

СЕНСОРНЫЙ МОДУЛЬ С АЛМАЗОПОДОБНЫМИ ЭЛЕКТРОДАМИ СИСТЕМЫ ЭЛЕКТРОХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА БИОПРОБ

Семеней А.М., Рожницкий Н.Н.

Харьковский национальный университет радиосэлектроники

61166, Харьков, пр. Ленина, 14, каф. биомедицинских электронных приборов и систем, лаборатория «Аналитической оптоэлектроники» тел. 38(057)702-13-64, 38(057)70-20-369

E-mail: rzh@kture.kharkov.ua

In this work the problem of liquid biological sample analysis by developed electrochemiluminescence unit with diamond-like films on working electrode and sample transport system based on the electrokinetic's phenomena is considered. Its use for definition of concentration of bilirubin in blood that is necessary for diagnostics of bilious system pathologies is considered.

Введение. В настоящее время актуальной и практически важной проблемой является разработка сенсоров для медицинских применений. Медицина без сенсоров, будучи «слепой» не может поставить правильный диагноз, а, следовательно, назначить вовремя необходимое лечение. Залогом успешного лечения является выявление патологий на ранних стадиях заболеваний. При медицинских анализах биопроб с целью диагностики регуляторных патологий ключевыми проблемами являются: сложность работы с малыми объемами, разделение пробы на составляющие, регистрация аналитического сигнала. Современная медицинская техника стремится к увеличению чувствительности определения веществ в биопробе. Но, к сожалению, существующие диагностические приборы и методы далеко не совершенны, они требуют дальнейшей эволюции. В существующих системах большее число компонент в биопробе приводят к тому, что аналитический сигнал представляет сплошной шум и не несет полезной информации. Разработка аналитической системы, которая обладает значительно большей чувствительностью, минимально возможным временем анализа, и высокой селективностью является весьма перспективной. Многообещающим методом анализа является электрохемилюминесцентный (ЭХЛ) анализ [1]. Его высокая селективность и низкий предел обнаружения при определении конкретных органических веществ делает этот метод весьма привлекательным для применения в анализе. Но такой тип анализа имеет и недостатки, которые тесно связаны со старением и деградацией электродов используемых ячеек или сенсоров, в связи с чем актуальным является модификация электродных поверхностей различными материалами.

Целью данной работы является разработка системы, способной обеспечить высокую селективность и достоверность полученных результатов анализа биомедицинских проб, в частности для диагностирования заболеваний желчной системы.

Задачами работы являются выбор способа подачи пробы в рабочую область сенсора, разработка конструкции сенсорного модуля, обоснование выбора алмазоподобных пленок (АПП) для создания рабочих электродов сенсоров, апробация прототипа сенсорного модуля для определения билирубина.

Сущность. Последовательность стандартной схемы процесса анализа можно представить как выбор объекта исследования, выбор метода анализа, отбор проб, фракционирование, проведение собственно анализа и, наконец, обработка результатов. Цель любого аналитического метода заключается в получении наиболее достоверных результатов за возможно более короткий промежуток времени. Сократить до минимума время, затрачиваемое на достижение результатов анализа, помогает ЭВМ. Например, компьютерная система способна выступать в роли устройства, осуществляющего управление аналитической системой, обработку и представление результатов анализа.

Алмаз — уникальный по своим свойствам материал: он обладает рекордно высокими атомной плотностью и твердостью, прекрасный диэлектрик и т.д. Благодаря своей исключительной химической стойкости, алмаз, несомненно, является перспективным кандидатом в электродные материалы.

Однако в отличие от многих других углеродных материалов, которые давно нашли широкое практическое применение (графит, стеклоуглерод, пиролитический графит, углеволокно и др.), электрохимические исследования алмаза были начаты сравнительно недавно, около пятнадцати лет тому назад. Таким исследованиям серьезно препятствовали два обстоятельства: во-первых, алмаз оставался экзотическим, труднодоступным материалом, для получения которого требовались очень высокие температуры и давления; во-вторых, алмаз как таковой — изолятор, он не проводит электрического тока и потому не может служить материалом для электродов.

Ситуация принципиально изменилась в связи с успехами технологии получения тонких пленок алмаза из газовой фазы при субатмосферном давлении. Были разработаны высокоэффективные методы выращивания поликристаллических алмазных пленок на алмазных и не алмазных подложках. Такие пленки при массовом производстве относительно недороги. Путем легирования акцепторной примесью (например, бором) удалось получить пленки с весьма хорошей проводимостью, которые по своей природе являются полупроводниковыми, а при высоком уровне легирования — и квазиметаллическими, это так называемый бор-допированный алмаз [2].

Было установлено, что поверхность алмаза, атомные связи которой заканчиваются водородом, не благоприятна для адсорбции. Поэтому проводящие алмазные электроды показывают очень высокие потенциалы окисления водорода, и восстановления кислорода, приводя к широкому потенциальному окну, в котором фоновый ток является очень низким. Хотя ширина этого окна зависит в некоторой степени от качества пленки, оно достаточно велико, приблизительно 2,15 В, до начала выделения кислорода на алмазоподобных электродах.

Использование АПП в качестве модифицирующей поверхности электродов в системах типа «лаборатория на чипе» с электродами, модифицированными алмазоподобными пленками. Применение электродов с алмазоподобными покрытиями позволяет уменьшить фоновые токи электролиза, расширить потенциальное окно в водных средах, увеличить срок службы устройства. Применение электрохимиллюминесцентного принципа детектирования позволит определять наномолярные концентрации.

Поскольку устройство должно иметь систему введения пробы, а стандартные системы прокачки требуют достаточно больших объемов проб, что не подходит для решения поставленных задач. Следовательно, необходимо предложить альтернативный способ транспорта. Также необходимо предусмотреть возможность промывки сенсора после проведения анализа, что является не такой уж простой задачей. И последняя сложность заключается в том, что, как правило, все миниатюрные системы являются портативными с питанием от низковольтной сети (например 12 В).

Существует множество насосов различной конструкции, например мембранные, ротационные, поршневые и т.д. Все они имеют свои достоинства. Но ни один из типов механических насосов не является приемлемым для использования в данной конструкции. У них масса недостатков, которые являются критическими. Эти насосы сложны в эксплуатации, они имеют относительно большой вес, промывка после каждого анализа вообще не представляется возможной. Среди традиционных способов транспортировки не удалось найти подходящий.

В качестве альтернативы весьма привлекательными являются электрокинетические явления. Под действием электрического тока может происходить движение либо твердого

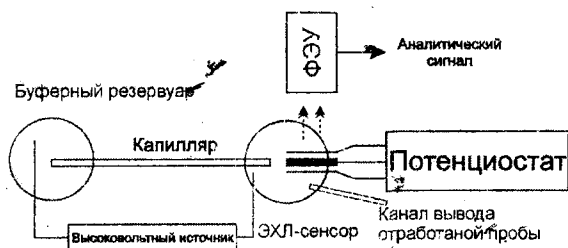
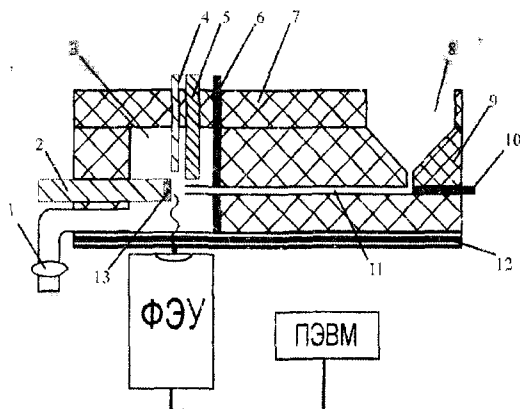


Рисунок 1 — Структурная схема сенсорного модуля

тела, либо жидкой фазы. Эти явления называют электрокинетическими, так как они проявляются в электрическом поле при перемещении одной фазы относительно другой, и в настоящее время достаточно хорошо изучены.

На основании требований к функциональности системы, представим структурную схему системы (рис.1). Система состоит из буфера, в который собственно вводится проба. Далее идет устройство подготовки образца. С его помощью проводится разделение смеси в пробе на отдельные фракции, которые закачиваются насосом в ячейку сенсорного модуля. Ячейка трехэлектродная, со стационарным электродом, без размешивания, электроды управляются посредством потенциостата. Через оптически прозрачную стенку ячейки проводится регистрация оптического (люминесцентного) аналитического сигнала.



1 – электронный сливной вентиль; 2 – рабочий электрод; 3 – резервуар ячейки; 4 – электрод сравнения; 5 – вспомогательный электрод; 6 – анод системы ввода; 7 – верхняя пластина; 8 – буферный резервуар; 9 – центральное оргстекло; 10 – катод системы ввода пробы; 11 – капилляр; 12 – оптически прозрачная пластина; 13 – АПП.

Рисунок 2 — Конструкция сенсорного модуля

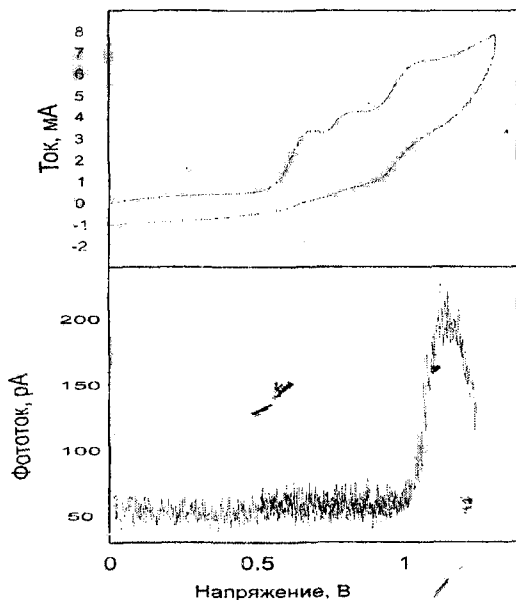


Рисунок 3 — Экспериментальные ЭХ и ЭХЛ исследования

ФЭУ, который регистрирует оптический сигнал, целесообразно использовать модульного типа, со встроенным источником питания и преобразователем ток-напряжение. Такое решение проще интегрировать в конструкторское решение, а также модуль легче сопрягать с микропроцессорной системой или ЭВМ.

Сенсор представляет собой модуль (рис. 2), с интегрированным в него буфером. К буферу подведен капилляр, в котором происходит фракционирование, и при помощи которого проходит прокачка пробы. Капилляр ведет к ячейке. С ячейки выведен канал сброса отработанной пробы, управляемый электронным вентилем. Для промывки сенсорного модуля необходимо заполнить буферный резервуар промывающим раствором и включить прокачку. После наполнения буфера открывают электронный вентиль, процедуру повторяют несколько раз. Количество промывок варьируется в зависимости от уровня загрязнения ячейки.

Следующей задачей работы является апробация прототипа ячейки с целью ЭХЛ-определения концентрации билирубина в биопробе.

Для экспериментальных исследований использовался разработанный в лаборатории аналитической оптохимотроники комплекс ЭЛАН-3d ввиду его универсальности [3]. К сожалению, билирубин не растворим в воде, а в биопробе он представляет комплексное соединение, которое разложится при фракционировании. Для экспериментальных исследований использовался раствор билирубина в диметилформамиде, поскольку последний является отличным органическим растворителем для электрохимических (ЭХ) и ЭХЛ исследований. На рис. 3 приведены данные ЭХ и ЭХЛ исследования. Свечение

детектируется в области окисления, которое начинается при потенциале $\sim 1,05$ В и его амплитуда почти в 6 раз превосходит фоновый фототок, что открывает возможность использовать этот метод для определения билирубина.

Выводы. В данной работе разработан сенсорный модуль с электродами, модифицированными АПП, системы ЭХЛ-анализа биопроб для определения билирубина, и проведена экспериментальная его апробация. Предложено его использование для определения концентрации билирубина в крови, что необходимо при диагностировании патологий желчной системы. Проведены экспериментальные исследования прототипа сенсорного модуля с алмазоподобными электродами.

Разработанный сенсорный модуль может быть использован в биомедицинских исследованиях и в лабораторной аналитической практике при экспресс-анализе биопроб.

Работа выполнена при финансовой поддержке УНТЦ (проект №4180, руководитель проекта – доктор физ.-мат. наук профессор Рожицкий Н.Н.)

Литература. 1. Рожицкий Н.Н., Бых А.И., Красноголовец М.А. Электрохимическая люминесценция. – Харьков: ХТУРЭ, 2000. – 320 с. 2. Diamond electrochemistry / A. Fujishima, Y. Einaga, Tata N. Rao, Donald A. Tryk/ Elsevier 2005. – p. 586. 3. Рожицкий Н.Н. Электрохемилюминесцентные сенсоры на базе нанотехнологий для использования в биомедицине // 3-я Международная научно-техническая конференция «Сенсорная электроника и микросистемные технологии». – Тез. докл. Одесса 2008.- с.32.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭНДОГЕННЫХ ТОКСИНОВ С ПОМОЩЬЮ НАНОМАТЕРИАЛОВ

Павлова Н.В., Галайченко Е.Н.

Харьковский национальный университет радиоэлектроники
61166, Харьков, пр. Ленина 14, каф. биомедицинских электронных приборов и систем,
лаборатория «Аналитической оптоэлектроники» т. 38(057)7020-369, 38(057)7021-364,
e-mail: galaychenko_alen@ukr.net, rzh@kture.kharkov.ua

In clinical medicine there is a problem of early diagnostic of diseases of infectious character. Among various types of parasitogenic diseases intestinal nematodes are the most dangerous. In present work as a biologically significant substance has been chosen a toxin, which is excreted by intestinal nematodes. For definition of toxin have been proposed the fullerenes – carbon molecular compounds.

Введение. На сегодняшний день клиническая медицина столкнулась с проблемой ранней диагностики различных типов заболеваний, особенно инфекционного характера из-за особенностей методов диагностики, характера самой инфекции – мутация, вирулентность, приобретение скрытых форм и т.д.

Задачами в данной работе ставилось проведение выбора биологически значимого объекта исследования, возможность его определения одним из методов электрохимического анализа с использованием наноматериалов, проведение теоретического исследования нового типа наноматериала на примере молекулы фуллерена и ее разновидностей; проведение математических расчетов энергетических параметров фуллеренов.

Сущность. В результате проведенных теоретических исследований, в данной работе в качестве детекторного элемента предлагается использование одного из типов наноматериалов – фуллеренов [1] – для электрохимического (ЭХ) определения веществ биологического происхождения так называемых биологических маркеров, появляющихся при инфицировании человека одним из типов кишечных нематод [2, 3]. Природа данных маркерных веществ напрямую зависит от типа кишечных нематод и длительности инфицирования. К одним из наиболее распространенных веществ данного класса относятся среднемoleкулярные вещества, сигнализирующие о наличии инфекционного