est couplé à un guide d'onde rectiligne servant d'entrée/sortie pour la lumière. Le guide d'onde rectiligne et le microrésonateur sont séparés par un espace dont la largeur conditionne l'efficacité de couplage.

Il existe deux possibilités de couplage entre le guide rectiligne et la cavité résonante : le couplage latéral et le couplage vertical.

Dans le couplage latéral, la cavité résonante et le guide d'onde rectiligne sont dans le même plan : ce qui simplifie le processus de fabrication. En revanche, l'espace entre le guide rectiligne et la cavité doit être sévèrement contrôlé pour être inférieur à un micromètre. Cela représente un défi technologique de fabrication non réalisable avec la méthode de photolithographie classique dont dispose l'ENS.

Dans le couplage vertical, les étapes de fabrication sont plus complexes mais en contrepartie l'espace entre le guide d'onde rectiligne et le microrésonateur est plus facilement contrôlable. Le coefficient de couplage entre le guide rectiligne et la cavité est donc moins dépendant des imperfections de fabrication. Par ailleurs, un autre avantage du couplage vertical est de simplifier son intégration dans une cellule optofluidique<sup>3</sup>. Enfin, dans ce cas de figure, la solution à analyser est uniquement en contact avec la cavité résonante et ne l'est pas avec le guide rectiligne ce qui simplifie l'interprétation de sa signature optique. Pour toutes ces raisons, notre choix s'est arrêté sur un couplage vertical.

### 2.2.2. *Forme du microrésonateur : hippodrome*

Il existe toutes sortes de forme pour les microrésonateurs : sphères, disques, hippodromes, anneaux... Ceux en formes de sphères ont le meilleur facteur de qualité. Cependant, leur fabrication est difficilement reproductible et leur fonctionnement en régime monomode n'est pas facilement réalisable. Le meilleur compromis est obtenu pour les microrésonateurs en formes d'hippodromes. Contrairement aux sphères, on peut les fabriquer avec une bonne

<sup>3</sup> Cellule optofluidique : cellule de l'ordre du micromètre permettant à la fois l'insertion de fluide sur la surface du microrésonateur et son interrogation optique.

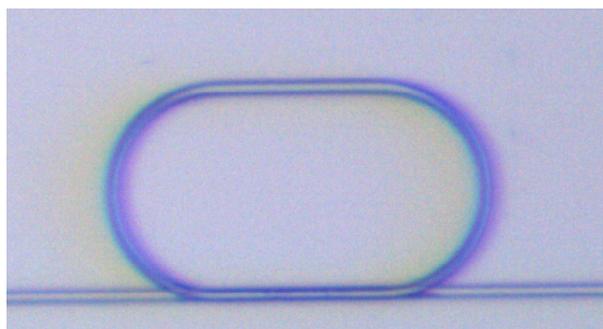


Fig. 2. – Photographie d'un microrésonateur en forme « d'hippodrome » avec un couplage vertical (le guide d'onde rectiligne se trouve sous la cavité).

reproductibilité et avec des méthodes classiques de photolithographie peu onéreuses. Par ailleurs, ils présentent trois surfaces sensibles ; il est aisé de les faire fonctionner en régime monomode et enfin la longueur de couplage entre le guide rectiligne et la cavité résonante est importante. En conséquence des microrésonateurs en forme « d'hippodrome » ont été sélectionnés (fig. 2).

### 2.2.3. *Sélectivité du microrésonateur : fonctionnalisation*

Pour caractériser une protéine spécifique, il faut rendre le capteur sélectif. Pour cela, il faut que seule la protéine ciblée soit immobilisée sur la surface du biocapteur. Cette fixation de la protéine peut être réalisée par une fonctionnalisation de la surface du microrésonateur.

L'ENS a développé une technique efficace permettant à la fois de fixer et d'orienter des molécules biologiques sur la surface du microrésonateur mais également d'empêcher toutes interactions non-spécifiques à la surface améliorant ainsi le rapport signal sur bruit.

### 2.2.4. *Configuration biocapteur : cellule optofluidique et support thermostaté*

Afin de fonctionnaliser la surface, mais également d'introduire et de contrôler la solution à analyser, et éventuellement de rincer le microrésonateur, il est nécessaire de l'intégrer dans une cellule optofluidique.

Le microrésonateur et la cellule optofluidique seront montés sur un support thermostaté permettant de contrôler la température afin de stabiliser la solution à analyser et ainsi la mesure. Ce contrôle permettra également de changer la température des protéines dans le but d'observer leur changement de conformation en fonction de la température.

### 2.2.5. *Matériaux du microrésonateur : polymères*

Le choix des matériaux polymères pour la fabrication du microrésonateur est basé sur un certain nombre de considérations. D'une part, les polymères offrent l'avantage de la production de masse à faible coût grâce à des

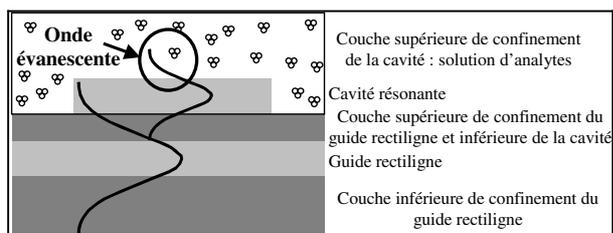


Fig. 3. – Représentation schématique de l'onde évanescente s'étendant à l'extérieur des guides.

procédés technologiques simples comme la photolithographie classique. D'autre part, leur faible indice de réfraction se traduit par de faibles pertes par diffusion sur la surface des guides d'ondes et par une haute qualité de couplage entre les microrésonateurs et les fibres optiques d'injection de la lumière. Par ailleurs, les surfaces polymères peuvent être facilement fonctionnalisées. Enfin, les matériaux polymères sont parfaitement compatibles avec la microfluidique.

Des microrésonateurs polymères, en forme « d'hippodrome », couplés verticalement à un guide d'onde rectiligne dans une cellule optofluidique thermostatée font donc l'objet de cette étude. Ils sont fabriqués suivant des procédés d'optiques intégrées par photolithographie classique.

### 2.3. Principe d'interrogation d'un microrésonateur cyclique couplé à un guide d'onde rectiligne

Les méthodes d'interrogation optiques d'un capteur biologique à base de microrésonateur cyclique couplé à un guide d'onde rectiligne sont basées sur l'injection d'une onde lumineuse dans le guide rectiligne. Cette onde ne va pas être totalement confinée dans le guide, une partie va s'étendre à l'extérieur et ainsi permettre de réaliser le couplage avec la cavité résonante. Il s'agit de l'onde évanescente (fig. 3). Une onde va alors se propager dans la cavité résonante, sa partie évanescente va s'étendre dans la couche supérieure de confinement de la cavité, constituée par la solution d'analytes dans le cas d'un capteur biologique.

Il existe trois méthodes d'interrogation des microrésonateurs utilisant cette onde évanescente [4] :

- la fluorescence : interaction entre l'onde évanescente et les analytes marquées par des fluorophores impliquant de la fluorescence [5] (méthode avec marqueurs) ;
- l'absorption : absorption de l'onde évanescente (généralement UV) par les analytes impliquant une variation de l'intensité transmise [12] (méthode sans marqueur) ;
- la variation de l'indice effectif : interrogation des analytes par l'onde évanescente impliquant une variation de l'indice effectif du mode guidé ( $n_{\text{eff}}$ ) (méthode sans marqueur).

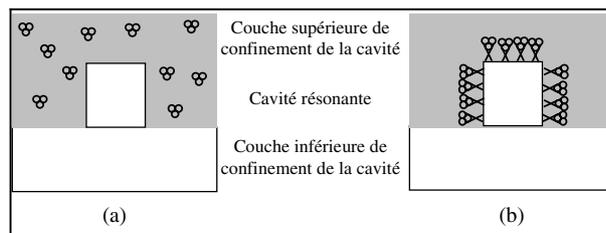


Fig. 4. – Représentation schématique de deux mécanismes de détection des microrésonateurs : (a) détection homogène, (b) détection de surface.

Seule la dernière de ces trois méthodes concerne la technique OLCR et sera décrite par la suite.

Dans la méthode de variation de l'indice effectif, la présence d'analytes sur (détection de surface) ou à proximité de la surface (détection homogène) du microrésonateur, *i.e.* dans la couche supérieure de confinement, va perturber l'onde évanescente, *i.e.* modifier l'indice effectif du mode associé.

Pour les capteurs optiques à base de guides d'ondes, il existe deux mécanismes de détection des analytes couramment utilisés : la détection homogène (fig. 4a) et la détection de surface (fig. 4b).

Dans la détection homogène, le microrésonateur est immergé dans la solution d'analytes. Ainsi, les analytes répartis de façon homogène dans la solution vont modifier l'indice de la solution. Cette modification va être perçue par l'onde évanescente et l'indice effectif du mode va varier. Dans ce cas de figure, toutes les molécules présentes dans la solution sont susceptibles d'être détectées. La méthode n'est pas sélective.

Dans la détection de surface, le microrésonateur est prétraité avec des récepteurs chimiques ou des sites de liaison sur sa surface. Cela permet de fixer sélectivement des analytes spécifiques sur la surface de la cavité résonante. L'onde évanescente va percevoir cette modification de l'état de surface et l'indice effectif du mode associé à l'onde va être modifié. Cependant, dans ce cas de figure, l'onde évanescente ne va détecter que les analytes d'intérêts. En effet, seules les analytes fixés sur la surface vont contribuer à la variation de l'indice effectif du mode. Cette méthode est donc plus sélective mais également plus sensible que la précédente.

Ainsi, la présence d'analytes dans la couche supérieure de confinement du microrésonateur induit une modification de l'environnement de la cavité. Cette modification perçue par l'onde évanescente implique une variation de l'indice effectif du mode se propageant dans le microrésonateur. Cela a pour conséquence de modifier la longueur d'onde de résonance, la phase du signal optique... se propageant dans le microrésonateur (fig. 5).

La méthode la plus généralisée (balayage spectral de la transmission d'intensité optique) utilisant ces mécanismes de détection homogène et de surface repose sur la mesure du décalage de la longueur d'onde de résonance

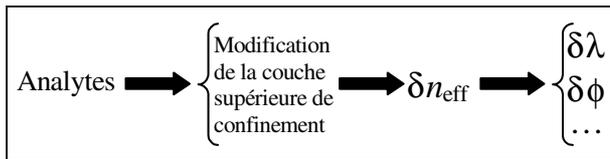


Fig. 5. – Schématisation du principe de détection de la méthode de variation de l'indice effectif.  $\delta n_{\text{eff}}$ ,  $\delta\lambda$  et  $\delta\phi$  représentent, respectivement, une petite variation de l'indice effectif du mode guidé, de la longueur d'onde de résonance et de la phase du signal optique se propageant dans le microrésonateur induite par la présence d'analytes dans la couche supérieure de confinement.

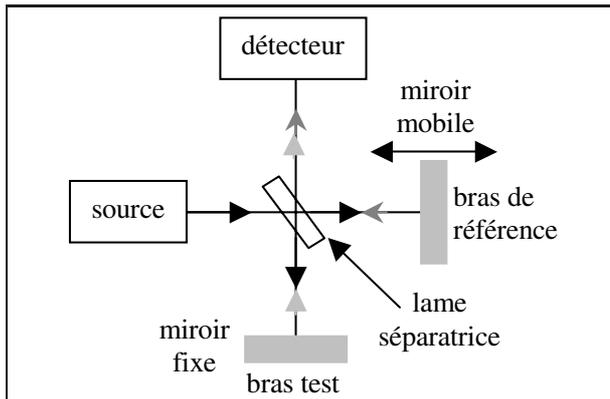


Fig. 6. – Représentation schématique d'un interféromètre ou réflectomètre de Michelson.

( $\delta\lambda$ ) dans le spectre de l'onde transmise dans le microrésonateur. A partir de ce décalage, la variation de l'indice effectif du mode se propageant dans le microrésonateur est déterminée. Ainsi, on peut en déduire les concentrations d'analytes dans la solution.

La méthode l'OLCR propose une alternative de mesure du décalage de phase  $\delta\phi$  du signal optique provoquée par la présence d'analytes.

### 3. Technique d'interrogation sur le principe d'un interféromètre de Michelson en lumière incohérente

#### 3.1. Principe d'un interféromètre ou réflectomètre de Michelson

Un interféromètre ou réflectomètre de Michelson se compose d'une source lumineuse, d'une lame séparatrice, de deux miroirs, l'un fixe et l'autre mobile, et d'un détecteur (fig. 6).

L'onde lumineuse issue de la source est divisée en deux par la lame séparatrice. L'onde transmise se réfléchit sur le miroir mobile, son trajet constitue « le bras de référence ». L'onde réfléchie par la séparatrice vient se réfléchir sur le miroir fixe, son trajet constitue « le bras test ». Ces deux ondes issues du bras de référence et du bras test viennent interférer sur le détecteur. On enregistre un interférogramme, résultant de cette recombinaison, en faisant varier la longueur du bras de référence modifiant

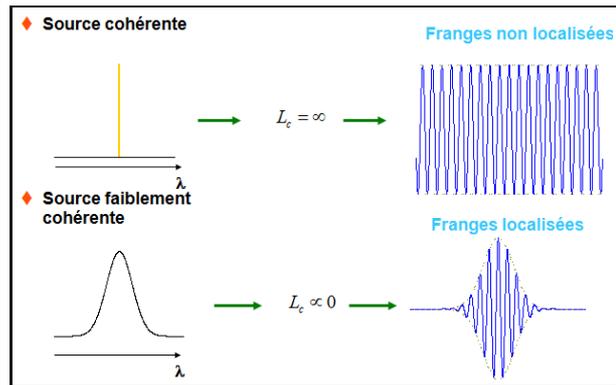


Fig. 7. – Représentation schématique de la relation entre la largeur du spectre de la source, sa longueur de cohérence et la résolution spatiale des interférogrammes.

ainsi la différence de chemin optique entre les deux bras c'est-à-dire la différence de marche entre les deux faisceaux. En fait, il n'y a interférence que lorsque cette différence de marche est inférieure à la longueur de cohérence  $L_c$  de la source. Or, la valeur de  $L_c$  est inversement proportionnelle à la largeur à mi-hauteur du spectre de la source. En conséquence, une source à spectre large (source faiblement cohérente), caractérisée par une faible longueur de cohérence, permet d'obtenir un interférogramme très localisé, *i.e.* une résolution spatiale fine. Au contraire, pour une source monochromatique (source cohérente), caractérisée par une grande longueur de cohérence, l'interférogramme consiste en une succession quasi-infinie de franges d'interférences (fig. 7).

#### 3.2. Principe d'un OLCR ou OLCI

Le dispositif de mesure développé au LNE est basé sur le principe de l'interféromètre de Michelson.

Il est composé de deux interféromètres de Michelson ayant en commun le miroir mobile :

- un interféromètre de Michelson en lumière incohérente doté d'une source large bande permettant de caractériser le composant sous test ;
- un interféromètre de Michelson en lumière cohérente doté d'un laser permettant l'échantillonnage spatial de la mesure.

Seule la partie incohérente du dispositif sera détaillée par la suite.

Comme le montrent les figures 8 et 9, l'interféromètre en lumière incohérente du LNE est constitué :

- d'une source infrarouge à spectre large (1 520 nm–1 610 nm) ;
- d'un coupleur remplaçant la lame séparatrice ;
- du composant sous test remplaçant le miroir fixe dans le bras test ;

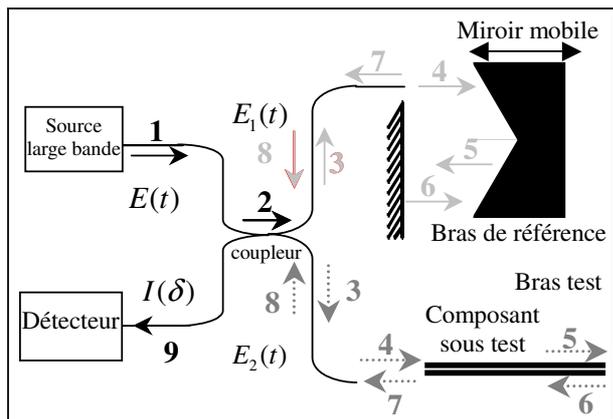


Fig. 8. – Schéma de principe du réflectomètre de Michelson en lumière incohérente du LNE en configuration réflexion (OLCR).

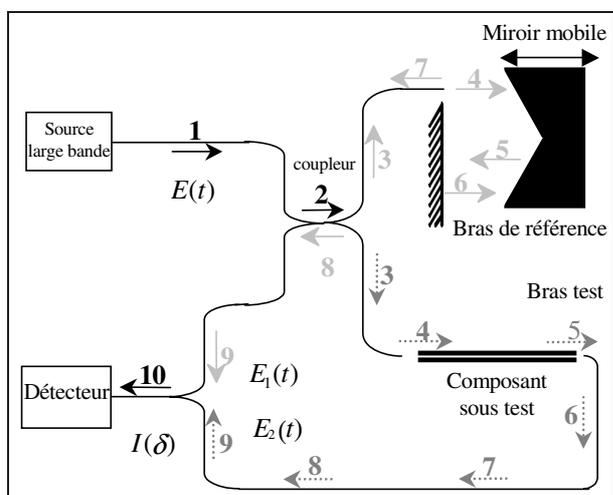


Fig. 9. – Schéma de principe de l'interféromètre de Michelson en lumière incohérente du LNE en configuration transmission (OLCI).

- d'un miroir mobile dans le bras de référence fixé sur un chariot sur coussin d'air ;
- d'un détecteur.

Ce dispositif interférométrique peut fonctionner suivant deux types de configuration : en configuration réflexion (OLCR pour *Optical Low Coherence Reflectometry* en anglais) (fig. 8) et en configuration transmission (OLCI pour *Optical Low Coherence Interferometry* en anglais [2]) (fig. 9).

Dans la configuration réflexion, une fois le champ électrique  $E(t)$  injecté dans le réflectomètre, une partie  $E_2(t)$  traverse le bras test où elle est réfléchi aux deux extrémités du composant sous test. L'autre partie  $E_1(t)$  se réfléchit à l'extrémité du bras de référence de longueur variable. Ces deux champs réfléchis viennent interférer sur le détecteur pour donner l'interférogramme  $I(\delta)$ .

Dans la configuration transmission, le trajet du bras de référence reste identique à celui de la configuration réflexion. En revanche, dans le bras test, ce n'est plus le

champ réfléchi aux deux extrémités du composant qui est considéré mais celui transmis dans le composant. Ainsi, c'est l'interférence, sur le détecteur, entre le champ réfléchi par le miroir mobile et celui transmis dans le composant qui donne l'interférogramme  $I(\delta)$ .

L'interférogramme mesuré représente la réflectivité spatiale relative des dioptries présents dans le composant testé ou la transmission spatiale relative du composant, en fonction du déplacement du miroir mobile. Cette mesure fournit des informations directes en distance sur le composant dans le domaine spatial. La particularité de l'OLCR du LNE étant de réaliser un échantillonnage spatial régulier, on n'a pas seulement accès à l'enveloppe de cet interférogramme mais également aux franges qui le composent. Cela permet d'accéder à des informations dans le domaine spectral par transformée de Fourier, *i.e.* au module et à la phase de la réflectivité ou de la transmission spectrale complexe.

Les détails concernant le dispositif OLCR ont été publiés ultérieurement [1]. En conséquence, uniquement les modifications apportées pour optimiser l'OLCR à l'interrogation de biocapteurs photoniques à base de microrésonateur seront évoquées dans ce qui suit.

### 3.3. Intérêt d'un OLCI par rapport à d'autres techniques d'interrogation

L'avantage de l'OLCI sur les autres techniques d'interrogation est de fournir, en plus du spectre en transmission, la phase du signal optique.

Outre cet avantage, un autre intérêt du dispositif est lié à la possibilité d'extraire les paramètres technologiques du microrésonateur (coefficient de couplage entre le guide rectiligne et la cavité, pertes...) à partir de la réponse spatiale en transmission [3].

### 3.4. Adaptation de l'OLCR à l'interrogation de biocapteurs photoniques à base de microrésonateur

#### 3.4.1. Injection de la lumière dans le microrésonateur

Pour injecter la lumière dans le guide rectiligne couplé à la cavité résonante, nous avons testé des fibres lentillées et des objectifs de microscope (X20, X40). La puissance transmise dans le composant est beaucoup plus faible avec les objectifs (de plus d'un facteur 10) diminuant le rapport signal sur bruit. D'autre part, un objectif étant constitué de différents dioptries, chacun d'entre eux contribuant au signal et vient perturber les mesures. En conclusion, des fibres lentillées montées sur des nanopositionneurs sous une loupe binoculaire de grossissement maximale (X450) ont été adoptées pour optimiser l'injection de la lumière dans le microrésonateur (fig. 10).

Pour optimiser la lumière injectée dans le composant, des coupleurs déséquilibrés 30/70 seront également utilisés.

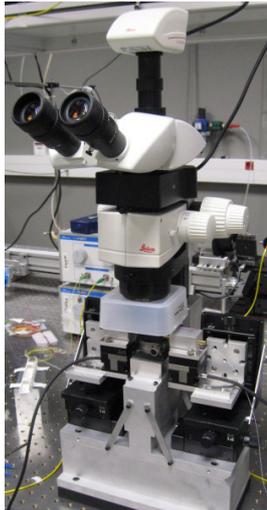


Fig. 10. – Photographie du système d'injection de la lumière dans le microrésonateur.

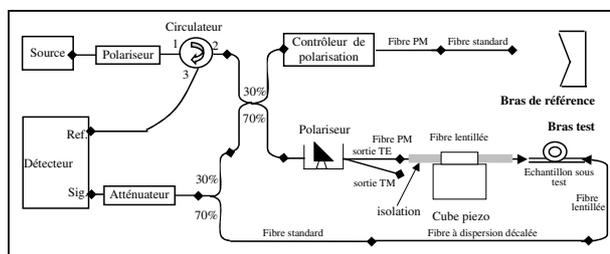


Fig. 11. – Schéma du dispositif OLCI pour contrôler la polarisation de la lumière injectée dans le microrésonateur.

### 3.4.2. Passage de l'OLCR en configuration réflexion à l'OLCI en configuration transmission

Les premières mesures ont été réalisées en configuration réflexion (OLCR). Cependant, le rapport signal sur bruit est très faible et cela s'avère difficile d'en extraire une information pertinente. Il a donc été décidé de réaliser les expériences en mode transmission (fig. 11) puisque le signal transmis était naturellement supérieur à celui réfléchi.

### 3.4.3. Contrôle de la polarisation de la lumière injectée

Les réponses spectrales des microrésonateurs sont dépendantes de la polarisation de l'onde optique injectée dans le guide rectiligne. En conséquence, il est nécessaire d'interroger le microrésonateur avec une onde lumineuse polarisée soit TE (transverse électrique) soit TM (transverse magnétique). L'interrogation avec de la lumière non polarisée implique une superposition des deux modes dans le signal transmis et l'incapacité d'extraire les caractéristiques du microrésonateur.

Pour contrôler la polarisation, différents montages ont donc été étudiés et finalement celui présenté sur la figure 11 paraît répondre aux exigences requises. Il est en phase de fabrication.

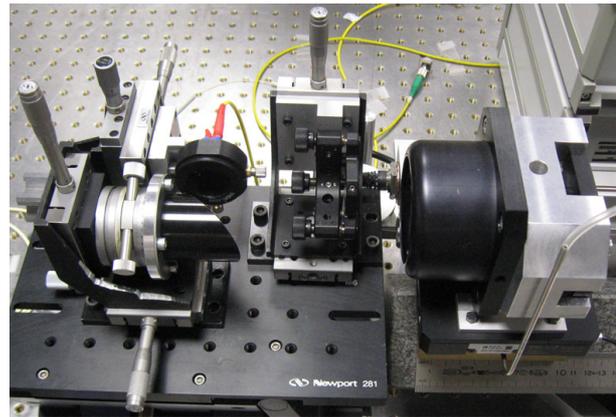


Fig. 12. – Bras de référence de l'OLCI : extrémité de la partie fibrée et partie en espace libre constituée de composants optiques.

### 3.4.4. Compensation de la dispersion chromatique différentielle

Il n'y a interférence que lorsque la différence de chemin optique entre les deux bras est quasiment nulle. Cela revient à égaliser les longueurs optiques dans les deux bras. Cependant, si le faisceau du bras test et celui du bras mobile traverse des milieux d'indice différent, *i.e.* de dispersion chromatique (élargissement temporel de l'impulsion lumineuse) différente, le signal subit un élargissement temporel et la résolution spatiale s'en ressent.

Pour affiner la résolution spatiale des interférogrammes, il faut minimiser la dispersion chromatique différentielle entre les deux bras de l'OLCI. Pour cela, la dispersion dans le bras de référence doit être égale à celle dans le bras test. Or le bras de référence comprend une partie fibrée et une partie en espace libre contrairement au bras test entièrement fibré (fig. 11). La partie en espace libre du bras de référence, en extrémité de la partie fibrée, est constituée de composants optiques, dont le miroir mobile, permettant de réfléchir le faisceau du bras de référence afin de modifier la différence de chemin optique entre les deux bras (fig. 12).

Le déplacement du miroir mobile dans l'air est de longueur variable. La dispersion chromatique différentielle entre les deux bras ne peut donc être compensée. En revanche, entre l'extrémité de la partie fibrée et la position d'initialisation du miroir, la longueur parcourue dans l'air par le faisceau (environ 30 cm) est fixe. S'il est aisé de compenser la dispersion chromatique introduite par la fibre standard par une longueur de fibre analogue dans le bras test, en revanche, il n'est pas aisé de compenser celle introduite par le déplacement dans l'air par un déplacement analogue dans le bras test. La dispersion dans l'air ( $L_{\text{air}}$ ) est nulle or les fibres à dispersion décalées, de type G653, possèdent également une dispersion nulle à 1550 nm. En conséquence, une fibre à dispersion décalée de type G653, de longueur  $L_{G653} = L_{\text{air}}/n_{G653}$  où  $n_{G653}$  est l'indice de groupe de la fibre à la longueur d'onde de travail, a été insérée dans le bras test pour compenser la dispersion chromatique induite par le trajet dans l'air

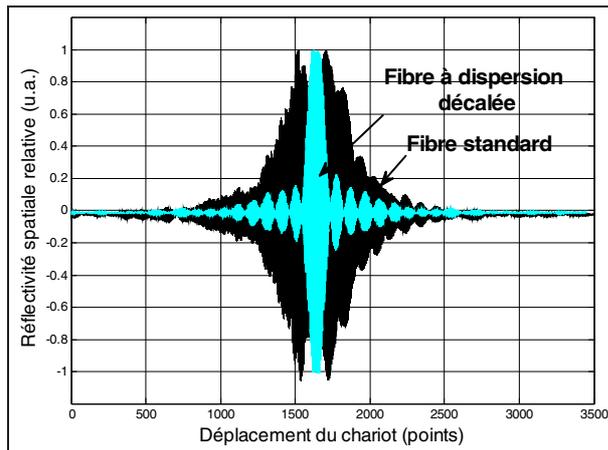


Fig. 13. – Interférogrammes obtenus avec une fibre classique (en noir) et avec une fibre à dispersion décalée de type G653 (en gris) pour égaliser la longueur des deux bras, en position d’initialisation du miroir mobile.

parcouru par le faisceau dans le bras de référence. Les résultats sont probants. Des mesures ont été réalisées avec de la fibre standard et avec de la fibre G653 (fig. 13). La résolution spatiale est beaucoup plus fine avec une fibre à dispersion décalée ( $12\ \mu\text{m}$  pour  $53\ \mu\text{m}$  avec une fibre classique).

#### 3.4.5. Adaptation de la cadence d’acquisition pour l’observation de phénomènes biologiques

La précédente configuration du banc OLCR, relative au domaine des télécommunications optiques, devait permettre de caractériser des échantillons de grandes tailles (jusqu’à 120 cm) nécessitant une amplitude de déplacement du miroir mobile sur coussin d’air de l’ordre d’un mètre. La vitesse de déplacement devait être lente pour éviter les vibrations du miroir mobile. En conséquence, le chariot sur coussin d’air était entraîné par un petit moteur à courant continu synchronisé sur les franges du signal de l’interféromètre en lumière cohérente. Les vitesses étaient comprises entre  $0,2\ \text{mm/s}$  et  $2,2\ \text{mm/s}$  ( $25\ \text{kHz} < \nu < 28\ \text{kHz}$ ).

L’objectif de cette nouvelle étude est de réaliser des mesures en dynamique sur des échantillons de petites tailles (2 cm à 2,5 cm) et d’obtenir de meilleurs résultats qu’avec les techniques existantes. La méthode SPR, actuellement la plus performante sur le marché, permet de réaliser une acquisition par seconde, l’OLCI devra donc pouvoir réaliser deux acquisitions par seconde. Pour atteindre cet objectif, le LNE s’est équipé d’une table de translation avec un moteur piezo d’amplitude de déplacement 5 cm, de vitesse maximale 350 mm/s et de force d’entraînement 7 N. Cette table a été installée entre le coussin d’air et le miroir mobile (fig. 14) afin de conserver les deux amplitudes de déplacement du miroir mobile. Pour l’interrogation de biocapteurs, le coussin d’air est coupé et le chariot fixé sur son axe de déplacement. Cette table doit être également synchronisée sur les franges du signal de l’interféromètre en lumière cohérente.

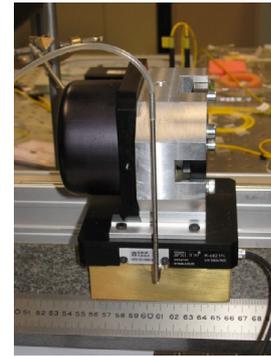


Fig. 14. – Photographie du miroir mobile sur coussin d’air et de la platine de translation pour augmenter la cadence des acquisitions.

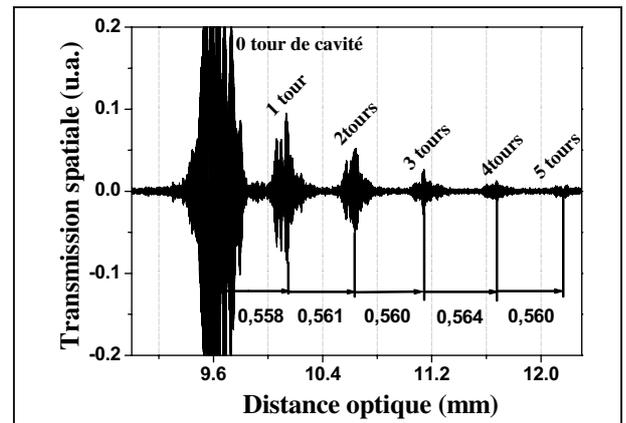


Fig. 15. – Transmission spatiale relative d’un microrésonateur.

Compte-tenu de ces diverses hypothèses, les acquisitions doivent être réalisées à des vitesses comprises entre  $0,1\ \text{m/s}$  et  $0,17\ \text{m/s}$  ( $1,4\ \text{MHz} < \nu < 2,2\ \text{MHz}$ ). Cette augmentation de la cadence d’acquisition nécessite également le développement de nouveaux détecteurs de bande passante beaucoup plus large que le précédent ( $125\ \text{kHz}$  à 3 dB).

## 4. Premiers résultats

La figure 15 présente la transmission d’un microrésonateur dans le domaine spatial. Le premier interférogramme correspond à la transmission directe dans le guide d’onde rectiligne, le suivant à la transmission après un tour dans la cavité, le suivant après deux tours... Dans ce cas particulier, on observe cinq tours. La distance entre chaque interférogramme correspond au périmètre de la cavité et la différence d’amplitude entre les différents interférogrammes permet de déterminer le coefficient de couplage et les pertes dans la cavité.

### 4.1. Répétabilité et reproductibilité de la mesure OLCI

Dans un premier temps, la répétabilité et la reproductibilité de la mesure OLCI d’un microrésonateur ont été évaluées sur la transmission spectrale relative du signal optique.

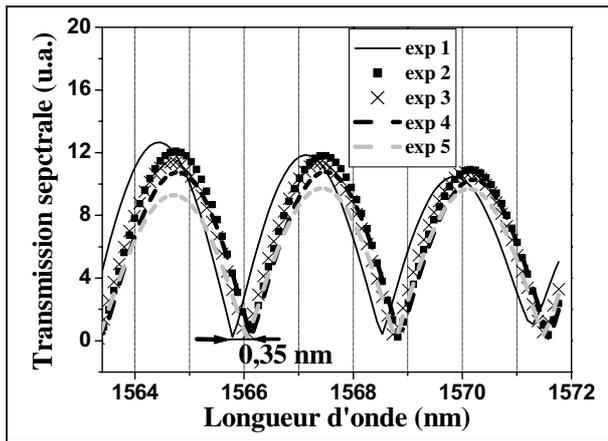


Fig. 16. – Répétabilité de la mesure OLCI sur la transmission spectrale relative d'un microrésonateur.

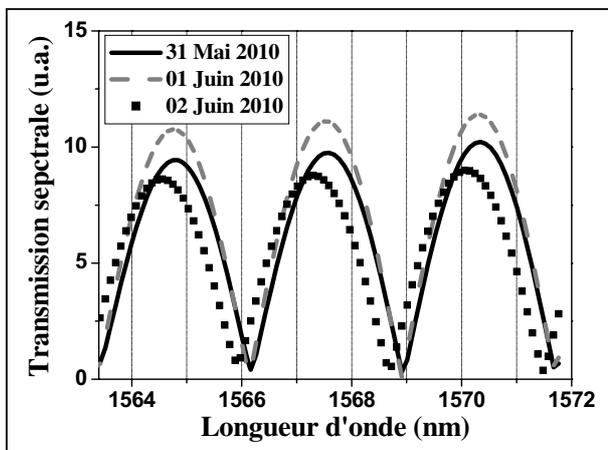


Fig. 17. – Reproductibilité de la mesure OLCI sur la transmission spectrale relative d'un microrésonateur.

La répétabilité (fig. 16) a été évaluée à partir de cinq mesures successives. L'écart type entre ces cinq mesures est de 0,35 nm.

La reproductibilité (fig. 17) a été évaluée à partir de cinq mesures successives réalisées trois jours différents, en remplaçant le composant entre chaque série de mesures. L'écart type de reproductibilité est de 0,5 nm.

Ces écarts types ne sont pas satisfaisants. Une meilleure sensibilité est escomptée. L'utilisation de la cellule optofluidique devrait considérablement améliorer la répétabilité et la reproductibilité des mesures.

#### 4.2. Sensibilité de la technique OLCI

Dans un second temps, afin d'évaluer la sensibilité du microrésonateur pour des applications bio-photoniques, une goutte de sérum physiologique a été déposée sur sa surface (détection homogène). Un décalage de 0,53 nm sur le spectre en transmission est observé en présence de sérum (fig. 18). Ce décalage est plus significatif sur le spectre de phase (fig. 19). En effet, la pente de la phase varie de façon significative en présence de sérum mettant en évidence la sensibilité de l'OLCI à détecter des molécules biologiques.

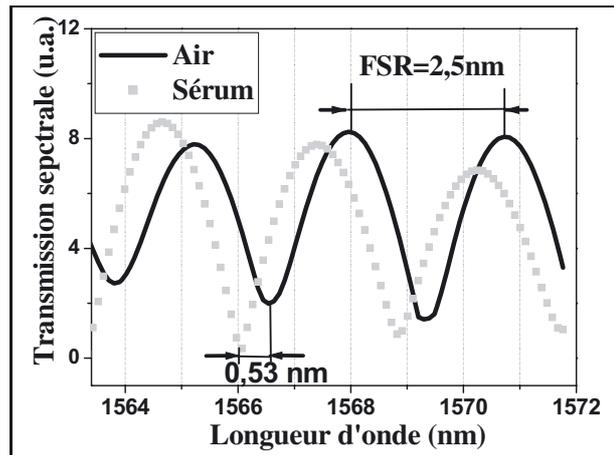


Fig. 18. – Transmission spectrale relative d'un microrésonateur avec comme couche de confinement supérieure de l'air ou du sérum physiologique (détection homogène).

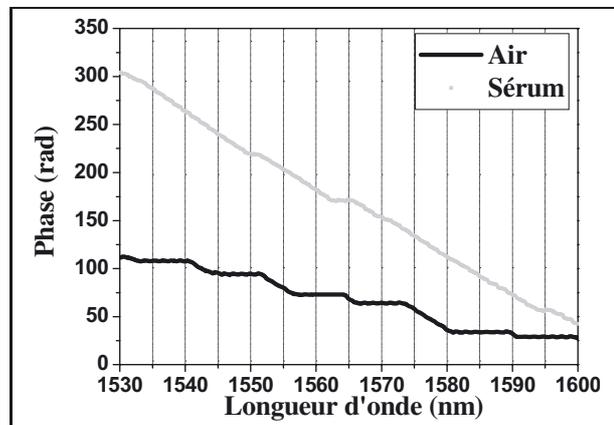


Fig. 19. – Phase du signal optique d'un microrésonateur avec comme couche de confinement supérieure de l'air ou du sérum physiologique (détection homogène).

## 5. Conclusion et perspectives

Les types de microrésonateurs adaptés aux applications des biocapteurs photoniques ainsi que leur principe de fonctionnement ont été présentés dans cet article. La technique d'interrogation de ces capteurs, basée sur le principe d'un interféromètre de Michelson en lumière incohérente (OLCI), a été décrite. Les différentes étapes d'adaptation du banc aux applications en biologie ont été détaillées. Enfin, les premiers résultats de détection du signal de microrésonateurs et de détection homogène en présence de sérum physiologique ont démontré la compatibilité de l'OLCI pour interroger des microrésonateurs et ont mis en évidence la sensibilité de la technique pour détecter des analytes. Aussi, l'utilisation de l'OLCI pour caractériser ces biocapteurs photoniques à base de microrésonateur est pertinente.

De nombreuses étapes sont à venir pour valider le dispositif OLCI comme outil métrologique. La première d'entre elle va consister à interroger des microrésonateurs

fonctionnalisés dans leur cellule optofluidique avec des molécules tests.

Une deuxième étape consistera à comparer les résultats obtenus par la technique OLCI et à balayage spectral utilisée à l'ENS pour faire le bilan des performances du biocapteur.

Une troisième étape consistera à travailler en étroite collaboration avec les biologistes de l'ENS pour rechercher et localiser les informations pertinentes dans l'ensemble de la signature réflectométrique des capteurs pour interpréter la signature OLCI des molécules. Pour aider à ces interprétations, des résultats de mesure d'un point de vue biologique, des corrélations entre les mesures OLCI et celles obtenus par d'autres biocapteurs (SPR, SPRi, DPI) pour des molécules identiques seront effectuées. Elles permettront de positionner les résultats obtenus par le système développé dans ce projet par rapport aux techniques existantes en terme de détection.

Enfin, le LNE devra évaluer les incertitudes, les minimiser et entreprendre des mesures avec des matériaux de référence afin de valider le dispositif comme outil métrologique.

## Remerciements

Les auteurs remercient le LPQM de l'ENS Cachan pour la fourniture des microrésonateurs planaires cycliques.

Ce projet est financé en partie par C'NANO Ile de France et en partie par la Métrologie Française.

## Références

- [1] OBATON A-F., « Développement au LNE d'un interféromètre en lumière incohérente sensible à la phase », *R. franç. métrol.* **16**, 2008, 21-35.
- [2] CANAVESI C. *et al.*, "Polarization-and phase-sensitive low-coherence interferometry setup for the characterization of integrated optical component", *J. Lightwave Technol.*, **27**, 15, 2009, 3062-3074.
- [3] GOTTESMAN Y., RAO E.V.K. et RABUS D.G., "New methodology to evaluate the performance of ring resonators using Optical Low-Coherence Reflectometry", *J. Lightwave Technol.*, **22**, 6, 2004, 1566-1572.
- [4] CHAO C.-Y., FUNG W. et GUO L.J., "Polymer microring resonators for biochemical sensing applications", *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, **12**, 2006, 134-142.
- [5] KRIOUKOV E., GREVE J. et OTTO C., "Performance of integrated optical microcavities for refractive index and fluorescence sensing", *Sens. Actuators B*, **90**, 2003, 58-67.
- [6] ARMANI A.M. *et al.*, "Label-free, single-molecule detection with optical microcavities", *Science*, **317**, 5839, 2007, 783-787, DOI:10.1126/science.1145002.
- [7] VOLLMER F. et ARNOLD S., "Whispering-gallery-mode biosensing : label-free detection down to single molecules", *Nat. Methods*, **5**, 2008, 591-596.
- [8] TSIEN R.Y., "The green fluorescent protein", *Ann. Rev. Biochem.*, **67**, 1998, 509-544.
- [9] SOCKALINGUM G.D. *et al.*, "Raman and SERS spectroscopy for probing drug-target interactions: From in-vitro models to intracellular imaging", *Internet Journal of Vibrational Spectroscopy*, **3**, 5, 1999.
- [10] YUK J.S. et HA K.S., "Proteomic applications of surface plasmon resonance biosensors: analysis of protein arrays", *Experimental and Molecular Medicine*, 2005, **37**, 1, 1-10.
- [11] CROSS G.H. *et al.*, "A new quantitative optical biosensor for protein characterisation", *Biosens. Bioelectron.*, **19**, 2003, 383-390.
- [12] BOYD R., BOYD W. et HEEBNER J.E., "Sensitive disk resonator photonic biosensor", *Appl. Opt.*, **40**, 2001, 5742-5747.

---

Article reçu le 30 septembre 2010, version révisée reçue le 23 août 2011.