

НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
ІМЕНІ ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
Факультет електроніки
Кафедра електронних приладів та пристроїв

До захисту допущено

Завідувач кафедри, проф., д.т.н.

Л.Д.Писаренко

« ____ » _____ 2018 р.

Магістерська дисертація

на здобуття ступеня магістра

з напрямку підготовки **6.050802 – Електронні пристрої та системи**
на тему «Біосенсор на основі плазмонного резонансу»

Виконав:

Студентка 6 курсу, гр. ДЕ-71мп **Ципарська Олена**
Анатоліївна _____

Керівник:

Доцент кафедри ЕП та П, к.т.н. **Чадюк В.О.** _____

Нормоконтроль:

Доцент кафедри ЕП та П, к.т.н. **Чадюк В.О.** _____

Рецензент:

Професор кафедри ПЕ, п.т.н

Ромашко В.Я _____

Засвідчую, що у цій магістерській роботі
немає запозичень з праць інших авторів без
відповідних посилань.

Студент _____
(підпис)

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

Факультет електроніки

Кафедра електронних приладів та пристроїв

Рівень вищої освіти – другий (магістерський) за освітньо-професійною програмою
Спеціальність (спеціалізація) – 171 «Електроніка» («Електронні прилади та пристрої»)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри, проф., д.т.н.

_____ Л.Д.Писаренко

«___» _____ 2018 р.

ЗАВДАННЯ

на магістерську дисертацію студенту

Ципарській Олені Анатоліївні

- 1. Тема дисертації** «Біосенсор на основі плазмонного резонансу», науковий керівник дисертації Чадюк Вячеслав Олексійович, Доц., к.т.н., затверджені наказом по університету від «___» _____ 2018 р. № _____
- 2. Термін подання студентом роботи** 7.11. 2018 р.
- 3. Об'єкт дослідження:** Біосенсор на основі плазмонного резонансу.
- 4. Предмет дослідження:** резонансний метод ідентифікування біомолекул.
- 4. Вихідні дані до роботи:** Розмір наночастинки 10-100нм, потужність 100мВт, матеріал срібло, питома маса срібла $\rho_{Ag} = 10,49 \text{ г/см}^3$
- 5. Перелік завдань, які необхідно розробити:** Анотація; вступ; огляд науково-технічної літератури; розрахунок та підбір конструктивних елементів системи; розробка структурної схеми біосенсора на основі плазмонного резонансу; висновки; перелік використаної науково-технічної літератури.
- 6. Орієнтовний перелік графічного (ілюстративного) матеріалу:** Структурна схема біосенсора на основі поверхнево плазмонного резонансу; плакати з рисунками, графіками та формулами.
- 7. Орієнтовний перелік публікацій:**
 1. Перспективи розвитку оптичних наносенсів/Ципарська О.А., Чадюк В.О./ Перспективні напрямки сучасної електроніки. - 2017. - С. 207- 212.

8. Дата видачі завдання 08.10.2018.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів дипломної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Огляд науково-технічної літератури апаратної бази електронних систем	30.04.2018	
2	Вибір джерела випромінювання	12.05.2018	
3	Розробка структурної схеми	15.08.2018	
4	Розрахунки та побудова графіків	18.10.2018	
5	Оформлення пояснювальної записки, креслень, плакатів з формулами та графіками, підготовка доповіді.	5.12.2018	

Студентка гр. ДЕ-71мп _____

Ципарська О.А.

Керівник роботи _____

Чадюк .В.О

РЕФЕРАТ

«Біосенсор на основі плазмонного резонансу» Магістерська робота напряму підготовки **6.050802** – «Електронні пристрої та системи» спеціалізації «Електронні прилади та пристрої». Ципарська Олена Анатоліївна. НТУУ «КПІ імені Ігоря Сікорського». Факультет електроніки, кафедра електронних приладів та пристроїв. Група ДЕ-71мп. – К.: НТУУ «КПІ імені Ігоря Сікорського», 2018. – 63с., 10 іл.

Ключові слова: біосенсор, чутливість, плазмонний резонанс.

Короткий зміст роботи: Дана дипломна робота присвячена дослідженню біосенсора на основі плазмонного резонансу та розробці резонансного методу для ідентифікації біомолекул; розробка блок-схеми, побудова графіка залежності $x_{0\max}(E_0)$ для коливання частинки у воді.

У вступі сформульована головна задача роботи і показана її актуальність. В аналізі літератури представлений огляд різних типів біосенсорів та їх основні характеристики, та підтверджена перспективність їх розробки. В теоретичному розділі розроблено структурну схему, проведено розрахунок резонансного методу ідентифікації біомолекул. Дана робота є актуальною і може бути використана для ідентифікації шкідливих біомолекул.

А Н О Т А Ц І Я

Дана дипломна робота присвячена дослідженню біосенсорів на основі плазмонного резонансу. В ній представлено резонансний метод ідентифікування біомолекул.

Робота складається із вступу, аналізу літератури, теоретичної частини, методики інженерних розрахунків та висновків. У вступі сформульована головна задача роботи і показана її актуальність. В аналізі літератури представлений огляд різних типів біосенсорів їх основні характеристики, та підтверджена перспективність їх розробки. В теоретичному розділі розроблено структурну схему, проведено розрахунок резонансного методу ідентифікації біомолекул. Дана робота є актуальною і може бути використана для ідентифікації шкідливих біомолекул.

S U M M A R Y

This thesis is devoted to the study of biosensors based on plasmon resonance. It presents the resonance method for the identification of biomolecules.

The work consists of introduction, analysis of literature, theoretical part, methods of engineering calculations and conclusions. The introduction formulates the main task of the work and shows its relevance. The analysis of the literature presents a review of various types of biosensors, their main characteristics, and confirmed the prospects of their development. In the theoretical section, a structural scheme is developed, the resonance method for the identification of biomolecules is calculated. This work is relevant and can be used for the identification of harmful biomolecules.

ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА

до дипломної роботи другого (магістерського) рівня вищої освіти

студентки кафедри електронних приладів та пристроїв факультету електроніки Національного
технічного університету України

«Київського політехнічного інституту імені Ігоря Сікорського»

Ципарської Олени Анатоліївни

на тему: **«Біосенсор на основі плазмонного резонансу»**

ВСТУП

На сьогодні існує нагальна потреба в практичному використанні інструментальних аналітичних пристроїв, які дозволяють здійснювати особливий високочутливий контроль широкого кола речовин, що мають надзвичайно велике значення при виконанні біохімічних аналізів в біології, медицині, екології, сільському господарстві, біотехнології і т. п. Найбільшу перспективу представляють оптичні пристрої і особливо ті, які базуються на ефекті поверхневого плазмонного резонансу (ППР). Вивчення ефекту поверхнево плазмонного резонансу (ППР), створює новітні можливості в технології і в виробництві, наприклад дозволяє створити мініатюрні оптичні системи для ідентифікації біомолекул, підвищує чутливість біосенсорів, а також дозволяє створити лазери на основі поверхневих плазмонних поляритонів [1]. Такі біосенсори мають високу чутливість, дозволяють працювати з великою номенклатурою біологічних і хімічних сполук в широкому діапазоні концентрацій. Крім цього, дані біосенсори дозволяють проводити вимірювання в режимі реального часу, аналізувати речовини зі складною структурою, проводити аналіз без використання міток і багаторазово застосовувати один чіп для проведення аналізу. Всі ці переваги призвели до їх широкого використання в різних областях біотехнологій, для високочутливої експрес-діагностики в медицині, екології, біології та інших галузях. У переважній більшості випадків в біосенсорах дія заснована на спектроскопії поверхневого плазмонного резонансу, де в якості сенсорного елемента використовується призма основа якої вкрита плівкою благородного металу (золота або срібла). Мета даної роботи полягає у дослідженні взаємодії поверхневих електромагнітних хвиль з металічною частинкою (срібло) та розробка приладу на основі поверхневих плазмонів. Вивченні резонансного методу ідентифікації біомолекул. Перший прототип біосенсора був створений більше 50 років тому, в 1962 році. Цей біосенсор базується на рН-чутливому електроді з іммобілізованою глюкозооксидазою (ГОД) і призначений для вимірювання концентрації глюкози в людській крові [2]. Біосенсорами називають прилади в яких чутливий шар містить біологічний матеріал: ДНК, ферменти, тканини, бактерії, дріжджі, ліпосоми т.і.. Біологічно активний шар реагує на компоненти які містяться в аналіті і відтворює сигнал який залежить від концентрації цього компонента. Головними характеристиками біосенсорів є: чутливість, час відгуку, лінійний діапазон, межа виявлення, селективність і специфічність. Щодо специфічної характеристики біосенсорів є час його життя. Чутливість біосенсорів з часом зменшується через деструкції біологічного матеріалу. Час життя біосенсорів залежить від умов зберігання та експлуатації датчика (температури, рН, застосовуваних консервантів). Головні переваги біосенсорів: універсальність, порівняно малий час відгуку, висока чутливість і селективність, обумовлена специфічністю використовуваних матеріалів, а також низька собівартість. Принцип роботи біосенсорів схожий з іншим видам хімічних сенсорів і заснований на роботі з двох перетворювачів (біохімічного і фізичного), які знаходяться в тісному взаємозв'язку один з

одним. Біотрансдьюсер розпізнає біологічний елемент, перетворюючи інформацію хімічних зв'язків в той час як фізичний перетворювач дозволяє зареєструвати цей сигнал [2]. Біоматеріал має унікальні властивості, що дозволяє з високою точністю визначати потрібні з'єднання в складній суміші, не застосовуючи інші реагенти. Залежно від типу перетворювача, біосенсиори класифікують на оптичні, акустичні, калориметричні, термічні і електрохімічні. Електрохімічні біосенсиори, в свою чергу, ділять на потенціометричні, амперометричні і кондуктометричні. Біосенсиори та хімічні сенсори відрізняються тим, що концентрація певної речовини вимірюється в них за допомогою матеріалу біологічної природи. Принципова схема біохімічного сенсора складається з: 1-аналіт; 2 - корпус біосенсора, 3 - напівпроникна мембрана (для механічного утримання біошару), 4 - шар біоактивного матеріалу, 5 – електрод, 6 - підсилювач сигналу, 7 – самописець. Схема біосенсора складається з двох перетворювачів (трансдьюсерів): біохімічного і фізичного. Біохімічний трансдьюсер потрібен для розпізнавання біоактивного елемента, перетворюючи компонент який визначається, а фізичний трансдьюсер фіксує це за допомогою спеціальної апаратури. Дія біосенсорів полягає у тому що біошар який потрібен для розпізнавання біоактивного елемента складається з: цілих організмів, живих тканин, клітин, органел, мембран клітин, ферментів, препаратів, рецепторів, антитіл, нуклеїнових кислот. Дія яких базується на найважливіших хімічних реакціях живих організмів: реакції антитіло-антиген, фермент-субстрат, рецептор-гормон. Такі реакції використовуються для отримання високо селективних і чутливих біосенсорів для конкретного визначення речовини. На рис. 1.1.1 представлена принципова схема дії біосенсора, що складається, як зазначено раніше з сполученого хімічного та фізичного перетворювача і іммобілізованого біорозпізнавального елемента. Спочатку біосенсор розпізнає біологічну речовину у багатокомпонентній суміші. Після цього інформація біохімічної реакції перетворюється в форму електрохімічного, оптичного або іншого сигналу сигналу. Ця стадія є головною роботи біосенсора. Стадія сполучення біохімічної і електродної (або іншої фізико-хімічної) реакцій. На останній стадії електричний сигнал від трансдьюсера перетворюється в потрібну для обробки форму [3]. Принцип роботи біосенсора визначається речовиною яка проникає через напівпроникну мембрану в тонкий шар біокатализатора, в якому і протікає ферментативна реакція за схемою, яка представлена на рисунку (1.1.1). Оскільки продукт ферментативної реакції визначається за допомогою електрода, на поверхні якого розташований фермент, то такий пристрій має назву ферментний електрод [3]. Між реагентом і аналітом проходить унікальна хімічна реакція. Це може бути або пряма взаємодія реагенту з аналітом, як у випадку реакції антиген/антитіло, або каталітична взаємодія іммобілізованого ферменту з обумовленою речовиною. Різноманітні біосенсиори працюють за різними принципами один з таких має назву «так-ні», який використовується для визначення надзвичайно малої концентрації речовини які мають високий рівень токсичності. Для визначення молекул які знаходяться у складній суміші або

мають близькі властивості, то для такого аналізу використовується хроматографічний метод поділу, який є високоефективним фізико-хімічним методом розділення і аналізу, в якому речовина розподіляється між двома станами: рухомим і нерухомим. Ефективність біосенсора визначається його аналітичними властивостями. Аналітичних властивостей відносять: властивості аналітичного сигналу (величину і час відгуку) у відповідь на додавання аналізованої речовини, відновлюваність системи після видалення аналіту, стабільність і багато інших. Для того щоб порівняти ефективність біосенсорів використовують такі характеристики як чутливість і межа виявлення. Чутливість визначається, як екстремове значення похідної величини відгуку по концентрації. Потрібно відрізнити нижню межу виявлення та реальну межу виявлення, яку можна отримати від розрахунків з градувального графіка, оскільки він часто екстраполюють через кілька порядків за концентрацією речовини яка аналізується. Відгук аналітичної системи на нижній межі виявлення повинен принаймні в 3 рази перевищувати відгук на нульовій концентрації речовини яка аналізується. Для того щоб збільшити чутливість датчика виявлення потрібно збільшити кількість іммобілізованого ферменту або збільшити фактор шорсткості[3]. В більшості випадків такі дії призводять до зміщення нижньої межі виявлення. Тому реально об'єктивна характеристика біосенсора є відношення чутливості до границі виявлення. В деяких випадках зазначають величину лінійного діапазону відгуку біосенсорів. Проте завдяки розвитку сучасної обчислювальної техніки лінійність відгуку можна не враховувати. Час стаціонарного відгуку сенсора при додаванні аналізованої речовини в систему визначається як час, необхідний для досягнення 90% значення стаціонарного відгуку. Час миттєвого відгуку відповідає часу, необхідного для досягнення максимальної величини першої похідної сигналу (dR / dt) максимальне після додавання визначеної речовини. Обидві величини в основному визначаються швидкостями масопереносу реагентів і продуктів через мембрани біосенсора і активністю систем біологічного розпізнавання чим вище активність, тим менше час відгуку. Селективність біосенсорів залежить від біочутливості сенсора та від типу трансдюсера. В більшості випадків селективність біосенсора визначають відношенням величини відгуку на аналізовану речовин, які взяті в рівних концентраціях. Багато ферментів є суворо специфічними, клас-селективні (неселективні) ферменти використовуються для створення клас-специфічних біосенсорів, що застосовуються при моніторингу стану навколишнього середовища і аналізі харчових продуктів. Наприклад для моментального контролю забруднення стічних вод фенолами, важкими металами і пестицидами були розроблені сенсори на основі іммобілізованих холінестераз і пероксидази [4]. Біосенсори, які працюють без додавання реагенту, називають безреагентні, з додаванням реагенту - реагентними. Біосенсори які здатні швидко відтворювати і відновлюватися можна використовувати неодноразово. Такі пристрої проводять прямий моніторинг збільшення або зменшення концентрації речовин які визначаються. Одноразовими біосенсорами

називають ті, які не можуть бути швидко відтворені і відновлені, тобто втрачають свої функціональні властивості до їх числа відносяться біо-тести і біоіндикатори. В майбутньому такі пристрої будуть слугувати для моніторингу стану навколишнього середовища. Головна ціль таких пристроїв буде полягати у попередженні а не конкретному виявленні тому точне визначення концентрації аналізованої речовини не потрібно для таких приладів. Біосенсори класифікуються за механізмом біологічного розпізнавання. Біосенсори класифікуються шляхом використовуваного трансдюсера: електрохімічні, оптичні, гравіметричні.

Електрохімічні біосенсори мають ряд переваг. Вони є менш залежні від впливу навколишнього середовища, ніж оптичні, ають можливість здійснювати передачу інформації, перетвореної в електричну форму, прямо на комп'ютер. Електрохімічні біосенсори поділяють за способом вимірювання сигналу амперметричні, потенціометричні, кондуктометричні сенсори, польові транзистори. Польові транзистори є різновидом потенціометричних сенсорів. Недоліками оптичних біосенсорів є чутливість трансдюсера до різноманітних параметрів середовища. Оптичні біосенсори є чутливими до локальної зміни температури, що в деяких випадках погано відображається на вибірковості[3]. Серед оптичних біосенсорів слід особливо виділити засновані на фізичному принципі поверхневого плазмонного резонансу [4]. До недоліків такого методу слід віднести високу чутливість трансдюсера до різних параметрів середовища. До теперішнього часу розроблено безліч найрізноманітніших хімічних датчиків. Початком історії хімічних датчиків можна вважати кінець XIX - початок XX століття. У цей час з'явився прообраз катарометра (1880 р), який використовувався для визначення вмісту водню в водяній парі, двохелектродний осередок Кольрауша (1885 г.), металеві електроди Нернста (1888 г.) і скляний електрод Кремера (1906 г.). В кінці XIX - початку XX ст. під сенсорами (сенсор від англійського слова сенс, почуття, відчуття) розуміли портативні пристрої для визначення хімічного складу середовища. Типова конструкція сенсора включала в себе чутливий елемент і перетворювач. У той час процедура стандартного хімічного аналізу представляла собою багатостадійний процес, заснований на хімічних реакціях. Таким чином, хімічний аналіз був тоді в повній мірі «хімічним». А вже в перших сенсорах використовувалися фізичний і фізико-хімічні процеси. Наступний етап у розвитку хімічних сенсорів пов'язаний з появою проточних методів аналізу. У 50-х роках XX століття аналітичне приладобудування досягло такого рівня, що стало можливим створення проточних методів аналізу. У 1952 р Мартін і Джеймс був запропоновано газовий хроматограф.[5] У всіх випадках виникла гостра необхідність в детекторах - приладах, які дозволили б в автоматичному режимі визначати концентрацію речовини в потоці газу або рідини. Наступний суттєвий внесок у розвитку сенсорного аналізу можна вважати пропозицію Бергфелда об'єднати чутливу мембрану з затвором польового транзистора. Ця пропозиція призвела до появи іоноселективного польового транзистора. Крім того, з'явилися перспективи того, що планарна технологія

розвинена в мікроелектроніці призведе до створення і масового виробництва дешевих сенсорів [4]. Мініатюрність і відносно невеликі розміри датчиків дозволяють створювати їх набори в невеликому обсязі. Так, на одному напівпровідниковому кристалі можна розмістити кілька чутливих елементів або в невеликому обсязі кілька самостійних сенсорів. Таким чином, з'явилася можливість створення «лабораторії на чипі», забезпеченою мікропроцесором для обробки результатів аналізу. Хімічні наносенсори представляють з себе датчики, які мають два типи перетворювачів один з них – хімічний другий-фізичний, які знаходяться в тісному взаємозв'язку (рис. 1.2.1). Будова хімічного перетворювача складається з поверхні на яку нанесений чутливий матеріал, що в результаті формує селективний відгук на компоненті який визначається: він здатний відображати присутність компонента який визначається і змінювати його зміст. Фізичний перетворювач або як його ще називають - трансдюсер - перетворює енергію, яка виникає в ході реакції селективного шару з компонентом що досліджується в електричний або світловий сигнал. Отриманий сигнал потім вимірюється застосовуючи світлочутливий або електронний пристрій. Електрохімічні біосенсори зазвичай вміщують в себе три електроди, а саме: електрод порівняння, робочий та допоміжний. На поверхню робочого електрода наносять біологічно чутливий матеріал, який вступає в реакцію з аналітом. Заряджені продукти реакції створюють потенціал на робочому електроді який віднімається від потенціалу на електроді порівняння для отримання вихідного сигналу. Безперечна перевага електрохімічних біосенсорів у малій залежності від впливу навколишнього середовища відміну від оптичних. Електрохімічні біосенсори здатні переносити інформацію, яка перетворена в електричну форму безпосередньо на комп'ютер. Спосіб вимірювання сигналу електрохімічних сенсорів. Розглядаючи різні способи вимірювання аналітичного сигналу, електрохімічні наносенсори поділяють на амперметричні, потенціометричні, кондуктометричні сенсори і польові транзистори. Останні, очевидно, є різновидом потенціометричних сенсорів. Залежно від способу вимірювання сигналу в електрохімічних сенсорах трансдюсери можуть бути трьох типів:

1. Потенціометричні трансдюсери – пристрої, у яких вимірюється потенціал комірки за умов нульового струму.
2. Вольтамперметричні або амперметричні трансдюсери – прилади, у яких вимірюються струми окиснення або відновлення електроактивних частинок, які виникають під час створення заданої різниці потенціалів між електродами.
3. Кондуктометричні трансдюсери – пристрої, у яких вимірюється електропровідність вимірювальної комірки за допомогою моста провідностей.

Суть методу амперометрії полягає у вимірювання струму окислення або відновлення електроактивних частинок. У більшості випадків в ході експерименту на одиничному робочому електроді (або на пучку електродів), задається постійний потенціал відносно електрода порівняння. Струм який

спостережується виявляється пропорційним або об'єму концентрації електроактивних частин, або швидкості їх витрат, або утворення в біокаталітичному шарі[4]. Робота біосенсора базується на хімічній реакції в якій глюкоза окислюється киснем повітря. У ході реакції кисень відновлюється до перексида водню. Останній селективно відновлюється на електроді. Амперометричні біосенсиори є найвигіднішими і найуспішнішими приладами з точки зору комерції саме з них розпочався розвиток галузі аналітичної біотехнології. Перші дослідження в галузі біосенсорів, і саме амперометричних, були зроблені вченим Л. Кларком, який 1956 р. присвятив працю на основі досліджень кисневого електрода. Після проведення багаторазових випробувань та виступ на симпозіумі у Нью-Йоркській академії наук був запропонований метод як зробити електрохімічний сенсор розумнішим додавши до нього ферментний перетворювач у вигляді мембранного сендвіча. Ця концепція була підтверджена експериментами, в яких глюкозооксидазу розміщували на чутливій поверхні кисневого електрода Кларка, вкритій напівпроникною діалізною мембраною, та відділяли від досліджуваного розчину додатковою діалізною мембраною. Потенціометричні вимірювання полягають у визначенні різниці потенціалів в умовах найменшого струму або між робочим електродом і електродом порівняння, або між двома електродами порівняння, розділений напівпроникаючою мембраною. В якості трансьдюсера, як правило, виступає іон-селективний електрод (ІСЕ). Найбільш часто потенціометричні біосенсиори розробляють на основі рН-електродів. Фундаментальна межа чутливості подібних пристроїв є чутливість трансьдюсера. Чутливість іон-селективної потенціометричної мембрани електрода, в тому число скляні рН електроди, польові транзистори . Істотним недоліком усіх потенціометричних систем, заснованих на описаних принципах, є їх чутливість до буферної ємності розчину, що помітно обмежує їх застосування. Для збільшення вибіркової на входному пристрої перед хімічно чутливим шаром розміщуються мембрани, які вибірково пропускають частинки компонента який визначає(іонообмінні, гідрофобні та інші плівки)[6]. Кондуктометрія – це метод який має важливу різницю порівняно з потенціометрією та амперометрією, а саме електродні електрохімічні реакції не відбуваються взагалі або не враховуються. Кондуктометричні засоби вимірювання рідше застосовуються в біосенсорах, особливо в тих випадках де в якості біорозпізнавального елемента використовується фермент, проте це дуже перспективний клас високочутливих приладів. Через те що більшість аналізованих рідин має суттєву фонову провідність, яка легко змінюється під дією різних чинників застосування методу кондуктометрії знижує вибірковість та можливість використання для реєстрації. Цю проблему можна вирішити за допомогою застосування диференціальної схеми вимірювань. Завдяки цьому зміна фонові провідності, вплив коливань, температури та інших чинників не страшні біосенсорам. Схема кондуктометричної комірки диференціального типу зображена на (рис. 1.2.2). Системи на основі іоночутливого польового

транзистора є звичайною потенціометричною системою, тільки вхідний транзистор перенесений з електронної схеми високоомного вольтметра безпосередньо в аналізований розчин. Це дозволяє істотно підвищити роздільну здатність трансдьюсера і тим самим збільшити чутливість виготовлених на їх основі біосенсорів. Біочуттєвий шар зазвичай поміщають безпосередньо на поверхні іоночутливої мембрани, що є частиною затвора польового транзистора. Істотним недоліком усіх потенціометричних систем, заснованих на описаних принципах, є їх чутливість до буферної ємності розчину, що помітно обмежує їх застосування. На основі хімічних наносенсорів розробляються сенсорні аналізатори, які є пристроями для ідентифікації речовини яка цікавить в заданому діапазоні його концентрацій. Зауважу, що до хімічних наносенсорів відносяться також біосенсори. Електрохімічні біосенсори зробили неабиякий внесок в розвиток різних галузей та вирішення багатьох проблем. Розглянемо детальніше де застосовуються такі біосенсори. Як правило сучасні електрохімічні біосенсори виготовляються шляхом модифікування поверхні металевих і вуглецевих електродів з використанням біоматеріалів, таких як ферменти, антитіла або ДНК. Останнім часом необхідність розробки електрохімічних сенсорів стала особливо актуальна для клінічної діагностики захворювань, в яких велике значення має раннє виявлення або моніторинг. Залежно від сфери застосування були розроблені різні типи електрохімічних біосенсорів. Найефективніше застосування цей тип біосенсорів знайшов себе у медицині для виявлення рівня цукру в крові, для виявлення глибини інфаркту міокарда, а також в промисловості для максимально точного виявлення речовин.

Значна частина оптичних біосенсорів засновані на явищі поверхневого плазмонного резонансу та використовують властивість благородних металів таких як (золото або срібло) та інших матеріалів, а саме те, що тонкий шар золота, нанесений на поверхню, яка має високий коефіцієнт заломлення скляну поверхню може абсорбувати лазерне світло, створюючи електронні хвилі (поверхневі плаزمони) на золотій поверхні [5]. Це явище відбувається тільки під певним кутом падіння і довжині хвилі падаючого світла і залежить від поверхні золотого шару та приєднаного аналізу до біологічного рецептора на поверхні цього шару який генерує помітний сигнал. Сенсори на основі поверхневого плазмонного резонансу або сенсорний чіп, який складається з пластикової частини, несучої скляну тарілку, одна сторона якої покрита мікроскопічними шаром золота або іншого виду благородного металу. Ця сторона взаємодіє з оптичною апаратурою приладу для розпізнавання біомолекул. Протилежна сторона тарілки з'єднується з проточною рідиною. Розчинені в рідині реагенти можуть безпосередньо контактувати з поверхнею тарілки. Ця сторона скляного сенсорного чіпа може бути різними шляхами модифікована, дозволяючи легко приєднувати молекули які цікавлять. Зазвичай вона покрита карбоксиметілдекстраном або подібними речовинами. Світло з фіксованою довжиною хвилі відбивається від поверхні покритої золотом під кутом повного внутрішнього відбиття, і

детектується всередині приладу. Це світло індукує зникаючу хвилю, яке проникає крізь скляну тарілку в розчин поблизу її поверхні. Коефіцієнт заломлення проточного боку сенсорного чіпа прямо впливає на поведінку світла, відбитого від сторони покритої золотом. Зв'язок речовин з поверхнею проточного боку чіпа впливає на коефіцієнт заломлення, що можна зареєструвати за допомогою оптичної апаратури. Завдяки цьому біологічні взаємодії можуть бути виміряні з високим рівнем чутливості. До оптичних методів які найбільше використовуються належать: абсорбція, флюоресценція, хемілюмінесценція та поверхневий плазмонний резонанс (ППР). Таке явище як абсорбція у оптичних біосенсорах полягає у здатності речовини поглинати оптичне випромінювання не зважаючи на такі чинники як: агрегатний стан, концентрація, довжина хвилі, будова атомів та ін. Оптичні біосенсори які засновані на зміні в абсорбції відповідного індикаторного компонента і не потребують повного внутрішнього відображення широко застосовуються у різних галузях. Наприклад, розроблений повністю функціонуючий прототип приладу для визначення казеїну в молоці. Прилад заснований на виявленні змін в абсорбції золотого шару. Таке явище як відображення в оптичних біосенсорах відбувається при падінні потоку світла на кордон розподілу двох середовищ частина якого відбивається назад. Відбиття пучка світла залежить від властивостей середовищ і розмірів нерівностей на кордоні розподілу цих середовищ. Інтенсивність відбитого світла можна визначити за допомогою будови атомів, молекул та іонів які знаходяться в поверхневому шарі речовини, а також процес поглинання та багаторазового розсіювання. Також потрібно враховувати довжину падаючого світла. Ці особливості дозволяють використовувати ефект для дослідження складу і будови поверхневих шарів твердого тіла і митних середовищ, а також ідентифікувати адсорбовані з'єднання. Явище люмінесценції представляє собою світіння речовини яке виникає після поглинання енергії збудження. Явище фотолюмінесценції має одне з найбільших значень у визначенні складу речовини завдяки тому що джерелом явища є світло. Широко використовується в молекулярній біології як дослідний інструмент ДНК-мікро чіпу. Найбільш перспективний метод біодетектування завдяки ряду переваг є метод заснований на поверхнево-плазмонному резонансі (ППР). Одна з таких переваг це широкий спектр речовин які можна ідентифікувати на відмінно від флуоресцентних біосенсорів в яких важливо брати широкий спектр розсіювання та поглинання. Також до переваг відноситься висока швидкодія тому за об'єктами можна спостерігати в режимі реального часу. Реалізація приладів для розпізнавання біомолекул на основі ППР можлива завдяки особливості плазмонів, яка полягає у тому, що більша частина енергії плазмона зосереджена в електромагнітному полі тонкого шару діелектрика поруч з шаром металу. Завдяки цій особливості плазмони мають високу чутливість до діелектричної проникності, через вони можуть чітко вимірювати, розпізнавати біомолекули на базі оптичного пристрою. Оптичні сенсори мають ряд переваг перед електрохімічними та механічними методами.

Основною їх перевагою є висока швидкодія, точність вимірювання параметрів аналізу, висока чутливість та широкий діапазон застосування[5]. Недоліком є висока собівартість вимірювального обладнання. На вимірювання впливає розсіяне світло але вплив цієї перешкоди можна знизити застосувавши імпульсне джерело світла.

Висновки до розділу 1

Було проведено огляд різних типів біосенсорів та їх структур. Біосенсори класифікуються по механізму біологічного впізнавання та за типом використовуваного трансдюсера. Біосенсори класифікуються шляхом використовуваного трансдюсера на: електрохімічні, оптичні, гравіметричні. Електрохімічні біосенсори мають переваги: є менш залежними від ефектів навколишнього середовища, ніж оптичні, дозволяють здійснювати перенесення інформації, перетвореної в електричну форму, безпосередньо на комп'ютер. Електрохімічні біосенсори поділяють за способом вимірювання сигналу амперметричні, потенціометричні, кондуктометричні сенсори, польові транзистори(ПТ). ПТ є різновидом потенціометричних сенсорів. Оптичні сенсори мають ряд переваг перед електрохімічними. Основна з них полягає у високій швидкодії, точності вимірювання параметрів аналізу, високій чутливості та широкому діапазоні застосування. Недоліком є висока собівартість вимірювального обладнання, чутливість перетворювача до різних властивостей середовища, в тому числі до локальної зміни температури, що в деяких випадках погано позначається на вибірковості системи. До найбільш застосовуваних оптичних методів виявлення біомолекул відносять: абсорбція, флюоресценція, хемілюмінесценція та поверхневий плазмонний резонанс (ППР). Поверхневий плазмонний резонанс (SPR) являє собою резонансне коливання електронів провідності на кордоні розподілу між негативним і позитивним матеріалом діелектричної проникності яка збуджується завдяки падаючому світлу. ППР є основою багатьох стандартних приладів для вимірювання адсорбції матеріалу на плоских металевих (зазвичай золотих або срібних) поверхнях або на поверхні металевих наночастинок. Явище поверхнево плазмонного резонансу відбувається при порушенні умови повного внутрішнього відбиття, коли значна частина енергії падаючого на поверхню металу світла перетворюється в енергію плазмонів, внаслідок чого інтенсивність відбитого від поверхні металевої плівки світла різко спадає. ППР характеризується певним кутом відбиття та значенням показника заломлення речовини над поверхнею металу [6]. Умови резонансного збудження поверхневих плазмонів залежать не тільки від властивостей металевої поверхні, на якій вони порушуються, а й від діелектричних властивостей середовища (повітря, адсорбована плівка), з якої ця поверхня межує[6]. Будь-яка тонка плівка на поверхні металу одразу змінює умови резонансного збудження в місці поверхневих плазмонів. Інакше кажучи, резонансне поглинання буде спостерігатися при іншому куті падіння або іншій довжині хвилі падаючого світла. Описані вище залежності лежать в основі конструкції поверхнево-плазмонного мікроскопа, що дозволяє за допомогою видимого світла спостерігати об'єкти нанорозмірної

товщини. Існує така залежність якщо налаштувати мікроскоп на кут, відповідний оптимальному порушенню поверхневих плазмонів для чистої металевої плівки, то в тих місцях, де знаходиться вимірюваний об'єкт, інтенсивність відбитого світла буде збільшуватись пропорційно товщині фрагменту. Поверхневий плазмонний резонанс знайшов своє застосування в різних галузях для визначення присутності молекул на поверхні. Поверхневі плаزمони представляють з себе хвилі змінної щільності електричного заряду, які можуть виникати і поширюватися в плазмі металу уздовж її поверхні або вздовж тонкої металевої плівки. [6] Виявилось, що за певних умов поверхневі плаزمони можуть збуджуватися під впливом поляризованого світла. Схема спостереження поверхневого плазмонного резонансу, яку стали називати за прізвиськом автора "геометрією Кречман", показана. Поверхневий плазмонний резонанс (ППР) – унікальний метод розпізнавання оптичних констант оточуючого середовища, який є перспективним у сенсорному застосуванні та є фундаментальним діагностичним засобом реєстрації структурних особливостей металевих наноструктур. Висока чутливість можлива за рахунок резонансної взаємодії електромагнітного випромінювання з металами та реєстрації на межі поділу метал-діелектрик явища ППР. В наночастинках ППР стає обмежений розмірами наночастинок тому вводиться таке поняття як локалізований плазмонний резонанс. Локалізований поверхневий квант міститься в дрібних металевих наночастинках золота або срібла. Не зважаючи на достатньо малі розміри частинок (діаметр частинки менше довжини хвилі вхідного електромагнітного випромінювання), вона може бути розглянута як коливальний диполь. Енергія електромагнітного випромінювання яка поглинута може істотно нагрівати наночастинки [6]. При локалізованому ППР, світло взаємодіє з частинками набагато меншими від довжини хвилі світла яке падає. Це явище відбувається за рахунок того, що плазмон що коливається локально біля наночастинки з частотою відомою як частота локалізованого поверхнево плазмонного резонансу (ЛППР). Подібно до ПППР, ЛППР чутливий до змін в локальному діелектричному середовищі. В більшості випадків вимірювання змін в діелектричному середовищі можливе шляхом вимірювання зсуву довжини хвиль або кута. Обидва режими (ППР та ЛППР) можна застосовувати за даними термодинаміки та кінетики в реальному часі для процесів зв'язування [7]. Варто зазначити що ПППР спектроскопія забезпечує вищу чутливість до змін показника заломлення зовнішнього середовища ніж ЛППР спектроскопія. Відносно однакові показники чутливості якщо вимірювати короткий діапазон в ньому що знаходяться біля поверхні металу. Такий результат набагато меншої чутливості ЛППР сенсорів, через те, що ефективна глибина проникнення електромагнітного (ЕМ) поля в 40-50 разів коротше ніж у сенсорів ПППР. Завдяки інноваціям в синтетичній та літографічній техніці можна налаштувати довжину хвилі локалізованого резонансу у видимій нижній ІЧ, та аж до ІЧ областях ЕМ спектру, для різноманітної форми, розміру та матеріалу наночастинок котрі підтримують ЛППР. Ці властивості дають змогу гнучкого проектування експериментів з ЛППР сенсингом [7].

Висновки до розділу 2

В цьому розділі було розглянуто взаємодію оптичного випромінювання з металічними частинками. Детально описано методи поверхнево плазмонного резонансу та локалізованого плазмонного резонансу. Головна відмінність цих методів полягає у тому що поверхневий плазмонний резонанс (ППР) як унікальний метод розпізнавання оптичних констант оточуючого середовища, який є перспективним у сенсорному застосуванні та є фундаментальним діагностичним засобом реєстрації структурних особливостей металевих наноструктур стає обмежений в наночастинках, тому вводиться таке поняття як локалізований плазмонний резонанс. При локалізованому ППР, світло взаємодіє з частинками набагато меншими від довжини хвилі падаючого світла. Локалізований поверхневий квант міститься в дрібних металевих наночастинках золота або срібла. Лазерний пінцет це - прилад, який дозволяє маніпулювати мікроскопічними об'єктами з допомогою лазерного світла. Він дозволяє прикладати до діелектричних об'єктів сили розмірністю до наноньютонов (10⁻⁹Н) і вимірювати відстані від декількох нанометрів.

Принцип роботи лазерного пінцета полягає в тому, що деякі оптично прозорі мікрочастинки, що мають розміри більше довжини хвилі падаючого світла (наприклад, живі клітини) одночасно відображають і заломлюють світло лазера. Згідно з другим законом Ньютона, це призводить до виникнення сил відштовхування частинок в напрямку від джерела світла і одночасно сил, які повертають частку в початкове положення. При переміщенні частки в фокус променя лазера ці сили врівноважуються, і частка потрапляє в «пастку». Під час зміщення частинки від цього положення викликає поява додаткової сили, що повертає частку назад.

Напрямок дії озсіювальної сили \mathbf{F}_{sc} та поглинальної сили \mathbf{F}_{abs} задається вектором Пойнтинга \mathbf{S} у точці розміщення наночастинки з координатами (x_p, y_p, z_p) . Якщо мікрооб'єктив з числовою апертурою NA фокусує лазерне випромінювання у середовищі з показником заломлення n_0 , то у поздовжньому центральному перерізі перетяжки лазерного пучка вектор Пойнтинга \mathbf{S} у точці з координатами (y_p, z_p) є дотичним до гіперболи, яка проходить через цю точку, і описується рівнянням

Нанотехнології на сьогоднішній день займає важливе місце в області сучасних досліджень, які займаються конструюванням, синтезом і маніпулюванням структурами частинок в інтервалі від 1-100 нм[8].

Діапазон речовин, які можуть бути об'єктами досліджень біодетектування на основі ППР, достатньо великий через те, що вони не повинні мати якісь специфічні властивості такі як наприклад у флуоресценції, особливий спектр розсіювання або поглинання. Металічні частинки, які використовують як чутливий елемент біосенсора на ППР сприяють високій швидкості роботи при якій час аналізу може займати декілька хвилин, а також можливість спостерігати за змінами характеристик в реальному часі[9].

Принцип роботи таких біосенсорів заснований на поверхнево плазмовому резонансі (ППР). Уявімо собі призму, одна з поверхонь якої буде покрита плівкою металу (срібла або золота). Якщо плівка має значну товщину, то енергія падаючого світла буде поглинатися в шарі плівки і перевипромінювати в зворотному напрямку, тобто плівка буде служити дзеркалом. У разі якщо товщина плівки досить мала, частина електромагнітної хвилі досягне її зовнішньої поверхні. Якщо енергія електричного поля фотонів буде досить велика, то вони будуть взаємодіяти з вільними електронами на поверхні золота. Частина фотонів при цьому буде поглинута, передаючи свою енергію поверхневим плазмонам, що призведе до зменшення інтенсивності відбитого світла. Плазмони- це квазічастинки, що виникають в провідниках за рахунок коливань електронів провідності щодо кристалічної решітки.[10] Плазмони визначають оптичні властивості металів. Промінь світла який має частоту нижчу ніж у плазмонів відбивається, тому що електрони в металі екранують електричне поле в світлову електромагнітну хвилю. Світловий потік з частотою вище частоти плазмонів проходить, тому що електрони не встигають швидко відреагувати, щоб екранувати його.

У багатьох металах, частота плазмонів знаходиться в ультрафіолетовій області спектра, через що вони блищать у видимому діапазоні. За аналогією зі звичайними (або об'ємними) плазмонами в теорії вводиться поняття поверхневих плазмонів. Областю їх локалізації є поверхня металів, де локалізовані поверхневі заряди.

Поверхневий плазмовий резонанс виникає за умови рівності імпульсів поверхневого плазмона і компоненти вектора імпульсу фотона, паралельній площині плівки. Імпульс плазмона залежить від процесів, що протікають на поверхні плівки, наприклад адсорбції на ньому різних біомолекул. Імпульс фотона в свою чергу залежить від кута падіння і його енергії, тобто довжини хвилі. Детектором поверхневого плазмонного резонанса служить спеціальний оптичний пристрій, робоча поверхня якого знаходиться в безпосередньому фізичному контакті з досліджуваним зразком (наприклад, омивається досліджуваним розчином)[11]. Досліджуваний зразок рівномірно подається на робочу поверхню сенсора, де відбувається їх взаємодія. Після припинення подачі зразка відбувається процес дисоціації. Будь-яка зміна взаємодії на поверхні фіксується сенсором. За даними сенсора прилад в режимі реального часу будує криву взаємодії досліджуваного зразка з сенсорним чіпом - т.зв. сенсограму. Після закінчення вимірювання поверхню чіпа обробляють регенеруючим розчином, який видаляє залишки зв'язався зразка з поверхні, після чого прилад готовий до введення нового зразка. Програмне забезпечення приладу дозволяє проаналізувати отримані дані із застосуванням широкого спектру різних математичних моделей з метою визначення різних параметрів реакції (константи дисоціації / асоціації, концентрація досліджуваної речовини і ін.).[12] Метод реєстрації ППР має переваги перед класичними методами дослідження міжмолекулярної взаємодії, оскільки не вимагає мічення реагентів ні радіоактивними, ні будь-

якими іншими мітками і дозволяє визначати рівноважні параметри взаємодії без поділу вільних і зв'язаних форм. Крім того, чутливість методу дає можливість працювати з малою кількістю реагентів. Додаткова перевага методу виявляється при вивченні специфіки взаємодії, тому що пов'язані з детектором молекулярні комплекси можна потім аналізувати відповідними способами[13].

Відомий біосенсор ЗСЕ(WO) 92/05426 базується на принципі ППР, де світловий потік повністю відображається від внутрішньої поверхні прозорого блоку. Робочий елемент біосенсора складається з прозорого блоку на який нанесений шар срібла товщиною 45-60 нм. Біосенсор реєструє зміну показника заломлення шару матеріала який досліджується. Для того щоб це стало можливим потрібно створити умови виникнення резонансу поверхневих плазмонів при повному внутрішньому відображенні світла. Для цього потрібно змінити кут падіння проміння лазера [14]. Крива поверхневого плазмового резонансу для срібла як робочого елемента має малу напівширину завдяки цьому можна з високою точністю визначити положення мінімуму резонансної кривої математичної моделі. Існує ряд недоліків при використанні срібла як робочого елемента біосенсора: на нього суттєво впливає зовнішнє середовище, він зберігає свої властивості досить короткий проміжок часу, недостатня чутливість до зміни показника заломлення світла в матеріалі який досліджується нанесеному на шар срібла. Ще один оптичний сенсор Великобританія (GB) 2197068 (8725502), що працює на явищі ППР містить робочий елемент який виконаний у вигляді призми на якій нанесена плівка золота товщиною 45-60 нм. В оптичних сенсорах ППР застосовується для виявлення специфічного матеріалу, наприклад антигену у крові. Світловий пучок розсіюється і здійснює внутрішнє відображення від поверхні призми вкритою плівкою золота і реєструється фотодетектором. Діелектричні властивості матеріалу, який приєднується до плівки золота, визначають кут відображення, при якому в результаті ППР інтенсивність відбитого світла зменшується[15].

Висновки до розділу 3. В цьому розділі була описана модель біосенсора на основі лазерного пінцета, побудована математична модель лазерного пінцета. Було розглянуто металічну наночастинку як чутливий елемент біосенсора на основі плазмонного резонансу. Метод реєстрації ППР має переваги перед класичними методами дослідження міжмолекулярної взаємодії, оскільки не вимагає мічення реагентів ні радіоактивними, ні будь-якими іншими мітками і дозволяє визначати рівноважні параметри взаємодії без поділу вільних і зв'язаних форм. Крім того, чутливість методу дає можливість працювати з малою кількістю реагентів, а висока швидкодія дозволяє спостерігати процес в режимі реального часу.

Модель біосенсора на основі лазерного пінцета

4.1 Структурна схема оптичного біосенсора на основі лазерного пінцета.

Складові схеми:

1. Комп'ютер;

2. Лазерний діод ЛД;
3. Коліматор;
4. Мікрооб'єктив лазерного пінцета;
5. Наночастинка-зонд (Au, Ag);
6. Кювета з досліджувальним біологічним субстратом;
7. Мікроскоп;
8. Цифрова камера;
9. Волоконно-оптичний зонд з електродами;
- 10.Фотоприймач;
- 11.Підсилювач НЧ;
- 12.АЦП;
- 13.Драйвер лазерного діода;
- 14.Монітор.
- 15.Генератор низької частоти.

Лазерний (або оптичний) пінцет представляє з себе пристрій, що використовує сфокусований промінь лазера для пересування мікроскопічних об'єктів. Поблизу точки фокусування лазерного променя світла тягне до фокусує все, що знаходиться навколо. [16] Сила сітла яка діє на навколишні об'єкти, невелика, але достатня, щоб ловити наночастинки в фокус лазерного променя. Як тільки частка попадає в фокус, її можна переміщувати разом з лазерним променем. За допомогою оптичного пінцета можна захоплювати та рухати частинки розміром від 1 до 10 нм мкм і збирати з них різні структури. На сьогодні всі дослідження показують що лазерний пінцет стане одним з потужних інструментів нанотехнологій[17].

В даній установці було застосовано мініатюрний пристрій, здатний генерувати шукане випромінювання - це так званий лазерний діод (2). Для того щоб зрозуміти принцип роботи даного пристрою потрібно розібратися звідки з'являються фотони, розглянемо процес рекомбінації (зникнення пари вільних носіїв - електрона і дірки). При подачі прямої напруги до р-п переходу діода виникає інжекція, тобто різке збільшення концентрації нерівноважних носіїв. В процесі інжекції, що рухаються назустріч один одному, електрони і дірки рекомбінують, виділяючи енергію у вигляді частки - фотона і квазічастинки - фонони. Так відбувається спонтанне випромінювання, що спостерігається в світлодіодах Досить висока вихідна оптична потужність і хороші експлуатаційні параметри приладу дозволяють використовувати його у вимірювальних високоточних пристроях на виробництві. Для того щоб ЛД прослужив довго, йому необхідні стабільні параметри напруги живлення або струму. Саме це завдання покладаються на спеціальну схему - драйвер лазерного діода(13) . У сфері «обов'язків» драйвера ЛД входить не тільки регулювання потужності, але і терморегуляція, яка здійснюється через охолоджувач. Конструкція керуючого блоком при цьому може бути як суміщена, так і роздільна. Випромінювання лазерного діода формується коліматором (3) у паралельний пучок такого діаметра, який заповнює собою вхідну апертуру мікрооб'єктива , що потрібно для створення максимально можливого для даного об'єктива

градієнта електромагнітного поля. Коліматорні приціли за своєю суттю є оптичними прицілами: вони служать для тих самих цілей, що оптичні приціли, вони також складаються з корпусу, оптичної і механічної системи. Основна відмінність коліматорних прицілів від оптичних в тому, що зображення прицільної марки у них формується за допомогою паралельних променів, що йдуть від джерела світла, які повністю відображаються лінзою об'єктива в око стрілка. З виходу коліматора пучок потрапляє на світло розділюючу призму, яка спрямовує його на мікрооб'єктив (4) з великою числовою апертурою. Мікрооб'єктив фокусує лазерне випромінювання в кювету з водою та досліджуваним об'єктом (6).

Для візуалізації оптичного захоплення частинки використано розсіяне на ній світло, яке повертається в мікрооб'єктив, проходить світло розділюючу призму і потрапляє на світло розділюючу призму. З цієї призми один пучок потрапляє на окуляр і фокусується на чутливу матрицю цифрової камери (8), яка підключена до комп'ютера (1). Інший пучок зі світло розділюючої призми потрапляє на інтерференційний фільтр і лінзою фокусується на фотодіоді. Сигнал з фотодіоду потрапляє на НЧ підсилувач(11), а потім підсилений сигнал подається на аналого-цифровий перетворювач (АЦП) (12) і перетворений цифровий сигнал потрапляє до комп'ютера (1). Для запобігання поверненню лазерного випромінювання назад в резонатор лазерного діода, що може спричинити нестабільність лазерної генерації, в схемі використано оптичний ізолятор. Оптичний ізолятор складається з двох поляризаторів, осі пропускання яких знаходяться під кутом 45° одна до одної, та розташованого між ними елемента Фарадея з прикладеним постійним магнітним полем вздовж оптичної осі ізолятора (поле створюється постійним магнітом). Прямий лазерний пучок проходить крізь перший поляризатор і елемент Фарадея (магнітооптичний кристал), в якому відбувається поворот площини поляризації на 45° , а потім через другий поляризатор. Зворотний лазерний пучок проходить через другий поляризатор, а елемент Фарадея знову повертає площину поляризації випромінювання на 45° , так що площина поляризації випромінювання виявляється ортогональною до осі пропускання першого поляризатора і поляризатор не пропускає таке випромінювання, захищаючи лазер від паразитної модуляції його параметрів.

4.2 Вибір джерела випромінювання для лазерного пінцета.

Оптичний пінцет, лазерний пінцет або як її ще називають оптична пастка це - оптичний прилад, що дозволяє утримувати і переміщувати и в просторі мікро- і нанорозмірні об'єкти, захоплені в перетяжку (фокус) лазерного променя[18].

Вперше про феномен утримання мікроскопічних часток в промені лазера був описаний в 1970 р Артуром Ашкіним (Arthur Ashkin), співробітником компанії Bell Telephone Laboratories в США, який займався вивченням тиску світла на мікрооб'єктах[19]. Після ряду експериментів Ашкін та його колеги змогли показати на практиці оптичну пастку на основі інфрачервоного лазера. Даний експеримент показав що пастка може: захоплювати, утримувати і рухати в просторі різні біологічні об'єкти: віруси,

бактерії, клітини та багато іншого. Клітини які попали в оптичну пастку клітини продовжували ділитися, що доказувало відсутність шкідливого впливу інфрачервоного лазерного випромінювання на біологічно активні об'єкти.

Принцип роботи лазерного пінцета полягає в тому, що оптично прозорі мікрочастинки, що мають розміри більше довжини хвилі падаючого світла одночасно відображають і заломлюють світло лазера що згідно з другим законом Ньютона призводить до виникнення сил відштовхування частинок в напрямку від джерела світла і одночасно сил, які повертають частку в початкове положення. При приміщенні частки в фокус променя лазера ці сили врівноважуються, і частка потрапляє в пастку. Її зміщення від цього положення викликає поява додаткової сили, що повертає частку назад. Металічні частинки розміром менше довжини хвилі лазерного випромінювання також захоплюються добре сфокусованим лазерним променем. Їх поведінка пояснюється з точки зору теорії електромагнетизму. [15] Металічна частки поляризуються в електричному полі лазерного променя і зміщуються до осі променя, де напруженість поля максимальна. Відкриття Ашкіна зробило ключовий внесок у розвиток маніпуляції мікрооб'єктами і подальші винаходи нових видів оптичних пасток. Сучасні оптичні пінцети використовують один або декілька лазерів. Завдяки цьому можна створювати стаціонарні і рухливі пастки і працювати з декількома об'єктами одночасно. Завдяки здатності маніпулювати мікрооб'єктами і вимірювати піконьютонні сили і нанометрові переміщення, оптичний пінцет вважається одною з найважливіших інструментів для нанотехнологій[20]. Для «захоплення» металічної наночастинки оптичний пінцет застосовує сфокусований лазерний промінь. Градієнт інтенсивності випромінювання затягує частку в область перетяжки пучка, тоді як тиск світла виштовхує її у напрямку оптичної осі. Коли градієнтна сила більша за тиск світла частка потрапляє в зону перетяжки, а в іншому випадку частинка рухається уздовж оптичної осі.[21]

Види лазерів: Твердотільні лазери базуються на люмінесцентних твердих середовищах таких як діелектричні кристали або скло. В якості активаторів використовуються іони рідкісноземельних елементів або іони групи заліза Fe. Сучасні твердотільні лазер можуть працювати в імпульсному, безперервному і квазістабільному режимах[22]. Напівпровідникові лазери також є твердотільними, але зазвичай виділяються в окрему групу через те що мають відмінний механізм накачування. Інжекція надлишкових носіїв заряду через рп перехід, а квантові переходи відбуваються між дозволеними енергетичними зонами, а не між дискретними рівнями енергії. Напівпровідникові лазери є одним з найбільш використовуваних в побуті. Також такі лазери широко застосовуються в спектроскопії, в системах накачування інших лазерів, а також в медицині[23]. Вертикально випромінюючі лазери – різновид діодних напівпровідникових лазерів, що випромінюють світло в напрямку, перпендикулярному поверхні кристала, на

відміну від звичайних лазерних діодів, випромінюючих в площині, паралельній поверхні пластин [30].

4.3. Контроль положення наночастинки у перетяжці лазерного пучка.

Останнім часом особлива увага приділяється наночастинкам благородних металів - золота і срібла. Така увага пов'язана з їхньою стабільністю, технологічною простотою виготовлення і модифікації[32]. Формою і розміром частинок можна керувати за допомогою завдання температури і часу процесу відновлення, а також з урахуванням природи покриваючих частку лігандів. Яскраво забарвлені розчини, що змінюють свій колір залежно від ступеня агломерації, представляються ідеальними об'єктами для наносенсорів. Якісний результат детектування видно неозброєним оком. Деякі частинки які опинилися в лазерному промені прагнуть в максимальну інтенсивну область світла. Ілюстрацію цього можна побачити на (рис 4.3.1)

Рис 4.3.1 Схематичне зображення фокусу червоного променя який сходиться і розходиться. У місці фокусування променя видно куляста частинка.

Перед тим як пояснити прагнення частинок до фокусу, зазначу той факт що промінь світла є електромагнітною хвилею, і зі збільшенням інтенсивності світла збільшується напруженість електричного поля в поперечному перерізі променя. Через це величина напруженості електричного поля (ЕП) у фокусі може збільшуватися у багато разів. Тому, ЕП світлового променя який фокусує промінь стає неоднорідним, збільшуючись пропорційно інтенсивності по мірі наближення до фокусу[32]. Нехай потрібно утримати діелектричну частинку за допомогою оптичного лазерного пінцета. Відомо, що зовнішнє електричне поле діє на молекулу діелектрика, переміщаючи всередині неї різнойменні заряди в різні боки, в результаті чого ця молекула стає диполем і переміщується уздовж силових ліній поля. Таке явище має назву поляризація діелектрика. Під час поляризації діелектрика на його протилежних по відношенню до зовнішнього поля поверхнях з'являються різнойменні і рівні за величиною електричні заряди.

Припустимо що діелектрична частинка знаходиться в світловому промені далеко від фокусу. В такому випадку вважається що частинка знаходиться в однорідному електричному полі. Так як напруженість електричного поля зліва і праворуч від частки одна і та ж, то і електричні сили, що діють на позитивні (F +) і негативні (F-) пов'язані заряди, теж однакові. В результаті, частка, що знаходиться в однорідному електричному полі залишиться нерухомою[33].

Розглянемо інший випадок зя якого частинка знаходиться поруч з областю фокуса, де напруженість електричного поля (густота силових ліній) поступово збільшується при русі зліва направо. В такому випадку частинка теж буде поляризована, але електричні сили, що діють на позитивні (F +) і негативні (F-) пов'язані заряди, будуть різні, тому що напруженість поля зліва від частки менше, ніж справа. Тому на частку буде діяти результуюча сила, спрямована вправо, до області фокуса. На крайню праву частку (див. Рис. 4.3.2), що знаходиться з іншого боку фокуса, буде діяти результуюча сила

спрямована вліво до області фокуса. В результаті всі частинки, що опинилися у сфокусованому промені світла, будуть рухатися до області перетяжки, як маятник прагне до стану рівноваги[34].

Рис 4.3.2 Схематичне зображення трьох кулястих частинок що знаходяться в неоднорідному електричному полі сфокусованим світловим промінем поруч з областю фокуса. Знаками "+" і "-" показані пов'язані заряди, що виникли на поверхні частинок при їх поляризації. Електричні сили, що діють на позитивні (F +) і негативні (F-) пов'язані заряди, викликають рух частинок у напрямку до області перетяжки.

Заломлений промінь світла утримує частинку в центрі променя. У випадку коли діаметр частинки набагато більший довжини хвилі світла стають справедливими закони геометричної оптики, а саме те, що частка може заломлювати світло, тобто змінювати напрямок променя. За законом збереження імпульсу сума імпульсів світла (фотонів) і частинки повинна залишатися незмінною. Інакше кажучи якщо частка переломлює світло, наприклад, направо, то сама вона повинна рухатися наліво. Потрібно пам'ятати що інтенсивність світла в лазерному промені максимальна уздовж його осі і поступово падає при віддаленні від неї. Як наслідок, якщо частка знаходиться на осі світлового пучка, то число фотонів, що відхиляється наліво і направо, однакові [35]. Завдяки цьому частка залишається на осі (Рис. 4.3.3,б).

Рис. 4.3.3 (а, б) Схематичне зображення кулястої частинки, що знаходиться в сфокусованому промені світла зліва від його осі (а) і на його осі (б). Інтенсивність червоного кольору відповідає інтенсивності світла в даній області променя. 1 і 2 - промені, переломлення яких показано на малюнку, а товщина відповідає їх інтенсивності. F1, F2, і - сили, що діють на частинку відповідно до закону збереження імпульсу, при перегибанні променів 1 і 2, відповідно. Fnet - результуюча F1 і F2..

При зміщенні частинки вліво відносно осі світлового променя (Рис.4.3.3, а), число фотонів, відхиляються ліворуч (Промінь 2 на рис. 4.3.3, а), перевищує їх число, відхиляються направо (промінь 1 на рис. 4.3.3, а). В результаті виникає складова сили Fnet, спрямована до осі променя, направо. На частинку, зміщену вправо від осі променя, буде діяти результуюча сила, яка спрямована вліво а потім знову до осі даного променя. Таким чином, всі частинки, які опинилися не на осі променя, будуть прагнути до його осі, як маятник до положення рівноваги.

Винятки з правил. Щоб оптичний пінцет використовував сили, описані вище, необхідно, щоб частка поляризувалася в зовнішньому електричному полі і на її поверхні з'являлися пов'язані заряди. При цьому пов'язані заряди повинні створювати поле, спрямований в протилежній стороні. Тільки в цьому випадку частинки кинуться до області фокуса. Якщо ж діелектрична постійна середовища, в якій плаває частка, більше діелектричної постійної речовини частинки, то поляризація частки буде зворотним, і частка буде прагнути втекти з області фокуса [36]. Так, наприклад, ведуть себе повітряні бульбашки, плаваючі в гліцерині. Якщо абсолютний показник заломлення

матеріали частинки буде менше, ніж у середовища, в якій вона знаходиться, то частка буде відхиляти світло в іншу сторону, а значить, прагнути відійти подалі від осі променя. Приклад може бути той же повітряні бульбашки в гліцерині. Щоб такі методи працювали краще необхідно величину відносного показника заломлення матеріалу частинки робити якомога більшим. Тобто, в оптичних пінцетом використовують лазери з великою апертурою (більше одиниці). Тоді градієнтна і розсіюючі сили компенсують один одного і частка виявляється врівноваженою в точці трохи нижче перетяжки лазерного пучка.

4.4 Резонансний метод ідентифікації біомолекул.

Відомо, що наночастинки можуть бути синтезовані з малим розкидом їхніх розмірів та мас. Нехай металічна наночастинка має масу m_{np} , а біомолекула, яка підлягає ідентифікації, масу m_{bm} ; їхню сумарну масу позначимо M . Нехай також наночастинка модифікована таким чином, що вона є носієм електричного заряду q_{np} . Електричний заряд у металічній наночастинки може з'являтися внаслідок перерозподілу електронів між атомами у процесі росту частинки [37], адсорбції на поверхні металу шару іонів з електроліту [38], завдяки синтезу частинок Януса [39], а також використання інших методів. За рівноваги сил, які діють на наночастинку у перетяжці лазерного пучка оптичного пінцета, наночастинка знаходиться у відносному спокої, трохи збурюваному броунівським рухом молекул водного середовища. Якщо зовнішнім електричним полем напруженістю E , спрямованим вздовж осі X лазерного пучка, вивести наночастинку із стану рівноваги, так щоб вона змістилася вздовж осі пучка на величину Δx , то на частинку почне діяти пружна сила Гук, де C_{tw} – стала оптичного пінцета, як характеризує «жорсткість пружини» оптичного пінцета, тобто швидкість наростання з відхиленням Δx сили, яка намагається повернути частинку у стан рівноваги. Якщо відключити зовнішнє електричне поле або періодично змінювати його, то ця сила викличе коливальний рух частинки навколо стану рівноваги з координатою x_0 . Можливі 4 варіанти руху частинки, залежно від наявності тертя та зовнішнього поля. **Одноразова імпульсна дія поля за відсутності тертя.** Рух частинки масою M описується лінійним диференціальним рівнянням [40]. яке є рівнянням класичного гармонічного осцилятора для незгасаючих коливань. Майже незгасаючі коливання можна спостерігати у вакуумі, у повітрі коливання згасатимуть швидше внаслідок зіткнень частинки з молекулами повітря. Кругова частота власних коливань такого осцилятора, тобто рівняння гармонічного осцилятора можна подати також як. З цих рівнянь можна зробити висновок: приєднання біомолекули до наночастинки змінює масу частинки, і, відповідно, власну частоту її коливань у перетяжці оптичного пінцета на величину. Відносна зміна частоти власних коливань становить тобто приєднання біомолекули зменшує частоту власних коливань. Таким чином, знаючи масу біомолекули, її можна ідентифікувати за зміною частоти власних коливань частинки, складеної з наночастинки та біомолекули. Якщо використовувати наночастинки срібла радіусом $a = 10$ нм, то їх маса становитиме (за питомої маси срібла $\rho_{Ag} = 10,49$ г/см³)

Маси більшості біомолекул знаходяться у межах 10^3 – 10^9 Да (1 дальтон – це атомна одиниця маси, яка дорівнює $1,66 \cdot 10^{-24}$ г), тобто «біодобавки» до маси наночастинки можуть складати приблизно від 10^{-21} до 10^{-15} г. Такому діапазону зміни маси частинки відповідає зміна відносної частоти власних коливань у межах від 0,002 до 84 %.

1. **Одноразова імпульсна дія поля за наявності тертя** збуджує загасаючі гармонічні коливання, які описують лінійним диференціальним рівнянням де γ – коефіцієнт загасання, коефіцієнт пропорційності у залежності сили тертя F_{fr} від Наприклад, у воді тертя викликає сила Стокса. Загасання коливань відбувається за експоненціальним законом: кінетична енергія коливань за час τ зменшується в $e = 2,72$ разів, а амплітуда – за час 2τ Для наночастинки срібла радіусом $a = 10$ нм час релаксації затухаючих коливань у воді становить Повітря за нормальних умов має динамічну в'язкість $\eta = 1,81 \cdot 10^{-5}$ Па·с і відповідно час релаксації збільшується до 12,8 нс. **Періодична дія поля за малого тертя** викликає коливання частинки з частотою зовнішнього поля ω . Умовою малого тертя є $\omega_0 \tau \gg 1$. У разі наближення частоти ω до частоти власних коливань ω_0 амплітуда коливань різко зростає і ця обставина може бути використана для ідентифікації біомолекул.

де $F_{e|0}$ – амплітуда коливань сили Лоренца, збудженої зовнішнім синусоїдальним електричним полем з амплітудою E_0 та частотою ω . Розв'язком цього рівняння є амплітуда коливань . Як бачимо, на резонансній частоті амплітуда коливань частинки набуває максимального значення. Підставляючи у цю формулу співвідношення (4.4.12) та амплітуду сили Лоренца, отримуємо залежність максимальної амплітуди коливань частинки від динамічної в'язкості середовища за решти незмінних параметрів: Отже, змінюючи частоту зовнішнього електричного поля, можна оптичними методами, наприклад, за розсіяння лазерного випромінювання на частинках, зафіксувати різке збільшення амплітуди їхніх коливань, що означатиме наближення до резонансної частоти, а, знаючи резонансну частоту коливань наночастинок і знайшовши резонансну частоту коливань наночастинок з приєнаними до них біомолекулами, можна ідентифікувати вид біомолекули. Для розрахунку скористаймося наближеним значенням коефіцієнта жорсткості оптичного пінцета, наведеним у роботі [41], а саме $C_{tw} = 1$ пН/мкм $= 10^{-6}$ Н/м. Тоді для сферичної частинки срібла радіусом $a = 10$ нм власна частота коливань згідно з формулою (4.4.3) становить. Якщо до цієї наночастинки срібла пристикується біомолекула масою m_{bm} , то частота коливань зміниться на величину. де – коефіцієнт, який показує, у скільки разів біомолекула важча за металічну наночастинку. На рис.4.4.1 показано графік залежності $\Delta\omega(\mu)$ для діапазоу. Якщо під час виготовлення срібної наночастинки радіусом $a = 10$ нм вона внаслідок зміщення електронів в атомах набула електричного заряду, скажімо, $q = 1000 e$, тобто в тисячу зарядів електрона ($e = 1,6 \cdot 10^{-19}$ Кл), то за формулою (4.4.16) можна побудувати графік залежності $x_{0max}(E_0)$ для коливання частинки у воді

(рис.4.4.2 Зауважимо, що спостерігати коливання частинок можна за допомогою ультрамікроскопа з лазерним освітленням та цифрової камери, підключеної до комп'ютера Висновки до розділу 4 В цьому розділі була розглянута модель біосенсора на основі лазерного пінцета, побудована структурна схема приладу. Зроблено огляд різних типів джерел випромінювання та обрано найбільш придатний для лазерного пінцета. Для створення оптичного біосенсора на основі поверхнево плазмонного резонансу використовується методика оптичного пінцета. В якості джерела захоплюючого випромінювання використовується безперервний лазер з потужністю $P=100\text{мВт}$, який має видиме випромінювання зеленого кольору. Даний вибір обумовлений параметрами лазера завдяки яким біомолекули залишатимуться у цілісному складі, а також тим що такий лазер дає змогу отримати стійке захоплення. Розроблено резонансний метод ідентифікації біомолекул. Таким чином, знаючи масу біомолекули, її можна ідентифікувати за зміною частоти власних коливань частинки, складеної з наночастинки та біомолекули.

Пропозиції для стартапу

Останні розробки в області біосенсорів та нанотехнологій дозволили суттєво зменшити розміри та зберігати високу чутливість. Такі властивості дають змогу створювати портативні системи для швидкого та точного аналізу препаратів, а також для неінвазивного моніторингу медикаментів, біоклітин, та багато іншого. На даний час існує величезне різноманіття біосенсорів, проте мною був обраний саме оптичний біосенсор на основі плазмонного резонансу. Такий вибір був зроблений завдяки ряду переваг:

1. Висока чутливість;
2. Може детектувати дуже малу кількість речовини;
3. Може детектувати різноманітні біологічні та хімічні об'єкти;
4. Працює в широкому діапазоні концентрацій.
5. Безпечні;
6. Доступні для масового виробництва.

Оптичні біосенсори на основі поверхнево плазмонного резонансу можуть бути застосовані для:

1. Контролювання органічних та неорганічних речовин в рідинах;
2. Контролю продуктів харчування на наявність бактерій та токсинів;
3. Виявлення різних біомолекул у фармакології та медицині;
4. Галузі промисловості;
5. Оптико-електронної промисловості;

Розглянемо окремі області застосування таких біосенсорів. Прикладом біосенсора, який широко використовується, є прилад для визначення вмісту глюкози в крові хворих на діабет. Біосенсор містить фермент глюкозооксидазу в іммобілізованій формі. Фермент окисляє глюкозу в крові при цьому вивільняються електрони, що утворюють електричний струм, який пропорційний кількості глюкози, яка присутня в крові. Біосенсор дуже чутливий тому він дозволяє вимірювати концентрацію глюкози в одній

краплі крові і видає результат через 20 с. В майбутньому можна буде імплантувати такі датчики в кровоносні судини, що знаходяться в шкірі хворих на діабет, що дозволить їм більш точно контролювати потреби в інсуліні. Якщо біосенсори з'єднати з міні насосом так, щоб він при необхідності автоматично вводив інсулін, то хворий буде отримувати автоматично підшлункову залозу. Такий тонкий контроль дозволить знизити вторинні ефекти діабету, наприклад пошкодження очей і нирок, які виникають у деяких хворих в результаті різких збільшень концентрації інсуліну при ін'єкціях, а також діабетичну кому.

Використання біосенсорів в медицині на даний час є найбільшим. Ферменти все більше використовуються для аналізу вмісту ліків і гормонів в біологічних рідинах людини. Це особливо необхідно для клінічної діагностики. Завдяки використанню біосенсорів знижується ризик помилок при виявленні діагнозу, а також зменшуються витрати. Діагностика за допомогою біосенсорів дозволить лікарям проводити аналізи безпосередньо в їхніх кабінетах, не вдаючись до послуг лабораторій. При цьому пацієнти також зекономлять гроші і час. У досліджувальних центрах використовуються біосенсори, що дозволяють контролювати появу небезпечних метаболітів в ході хірургічної операції. Якщо досягти зменшення розміру чіпів тоді стануть можливими такі пристрої, як штучні органи чуття і стимулятори ритму серця.

Окрім медицини та фармацевтики біосенсори знайдуть широке застосування у промисловій галузі, а саме для дистанційного зондування у небезпечних умовах. Згідно з технічним завданням дипломної роботи було розроблено структурну схему оптичного біосенсора для захоплення та переміщення мікро- та нанорозмірних об'єктів. Обрано конструктивні елементи функціональної схеми пристрою, розраховано резонансний метод ідентифікації біомолекул.

До переваг даного пристрою можна віднести:

1. Висока чутливість;
2. Може детектувати дуже малу кількість речовини;
3. Може детектувати різноманітні біологічні об'єкти;
4. Працює в широкому діапазоні концентрацій.
5. Безпечні;
6. Доступні для масового виробництва.

З недоліків можна виділити:

1. Чутливість до різноманітних параметрів середі в тому числі до локалізованої зміни температури.

Що стосується використання даної установки для біологічних зразків, для покращення роботи і збільшення її ефективності потрібно збільшити довжину лазерного випромінювання до ІЧ діапазону. Дана операція зменшить поглинання енергії досліджуваним зразком.

Біосенсор поступово стає основним інструментом оптоелектроніки та наноелектроніки дозволяючи проводити не можливу раніше

ідентифікацію біомолекул нанорозмірів. Унікальність методу полягає у використанні резонансної частоти для розпізнавання біомолекл.