

## БІОСЕНСОРИ

---

## BIOSENSORS

---

УДК 53.082:612.017.1

### ОСОБЛИВОСТІ ПОБУДОВИ І ФУНКЦІОНУВАННЯ ПОРТАТИВНИХ МУЛЬТИПРОБНИХ ППР-СЕНСОРІВ

*І. Д. Войтович, І. О. Яворський*

Ін-т кібернетики ім. В.М. Глушкова НАН України, просп. Академіка Глушкова, 40,  
03680, Київ, тел. 38-044 5260128, факс: 38-044 5261267,  
e-mail: d220@public.icyb.kiev.ua

### ОСОБЛИВОСТІ ПОБУДОВИ І ФУНКЦІОНУВАННЯ ПОРТАТИВНИХ МУЛЬТИПРОБНИХ ППР-СЕНСОРІВ

*І. Д. Войтович, І. О. Яворський*

**Анотація.** Розглянуто особливості побудови портативних біосенсорів на основі поверхневого плазмонного резонансу (ППР), які дозволяють за один вимірювальний цикл виконувати аналіз десятків досліджуваних проб. Обґрунтовані конструкції пластинчатих призмovidних структур, що використовуються в таких мультипробних ППР-сенсорах як рухомі рецептори. Наведено приклади мультипробних сенсорів лінійного і дискового типів. Розглянуто процес юстирування зазначених сенсорів та можливості застосування для цієї мети кореляційного методу і перешкодозахисних кодів.

**Ключові слова:** ППР-сенсор, проба, рецептор, юстирування, кореляційний метод, перешкодозахисний код.

### SPECIFICS OF THE DESIGN AND OPERATION OF PORTABLE MULTI-PROBE SPR-SENSORS

*I. D. Voitovych, I. A. Yavorsky*

**Abstract.** There was analyzed the specifics of designing portable bio-sensors that employ the effect of surface plasmon resonance enabling to analyze dozens of examined probes within a single measuring cycle. The layout of plate-type prism-shaped structures is justified as applicable for such multi-probe SPR-sensors to function as movable receptors. The samples of disc-shaped and linear type sensors are demonstrated. The adjustment process is analysed for the sensors that applies the correlation method and noise-eliminating codes.

**Keywords:** SPR-sensor, probe, receptor, adjustment, correlation method, noise-eliminating code.

## ОСОБЕННОСТИ ПОСТРОЕНИЯ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПОРТАТИВНЫХ МУЛЬТИПРОБНЫХ ППР-СЕНСОРОВ

*И. Д. Войтович, И. А. Яворский*

**Аннотация.** Рассмотрены особенности построения портативных биосенсоров на основе поверхностного плазмонного резонанса (ППР), позволяющих за один измерительный цикл производить анализ десятков исследуемых проб. Обоснованы конструкции пластинчатых призматических структур, используемых в таких мультипробных ППР-сенсорах как подвижные рецепторы. Приведены примеры мультипробных сенсоров линейного и дискового типов. Рассмотрен процесс юстировки указанных сенсоров и возможности использования с этой целью корреляционного метода и помехозащитных кодов.

**Ключевые слова:** ППР-сенсор, проба, рецептор, юстировка, корреляционный метод, помехозащитный код.

### Вступ

Однією з головних характеристик ППР-сенсора є кількість проб, які можна в ньому розмістити і дослідити. В деяких сенсорах за один вимірювальний цикл може бути виконано аналіз сотень (і навіть тисяч) проб [1,2]. Зазвичай при цьому використовуються стаціонарні рецептори з великою кількістю чутливих ділянок, комп'ютеризовані системи доставки реагентів до цих ділянок та схеми оптичного спостереження і реєстрації плазмонного резонансу.

Рецептори в таких сенсорах відзначаються особливою складністю. Для їх виготовлення необхідне високоякісне оптичне скло, нанесення тонких провідних та біохімічних плівок тощо. А при дифракційному збудженні плазмонного резонансу фазовий рельєф на поверхні рецептора доцільно формувати з використанням методів нанолітографії [3].

Для подачі до чутливих ділянок рецептора реагуючих речовин (ліганду, проб з аналітом тощо), їх відмивки і заміни іншими біохімічними речовинами використовуються контактуючі з рецептором пристрої зі спеціальними проточними каналами (картриджі) та різноманітні маніпулятори (наприклад, голчатого типу), які програмно позиціонуються по поверхні рецептора. Використовуються також автоматизовані засоби транспортування рецепторів. ППР-сенсори з такими рецепторами часто мають значні габарити ( $m^3$ ), велику вагу (сотні і більше  $kg$ ) та високу вартість. Вони складні в експлуатації, вимагають висококваліфікованого обслуговуючого персоналу і призначені для застосування в лабораторіях [1, 2, 4].

Існують і малогабаритні сенсори з рецепторами різного типу і конструкції [5]. Деякі з них побудовані з використанням методів мікросистемних технологій і дозволяють в масштабі реального часу проводити спостереження за досліджуваними пробами. Але й такі сенсори в основному призначені для виконання лабораторних досліджень.

Незважаючи на значну кількість існуючих (в тому числі — і рекламованих комерційних) ППР-сенсорів, відомості про які можна знайти в численних публікаціях (наприклад, в [6-8]), на сьогодні актуальною залишається проблема створення недорогих ( $\sim 300-500$  дол США), простих у виробництві й обслуговуванні портативних сенсорних пристроїв, придатних для накопичення та оперативного аналізу в одному вимірювальному циклі об'єму біохімічної інформації, що відповідала б десяткам досліджуваних проб, і орієнтованих на експлуатацію в польових умовах. При цьому завдання полягає не стільки в побудові чергового сенсора і дослідженні його робочих характеристик, як в *знаходженні оптимальних конструкторських рішень і напрацюванні раціональних функціональних схем сенсорних вимірювань* — наприклад, таких, що дозволили б до мінімуму звести потребу в рутинних підготовчих операціях при проведенні аналізів, виключали необхідність застосування проточних кювет та імерсійної рідини, спрощували нанесення і заміну досліджуваних проб, забезпечували умови зберігання і транспортування рецепторів тощо. При цьому найважливіший функціональний елемент сенсора — чутливий рецептор — повинен бути дешевим і придатним для масового виробництва та застосування. І тільки за таких умов ППР-сенсорика як новітній високотехно-

логічний дослідницький метод зможе вийти за межі наукових лабораторій і виконати належну їй соціальну роль. Деякі можливості вирішення цього завдання розглядаються в нашій роботі.

### 1. Рецептори для сенсорів

Перші наші спроби побудови портативних ППР-сенсорів пов'язані із двома типами їх конструкції — з прямолінійним і реверсивним оптико-електронними каналами [6]. Зазначені сенсори були розраховані на застосування лише одиночних змінних рецепторів і, відпо-відно, в них неможливо було отримати потрібну швидкодію. Наступний крок полягав у використанні тонкого рухомого диску, на якому можна було б розмістити до десятка змінних рецепторів, виконаних на окремих скляних пластинах [9]. Проте й у такого сенсора були недостатні функціональні можливості. Рецепторні пластини мали кінцеві розміри і загальне їх число обмежувалось робочою площею диску. До того ж тут існували труднощі, пов'язані з необхідністю застосування імерсійної рідини [10].

Вищенаведені результати призвели надалі до застосування дещо іншої концепції побудови портативних ППР-сенсорів, придатних для виконання аналізу принаймні кількох десятків проб в одному вимірювальному циклі. В основу покладено використання рухомих планарних рецепторів, які суміщують функції рецептора і призми повного внутрішнього відбивання. Такі рецептори (їх можна інтерпретувати як інтегровані) мають відносно велику робочу поверхню з чутливою плівкою, що дозволяє безпосередньо на ній розмістити з необхідною щільністю досліджувані проби і, власне, зробити сенсор мультипробним. Відповідно до цього конструкція сенсора залежатиме саме від рецептора, а також характеру його переміщення в сенсорі, який може бути прямолінійним чи обертовим. В свою чергу конструкція рецептора визначається закономірностями розповсюдження в ньому світла за умови збудження плазмонного резонансу.

На рис. 1, а показано лінійний рецептор з кутувими торцевими зрізами, призначеними для уведення і виведення світлового випромінювання (тут і надалі термін «рецептор» використовується для позначення основи рецептора). Кут зрізу  $\varphi_0$  та розмірні параметри

$\varphi_0 = \arctg \frac{n \sin \theta_0 - 1}{n \cos \theta_0}$  і  $\beta$  задаються виразами:

$$\varphi_0 = \arctg \frac{n \sin \theta_0 - 1}{n \cos \theta_0},$$

$$H = \frac{d}{\cos \theta_0} \left[ \frac{\cos(\theta_0 - \varphi_0)}{\sin \varphi_0} + 2 \sin \theta_0 \right],$$

$$h = H - \frac{2d}{\operatorname{tg} \varphi_0}, \quad (1)$$

де  $n$  — показник заломлення,  $\theta_0$  — резонансний кут,  $\bar{T}$  — товщина рецептора. Його довжина  $P$  буде визначатися конкретною конструкцією сенсора. Такий рецептор розрахований на одноразове відбивання світлового потоку від чутливої рецепторної плівки (робоче відбивання), хоча загальне число відбивань в рецепторі — три. Оцінки показують, що для лінійного рецептора прийнятної товщини (наприклад,  $d = 8 \text{ мм}$ ) з одним робочим відбиванням при  $n = 1,61110$  і  $\theta_0 = 64,5^\circ$  матимемо  $\varphi_0 = 33,2^\circ$ ,  $H = 62,8 \text{ мм}$ ,  $h = 38,3 \text{ мм}$ ,  $P \sim 100 \text{ мм}$ .

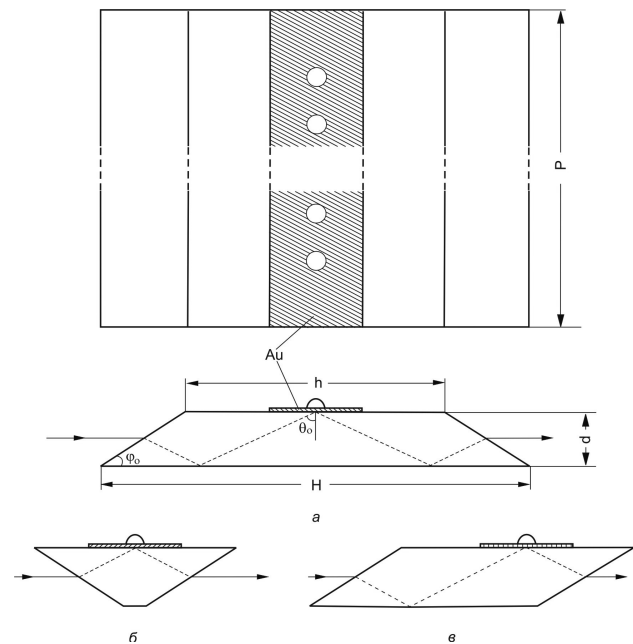


Рис. 1. Змінні рецептори лінійної конструкції ( $\varphi_0 = 33,2^\circ$ ,  $H = 62,8 \text{ мм}$ ,  $h = 38,3 \text{ мм}$ ,  $d = 8 \text{ мм}$ ,  $P = 100 \text{ мм}$ )

Лінійні рецептори можуть мати й іншу конфігурацію — наприклад, бути подібними до зображених на рис.1,б,в. Це дозволяє зменшити кількість відбивань в рецепторі і дещо зменшити його розмірні параметри, хоча якихось суттєвих переваг цим не досягається. Разом з тим стиківка рецептора із сенсором може ускладнитися.

Рецептор кругової (дискової) конструкції показано на рис.2. Тут застосовується реверс

світлового потоку, а його уведення в рецептор і виведення здійснюється через торцеву поверхню диску. Клиновидність цієї поверхні  $\beta$  та розмірні параметри диску  $H$  і  $h$  визначаються як:

$$\beta = 2\varphi_0, H = d \operatorname{tg}\theta_0, h = \frac{d}{2 \operatorname{tg}\varphi_0}. \quad (2)$$

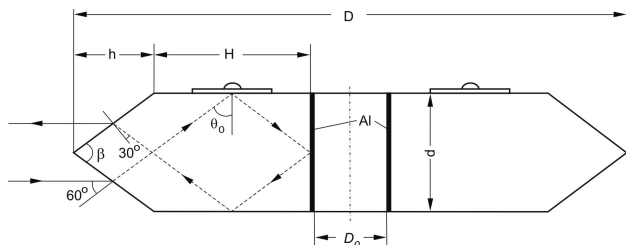


Рис. 2. Змінний рецептор дискової конструкції ( $\beta = 66,4^\circ$ ,  $H = 16,8 \text{ мм}$ ,  $h = 6,1 \text{ мм}$ ,  $d = 8 \text{ мм}$ ,  $D = 80 \text{ мм}$ ,  $D_0 = 34,2 \text{ мм}$ )

Наприклад, рецепторний диск товщиною  $d = 8 \text{ мм}$  при  $n = 1,61110$  і  $\theta_0 = 64,5^\circ$  матиме  $\beta = 66,4^\circ$ ,  $H = 16,8 \text{ мм}$ ,  $h = 6,1 \text{ мм}$ . При зовнішньому діаметрі диску  $D \sim 80 \text{ мм}$  круглий внутрішній отвір із дзеркальним покриттям з  $Al$ , завдяки якому виконується реверс світла, матиме діаметр  $D_0 \sim 34,2 \text{ мм}$ .

Важливим питанням є проходження світла через рецептор. Основні втрати, які при цьому можуть призвести до виникнення паразитних рефлексів і відповідних шумів в оптико-електронному каналі сенсора, пов'язані із розсіюванням на оптичних неоднорідностях та на границях рецептора при уведенні і виведенні випромінювання.

Розсіювання в рецепторі можна мінімізувати шляхом вибору високоякісного термостабільного оптичного матеріалу з потрібними спектральними характеристиками. Стосовно граничних переходів, то для них на рис.3 наведені розрахункові залежності коефіцієнта відбивання  $r$   $\sigma$ -поляризованого світла від кута падіння  $\theta$ . Легко бачити, що в околицях кутів  $\theta \sim 60^\circ$  і  $\theta \sim 30^\circ$ , характерних для уведення випромінювання в рецептор і його виведення, відбивання практично відсутнє навіть при використанні світлових променів із незначною ( $\sim 3-4^\circ$ ) розбіжністю, необхідною для кутової розгортки світла при визначенні резонансу.

Звісно, товщина пропонованих рецепторів ( $d \sim 8-10 \text{ мм}$ ) значно більша, ніж у рецепторів, що зазвичай застосовуються в ППР-сенсорах ( $d \sim 2 \text{ мм}$ ). Але при менших товщинах, як ви-

пливає із виразів (1) — (2), розмірні параметри будуть дуже малими, і такими рецепторами було б неможливо користуватися.

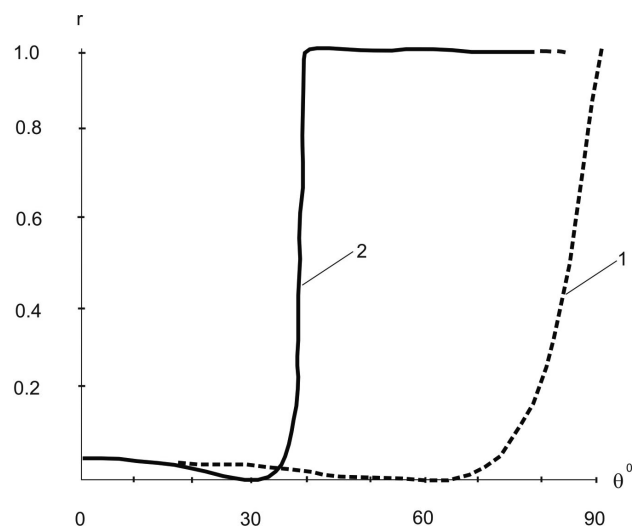


Рис. 3. Залежності коефіцієнта відбивання  $r$  від кута падіння  $\theta$  при уведенні в рецептор і виведенні випромінювання: 1 — перехід «повітря — рецептор», 2 — перехід «рецептор — повітря» ( $n = 1,61110$ )

Разом з тим рецептори довільної форми і розмірів можна з високою точністю ( $\nabla \sim 1 \text{ нм}$ ) виготовляти не зі скла, а, наприклад, із оптичного полікарбонату ( $n \approx 1,59$ ,  $\rho = 1,2 \text{ г/см}^3$ , ціна  $\sim 1,5 \text{ дол/кг}$ ) або інших сучасних оптичних полімерних матеріалів з  $n \sim 1,6-1,7$  [11] методом інжекційного лиття під тиском та реплікації по аналогії з виробництвом лазерних дисків [12]. Так можна отримати відносно недорогі (собівартістю  $\sim 10-20$  центів) рецептори, придатні для масового застосування. Їх вага становитиме  $\sim L$ .

Пропозиція використовувати в портативних ППР-сенсорах планарні призмovidні рецептори не є такою очевидною, як це може здатися на перший погляд. Адже кожний такий рецептор товщиною  $8-10 \text{ мм}$  і площею в кілька десятків  $\text{см}^2$ , якщо його виконати зі скла, по суті буде досить дорогим оптичним елементом. Коли ж це диск, то тут справа значно ускладнюється завдяки збільшенню числа і трудомісткості технологічних операцій при його виготовленні, особливо у випадку, якщо на диску доведеться додатково формувати якісь структури — фазовий рельєф, маркери тощо. А при потребі в значній кількості подібних рецепторів (наприклад, сотні) виникають питання ваги (і, відповідно, експлуатаційної зручності) та вартості. Разом з тим всі ці питання відносно просто вирішуються при виготовленні рецепторів з оптичних

полімерних матеріалів із застосуванням технології інжекційного лиття і реплікації.

Слід зазначити, що пластикові призмовидні структури з металевою плівкою на робочій поверхні вже використовувались, наприклад, як рецепторні голівки у відомому сенсорі Spreeta фірми Texas Instruments [13]. Такі голівки містять вмонтовані в них світлодіоди, поляризатори, термоелементи, чутливі плівки та фотоприймальні лінійки і по суті є своєрідними гібридними елементами. Сенсор Spreeta — лабораторний пристрій, а його голівки працюють в комплекті зі зйомними проточними кюветами і придатні для аналізу лише однієї проби за вимірювальний цикл. Є інформація про паралельну роботу кількох голівок в одному пристрої. Собівартість голівки  $\sim 5$  дол.

В цьому плані перспективними є дифракційні структури, призначені для збудження плазмонного резонансу [3,7,14]. Оскільки тут використовуються незначні кути падіння світла ( $\theta < 30^\circ$ ), то сенсори з дифракційними рецепторами матимуть менші габарити. Самі ж рецептори можуть бути планарними, компактними і придатними для масового виробництва з використанням полімерних матеріалів та традиційних методів мікроелектронної технології і реплікації.

Слід зазначити, що тенденція використовувати пластики для побудови сенсорних систем та їх елементів починає виявлятися все ширше. Так, наприклад, в [15] повідомляється про створення оптоелектронної сенсорної системи, заснованої на тонкоплівковій пластиковій електроніці. Хоча в даному випадку важко оцінити досягнуті результати, проте сам по собі наведений факт заслуговує на увагу.

Рецептори вимагають акуратного і обережного ставлення. Тому при виконанні аналізів як до нанесення досліджуваних проб, так і після рецептори необхідно зберігати в спеціальних касетах (контейнерах). Як приклад на рис.4 показано один із можливих варіантів конструкції касети для лінійного рецептора.

Касета складається з основи 1 і кришки 2, з'єднаних між собою гвинтами 3. Рецептор 4 розміщується і фіксується на основі касети. При нанесенні проб 5 кришка знімається. Біохімічний процес взаємодії аналіту з лігандом відбувається в закритій касеті. В такому стані рецептор витримують час, необхідний для адсорбції молекул аналіту ( $\sim 30$  хв). Подібну підготовчу операцію виконують одночасно з

певною кількістю (наприклад, десятком) рецепторів, що дозволяє економити час і кошти на проведенні аналізів.

Аналогічні за принципом побудови касети, а також методи підготовки до проведення аналізів використовуються і для рецепторних дисків.

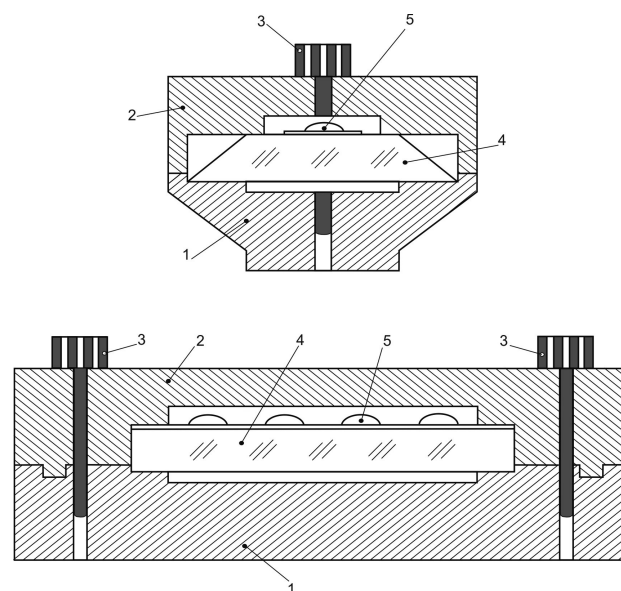


Рис. 4. Касета для лінійного рецептора: 1 — основа, 2 — кришка, 3 — з'єднувальні гвинти, 4 — рецептор, 5 — проба

## 2. Конструкція і спосіб дії сенсорів

На рис. 5 показано сенсор *лінійного* типу [16]. Він містить базовий циліндричний корпус 1, в якому послідовно розміщені лазер 2, поляризатор 3, апертурна діафрагма 4 і фотоприймач 5. В нижній частині корпусу 1 знаходиться направляючий паз 6, призначений для встановлення основи касети 7 з рецептором 8. Проби 9 розміщуються з необхідними інтервалами вздовж рецептора.

Після завершення процесу підготовки рецептора до проведення аналізів касета розкривається, її основу з рецептором встановлюють в сенсорі і виконують необхідні вимірювання. Вимірювання базуються на тому, що при поверхневому плазмонному резонансі кутовий розподіл інтенсивності світла, відбитого від рецептора, несе інформацію про присутність та концентрацію аналіту в досліджуваній пробі. Кутова розгортка світла по рецептору здійснюється за рахунок використання світлового променя з кутовою розбіжністю. Реєстратором кутового розподілу інтенсивності відбитого світла служить

лінійний фотоприймач, і резонансна крива від досліджуваної проби реєструється усім масивом фоточутливих елементів одночасно.

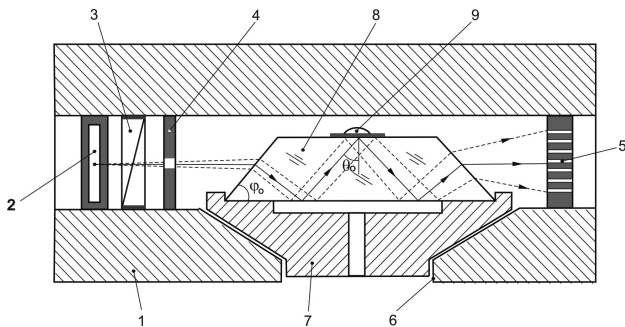


Рис. 5. Лінійний сенсор: 1 — корпус, 2 — лазер, 3 — поляризатор, 4 — апертурна діафрагма, 5 — фотоприймач, 6 — направляючий паз, 7 — основа касети, 8 — рецептор, 9 — проба

Пересуванням касети одна досліджувана проба замінюється іншою. На таку заміну потрібні доли секунди. При лінійному рецепторі прийнятних розмірів (наприклад,  $\sim 6 \times 10 \text{ см}^2$ ) на ньому можна розмістити в один ряд більше десятка проб, так що швидкодія сенсора за умови використання набору касет із наперед підготованими рецепторами може скласти сотні аналізів на годину.

На рис. 6 показано сенсор *кругового* (дискового) типу [17]. Він містить корпус 1 з камерою 2, в якій послідовно розміщені оптико-електронний блок 3 (в ньому знаходяться лазерний випромінювач і фотоприймальна лінійка), плоскопаралельна юстирувальна пластина 4, вузол оптичного зведення світлових променів (прямого і реверсного) 5 і захисне скло 6. В камері 2 розташований також кроковий електродвигун 7, на осі 8 якого розміщено дисковод 9 з рецепторним диском 10. На нижній стороні диску знаходиться маркер 11. В корпусі 1 розміщено юстирувальний пристрій 12 для контролю за процесом обертання диску та мікрогвинтові регулюючі елементи 13. Іззовні сенсор захищено герметичною кришкою 14.

В дисковому сенсорі використовується такий же принцип вимірювань, як і в лінійному. Підготований до проведення аналізів рецепторний диск 10 встановлюють на дисководі 9. Зміна досліджуваних проб виконується поворотом диску на фіксований кут  $\omega \sim 10^0$ . На диску діаметром  $D \sim 80-100 \text{ мм}$  можна розмістити і дослідити за один оборот до 30 різних проб, так що швидкодія сенсора за умови викорис-

тання набору змінних рецепторних дисків може скласти кілька сотень аналізів на годину.

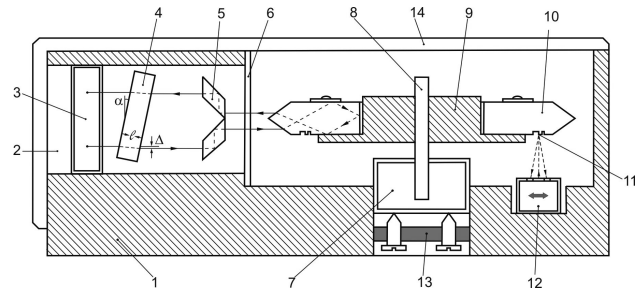


Рис. 6. Дисковий сенсор: 1 — корпус, 2 — камера, 3 — оптико-електронний блок, 4 — юстирувальна пластина, 5 — вузол оптичного зведення світлових променів, 6 — захисне скло, 7 — кроковий двигун, 8 — вісь, 9 — дисковод, 10 — рецепторний диск, 11 — маркер, 12 — юстирувальний пристрій, 13 — регулюючі елементи, 14 — кришка

Слід зазначити, що ми не розглядаємо способи нанесення досліджуваних проб та фактори, якими визначається щільність їх розташування на рецепторі. Однак зауважимо, що у зв'язку з використанням рухомих рецепторів з досить великою робочою поверхнею тут проблема більш проста, ніж для стаціонарних рецепторів. Наприклад, дозатори досліджуваних речовин можна не пересувати відносно чутливої поверхні рецептора, а розмістити по колу (якщо використовується диск) у спеціально призначеному для цього пристрої. При невеликій кількості досліджуваних проб їх можна наносити з допомогою ручних мікродозаторів.

Перевагою наведених вище мультипробних сенсорів є відсутність потреби в імерсійній рідині, що стало наслідком об'єднання рецептора з призмою повного внутрішнього відбивання.

### 3. Юстирування сенсора

Необхідність юстирування і контролю за його станом в процесі вимірювань пов'язана з тим, що переміщення рецептора в сенсорі може бути нестабільним. Якщо взяти рецепторний диск, то при роботі в старт-стопному режимі і невеликій швидкості обертання ( $\sim 1 \text{ об/хв}$ ) тут відсутні інерційні фактори стабілізації руху, властиві, наприклад, комп'ютерним дискам.

Площина обертання рецепторного диску може зазнавати неконтрольованого кутового зміщення відносно горизонтального рівня. А це в свою чергу призведе до зміни кута падіння світла на чутливу рецепторну плівку і відпо-

відних похибок при визначенні резонансу. При люфті осі обертання  $\sim 0,01^0$  виникає приблизно такої ж величини кутове відхилення світлового променя, що є неприйнятним, оскільки роздільна здатність сенсора зазвичай не повинна бути гіршою за  $(\Delta\theta)_{\min} \sim 0,01^0$  [18,19]. При цьому зі збільшенням товщини диска можливе зростання впливу випадкових радіальних коливань його поверхні. Не виключається прояв й інших факторів, які дестабілізують рух диска. Процес оптичного юстирування розглянемо на прикладі дискового сенсора (рис. 6).

До початку вимірювань необхідно зістикувати оптико-електронний блок 3 з рецепторним диском 10. З цією метою використовується плоскопаралельна юстирувальна пластина 4, яка може обертатися в вертикальній і горизонтальній площинах. Лінійне зміщення  $\Delta$  робочого світлового променя пов'язане з товщиною пластини  $\ell$  та кутом її повороту  $\alpha$  співвідношенням  $\Delta \approx \frac{(n-1)\ell}{n}\alpha$  (для невеликих кутів).

Звідси випливає, що, наприклад, при  $\ell \approx 30\text{мм}$ ,  $n=1,61110$  за прийнятного кута повороту  $\alpha \approx 10^0$  може бути отримане зміщення  $\Delta \approx 2\text{мм}$ .

Змінюючи кутове положення юстирувальної пластини 4, отримують відповідне лінійне зміщення  $\Delta$  прямого і реверсного світлових променів. Оскільки  $\alpha$  можна змінювати по вертикалі і горизонталі, то таким шляхом досягають співпадіння напрямків розповсюдження вказаних променів з радіусом рецепторного диска та обирають область опромінення на рецепторній плівці. При цьому зміщення прямого променя компенсується відповідним зміщенням реверсного променя, і порушень в роботі оптико-електронного каналу не виникає.

Тонке оптичне юстирування мультипробного сенсора можна виконати на основі кореляційного методу обробки сигналів [19] із застосуванням спеціальних перешкодозахисних кодів — коду Баркера, усічених бінарних числових  $M$ -последовностей, різноманітних частотно- та фазово-модульованих імпульсних последовностей тощо [20,21]. Пристрій для оптичного юстирування входить до складу дискового сенсора (рис. 6), а його сутність розкривається з допомогою рис. 7.

Використовується окремий (незалежний від робочого) світловий промінь з квадратним (або прямокутним) перерізом, сформованим апертурною діафрагмою 1. Вздовж однієї із сторін пере-

різу зазначений промінь структурується по перешкодозахисному коду амплітудним діапозитивом 2, який містить відповідну до обраного коду послідовність прозорих та непрозорих штрихових ліній. Оптичне зображення діапозитиву проектується на нижню сторону рецепторного диска 3. При обертанні диска це зображення описує на ньому траєкторію у вигляді замкнутого кола.

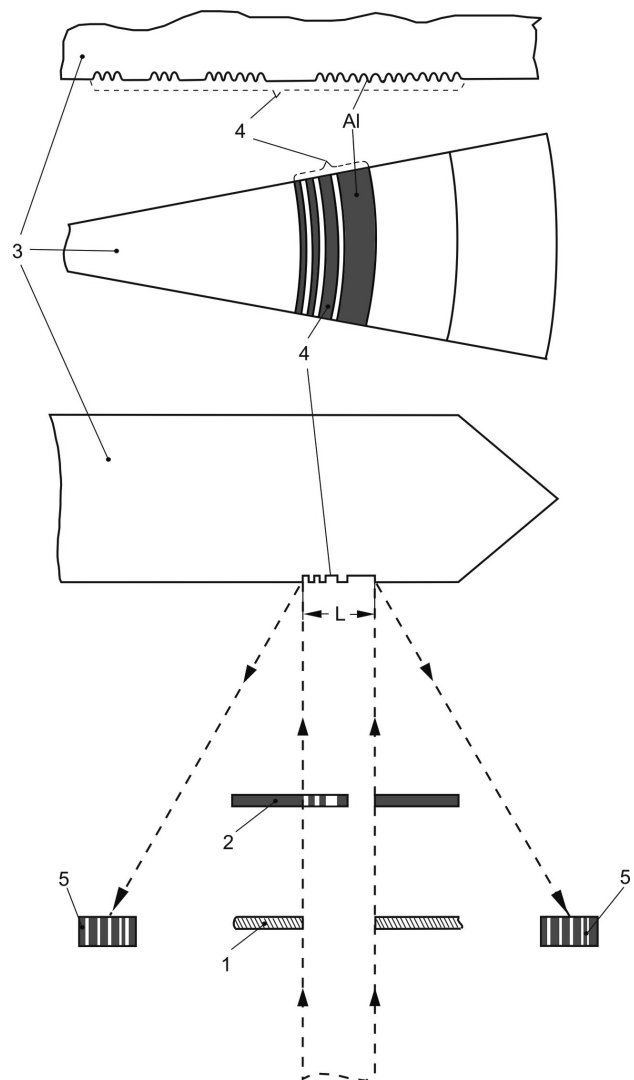


Рис. 7. Схема оптичного юстирування: 1 — діафрагма, 2 — амплітудний діапозитив, 3 — рецепторний диск, 4 — маркер, 5 — фотоприймачі

Зазначена траєкторія є місцем розташування маркера 4. Він являє собою набір структурованих по коду (ідентично світловому променю) замкнутих концентричних кілець на поверхні рецепторного диска, які формуються в полімері методом штамповки. Іззовні кільця вкриті плівкою Al. Завдяки наявності в структурі кілець рельєфу ( $\leq 1\text{мкм}$ ) вони мають властивість розсіювати падаюче випромінювання.

При обертанні диску промінь пересікається з маркером, і відбитий світловий сигнал реєструється фотоприймачами 5. Реєстрацій-ний сигнал змінюється пропорційно площі взаємного перетину променя з маркером і досягає максимуму при повному їх суміщенні. Зрозуміло, що мова йде (і йтиме надалі) про суміщення лінійних штрихів променя довжиною  $\sim 100-150 \text{ мкм}$  з такими ж за розмірами ділянками кільцевого маркера, які можна вважати лінійними.

Взаємодія світлового променя з маркером супроводжується фізичним процесом аналогового множення та інтегрування сигналів, які відповідають променю і маркеру. При цьому відбувається фільтрація від статистичних шумів та перешкод (а вони завжди присутні), що дозволяє більш чітко визначати моменти суміщення променя з маркером або їх розсуміщення.

Математично зазначена вище процедура базується на знаходженні взаємно-кореляційної функції між сигналом, який відповідає сумі сигналів від маркера  $S(x)$  і шуму  $S_w(x)$ , та сигналом  $S(x-\xi)$ , який відповідає променю:

$$\psi(\xi) = \mu \int_{\frac{L}{2}+\xi}^{\frac{L}{2}} [S(x) + S_w(x)] \cdot S(x-\xi) dx, \quad (3)$$

де  $\mu$  — апаратний коефіцієнт, що визначається умовами формування сигналів;  $L$  — база (ширина) кільцевого маркера ( $\sim 100-150 \text{ мкм}$ );  $\xi$  — радіальний зсув між маркером і світловим променем (координатна вісь зсуву  $x$  спрямована по радіусу диска).

Інтеграл (3) розпадається на дві складові. Складова  $\mu \int_{\frac{L}{2}+\xi}^{\frac{L}{2}} S_w(x) S(x-\xi) dx = 0$ , оскільки статистичний шум і сигнал, що відповідає структурованому променю, не корелюють між собою [19]. Залишається складова

$$\psi(\xi) = \mu \int_{\frac{L}{2}+\xi}^{\frac{L}{2}} S(x) S(x-\xi) dx, \quad (4)$$

яка і є відфільтрованим від шуму кореляційним сигналом суміщення.

Для маркера, що містить аперіодичну послідовність із  $t$  штрихових елементів (кілець), використовуючи одиничні ступінчаті функції  $e(x)$  [22], можна записати:

$$S(x) = \sum_{i=1}^m [e(x-x_{2i-1}) - e(x-x_{2i})]; \quad (5)$$

$$S(x-\xi) = \sum_{i=1}^m [e(x-\xi-x_{2i-1}) - e(x-\xi-x_{2i})].$$

Тут позначено:

$$e(x-x_{2i-1}) - e(x-x_{2i}) = \begin{cases} 0 & (x < x_{2i-1}); \\ 1 & (x_{2i-1} \leq x \leq x_{2i}); \\ 0 & (x > x_{2i}); \end{cases} \quad (6)$$

$$e(x-\xi-x_{2i-1}) - e(x-\xi-x_{2i}) = \begin{cases} 0 & (x < x_{2i-1} + \xi); \\ 1 & (x_{2i-1} + \xi \leq x \leq x_{2i} + \xi); \\ 0 & (x > x_{2i} + \xi); \end{cases} \quad (7)$$

$x_{2i-1}$  і  $x_{2i}$  — координати лівого та правого країв  $i$ -го елемента маркера. Підставивши (5) в (4) з урахуванням (6) і (7) та нормування по  $\mu$ , отримаємо нормовану кореляційну функцію

$$\bar{\psi}(\xi) = \sum_{i=1}^m \bar{\psi}_i(\xi), \quad (8)$$

де  $\bar{\psi}_i(\xi) = \int_{x_{2i-1}+\xi}^{x_{2i}+\xi} S(x) dx$  — складова цієї функції,

яка відповідає  $i$ -му елементу оптичного зображення маркера, зсунутому на величину  $\xi$ . В межах області суміщення в просторових координатах кожному  $i$ -му штриховому елементу маркера може бути поставлений у відповідність світловий промінь з прямокутним перерізом (світловий штамп) шириною  $x_{2i} - x_{2i-1}$ , лівий край якого відповідає координті  $x_{2i-1} + \xi$ , а правий — координті  $x_{2i} + \xi$ .

Вирази (4) — (8) є базовими для чисельних розрахунків кореляційних сигналів від маркерів із довільними кодованими структурами. В основу таких розрахунків покладені правила виконання логічних операцій з одиничними ступінчатими функціями.

На рис. 8 наведено приклад побудови кореляційного сигналу суміщення для маркера і променя у вигляді одиночних прямокутних елементів шириною  $L$ . Кореляційний сигнал пропорційний площі перекриття  $S(x)$  і  $S(x-\xi)$ .

При цьому гострота сигналу  $\left| \frac{d\bar{\psi}}{d\xi} \right| = 1$ .

На рис. 9 показані 13-розрядна імпульсна послідовність Баркера  $S(t)$  та структура маркера  $S(x)$  і кореляційний сигнал  $\bar{\psi}(\xi)$ , що відповідають цій послідовності. Завдяки вдало об-



раному коду кореляційний сигнал практично не має бокових пелюстків — вони згладжені. Якби використовувалась регулярна (не кодована) послідовність, то сигнал містив би близькі за амплітудою бокові пелюстки, які заважали б відшукуванню його головного максимуму.

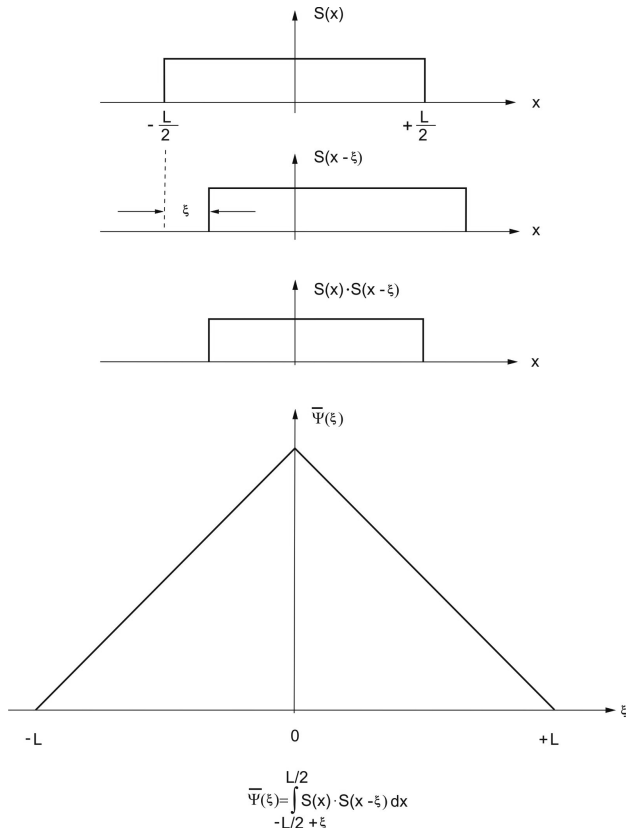


Рис. 8. Сигнал суміщення для маркера і променя у вигляді одиночних прямокутних елементів:  $S(x)$  — маркер,  $S(x-\xi)$  — промінь,  $\bar{\psi}(\xi)$  — кореляційний сигнал

Точність суміщення визначається гостротою кореляційного сигналу [19]. При використанні коду Баркера гострота  $\left| \frac{d\bar{\psi}}{d\xi} \right| = 4$ , і для маркера з базою  $L = 130 \cdot 10^{-4} \text{ см}$  за умови реєстрації змін сигналу  $\Delta\bar{\psi}_{\min} = 0,01\bar{\psi}_{\max} \approx 1 \cdot 10^{-4} \text{ см}$  (для цього необхідні реєструючі пристрої з відповідними порогами спрацьовування та розрядністю АЦП) може бути досягнута похибка суміщення  $\xi_{\min} \approx 0,2 \cdot 10^{-4} \text{ см}$ . З поправками на технологічний допуск розміщення маркера на поверхні диску  $\xi_{\text{tech}} \sim 2 \cdot 10^{-4} \text{ см}$  та дифракцію світла при  $\lambda = 0,65 \cdot 10^{-4} \text{ см}$  сумарна похибка складе  $\xi_{\Sigma} \sim \xi_{\min} + \xi_{\text{tech}} + \lambda = 3 \cdot 10^{-4} \text{ см}$ . Це відповідає кутовій похибці горизонтального позиціонування рецепторного диску  $\Delta\gamma \sim 3 \cdot 10^{-7} \text{ град}$ , що цілком задовольняє реальні потреби.

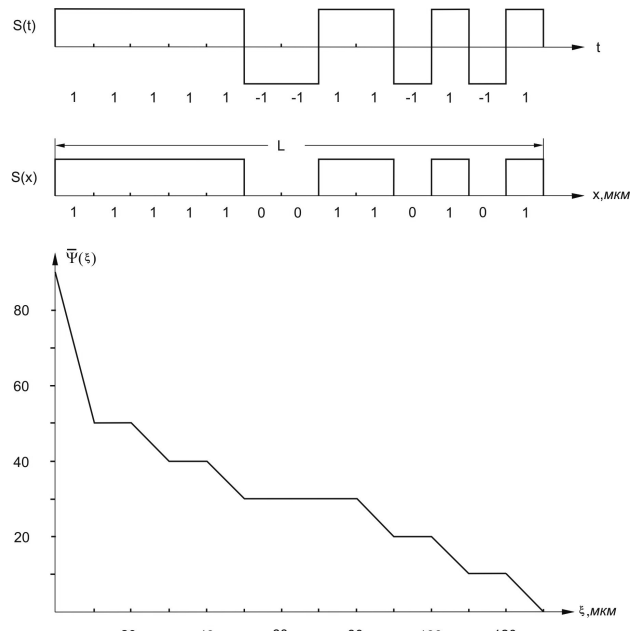


Рис. 9. Сигнал суміщення для маркера і променя з кодованими структурами:  $S(t)$  — 13-розрядна імпульсна послідовність Баркера,  $S(x)$  — структура маркера і променя,  $\bar{\psi}(\xi)$  — кореляційний сигнал

Контроль за процесом оптичного юстирування зводиться до того, що при обертанні диску реєструється сигнал суміщення по всій круговій траєкторії. Сигнал порівнюється з еталонним. Якщо він нестабільний, спотворений або відсутній, то це свідчить про те, що траєкторія руху світлового променя по диску не є круговою і потрібно вдаватися до засобів її корекції. Сама ж корекція може виконуватись як з допомогою регулюючих пристроїв, так і на програмно-алгоритмічному рівні.

Слід зазначити, що в системі оптичного юстирування замість лазера можна використати світлодіод як джерело випромінювання. При цьому надійність юстирування підвищиться, а вартість сенсора зменшиться.

Можна також одночасно виконувати аналіз проб і здійснювати контроль за стабільністю обертання диску, використовуючи тільки один розбіжний неструктурований робочий промінь. При цьому досліджувані проби доведеться розмістити між маркерами вздовж кругової траєкторії на диску (що не зовсім зручно), а самі маркери повинні бути невеликими за розмірами ( $\sim 100-150 \text{ мкм}$ ) і мати властивість розсіювати падаюче на них зсередини диску світлове випромінювання.

## Висновки

1. Потреба у зручних в користуванні портативних мультипробних ППР-сенсорах вимагає структурної інтеграції рецептора з призмою повного внутрішнього відбивання і переходу до рухомих планарних рецепторів товщиною  $\sim 8-10$  мм. Подібні рецептори можна виготовити із недорогих полімерних матеріалів (наприклад, оптичного полікарбонату) методом інжекційного лиття і реплікації.

Подальші перспективи ми пов'язуємо з використанням як рецептори планарних пластикових дифракційних структур.

2. Юстирування мультипробного ППР-сенсора доцільно виконувати, поєднуючи механічні методи з оптичними. Тонке оптичне юстирування виконується за допомогою окремого світлового променя і маркера, структурованих по перешкодозахисним кодам, та кореляційної обробки відповідних інформаційних сигналів. При цьому кутова похибка просторового позиціонування рецепторного диску оцінюється величиною  $\sim 3 \cdot 10^{-7}$  град., що цілком задовольняє практичні потреби.

3. В портативних мультипробних сенсорах лінійного і дискового типів, що пропонуються, може бути досліджено за один вимірювальний цикл десятки проб, а швидкодія зазначених сенсорів оцінюється в сотні аналізів на годину.

## Література

- www.ifr128.prd.fr/images/plateau\_techniques/PAP/Biacore\_Flexchip.pdf.
- Campbell C. T., Kim G. SPR microscopy and its applications to high-throughput analyses of biomolecular binding events and their kinetics // *Biomaterials*. — 2007. — V. 28. — p. 2380–2392.
- Yoon K. H., Shuler M. L., Kim S. J. Design optimization of nano-grating surface plasmon resonance sensors // *Optics Express*. — 2006. — V.14, No11. — p. 4842–4849.
- Markey F. Biacore 3000 — primed to perfection // *VIAjournal*. — 1998. — No2. — p. 4–7.
- www.umaine.edu/lasst/; www.gwctechnologies.com.
- Войтович І. Д., Корсунський В. М., Косогор А. Н., Стародуб Н. Ф., Яворський І. А. Перспективи створення портативних біосенсорів на основі поверхнового плазмонного резонанса // *Сенсорна електроніка і мікросистемні технології*. — 2005. — №3. — С. 56–65.
- Homola J. Surface Plasmon Resonance Sensors for Detection of Chemical and Biological Species // *Chemical Review*. — 2008. — V.108, No2. — p.470–471.
- Rich R. L., Myszka D. G. Survey of the year 2007 commercial optical biosensor literature // *J. Mol. Recognit.* — 2008. — V.21. — p.355–400.
- Войтович І. Д., Яворський І. О. Сенсорний пристрій // Пат. України №91548. МПК G01N 21/55. Заявл. 20.12.2007, опубл. 10.08.2010. — Бюл. №15.
- Войтович І. Д., Яворський І. О. Процеси в імерсійній рідині ППР-сенсора при зміні біочипів // *Сенсорна електроніка і мікросистемні технології*. — 2007. — № 4. — С. 38–46.
- www.ochki.net/articles/article-2-392.html.
- Овсянников В. Тиражирование CD DVD дисков (www.rostoc-cd.kiev.ua/ihowtirag.htm).
- Suzuki M., Ozawa F., Sugimoto W., Aso S. Miniaturization of SPR Immunosensors // *Analytical Sciences*. — 2001. — V.17. — p.1265–1267; www.ti.com/spreet; www.aigproducts.com/surfaceplasmonresonance/sprcurve analysis.htm.
- Homola J. Electromagnetic Theory of Surface Plasmons. — In «Surface Plasmon Resonance Based Sensors». — Springer Series on Chemical Sensors and Biosensors. — Springer-Verlag. — Berlin-Heidelberg. — 2006. — p. 3–44.
- Шу Г. Ф., Кетце М. М., Ренсинг П. А. и др. Оптоэлектронная сенсорная система, основанная на тонкопленочной пластиковой электронике ([http://rusnanotech09.rusnanoforum.ru/Public/LargeDocs/these/rus/pdf/Rusnanotech09\\_abstracts\\_10.pdf](http://rusnanotech09.rusnanoforum.ru/Public/LargeDocs/these/rus/pdf/Rusnanotech09_abstracts_10.pdf))
- Войтович І. Д., Яворський І. О. Сенсорний пристрій // Пат. України № 91404 МПК G01N 21/55. — Заявл. 09.09.2008, опубл. 26.07.2010. — Бюл. №14.
- Войтович І. Д., Яворський І. О. Сенсорний пристрій // Пат. України № 90041 МПК G01N 21/55. — Заявл. 10.07.2008, опубл. 25.03.2010. — Бюл. № 6.
- Ширшов Ю. М., Самойлов А. В. и др. Анализ и численное моделирование ППР-спектрометров с механической разверткой по углу: алгоритм определения угловой позиции минимума // *Рестрація, зберігання і обробка даних*. — 2004. — Т. 6. — №3. — С. 3–18.
- Voitovych I., Yavorsky I. Correlative processing of information in biosensors by surface plasmon resonance // *Sensor Electronics and Microsystem Technologies*. — 2009. — No3. — p. 79–85.
- Варакин Л. Е. Теория сложных сигналов. — М.: Сов. радио, 1970. — С. 201–238.
- Шумоподобные сигналы в системах передачи информации (под ред. В.Б. Пестрякова). — М.: Сов. радио, 1973. — С. 101–144.
- Зельдович Я. Б., Мышкис А. Д. Элементы прикладной математики. — М.: Наука, 1972. — С. 193–198.