



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **76774** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
G01N 21/00
G01N 21/55 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

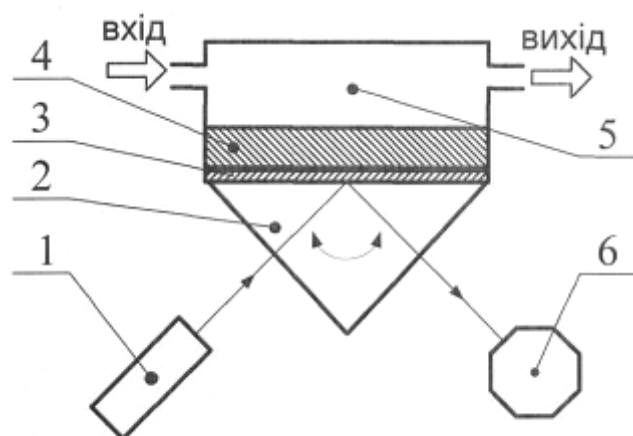
(21) Номер заявки: **u 2012 09062**
(22) Дата подання заявки: **23.07.2012**
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **10.01.2013**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.01.2013, Бюл.№ 1**

(72) Винахідник(и):
Дорожинський Гліб Вячеславович (UA),
Ушенін Юрій Валентинович (UA),
Самойлов Антон Володимирович (UA),
Христосенко Роман Васильович (UA),
Громовой Юрій Сергійович (UA),
Зиньо Степан Андрійович (UA),
Маслов Володимир Петрович (UA)
(73) Власник(и):
Дорожинський Гліб Вячеславович,
вул. Ольжича Олега, 19/28, кв. 31, м. Київ, 04060 (UA),
Ушенін Юрій Валентинович,
вул. Пушкіна, 17/1, смт Глеваха,
Васильківський р-н, Київська обл., 08630 (UA),
Самойлов Антон Володимирович,
пр. Науки, 54Б, кв. 293, м. Київ, 03083 (UA),
Христосенко Роман Васильович,
вул. Мате Залки, 6Б, кв. 145, м. Київ, 04211 (UA),
Громовой Юрій Сергійович,
пр. Науки, 17/15, кв. 68, м. Київ, 03038 (UA),
Зиньо Степан Андрійович,
пр. Академіка Глушкова, 26, кв. 70, м. Київ, 03187 (UA),
Маслов Володимир Петрович,
вул. Паньківська, 25, кв. 11, м. Київ, 01032 (UA)

(54) ПРИЛАД ДЛЯ АНАЛІЗУ БІОХІМІЧНИХ СЕРЕДОВИЩ**(57) Реферат:**

Прилад для аналізу біохімічних середовищ містить оптичний вузол, який складається з джерела р-поляризованого монохроматичного видимого світла, призми певного внутрішнього відбиття з нанесеним на її поверхню плівковим металевим робочим елементом, що містить у собі плівку хрому та нанесену поверх неї плівку золота, і системи вимірювання інтенсивності відбитого від робочого елемента світла, а також пристрій механічного повороту призми з кроковим двигуном і системою передачі обертального руху від крокового двигуна до призми.

UA 76774 U



Фіг. 1

Корисна модель належить до галузі оптоелектронних твердотільних сенсорних приладів на основі поверхневого плазмонного резонансу (ППР) для хімічного і біологічного аналізу, заснованого на реєстрації адсорбції або реакції взаємодії молекул у газовому і рідкому середовищах. Ці прилади дозволяють робити швидкий і економічний моніторинг навколишнього середовища, а також експресний аналіз рідин при медичних та клінічних дослідженнях, складу продуктів. Корисна модель може бути використана в харчовій, хімічній, фармацевтичній промисловості, сільському господарстві, медицині та екології.

Відомий прилад на основі явища ППР [1] містить оптичний вузол, який складається з призми повного внутрішнього відбиття з металевою плівкою, джерела р-поляризованого монохроматичного випромінювання, що опромінює металеву плівку з боку призми і систему вимірювання інтенсивності відбитого від металевої плівки світла. Принцип роботи приладу полягає у вимірюванні інтенсивності відбитого від металевої плівки монохроматичного світла при зміні кута падіння. При певному куті падіння, за рахунок поглинання плазмоном металевої плівки енергії падаючої хвилі, інтенсивність відбитого світла суттєво зменшується, що безпосередньо можна спостерігати як резонанс на кривій ППР в діапазоні кутів повного внутрішнього відбиття матеріалу призми. Дослідження даної залежності в умовах адсорбції чи взаємодії молекул, що відбуваються на протилежній стороні металевої плівки, дозволяє вивчати взаємодію між біохімічними об'єктами, що досліджуються. У цьому приладі вимір кривої ППР здійснюється з використанням широкого світлового променя, що покриває певний інтервал кутів падіння і фокусується в одній точці на металевій поверхні. Відбите випромінювання експонується на лінійку фотодіодів і створює певний електричний сигнал, що в подальшому аналізується. Процес адсорбції біологічних молекул на сенсорну поверхню аналогічний формуванню шару молекул з певним коефіцієнтом заломлення та товщиною. Форма резонансної кривої та положення мінімуму змінюється в процесі адсорбції. Таким чином, прилад дозволяє протягом кількох хвилин детектувати процеси адсорбції і взаємодії молекул, що відбуваються на сенсорній поверхні за рахунок визначення положення мінімуму резонансної кривої з плином часу при скануванні лінійки фотоприймачів, що дозволяє зробити висновок про процеси біохімічної взаємодії досліджуваних реагентів.

Недоліком відомої сенсорної системи є малий кут сканування (5 кут. град.), який дозволяє досліджувати шари з коефіцієнтом заломлення в діапазоні $1,33 \div 1,38$, що обмежує перелік досліджуваних середовищ, та недостатня довговічність металевого чутливого шару на призмі.

Найбільш близьким технічним рішенням, прийнятим за найближчий аналог, є прилад для детектування і визначення концентрації біомолекул [2]. Прилад містить оптичний вузол, який складається з джерела р-поляризованого монохроматичного світла, призми повного внутрішнього відбиття з нанесеним на її поверхню плівковим металевим робочим елементом товщиною 45-60 нм, що містить у собі плівку золота, і системи вимірювання інтенсивності відбитого від робочого елемента світла, а також пристрій механічного повороту призми з кроковим двигуном і системою передачі обертального руху від крокового двигуна до призми. Детектування і визначення концентрації біомолекул і молекулярних комплексів полягає в опроміненні металевої плівки з боку призми в широкому діапазоні кутів падіння, що досягається механічним поворотом призми, реєстрації відбитої інтенсивності для всього набору кутів падіння і математичній обробці даних вимірів по спеціально розробленому алгоритму. Тобто отримання кривої поверхневого плазмонного резонансу (ППР-крива), залежності відбитої інтенсивності від кута падіння світла. Аналізуючи форму ППР-кривої та кутове положення мінімуму можна аналізувати характер біомолекулярних взаємодій для широкого кола речовин. Механічне сканування кута падіння випромінювання в діапазоні 17 кутових градусів дозволяє працювати з середовищами з показниками заломлення 1,0-1,5, а також отримувати повну ППР-криву для подальшої математичної обробки на відміну від вищезгаданого сенсору без механічної розгортки по куту падіння випромінювання.

Недоліком приладу є низька стабільність і довговічність робочого елемента, яка пов'язана з необхідністю промивки та протирання шару золота при дослідженні різних речовин (від зразка до зразка досліджуваної речовини). При багаторазовій промивці та протиранні чутливого шару спостерігається відшарування цього плівкового металевого робочого шару від поверхні призми повного внутрішнього відбиття внаслідок низької його адгезії до матеріалу призми. Поступове відшарування плівкового металевого робочого шару від поверхні призми повного внутрішнього відбиття вносить суттєві похибки в результат вимірювання мінімуму ППР-кривої внаслідок зміни форми і положення ППР-кривої, причому величина похибки з плином часу зростає, що негативно впливає на повторюваність вимірювань.

Задачею корисної моделі, що заявляється, є підвищення стійкості експлуатації робочого елемента приладу і достовірності вимірювання приладом ППР-кривої.

Поставлена задача вирішується тим, що пропонується прилад для аналізу біохімічних середовищ, який містить оптичний вузол, який складається з джерела р-поляризованого монохроматичного видимого світла, призми повного внутрішнього відбиття з нанесеним на її поверхню плівковим металевим робочим елементом товщиною 45-60 нм, що містить у собі

плівку золота, і системи вимірювання інтенсивності відбитого від робочого елемента світла, а також пристрій механічного повороту призми з кроковим двигуном і системою передачі обертального руху від крокового двигуна до призми, який відрізняється тим, що робочий елемент додатково має плівку хрому товщиною 2÷8 нм, розміщену між призмою та плівкою золота.

Запропонований прилад, у якому робочий елемент додатково має плівку напорошеного у вакуумі хрому товщиною 2÷8 нм, розміщену між призмою та плівкою золота, за рахунок підвищення адгезії до шару золота та до поверхні скляної призми забезпечує підвищення точності і повторюваності вимірювань за рахунок того, що вимірювання проходить при відсутності відшарування плівки золота, яке виступає чутливим елементом, від поверхні призми. При цьому ППР-крива практично не змінює свого положення під час вимірювання та при повторних вимірюваннях за великий проміжок часу. Це означає, що при наявності адгезійного підшару хрому ППР-крива і мінімум резонансу, який визначає робочу точку, не будуть змінювати кутове положення за тривалий час вимірювання, що і призводить до збільшення точності вимірювань. Вибраний діапазон товщини підшару хрому обумовлений забезпеченням максимальної адгезії золота при мінімальному поглинанні випромінювання, падаючого від джерела р-поляризованого монохроматичного видимого світла. При товщинах хрому менших 2 нм адгезія до скляної поверхні призми не збільшується, а при товщинах більших 8 нм суттєво збільшується поглинання шаром хрому, що негативно впливає на чутливість вимірювання. Запропоноване технічне рішення шляхом використання адгезійного підшару хрому суттєво підвищує стійкість експлуатації робочого елемента приладу і достовірність вимірювання приладом ППР-кривої. Таким чином, запропоноване технічне рішення має корисний ефект.

Сукупність відомих і запропонованих ознак приладу, що заявляється, раніше не була відома.

На фіг. 1 - приведена блок-схема ППР приладу, робота якого заснована на дослідженні кутової залежності інтенсивності відбитого від робочого елемента приладу світла, де 1 - джерело р-поляризованого монохроматичного видимого світла, 2 - призма повного внутрішнього відбиття, 3 - адгезійний шар хрому плівкового металевого робочого елемента, 4 - активний шар плівкового металевого робочого елемента (переважно Au, Ag), у якому відбувається збудження поверхневих плазмонів, 5 - проточна кювета для подачі досліджуваної проби, 6 - система вимірювання інтенсивності світла, відбитого від межі поділу призма/металева плівка.

Пристрій працює наступним чином: призма (2) дискретно (під дією крокового двигуна) змінює своє положення в діапазоні кутів повного внутрішнього відбиття від межі поділу призма-метал відносно напрямку розповсюдження р-поляризованого монохроматичного видимого світла; під дією світла поверхневі плазмони збуджуються в металевому шарі (4), нанесеному на поверхню скляної призми, на яку попередньо нанесений адгезійний шар хрому (3); зовнішня сторона плівки металу контактує з досліджуваною пробю через кювету (5), яка має патрубки для введення та виведення досліджуваної речовини. При резонансі частот фотонів джерела р-поляризованого монохроматичного світла (1) і електронної плазми на зовнішній поверхні металу відбувається суттєве поглинання енергії фотонів. Проявом цього є зменшення інтенсивності відбитого світла при певному куті падіння світла, яке фіксується системою детектування світла (6), що відповідає певним характеристикам досліджуваних речовин або результату взаємодії їх компонентів. Форма кривої плазмонного резонансу і, зокрема, положення мінімуму, залежать від: оптичних параметрів і товщини шару, що контактує з металевим робочим елементом при фіксованих значеннях показника заломлення призми, оптичних констант і товщини металевої плівки, у якій збуджується поверхневий плазмонний резонанс. Фіксуючи зміну резонансних умов виникнення плазмонного ефекту, тобто досліджуючи зміну положення мінімуму плазмонного резонансу у часі, можна зробити висновки про динаміку процесів адсорбції та взаємодії молекул, що відбуваються на розглянутій межі поділу та характеризувати їх кількісно. Аналіз кутового положення і форми резонансної кривої реєструється керуючою програмою, що дозволяє одержувати в реальному масштабі часу кінетичну криву (сенсограму), яка свідчить про процеси адсорбції та взаємодії біологічних молекул, присутніх у досліджуваній рідкій або газоподібній пробі. Результати вимірів математично обробляються по спеціально розробленому алгоритму. За рахунок механічної

розгортки по куту падіння випромінювання на робочий елемент сенсор забезпечує діапазон по куту падіння - 17 кутових градусів. Це дозволяє отримувати повну ППР-криву та за допомогою спеціального програмного забезпечення вираховувати оптичні константи та товщини шарів, що входять до системи. А також працювати з середовищами які мають показники заломлення від 1,0 до 1,5.

Приклад реалізації.

Для реалізації технічного рішення було зібрано прилад згідно з схемою, наведеною на фіг. 1. Як джерело р-поляризованого монохроматичного світла було використано напівпровідниковий GaAs лазер з довжиною хвилі 650 нм, призма була виконана з оптичного силікатного скла Ф1 з показником заломлення 1,61, на робочу грань призми термічним напорошенням в вакуумі було нанесено спочатку шар хрому товщиною від 2 до 8 нм, потім на шар хрому нанесено шар золота товщиною 50 нм, системою вимірювання інтенсивності відбитого від робочого елемента світла був фотоелектричний чутливий приймач (фотодіод), сигнал від якого підсилювався та виводився на систему реєстрації зображення (дисплей персонального комп'ютера), що давало змогу отримати графічне зображення залежності інтенсивності відбитого світла від кута опромінення. Зміну кутового положення призми задавали кроковим двигуном з кроком 10 кутових секунд. Для порівняння точності вимірювань паралельно проводили вимірювання мінімуму ППР кривої на приладі, який був вибраний як найближчий аналог, з чутливим елементом без підшару хрому. Проводили дослідження на зразках двох рідин з різним показником заломлення: дистильована вода ($n=1,33113$) та одновідсотковий розчин хлориду калію (КС1) в воді ($n=1,3345$). Виконували почергове заміщення двох рідин в кюветі. Фіксували зміну інтенсивності в мінімумі ППР-кривої з часом в момент, коли в кюветі була присутня дистильована вода. Після 15 процедур заміщення рідини суттєво змінилась інтенсивність в мінімумі ППР-кривої (Фіг. 2, крива 2) у порівнянні з початковим її значенням (Фіг. 2, крива 1). Наступні 15 процедур заміщення рідини призвели до зникнення вираженого резонансу (Фіг. 2, крива 3) і таким чином чутливий елемент без підшару хрому втратив свої властивості збудження ППР. У той же час для чутливого елемента з підшаром хрому ППР-крива залишилась незмінною (Фіг. 2, крива 1) для тієї ж кількості процедур заміщення рідини в кюветі. Додатково було проведено ще 50 процедур заміщення рідини, внаслідок чого інтенсивність в мінімумі ППР-кривої для чутливого елемента з підшаром хрому змінилась (Фіг. 2, крива 4), наблизившись до значення, яке відповідає 15 процедурам заміщення рідини для чутливого елемента без підшару хрому (Фіг. 2, крива 2).

Таким чином, результати вимірювань показують, що при використанні приладу з чутливим елементом, який має адгезійний підшар хрому, довговічність цього елемента зростає приблизно в 5 разів в порівнянні з найближчим аналогом.

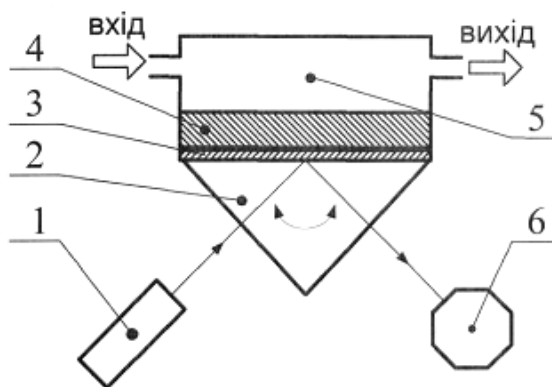
Джерела інформації:

1. United States Patent: 6,480,282, МПК G01N 021/05. Capillary surface plasmon resonance sensor and multisensors / Chinowsky T.M., Yee S.S.; November 12, 2002.

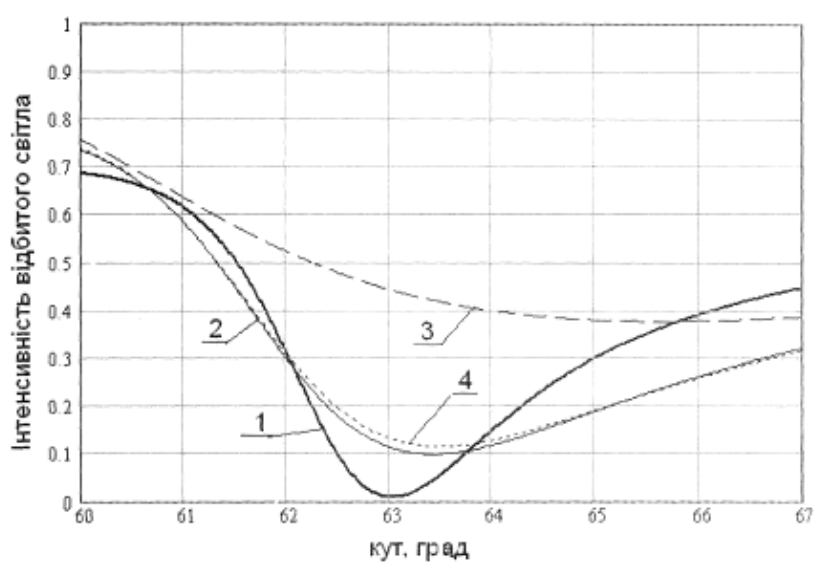
2. Ширшов Ю.М., Венгер Є.Ф., Прохорович А.В., Ушенін Ю.В., Мацас Є.П., Чегель В.І., Самойлов А.В. Спосіб детектування та визначення концентрації біомолекул та молекулярних комплексів та пристрій для його здійснення; Патент України номер 46018, опубл. 15.05.2002; бюл. № 5.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Прилад для аналізу біохімічних середовищ, який містить оптичний вузол, який складається з джерела р-поляризованого монохроматичного видимого світла, призми певного внутрішнього відбиття з нанесеним на її поверхню плівковим металевим робочим елементом товщиною 45-60 нм, що містить у собі плівку золота, і системи вимірювання інтенсивності відбитого від робочого елемента світла, а також пристрій механічного повороту призми з кроковим двигуном і системою передачі обертового руху від крокового двигуна до призми, який **відрізняється** тим, що робочий елемент додатково має плівку хрому товщиною $2 \div 8$ нм, розміщену між призмою та плівкою золота.



Фіг. 1



Фіг. 2

Комп'ютерна верстка М. Ломалова

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601