

含多孔硅层的波导耦合光栅纳米异质结构的 折射率传感机理

陈 颖¹, 赵志勇¹, 田亚宁¹, 刘晓飞¹, 朱奇光², 翟应俭³, 李少华³

¹燕山大学电气工程学院河北省测试计量技术及仪器重点实验室, 河北 秦皇岛 066004;

²燕山大学信息科学与工程学院河北省特种光纤与光纤传感器重点实验室, 河北 秦皇岛 066004;

³河北先河环保科技股份有限公司, 河北 石家庄 050035

摘要 基于波导耦合光栅的共振原理和多孔硅的光学传感特性, 提出一种含多孔硅层的波导耦合光栅纳米异质结构的折射率传感模型。根据古斯-汉欣(Goos-Hänchen)位移理论和波导耦合光栅共振的相位匹配条件, 建立共振波长与待测样本折射率之间的关系模型, 并分析了折射率传感结构的折射率传感特性。利用多孔硅高效的承载机制, 将其作为待测样本承载单元, 选用不同浓度的乙二醇溶液作为待测样本, 对该折射率传感结构的灵敏度和品质因数 Q 进行分析。结果表明, 该折射率传感结构对乙二醇溶液的灵敏度为 $2.2 \text{ nm}/1\%$, Q 值为 226, 证明了该传感结构的有效性, 它可实现对低浓度待测样本的检测。

关键词 传感器; 波导耦合光栅; 折射率; 多孔硅

中图分类号 O436

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201744.1010003

Refractive Index Sensing Mechanism of Waveguide Coupled Gratings Nano-Heterostructure Containing Porous Silicon Layers

Chen Ying¹, Zhao Zhiyong¹, Tian Yaning¹, Liu Xiaofei¹, Zhu Qiguang²,
Zhai Yingjian³, Li Shaohua³

¹Hebei Province Key Laboratory of Test/Measurement Technology and Instrument, School of
Electrical Engineering, Yanshan University, Qinhuangdao, Hebei 066004, China;

²Key Laboratory for Special Fiber and Fiber Sensor of Hebei Province, School of Information Science and
Engineering, Yanshan University, Qinhuangdao, Hebei 066004, China;

³Hebei Sailthero Environmental Protection High-tech Co., Ltd., Shijiazhuang, Hebei 050035, China

Abstract Based on the resonance principle of waveguide coupled gratings and optical sensing properties of porous silicon, a refractive index sensing model of waveguide coupled gratings nano-heterostructure is proposed. According to the theory of Goos-Hänchen displacement and phase matching conditions of waveguide coupled gratings resonance, the relationship model between the resonant wavelength and the refractive index of the detected sample is established, and the refractive index sensing properties of the refractive index sensing structure are analyzed. Taking the porous silicon as bearing units of detected samples according to its effective bearing mechanism, we analyze the sensitivity and the quality factor Q of the refractive index sensing structure by detecting solutions of ethylene glycol with different concentrations. The results show that the sensitivity of the refractive index sensing structure to the solution of ethylene glycol is $2.2 \text{ nm}/1\%$, and the Q value is 226, which proves the validity of this sensing structure. The sensing structure can detect the samples with low concentration.

收稿日期: 2017-05-02; 收到修改稿日期: 2017-06-02

基金项目: 国家自然科学基金(61201112, 61475133)、河北省自然科学基金(F2016203188, F2016203245)、河北省普通高等学校青年拔尖人才计划(BJ2014056)、燕山大学青年教师自主研究计划课题(14LG013)

作者简介: 陈 颖(1980—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事微纳光学器件及其应用方面的研究。

E-mail: chenying@ysu.edu.cn

Key words sensors; waveguide coupled gratings; refractive index; porous silicon

OCIS codes 280.4788; 050.1950; 160.4670

1 引 言

光学折射率传感器^[1-2]是利用光学干涉、全反射和耦合共振等光学原理,通过调制待测样本折射率研究光谱信息变化,从而实现对待测样本浓度和组分等多种信息进行检测的传感装置。光学折射率传感器具有免标记、灵敏度高和可实时监测等优势,已被广泛应用于光学传感的各个领域^[3-5]。目前,光学折射率传感器主要包括光子晶体传感器^[6-7]、表面等离子体共振(SPR)传感器^[8-9]、光纤光栅传感器^[10-11]和波导耦合光栅传感器^[12-14]。

波导耦合光栅是由波导和光栅组成的纳米异质结构,被广泛应用于光学传感器中。近年来,基于波导耦合光栅的光学传感器的研究异常活跃。Kehl 等^[15]通过设计无标记波导光栅阵列生物传感系统实现了对样本有效折射率的点对点监测。陆安江等^[16]设计了基于微机电系统(MEMS)微镜的光栅波导角度调制生物传感器,该传感器对表面附着物葡萄糖溶液的检测灵敏度可达 5 ng/mL。贾克辉等^[17]研究了双层波导光栅传感结构共振波长对折射率灵敏度的影响,结果表明,该传感结构的检测灵敏度为 42.3 nm/RIU(RIU 为折射率单位)。Abdulhalim 等^[18]研究了无标记导模共振传感器共振波长与入射媒质折射率的关系,传感器的检测灵敏度可达 100 nm/RIU。Kang 等^[19]利用表面波共振原理设计了光子晶体和光栅结合的传感结构,其灵敏度可提高到 290 nm/RIU。Rodriguez 等^[20]设计了基于表面波和次表面波的光栅耦合生物传感器,通过检测表面核酸分子验证了该传感器的有效性。多孔硅具有比表面积大、吸附性良好等优点,将其作为待测样本承载单元可以使电磁波更充分地接触待测样本,提高检测灵敏度。将多孔硅和波导耦合光栅相结合的光学传感器有望成为光学传感领域研究的新方向。

本文提出一种含多孔硅层的波导耦合光栅纳米异质结构折射率传感模型。在波导耦合光栅结构中引入具有高承载能力的多孔硅层,并将其作为待测样本的承载单元。入射光通过光栅衍射效应进入波导层,并在波导层的上下表面发生全反射,光栅的存在使衍射光入射到光栅时发生次级衍射效应,满足相位匹配条件的次级衍射光与反射光干涉相长,在反射光谱中获得窄带反射峰。根据共振形成相位条件和古斯-汉欣位移理论,建立共峰波长与待测样本折射率关系的数学模型,并分析了异质结构的折射率传感特性,通过观测共振波长的漂移实现待测样本浓度的动态监测。

2 结构模型的建立与理论分析

2.1 结构模型的建立

提出的含多孔硅层的波导耦合光栅折射率传感模型由上至下依次为光栅层、波导层和多孔硅检测单元,如图 1 所示。光栅层的高度为 d_1 ,光栅周期为 Λ ,占空比为 f ,波导层的折射率为 n_b ,波导层的厚度为 d_2 ,光栅层和多孔硅检测单元的折射率分别为 n_c 和 n_s ,且满足 $n_b > n_c, n_b > n_s$ 。多孔硅层的厚度为 d 。多孔硅具有通过电化学腐蚀而形成的高密度多孔结构,它可近似看作是硅与空气孔混合排布的一种介电材料,不同孔隙率的多孔硅具有不同的折射率。当在多孔硅中加入待测样本后,待测样本取代多孔硅中的空气,致使多孔硅层的有效折射率发生改变。因此,可以通过多孔硅等效折射率的变化实现待测样本浓度的检测。

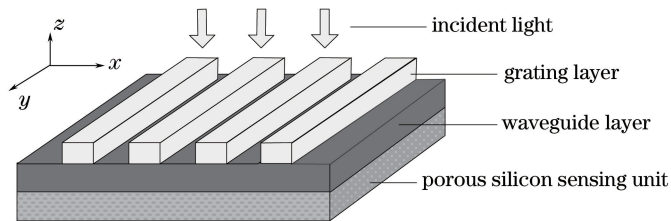


图 1 含多层硅的波导耦合光栅折射率传感模型示意图

Fig. 1 Schematic of refractive index sensing model of waveguide coupled grating containing porous silicon

2.2 理论分析

2.2.1 波导耦合光栅的光学传输特性

波导耦合光栅传播光路示意图如图 2 所示。当一束相干光 I 以一定的入射角 θ 入射到波导耦合光栅结构时,一部分入射光将在入射介质处直接反射和透射,形成反射光 R 和透射光 T,一部分光则因光栅的衍射效应而以衍射角 ψ 衍射进入波导中,以衍射光 D 的形式在波导中传播,并在波导上下表面发生全反射。在传播光程中,当衍射光入射到波导和光栅交界面时,光栅的存在导致衍射光发生次级衍射效应,衍射出平行于反射方向的次级衍射光 D_{R1} 和平行于透射方向的次级衍射光 D_{T1} 。衍射光在波导中传播时会在波导和光栅交界面处发生多次次级衍射,导致沿反射方向的更高级次的次级衍射光(D_{R2}, D_{R3}, \dots)的能量相对较弱,可以忽略不计。因此,当反射光 R 与沿反射方向的次级衍射光 D_{R1} 满足相位匹配条件时,二者干涉相长,这种现象称为波导耦合光栅结构的共振现象。可见,光栅层的主要作用是提供相位匹配条件,波导层的主要作用是支持光的传播。

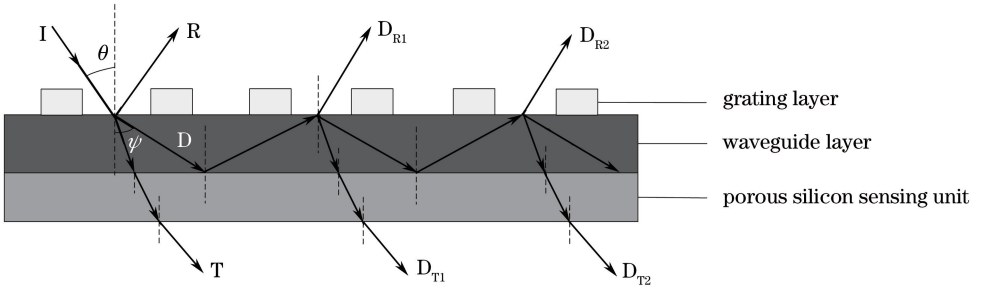


图 2 波导耦合光栅传播光路示意图

Fig. 2 Diagram of optical path in waveguide coupled grating

2.2.2 折射率传感机理分析

当光入射到波导耦合光栅传感结构时,光栅的存在使得部分入射光因光栅的衍射而进入波导中,从而激发波导的传播模式,光栅的衍射行为可以通过光栅方程来描述:

$$\Lambda(n_a \sin \theta \pm n_b \sin \psi) = m\lambda, \quad m = 0, \pm 1, \pm 2, \dots, \quad (1)$$

式中 λ 为入射光波长, n_a 为空气的折射率, m 为衍射级次。

以横电模(TE)为例,当光波入射到波导和待测环境交界面处发生全反射时,电磁场能量不会在界面处立即衰减为 0,而是渗透到待测环境中至一定深度,同时沿界面传播一定距离,再返回到波导中沿反射光方向射出,导致实际的反射光路与几何光学相比有一定的偏移,如图 3 所示。

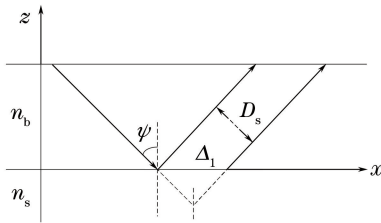


图 3 古斯-汉欣位移示意图

Fig. 3 Diagram of Goos-Hänchen displacement

在波导和待测环境交界面处全反射产生的古斯-汉欣位移为

$$D_s = \frac{\lambda n_b \sin \psi}{\pi \sqrt{n_b^2 \sin^2 \psi - n_s^2}}. \quad (2)$$

根据光的折射定律,光波沿 x 方向的位移为

$$\Delta_1 = D_s / \cos \psi = \frac{\lambda n_b \tan \psi}{\pi \sqrt{n_b^2 \sin^2 \psi - n_s^2}}. \quad (3)$$

同理,在波导和光栅交界面处全反射产生的沿 x 方向的位移为

$$\Delta_2 = D_s / \cos \psi = \frac{\lambda n_b \tan \psi}{\pi \sqrt{n_b^2 \sin^2 \psi - n_a^2}} \quad (4)$$

光波在波导层上下界面往返一个周期的总相位差包括波导上界面处全反射的相位差、波导下界面处全反射的相位差和在波导内传输光程的相位差。因此,当波导耦合光栅发生共振时,需满足相位条件:

$$2k_b d_2 + \varphi_1 + \varphi_2 = 2M\pi, \quad M = 0, 1, 2, \dots \quad (5)$$

式中 $2k_b d_2 = 2\pi n_b d_2 \cos \psi / \lambda$ 为光波在波导层中传播一个周期光程的相位差, $\varphi_1 = \Delta_1 \cdot 2\pi / \lambda$ 为在波导下界面全反射时引起的相位差, $\varphi_2 = \Delta_2 \cdot 2\pi / \lambda$ 为在波导上界面全反射时引起的相位差, M 为波导层中所能传播的波导模式阶数。

因此,当波导耦合光栅结构发生共振时,相位条件满足:

$$\frac{2\pi n_b d_2 \cos \psi}{\lambda_R} + \frac{2n_b \tan \psi}{\sqrt{n_b^2 \sin^2 \psi - n_s^2}} + \frac{2n_b \tan \psi}{\sqrt{n_b^2 \sin^2 \psi - n_a^2}} = 2M\pi, \quad M = 0, 1, 2, \dots \quad (6)$$

由(1)式和(6)式可以得出,当待测环境折射率 n_s 增大时,共振波长 λ_R 也随之增大,从而可以建立待测样本折射率与共振波长之间的关系模型,通过观测共振波长的漂移来实现待测样本折射率的动态监测。

3 数值模拟与性能分析

3.1 传感结构品质因数 Q 的分析

多孔硅的光学特性由其物理参数和孔隙率决定。不同孔隙率的多孔硅具有不同的折射率,高孔隙率对应低折射率,低孔隙率对应高折射率。在未受外界环境影响之前,由 Bruggeman 介电函数近似模型^[21]可知,单层多孔硅的等效折射率 n_{pSi} 满足:

$$(1 - \rho) \frac{n_{\text{Si}}^2 - n_{\text{pSi}}^2}{n_{\text{Si}}^2 + 2n_{\text{pSi}}^2} + \rho \frac{n_a^2 - n_{\text{pSi}}^2}{n_a^2 + 2n_{\text{pSi}}^2} = 0, \quad (7)$$

式中 n_{Si} 为硅的折射率, ρ 为孔隙率。

上述结构中多孔硅检测单元可通过电化学腐蚀法制备^[22],其孔隙率 $\rho = 78\%$,等效折射率 $n_{\text{pSi}} = 1.35$ 。光栅层采用低折射率材料二氧化硅(SiO_2),折射率 $n_c = 1.45$,光栅高度 $d_1 = 125 \text{ nm}$,光栅周期 $\Lambda = 500 \text{ nm}$, 占空比 $f = 0.5$ 。波导层选择折射率 $n_b = 2.01$ 的二氧化铪(HfO_2),其厚度为 $d_2 = 125 \text{ nm}$,此时波导层为单模波导,波导中只存在 0 阶模。借助基于有限元法的 COMSOL 软件在频域模块中进行数值求解,在 x 方向设置周期性边界条件,设置电场矢量垂直于入射面,从空气中以入射角 $\theta = 0^\circ$ 垂直入射,可得该结构的反射光谱图如图 4 所示。由图 4 可知,该传感结构在共振波长 $\lambda_R = 791 \text{ nm}$ 处发生了共振,反射率接近于 100%,反射峰的半峰全宽 $Y_{1/2} = 3.5 \text{ nm}$,即该传感结构的品质因数 Q 为

$$Q = \frac{\lambda_R}{Y_{1/2}} = 226. \quad (8)$$

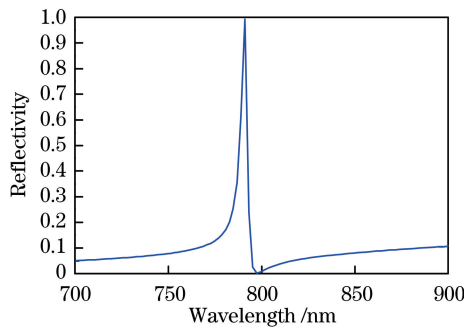


图 4 波导耦合光栅传感结构的反射光谱

Fig. 4 Reflectance spectrum of waveguide coupled grating sensing structure

3.2 折射率传感特性分析

由理论分析可知,当样本检测单元折射率改变时,其反射光谱特性也会随之改变,当检测单元折射率 n_s

以 0.005 为步长从 1.520 增大到 1.540 时,利用 COMSOL 软件 的参数化扫描功能进行数值模拟,波长精度 选为 0.01 nm,可得共振波长漂移特性,如图 5 所示。由图 5 可知,随着检测单元折射率的增大,共振波长发 生红移,该传感结构对折射率的检测极限可达 10^{-3} RIU。

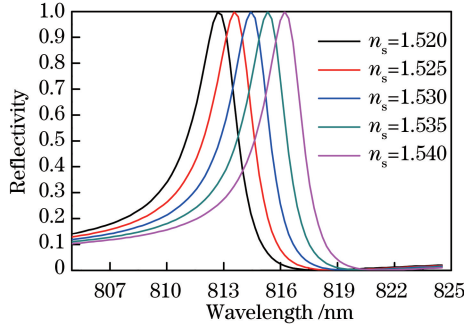


图 5 不同折射率检测单元的共振波长漂移

Fig. 5 Resonant wavelength shift of sensing units with different refractive indexes

随着检测单元折射率从 1.520 增大到 1.540,对应共振波长从 812.1 nm 漂移到 816.9 nm,计算可得该传 感器的灵敏度为

$$S = \frac{\Delta\lambda_R}{\Delta n_s} = 318 \text{ nm/RIU}. \quad (9)$$

将多孔硅置于一定浓度的待测样本中,待测样本可以通过扩散作用到达多孔硅内部。将多孔硅置于充 有一定浓度有机蒸汽的气室中,由密闭容器内气体平衡压力原理可知,随着有机蒸汽的充入,当蒸汽的饱和 气压达到气室内的平衡气压时,在毛细冷凝作用下,蒸汽会发生液化,最终达到动态平衡。附着多孔硅中有 机物浓度的改变,多孔硅的有效折射率也会发生相应改变。由 Bruggeman 介电函数近似模型可知多孔硅的 有效折射率 n_{eff} 为

$$(1 - \rho) \frac{n_{\text{Si}}^2 - n_{\text{eff}}^2}{n_{\text{Si}}^2 + 2n_{\text{eff}}^2} + (\rho - \varphi) \frac{n_a^2 - n_{\text{eff}}^2}{n_a^2 + 2n_{\text{eff}}^2} + \varphi \frac{n_g^2 - n_{\text{eff}}^2}{n_g^2 + 2n_{\text{eff}}^2} = 0, \quad (10)$$

式中 n_{eff} 为加入待测样本后多孔硅的有效折射率, n_g 为待测样本的折射率, φ 为多孔硅内待测样本的体积分数。

选用乙二醇($\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$)溶液为待测样本,由等效折射率的 Lichtennecher 模型可知,不同浓度的 乙二醇溶液的折射率 n_g 满足:

$$\ln n_g = w \ln n_{\text{HOC}} + (1 - w) \ln n_w, \quad (11)$$

式中 w 为乙二醇溶液的质量分数,乙二醇的折射率 $n_{\text{HOC}} = 1.4318$,水的折射率 $n_w = 1.333$ 。

选取质量分数 w 为 5% 和 10% 的乙二醇溶液分别滴加到该传感结构的多孔硅检测区域,由于待测样本 进入多孔硅检测区域后,取代了多孔硅中的空气,导致多孔硅层的有效折射率增大,因此最终得到了不同浓 度乙二醇溶液对应的共振波长漂移情况,如图 6 所示。由图 6 可知共振波长发生了明显的红移,该结果与理 论推导结果相吻合。

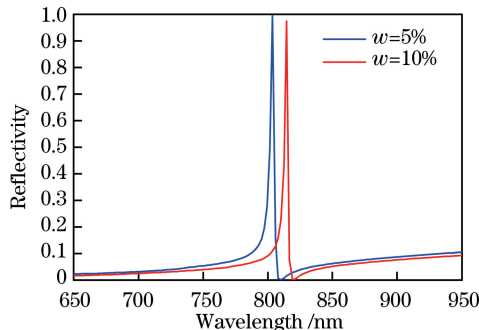


图 6 不同浓度乙二醇溶液的共振波长漂移

Fig. 6 Resonant wavelength shift of $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ solutions with different concentrations

选取 6 组乙二醇溶液的浓度数据与共振波长数据进行拟合,结果如图 7 所示,拟合直线关系为 $\lambda_R = S\omega + 803.8$,相关性系数为 0.9997,灵敏度系数 $S = 2.2$ 。由图 7 可知,共振波长随着待测样本溶液浓度呈线性变化,对乙二醇溶液的检测灵敏度为 2.2 nm/1%(1%是指乙二醇溶液中无水纯乙二醇的质量分数)。

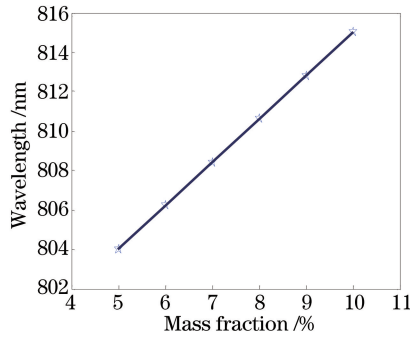


图 7 乙二醇溶液浓度与共振波长的线性拟合关系

Fig. 7 Linear fitting relationship between HOCH₂CH₂OH solution concentration and resonant wavelength

综上所述,该传感结构表现出了高灵敏度的优势,共振波长与待测样本溶液浓度之间呈良好的线性关系,说明该传感结构具有良好的稳定性,通过观测共振波长的漂移即可实现待测样本浓度的实时动态监测。

4 结 论

提出了一种含多孔硅层的波导耦合光栅纳米异质结构传感模型。多孔硅具有承载能力强和比表面积大等优势,将其作为待测样本的承载单元,在传感方面具有重要的应用潜力。根据古斯-汉欣位移原理和波导耦合光栅共振形成条件,建立了共振波长和待测样本折射率之间的数学模型,并分析了传感结构的折射率传感特性。研究表明,该传感结构的灵敏度可达 318 nm/RIU,优于文献[17-19]研究的同类传感器的检测性能,表现出了高灵敏度的优势,该传感结构对折射率的检测精度可达 10^{-3} RIU,可用于对低浓度待测样本的检测,同时可为光学折射率生物传感器的设计提供一定的理论参考。

参 考 文 献

- [1] Luo L, Feng G Y, Zhou S H, *et al.* Theoretical study of a refractive-index sensor based on directional coupling between metal-insulator-metal waveguides[J]. *Optik*, 2016, 127(4): 2149-2152.
- [2] Gong H P, Yang P C, Song H F, *et al.* A refractive index sensor based on in-line modal interferometer with waist-enlarge fusion splicing[J]. *Optik*, 2015, 126(21): 3058-3060.
- [3] Chen W R, Jia Z H, Li P, *et al.* Refractive index change detection based on porous silicon microarray[J]. *Applied Physics B*, 2016, 122(5): 120.
- [4] Si G Y, Zhao Y H, Lv J T, *et al.* Direct and accurate patterning of plasmonic nanostructures with ultrasmall gaps[J]. *Nanoscale*, 2013, 5(10): 4309-4313.
- [5] Wang Hai, Zhou Wenchao, Li Kaiwei, *et al.* Label-free biosensing characteristics of micro/nano-fiber coupler[J]. *Acta Optica Sinica*, 2017, 37(3): 0306005.
汪海, 周文超, 李凯伟, 等. 微纳光纤耦合器无标生物传感特性[J]. *光学学报*, 2017, 37(3): 0306005.
- [6] Wang Y, Zhang D G, Xu S X, *et al.* Experimental evidence of photonic crystal waveguides with wide bandwidth in two-dimensional Al₂O₃ rods array[J]. *Chinese Optics Letters*, 2017, 15(6): 062301.
- [7] Olyae S, Bahabady A M. Design and optimization of diamond-shaped biosensor using photonic crystal nano-ring resonator[J]. *Optik*, 2015, 126(20): 2560-2564.
- [8] Kihm K D, Cheon S, Park J S, *et al.* Surface plasmon resonance (SPR) reflectance imaging: far-field recognition of near-field phenomena[J]. *Optics and Lasers in Engineering*, 2013, 50(1): 64-73.
- [9] Michaelis S, Wegener J, Robelek R. Label-free monitoring of cell-based assays: combining impedance analysis with SPR for multiparametric cell profiling[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, 49: 63-70.
- [10] Zhao Hongxia, Cheng Peihong, Ding Zhiqun, *et al.* Simultaneous measurement of temperature, refractive index and liquid level based on biconical fiber grating[J]. *Chinese J Lasers*, 2016, 43(10): 1010005.

- 赵洪霞, 程培红, 丁志群, 等. 双锥形光纤光栅实现温度、折射率和液位同时测量[J]. 中国激光, 2016, 43(10): 1010005.
- [11] Tripathi S M, Bock W J, Mikulic P. A wide-range temperature immune refractive-index sensor using concatenated long-period-fiber-gratings[J]. Sensors and Actuators B, 2017, 243: 1109-1114.
- [12] Ngo Q M, Le K Q, Hoang T T, *et al.* Numerical investigation of tunable Fano-based optical bistability in coupled nonlinear gratings[J]. Optics Communications, 2015, 338: 528-533.
- [13] Sang T, Wang Y K, Li J L, *et al.* Bandwidth tunable guided-mode resonance filter using contact coupled gratings at oblique incidence[J]. Optics Communications, 2017, 382: 138-143.
- [14] Sang T, Chen G Q, Wang Y K, *et al.* Tunable optical reflectance using a monolithic encapsulated grating[J]. Optics & Laser Technology, 2016, 83: 163-167.
- [15] Kehl F, Etlinger G, Gartmann T E, *et al.* Introduction of an angle interrogated, MEMS-based, optical waveguide grating system for label-free biosensing[J]. Sensors and Actuators B, 2016, 226: 135-143.
- [16] Lu Anjiang, Bai Zhongchen, Xiao Wei, *et al.* Design and research of biosensor characteristics based on grating waveguide angle modulation with MEMS micro-mirror[J]. Chinese J Lasers, 2016, 43(4): 0414001.
陆安江, 白忠臣, 肖伟, 等. 基于 MEMS 微镜的光栅波导角度调制生物传感器设计与研究[J]. 中国激光, 2016, 43(4): 0414001.
- [17] Jia Kehui, Ma Junshan. Resonance wavelength effects on sensitivity of resonant grating waveguide biosensor [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2012, 32(2): 302-305.
贾克辉, 马军山. 共振波长对导模共振生物传感器灵敏度的影响[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(2): 302-305.
- [18] Abdulhalim I, Auslender M, Hava S, *et al.* Grating-based nanophotonic structured configurations for biosensing[C]. SPIE, 2008, 7035: 70350T.
- [19] Kang X B, Wen L W, Wang Z G. Design of guided Bloch surface wave resonance bio-sensors with high sensitivity[J]. Optics Communications, 2017, 383: 531-536.
- [20] Rodriguez G A, Lonai J D, Mernaugh R L, *et al.* Porous silicon Bloch surface and sub-surface wave structure for simultaneous detection of small and large molecules[J]. Nanoscale Research Letters, 2014, 9(1): 383.
- [21] Zhang D L, Cherkaev E, Lamoureux M P. Stieltjes representation of the 3D Bruggeman effective medium and Padé approximation[J]. Applied Mathematics and Computation, 2011, 217(17): 7092-7107.
- [22] Lv X Y, Chen L L, Zhang H Y, *et al.* Hybridization assay of insect antifreezing protein gene by novel multilayered porous silicon nucleic acid biosensor[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2013, 39(1): 329-333.