

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»**

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»**

**Кваліфікаційна наукова праця на
правах рукопису**

КУТОВА ОКСАНА ЮРІЇВНА

УДК 621.37, 621.389

**БІОМОЛЕКУЛЯРНІ І ХІМІЧНІ СЕНСОРИ НА ОСНОВІ КРЕМНІЄВИХ
ПОЛЬОВИХ СТРУКТУР**

Спеціальність 05.11.17 - біологічні та медичні прилади і системи

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Кутова О. Ю. _____

Науковий керівник:

ТИМОФЄЄВ ВОЛОДИМИР ІВАНОВИЧ

доктор технічних наук, професор

Київ – 2019

АНОТАЦІЯ

Кутова О. Ю. Біомолекулярні і хімічні сенсори на основі кремнієвих польових структур. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 05.11.17 - біологічні та медичні прилади і системи. – Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», Київ, 2019.

Дисертаційна робота присвячена комплексному вивченню, аналізу характеристик, удосконаленню методів аналізу та розробленню сенсорних пристроїв на основі кремнієвих польових структур для детектування хімічних та біомолекулярних сполук.

У роботі розв'язано важливе науково-технічне завдання – удосконалено низку методів детектування, розроблено і досліджено кремнієві сенсорні польові структури для виявлення хімічних та біомолекулярних сполук на основі нових технологій і наноматеріалів та доведено їх переваги щодо чутливості, швидкодії, селективності, технологічності конструкції, що перевищують існуючі аналоги.

Проаналізовано сфери застосування і показано необхідність розроблення нових біохімічних сенсорів на основі МДН-структур (метал-діелектрик-напівпровідник) та ІСПТ (іон-селективний польовий транзистор), зокрема, для аналізу людської крові, а також для фізіологічних розчинів, які є її складовими. На основі літературного аналізу встановлено шляхи розроблення нових і удосконалення існуючих сенсорів на основі МДН-структур, зокрема, покращення їх характеристик з використанням новітніх наноматеріалів. Описано особливості важливого компонента людської крові С-реактивного білка (СРБ) та наведено існуючі методи його детектування як з використанням ІСПТ та МДН-транзисторів, так і інші (оптичні, електрохімічні). Незважаючи на те, що кожен метод має свої переваги та недоліки, актуальною залишається проблема створення високочутливих біохімічних сенсорів для експрес діагностики молекулярних і хімічних сполук.

Обґрунтовано структуру та вибір підзатворного діелектрика для виготовлення біосенсора на основі *p*-канального МДН транзистора. Наведено результати аналізу чутливості рН-сенсорів на основі CeO_2 та SiO_2 та доведено переваги використання CeO_2 для біологічних та хімічних застосувань, зокрема, досягнуто рН чутливість сенсора, яка практично близька до максимально можливої – 58,5 мВ/рН, а стабільність результатів становить ~98,65%. Удосконалено метод аналізу вимірювання рівня рН у фізіологічних розчинах, використовуючи мікропотоківу систему, що забезпечує постійний об'єм досліджуваного розчину та виключає його зменшення внаслідок випаровування. Розроблений сенсор апробовано для оцінки рівня забруднення навколишнього середовища, а саме, рівня чистоти морської води. Перевірено можливість детектування різних рівнів концентрації солі (NaCl), як основного компоненту фізіологічного розчину. Доведено переваги та удосконалено метод вимірювання та структуру сенсора з використанням наноматеріалів для детектування вищезазначених рідин у біологічних системах.

Розроблено і досліджено сенсор з використанням новітніх наноматеріалів, а саме, пористого кремнію та наночастинок. Удосконалено аналітичну модель сенсора з квантовими точками, розміщеними у приповерхневій області напівпровідника між стоком та витоком та показано роль вбудованих у канал транзистора квантових точок шляхом врахування додаткового заряду та врахування впливу фононних механізмів розсіяння на рух носіїв заряду у каналі транзистора. Теоретично показано, що структура з квантовими точками має чутливість 0,1 мкА/В, а без квантових точок – 0,05 мкА/В.

Результати моделювання показали можливість практичної реалізації прототипу сенсора з наночастинками металу на поверхні чутливого шару, зокрема, для детектування перекису водню. Подальшого розвитку набув метод детектування перекису водню та запропоновано структуру на основі польового транзистора з робочою областю, розташованою з тильної сторони, у поєднанні з пористим кремнієм та наночастинками Pt - каталізатора H_2O_2 . Пориста структура реалізована методом метал-стимульованого хімічного травлення. Використання пористої

структури у поєднанні з наночастинками-каталізаторами дозволило підвищити чутливість сенсора майже на 30%.

Досліджено процеси зміни провідності пористої структури під дією перекису водню, використовуючи найпростіші резистивні датчики з чутливою областю у вигляді пористого кремнію з наночастинками срібла.

Доведено підвищення чутливості МДН-транзисторів та фототранзисторів для детектування H_2O_2 з використанням у якості робочої поверхні тильної сторони транзисторної структури у вигляді пористого кремнію з наночастинками каталізатора перекису – срібла та платини.

Вперше запропоновано багат шарову структуру для детектування СРБ, використовуючи сенсор на базі ІСПТ з CeO_2 у якості підзатворного діелектрика. Поверхня сенсора хімічно модифікувалася комплексом стрептавідин-антитіло, здатного до біохімічного зв'язування антигену з антитілом. Хімічна реакція утворення комплексу антиген-антитіло призводила до зміни електричного поля поблизу підзатворного діелектрика і, як результат, до зміни вихідного струму сенсора. З використанням різноманітних методів спектроскопії досліджено структуру сформованого на поверхні чутливого шару. Розроблений сенсор має поріг детектування на рівні 0,1 мг/л та чутливість 290 мВ/(мг/л), а для дослідження необхідно лише 20 мкл реагенту та менше однієї хвилини часу. З метою підвищення чутливості використано додатковий буферний шар – меланін. Такий шар підвищує чутливість практично на 61%.

Розроблений сенсор продемонстрував стабільність роботи протягом 30 днів. Незаперечною перевагою запропонованого сенсора являється можливість працювати з реальними зразками плазми крові. При цьому похибка вимірювань складає 18% порівняно з імуноферментним аналізом, що є основою для використання сенсора у реальних клінічних дослідженнях, зокрема, для скринінгового дослідження.

Запропоновано сенсор з нанокристалічним оксидом церію з удосконаленою методикою для динамічного аналізу білка бета-лактоглобуліну - основного алергену молока. Оскільки існуючий ІФА метод є довготривалим (1,5 год.), а запропонована методика дозволяє ідентифікувати наявність бета-лактоглобуліну за кілька хвилин.

Показано перспективи широкого застосування створених прототипів біохімічних сенсорів СРБ, бета-лактоглобуліну, рН та H_2O_2 у медичній практиці і для біохімічних досліджень.

Ключові слова: наноматеріали, пористий кремній, наночастинки, кремній n – типу, біосенсор, чутливість, поріг детектування, швидкодія, мікроскопія.

ABSTRACT

Kutova O. Biomolecular and chemical sensors based on silicon field effect structures. – Qualifying scientific work on the manuscript.

Ph.D. thesis on speciality for candidate's degree of technical science 05.11.17 – Biological and medical devices and systems. – National Technical University of Ukraine “Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute”, Kyiv, 2019.

This work is dedicated to learning in complex, analyzing the characteristics of sensor's structures based on silicon field effect structures, improving the methods of analysis and fabrication of such structures for chemical and biomolecular compounds detections.

In this thesis important scientific and technical task was solved – a number of detection methods have been improved; sensor's structures based on silicon field effect structures for chemical and biomolecular compounds detections based on new technologies and nanomaterials were developed. Also, advantages in sensitivity, speed, selectivity, performance and constructions comparing to known sensors' analogues were proved.

The scope of usage of biosensors based on metal-oxide-semiconductor structures and ion-sensitive field-effect transistor (ISFET) were analyzed, in particular, for the analysis of human blood and physiological solutions that are its components, as well as the importance of their fabrication was shown. Based on literary review, new trends of development for a new and improvement for existing sensors based on silicon field effect structures for biochemical applications were set, in particular, the improvement of their characteristics by using modern nanomaterials.

The characteristics of the important component of human blood C-reactive protein (CRP) were described and the existing method of its detection was presented using ISFET and FET, as well as other (optical, electrochemical). Despite the fact that each method has some advantages and disadvantages, the problem to create a high-sensitivity sensor for rapid diagnosis of CRP still remains.

Several sensors modifications based on silicon field effect structures for the detection of aqueous solutions of organic (C-reactive protein, beta-lactoglobulin) and inorganic medium (H_2O_2 , NaCl) was proposed in this manuscript. Also, pH-sensor was proposed.

The structure and selection of the gate dielectric for the production of a biosensor based on a *n*-type field-effect transistor (FET) were described. The results of sensitivity of pH sensors based on CeO_2 and SiO_2 gate dielectric are presented. The advantages to use the CeO_2 for biological and chemical applications have been substantiated. In particular, the pH sensitivity, which is practically close to the maximum - 58.5 mV / pH, is proved, and the stability of the measurement results is practically 100% (~ 98.65%). The method of measuring the pH level in a solution was improved, using a microfluidic system that provides a stable volume of the analyte, and excludes its reduction due to evaporation. Also, that sensor was used to assess the level of environmental pollution, namely, the level of purity of seawater. The possibility to detect different levels of a salt concentration (NaCl) as the main component of the physiological solution was checked. Based on those positive results, the structure of the sensor with nanomaterials for the detection of the above-mentioned liquids in biological systems was improved.

The sensor was developed and investigated using the modern nanomaterials, namely, porous silicon and nanoparticles. The analytical model of the sensor with quantum dots located in the near-surface area of the semiconductor between the drain and the source was improved. In the mathematical model, the influence of the quantum dots into transistor was described by taking into account the additional charge and reducing the effect of the scattering phonon mechanisms on the charge carriers motion in the transistor channel. It has been shown theoretically that the structure with quantum dots (QDs) has a sensitivity of 0.1 $\mu\text{A} / \text{V}$, and without QDs it is 0.05 $\mu\text{A} / \text{V}$. The simulation results showed the possibility of a practical implementation of the prototype of a sensor with metal nanoparticles on the sensitive layer, in particular, for detecting hydrogen peroxide. For the H_2O_2 sensor, the rear side of MOSFET in combination with the hydrogen peroxide catalyst was used as a working area. The use of a porous structure (was formed by metal-assisted

chemical etching) in combination with Pt nanoparticles, as a catalysts of H_2O_2 , has allowed to increase sensitivity of the sensor by almost 30%.

The conductivity changes of the porous structure under the influence of hydrogen peroxide using the simplest resistive sensors with a sensitive area in the form of porous silicon with silver nanoparticles were investigated.

Increase the sensitivity of the FET and light-effect transistor (LET) for the H_2O_2 detection with the working area at the reverse side form with porous silicon and nanoparticles silver and platinum (peroxide catalyst) was proved.

For the first time, a multilayered structure for CRP detection was proposed, using a sensor based on ISFET with gate dielectric CeO_2 . The surface of the sensor was chemically modified by the streptavidin-antibody complex, capable of biochemical binding of the antigen to the antibody. The chemical reaction of forming an antigen-antibody complex resulted in a change in the electric field near the gate dielectric and it caused a change in the output current of the sensor. Using a variety of spectroscopy methods, the structure of the layer formed on the surface was studied. The developed sensor has a limit of detection at 0.1 mg /L and a sensitivity of 290 mV/(mg/L). For this analysis only 20 μ L of the reagent and about 1 min are needed. To increase the sensitivity the additional buffer layer, melanin, was used. Such a layer increases the sensitivity by almost 61%. The developed sensor showed good stability in work for 30 days. Another feature of this sensor is the ability to work with real samples - plasma, the measurement error is only 18% comparing to the ELISA analysis. Such results are the basis for using the sensor in real clinical trials, particularly for screening trials.

Sensor's structure with cerium dioxide gate dielectric with improving detection method for the dynamic investigation of beta-lactoglobulin, the main milk allergen, was proposed and developed. The existing method requires a long-time (~1,5 hours), and the proposed method allows identifying the presence of beta-lactoglobulin in just a few minutes.

The future perspectives of widespread usage of developed prototypes of biochemical sensors CRP, beta-lactoglobulin, pH and H_2O_2 in medical trials and for biochemical investigations were shown.

Keywords: nanomaterials, porous silicon, nanoparticles, *n*-type Si, biosensor, sensitivity, limit of detection, speed, microscopy.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Кутова О.Ю. Моделювання польових структур для біосенсорів з системами квантових точок / О. Ю. Кутова, В. І. Тимофєєв, О. І. Шуляк // *Electronics and Communications* – 2016. – Т. 21, № 2. – С. 18 – 24. (Наукове фахове видання України, включено до баз Index Copernicus та Google Scholar).
2. Kutova O. H₂O₂ sensor based on MOSFET with active layer in substrate area / O. Kutova, M. Dusheiko, T. Obukhova, N. Maksimchuk, T. Borodinova, V. Tymofeev // *Sensor Electronics and Microsystem Technologies*. – 2017 – Т. 14, № 4, р. 5 – 12. (Наукове фахове видання України, включено до баз Index Copernicus).
3. Кутова О. Ю. Зміна провідності структур «пористий кремній з наночастинками срібла – кремній» при детектуванні перекису водню / О. Ю. Кутова, М. Г. Душейко, Б. О. Лобода, Т. Ю. Обухова // *Технологія та конструювання в електронній апаратурі*, 2018, №4, с. 28- 32, DOI: 10.15222/ТКЕА2018.4.28. (Наукове фахове видання України, включено в базу даних DOAJ, в Google Scholar та Ulrich's Periodicals Directory).
4. Kutova O. Hydrogen Peroxide Measurements by MISFET and LET Structures with Rear Porous Silicon Layer and Metallic Nanoparticles / Oksana Kutova, Mykhailo Dusheiko, Bogdan Loboda, Tetyana Obukhova, Tetyana Borodinova, Serhyi Tkach // *Microsystems, Electronics and Acoustics*, Т. 23, № 5, 2018. с.17 – 24, DOI: 10.20535/2523-4455.2018.23.5.141665. (Наукове фахове видання України, включено до баз баз Index Copernicus та Google Scholar).
5. Кутова О. Ю. Вплив додаткового буферного шару на чутливість сенсора СРБ на основі ІСПТ / О. Ю. Кутова, М. Г. Душейко, М. О. Семененко, Л. А. Столяр, В. І. Тимофєєв // *Вісник Вінницького політехнічного інституту*, 2018, №5, с. 98-104. (Наукове фахове видання України, включено до баз Index Copernicus та Google Scholar).
6. Кутова О. Ю. Швидкий аналіз СРБ з використанням біосенсора на основі ІСПТ / Кутова О. Ю., Душейко М. Г., Шкель К. О., Тимофєєв В. І. // *Вчені записки Таврійського національного університету імені В.І. Вернадського*, серія

«Технічні науки», Т.29 (68) № 4, 2018. с.176 – 180. (Наукове фахове видання України).

7. Кутова О. Ю. Біосенори на МДН-транзисторах на основі SiO_2 та CeO_2 / О. Ю. Кутова // Електроніка – 2016: збірник тез ІХ міжнародної науково-технічної конференції молодих вчених, Україна, ФЕЛ НТУУ «КПІ», 13 – 15 квітня, 2016.– с. 162 – 165.

8. Кутова О. Ю. Біосенсори на основі МДН-транзисторів / О. Ю. Кутова, В. І. Тимофєєв // Вітчизняні інженерні розробки для охорони здоров'я: матеріали науково-практичної конференції біомедичних інженерів і технологів України, м.Київ, 21 – 22 квітня 2016 р.,ФБМІ НТУУ «КПІ». – с. 66 – 67.

9. Кутова О. Ю. H_2O_2 сенсор на базі польового транзистора з модифікованими наночастками платини / О. Ю. Кутова, Т. І. Бородінова, Н. В. Максимчук, М. Г. Душейко // Функціональна база наноелектроніки: сборник научных трудов ІХ международной конференции, Україна, м.Одеса, 18 – 23 вересня 2017 р. Одеський національний університет ім. Мечникова. – с. 82 – 85.

10. Кутова О. Ю. ІСПТ рН-сенсор з підзатворним діелектриком нанокристалічного оксиду церію / О. Ю. Кутова, В. І. Тимофєєв // Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології: збірник тез VI міжнародної конференції, Україна, м. Київ, 28 – 29 вересня 2017 р., Київський національний університет імені Тараса Шевченка. – с. 126 – 131.

11. Mamykin S. Plasmon polariton sensors based on HR – LIPSS for sensoric applications / S. Mamykin, O. Kutova, I. Gnilitzkyi // The 18th International Young Scientists Conference Optics and High Technology Material Science – SPO 2017, 26 – 29 October, 2017, p. 200.

12. Kutova O.Y. Detection of the inflammation biomarker CRP using ISFET / O. Y. Kutova, M. G. Dusheiko, M. O. Semenenko, L. A. Stoliar // Напівпровідникові матеріали, інформаційні технології та фотовольтаїка, тези доповідей V Міжнародної науково-практичної конференції, Україна, м. Кременчук, 17 – 19 травня 2018 р. / Кременчуцький національний університет імені Михайла Остроградського, с.115 – 117.

13. Кутова О. Ю. Сенсор С – реактивного білка на основі ІСПТ/ О. Ю. Кутова, М. Г. Душейко, М. О. Семененко, В. І. Тимофєєв // Конференція молодих вчених з фізики напівпровідників “Лашкарьовські читання 2018” з міжнародною участю м. Київ, 4 – 6 квітня 2018 р., с. 79 – 80.

14. Kutova O. Influence of Pt Nanoparticles in Porous Silicon on Performance of MISFET Sensor / O. Kutova, M. Dusheiko, B. Loboda, T. Obukhova, T. Borodina, S.V. Tkach // 2018 IEEE 38th International Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO), 2018, 24 – 26 April 2018, Kiev., pp. 168 – 173.

ЗМІСТ

ВСТУП	17
1. БІОСЕНСОРИ НА ТВЕРДОТІЛЬНИХ СТРУКТУРАХ	26
1.1. Характеристики біохімічних сенсорів.....	26
1.2. Особливості роботи сенсорів на основі МДН-транзисторів.....	32
1.3. Застосування біосенсорів на основі іон-селективних польових транзисторів.....	35
1.3.1. Сенсори для імунологічного дослідження.....	36
1.3.2. Сенсори на основі іон-селективних польових транзисторів для ферментних досліджень	37
1.4. Розподіл потенціалів в біосенсорах	40
1.5. С-реактивний білок в організмі людини: особливості, характеристики	42
1.6. Існуючі методи аналізу С-реактивного білка	43
1.7. Сенсори С-реактивного білка на основі польових транзисторів.....	44
1.8. Висновки до розділу 1	48
2. УДОСКОНАЛЕННЯ МЕТОДУ АНАЛІЗУ РІВНЯ рН ТА NaCl НА ОСНОВІ СЕНСОРНОЇ СТРУКТУРИ НА БАЗІ ІОН-СЕЛЕКТИВНОГО ПОЛЬОВОГО ТРАНЗИСТОРА.....	50
2.1. Фізичні процеси на границі діелектрик-електроліт	50
2.2. Особливості процесів екранування для біосенсорів	54
2.3. Біосенори на МДН-транзисторах з різними підзатворними діелектриками: SiO ₂ та CeO ₂	57
2.4. Чутливість діелектриків щодо рН та сенсор рН на основі іон- селективного польового транзистора.....	59
2.5. Дослідження методу аналізу морської води	65
2.6. Метод аналізу NaCl за допомогою сенсора на основі іон-селективного польового транзистора.....	67
2.7. Висновки до розділу 2	70

3. СЕНСОРИ НА ОСНОВІ КРЕМНІЄВИХ СТРУКТУР ДЛЯ БІОМЕДИЧНИХ ЗАСТОСУВАНЬ	71
3.1. Методи аналізу перекису водню	71
3.2. Моделювання польових структур для біосенсорів з системами квантових точок	73
3.3. Сенсор перекису водню на основі МДН-транзистора з пористим кремнієм	80
3.3.1. Структура сенсора перекису водню на базі МДН-транзистора з активною областю зі сторони підкладинки	81
3.3.2. Формування Pt наночастинок	83
3.3.3. Хімічне травлення з використанням металів	84
3.3.4. Концентраційні залежності для досліджуваних сенсорів H_2O_2 ...	86
3.3.5. Часові залежності для досліджуваних сенсорних зразків	88
3.4. Сенсори на основі польового транзистора та фототранзистора з металевими наночастинами та пористим кремнієм	90
3.5. Зміна провідності структур «пористий кремній з наночастинами срібла - кремній» при детектуванні перекису водню	93
3.6. Висновки до розділу 3	97
4. СЕНСОР СРБ НА ОСНОВІ ІОН-СЕЛЕКТИВНОГО ПОЛЬОВОГО ТРАНЗИСТОРА	100
4.1. Вибір способу формування біорозпізнавального шару для сенсора С- реактивного білка	100
4.2. Виготовлення та дослідження сенсора С-реактивного білка на основі іон-селективного польового транзистора	103
4.3. Вплив підзатворного діелектрика на чутливість сенсора С-реактивного білка	105
4.4. Формування біоселективної поверхні та особливості комплексу «біотин – стрептавідин»	107
4.5. Аналіз поверхні сенсора та дослідження селективності сенсора	111
4.6. Розподіл потенціалів у структурі «рідина-тверда поверхня»	114

4.7. Інфрачервона спектроскопія досліджуваного сенсора С-реактивного білка	122
4.8. Метод динамічного аналізу бета-лактоглобуліну використовуючи сенсор на основі іон-селективного польового транзистора.....	123
4.9. Висновки до розділу 4	127
ВИСНОВКИ.....	130
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	133
ДОДАТОК А	151
ДОДАТОК Б	151

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АСМ – атомно-силовий мікроскоп

ВПГ – внутрішня площина Гельмгольца

ЗПГ – зовнішня площина Гельмгольца

ІФА – імуноферментний аналіз

ІСПТ – іон-селективний польовий транзистор

КМОН – комплементарна структура метал-оксид-напівпровідник

КТ – квантова точка

МДН – метал-діелектрик-напівпровідник

ППР – поверхнево-плазмонний резонанс

РЕМ – растровий електронний мікроскоп

СБА – сироватка бичачого альбуміну

СЕМ – скануючий електронний мікроскоп

HEMT – high electron mobility transistor – транзистор з високою рухливістю електронів

ISFET – ion-sensitive field-effect transistor – іон-селективний польовий транзистор

PBS – phosphate-buffered saline – натрій-фосфатний буфер

PS – phosphate saline – фосфатний буфер

QD – quantum dot – квантова точка

SEM – scanning electron microscope

ВСТУП

Сучасні напрями розвитку науки про здоров'я та біомедичних досліджень свідчать про постійну необхідність технологій та методів, що дозволяють проводити точні та надійні вимірювання. Це питання можна вирішити шляхом використання компактних, недорогих та простих у використанні, портативних сенсорних приладів. Останнім часом широкого розвитку набувають біохімічні сенсори. Вони є особливо важливими для медичних, біологічних та біотехнологічних сфер внаслідок можливості безпосереднього перетворення біологічних процесів у електронний сигнал, що і є основною складністю при їх реалізації.

Існує декілька способів реалізації сенсорної структури. Найбільш поширенішими серед них є циклічна вольтамперометрія, хроноамперометрія, хронопотенціометрія, імпедансна спектроскопія та різноманітні методи на основі польових транзисторів у поєднанні з сучасними низькорозмірними системами, такими як нанодоти або біосенсори з використанням магнітних наночастинок [1, 2, 3]. Сучасному науковому світу відомі й інші методики вимірювання, такі як поверхневий плазмонний резонанс, оптична спектроскопія, еліпсометрія, кварцові мікроваги, скануюча зондова мікроскопія та інші [4, 5].

Неабиякий інтерес до розроблення новітніх біохімічних сенсорів зумовлений їх компактністю, точністю, високою чутливістю, селективністю, надійністю, високим рівнем інтеграції та можливістю поєднання на одному кристалі як перетворювача так і системи оброблення сигналу.

Актуальність теми.

На сьогоднішній день у зв'язку з бурхливим розвитком технологічних можливостей визначення концентрації хімічних і біологічних речовин у різних середовищах набуло розвитку і є актуальним завданням як для медицини, фармакології, сільського господарства, так і при виробництві продуктів харчування і контролю стану навколишнього середовища. Проте перетворення біологічної інформації у електричний сигнал є непростою процедурою через складність безпосереднього підключення електричних пристроїв до біологічного середовища.

Використання польових транзисторних структур для виготовлення біосенсорів різного призначення розширює можливі варіанти реалізації сенсорів. Одним із головних і актуальних завдань дисертаційного дослідження було удосконалення методів аналізу та розвиток нового покоління портативних біохімічних сенсорів, які використовуються у медичній практиці, включаючи клінічні маркерні і скринінгові експрес-дослідження людської крові та різних фізіологічних розчинів.

Основна відмінність сенсорних технологій від традиційних підходів інструментального аналізу полягає у можливості проведення кількісного та якісного аналізу в режимі реального часу з мінімальною додатковою пробопідготовкою, оскільки у них процеси хімічного перетворення досліджуваної речовини та вимірювання сигналу суміщені у часі та просторі.

З аналізу існуючих на даний час наукових публікації по даному питанню можна стверджувати, що найперспективнішими є біосенсори, виготовлені у поєднанні з можливостями мікроелектроніки. Прикладом такої системи є потенціометричні сенсори на основі рН-чутливих польових транзисторів. Актуальність таких сенсорів пояснюється простотою їх виготовлення, можливістю одночасного комбінування на одному сенсорі перетворювача та схеми обробки сигналів й основне - низькою собівартістю масового виробництва.

Біохімічні сенсори на основі польових транзисторів демонструють високе співвідношення сигнал-шум, швидкодію вимірювання, компактність та портативність [6, 7]. Нова технологія компоновки дозволяє отримувати компактні дешеві сенсори одночасно з системою обробки сигналу. Проте під час їх виготовлення необхідно забезпечити дотримання наступних умов:

- 1) хорошу пасивацію між рідкою частиною сенсора та твердотільною;
- 2) уникнення таких складних операцій, як промивка сенсора від незв'язаних компонентів або розбавлення розчину для зменшення сил іонної взаємодії.

Нова методологія використання МДН-транзисторів дозволяє детектувати білки у розчині з високою іонною силою, у тому числі натрій-фосфатний буфер, сироватку людини без втрати чутливості. За останні роки з'явилося кілька гібридних

технологій «зверху-вниз» для виготовлення нанобіосенсорів на основі МДН-транзисторів. Але два основні недоліки цієї технології не дозволяють використовувати в масовому виробництві. Перший, основний, полягає у тому, що виготовлення нанопровідників, нанодротів шляхом хімічного осадження, неможливо поєднати з основною КМОН технологією та інтеграцією підсилувачів і систем обробки даних на одному чипі. При цьому неможливо за сучасних технологій безпосередньо поєднувати сенсори на базі МДН-транзисторів з нанодротоми з компонентами мікроелектроніки та мікропотоками для подачі різних досліджуваних рідин. Другим недоліком є низька продуктивність та неможливість виготовлення великої кількості приладів з однаковими електричними характеристиками, що обмежує кількісний аналіз аналіту [8].

Після того, як було запропоновано сенсор без використання додаткових міток вони набули широкого застосування, починаючи від дослідження білків і закінчуючи раковими біомаркерами [9]. Незважаючи на великий успіх в академічних дослідженнях цих сенсорів, продовжують існувати серйозні обмеження щодо використання їх у реальних умовах унаслідок неможливості функціонування у фізіологічних розчинах і, найважливіше, у цільній крові. Вплив ефектів екранування, неспецифічного зв'язування – це лише деякі з причин, які перешкоджають повноцінно використовувати сенсори з нанодротоми.

Усунути ці причини, а також вдосконалити параметри та характеристики біосенсорів, покращити їх чутливість, зменшити поріг детектування та підвищити швидкодію вдалося шляхом нанесення на поверхню сенсора додаткових специфічних біологічних мембран. Проте в окремих випадках вони вимагають додаткової іммобілізації та закріплення на поверхні сенсора перед безпосереднім проведенням вимірювання.

Розповсюдженим видом сенсорів для визначення активності певного типу іонів являються іоно-селективні скляні електроди. Але вони габаритні і потребують додаткового обладнання для інтерпретації отриманих результатів. Альтернативу таким пристроям становлять іон-селективні польові транзистори, у яких чутливою

поверхнею є діелектрики SiO_2 , Si_3N_4 , Al_2O_3 , Ta_2O_5 . Водночас вони не є універсальними й не завжди дозволяють отримати необхідні характеристики.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження виконувалось на кафедрі електронної інженерії з використанням лабораторної та технологічної бази кафедри мікроелектроніки Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського». Робота проводилася у рамках програми відповідно до пріоритетного напрямку розвитку науки і техніки «Створення та застосування нанотехнологій і технологій наноматеріалів» НДР «Дослідження новітніх напівпровідникових наноматеріалів і їх сполук для впровадження у технологіях виготовлення низькорозмірних електронних приладів» (№ 2630-п, номер державної реєстрації НДР: 0113U000389), пріоритетного тематичного напрямку «Найважливіші проблеми фізико-математичних і технічних наук» НДР «Дослідження наногетероструктур на потрійних сполуках $\text{A}^{\text{III}}\text{B}^{\text{V}}$ для моделювання їх електронних властивостей та ефектів» (№2871-ф номер державної реєстрації НДР: 0115U000400), а також індивідуального гранту програми міжнародної мобільності Erasmus+ «Дослідження біосенсорів на основі польових структур для детектування білків» (2016-2017 рр., Université du Maine, Le Mans, Франція).

Мета і задачі дослідження. *Метою дисертаційної роботи є покращення характеристик твердотільних сенсорів для детектування хімічних та біомолекулярних сполук щодо чутливості, швидкодії, діапазону вимірювань, порогу детектування з використанням удосконалених методів, новітніх наноматеріалів та технологій, теоретичне обґрунтування, розроблення і експериментальне дослідження перспективних структур біохімічних сенсорів.*

Об'єкт дослідження – процеси в польових кремнієвих структурах для детектування хімічних і біомолекулярних сполук.

Предмет дослідження – фізико-хімічні процеси і характеристики біохімічних сенсорів, фактори впливу стану поверхні, різних наноматеріалів, особливостей структури на характеристики сенсорів та методи вимірювання електричних характеристик сенсорних структур.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Здійснити аналіз шляхів покращення характеристик чутливості, селективності, швидкодії, діапазону вимірювань та порогу детектування.
2. Удосконалити методи детектування і топології сенсорів на основі кремнієвих структур з використанням новітніх наноматеріалів для аналізу крові і фізіологічних розчинів біомедичного застосування.
3. Провести експериментальні дослідження рН-сенсора на основі іон-селективного польового транзистора для біомедичного застосування, запропонувати базову структуру сенсора, удосконалити процедуру вимірювань шляхом використання мікропотокової системи.
4. Дослідити можливість збільшення чутливої поверхні сенсора та вплив наночастинок на роботу сенсора, розробити прототип біосенсора на базі МДН-транзистора з чутливою тильною стороною у вигляді шару пористого кремнію з іммобілізованими наночастинками каталізатора для детектування перекису водню.
5. Розробити та дослідити прототипи біосенсорів на базі ІСПТ з підзатворним діелектриком CeO_2 для детектування С-реактивного білка та бета-лактоглобуліну з удосконаленими характеристиками щодо чутливості і часу вимірювання.
6. Провести діагностичний аналіз поверхні сенсора різними методами мікроскопії.

Методи дослідження. Досягнення поставленої мети базувалось на системному опрацюванні та аналізі результатів експериментальних досліджень щодо використання польових кремнієвих структур для біохімічного застосування, використовувалися методи фізики твердого тіла та біофізики, сучасні експериментальні методи формування наноструктурованих матеріалів та дослідження структури, морфології та складу поверхні; моделювання, аналіз і обробка отриманої інформації проводилася за допомогою ЕОМ з використанням пакетів програм «MatLab», «Origin», «LabVIEW». Для дослідження морфології поверхні сенсора, електричних, фізичних характеристик та чутливості використовувалися наступні методи: оптична (Планар МКІ-2М, КПІ ім. Ігоря Сікорського, ФЕЛ; Olympus BX53, Інститут фізики НАН України); скануюча (Seron

Technology Aura 100, VEGA3 TESCAN, Київський національний університет імені Тараса Шевченка; SEI, Université du Maine, Франція; ZEISS КПП ім. Ігоря Сікорського, ІФФ) та атомно-силової (Flex-Axiom, Інститут фізики НАН України) мікроскопія; ІЧ-спектроскопія (Shimadzu IRAffinity-1S, College of Physics, Jilin University, China), вимірювання вольт-амперних характеристик (Keithley 2410, КПП ім. Ігоря Сікорського, ФЕЛ) та температурних залежностей опору. Комплексне використання отриманих експериментальних результатів в поєднанні з комп'ютерною обробкою результатів забезпечили можливість достовірної інтерпретації результатів.

Наукова новизна одержаних результатів:

1. Удосконалено метод аналізу рН фізіологічних розчинів на основі розробленої сенсорної структури на базі р-канального іон-селективного польового транзистора з шаром підзатворного діелектрика CeO_2 і адаптованої до неї мікропоточної системи та вперше експериментально встановлено можливість досягнення теоретично можливих значень чутливості щодо рН.

2. Подальшого розвитку набув метод детектування перекису водню у фізіологічних розчинах для порогових концентрацій до 3% шляхом використання пористого кремнію з наночастинками платини діаметрами 18÷24 нм, осадженими на тильну сторону МДН-транзистора з властивостями каталізаторів перекису водню, що підвищило чутливість сенсора порівняно з існуючими.

3. Удосконалено метод селективного виявлення С-реактивного білка у плазмі крові, як маркера гострої фази процесів запалення, шляхом іммобілізації антитіл та додаткового буферного шару меланіну на поверхню іон-селективного польового транзистора з підзатворним діелектриком CeO_2 та вперше експериментально виявлено властивості запропонованої структури, що підвищило селективність, чутливість, швидкодію та знизило поріг детектування у порівнянні з існуючими.

4. Розвинено метод динамічного аналізу білка бета-лактоглобуліну, використовуючи запропонований сенсор на основі МДН-транзистора з підзатворним

діелектриком CeO_2 в умовах забезпечення постійного об'єму аналіту, що забезпечує зменшення часу дослідження до 10-15 хв. і дає можливість ефективного використання для експрес-аналізу.

Практичне значення одержаних результатів:

У результаті проведення комплексу досліджень:

1. Створено експериментальний зразок селективної малогабаритної сенсорної структури для біохімічних досліджень.

2. Вперше на основі модифікації тильної сторони МДН-транзисторів пористим кремнієм та використання наночастинок каталізатора H_2O_2 створено прототип сенсора з вищою практично на 30% чутливістю у порівнянні з структурою без використання наноматеріалів.

3. На основі експериментальних досліджень доведено переваги та виготовлено сенсор рН на основі МДН-транзистора з підзатворним діелектриком CeO_2 , отримано значення чутливості, яке близьке до теоретично можливого $\sim 58,5$ мВ/рН.

4. Проведено апробацію транзисторних сенсорних структур на основі ІСПТ для дослідження концентрації основного алергену молока - бета-лактоглобуліну та можливість його практичного застосування при виготовленні продуктів харчування.

5. Запропоновано та реалізовано удосконалену методику вимірювання рН, використовуючи мікропотоківу систему.

6. Вперше розроблено сенсорну структуру маркера гострої фази СРБ на основі ІСПТ *p*-типу з підзатворним діелектриком CeO_2 . Встановлено, що поріг детектування такого біосенсора становить на рівні 0,1 мг/л, діапазон вимірюваних концентрацій СРБ складає 0,1÷2,5 мг/л, тривалість вимірювань не перевищує однієї хвилини, необхідна кількість розчину для аналізу - 20 мкл. Практичне використання розробленого сенсора перевірено на реальних зразках плазми крові. Відхилення отриманих результатів від калібровочних для стандартного тестового набору концентрацій антигену СРБ (MyBioSource, USA) склало менше 18%.

Особистий внесок здобувача. Усі результати, наведені у дисертаційній роботі і винесені на захист отримані особисто автором або ж за його активної участі та опубліковано у спеціалізованих фахових виданнях. Здобувач приймав безпосередню участь в постановці завдання, аналізі літературних джерел, виготовленні та підготовці експериментальних зразків та проведенні експериментальних досліджень, а також їх обробці та аналізі [2-4], що разом зі співавторами узагальнено при написанні статей. Безпосередньо автором було проведено моделювання сенсорної структури [1], виконано вимірювання температурних залежностей опору [3], вольт-амперних характеристик сенсорних структур [2-6] та досліджено структуру чутливої поверхні методом оптичної спектроскопії [6]. Публікації по матеріалам роботи в цілому виконані автором самостійно. Інші співавтори приймали участь в розробці технології та виготовленні польових транзисторів, які являються базовою частиною сенсорних структур та проведенні вимірювання їх електричних характеристик, структури поверхні методами скануючої, атомно-силової, ІЧ – Фур’є спектроскопій та удосконаленні методики проведення вимірювання концентрації антитіл СРБ в плазмі крові. Автор дисертації особисто представляв результати досліджень на конференціях.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційних досліджень, обговорювалися на 8 міжнародних та вітчизняних конференціях:

- ІХ міжнародна науково-технічна конференція молодих вчених “Електроніка – 2016”, Україна, м.Київ, 13 – 15 квітня, 2016.
- Вітчизняні інженерні розробки для охорони здоров’я, Україна, м.Київ, 21 – 22 квітня 2016 р.
- ІХ международная конференция “Функциональная база нанoeлектроники”, Україна, м.Одеса, 18 – 23 вересня 2017 р.
- VI міжнародна конференція “Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку. Новітні технології”, Україна, м. Київ, 28 – 29 вересня 2017 р.
- The 18th International Young Scientists Conference Optics and High Technology Material Science – SPO 2017, Ukraine, Kyiv, 26 – 29 October, 2017.

- V Міжнародна науково-практична конференція “Напівпровідникові матеріали, інформаційні технології та фотовольтаїка”, Україна, м. Кременчук, 17 – 19 травня 2018 р.

- Конференція молодих вчених з фізики напівпровідників “Лашкарьовські читання 2018” з міжнародною участю, Україна, м. Київ, 4 – 6 квітня 2018 р.

- 2018 IEEE 38th International Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO), 2018, Ukraine, Kyiv, 24 – 26 April 2018.

Публікації. Результати дисертації опубліковано в 14 друкованих працях, в тому числі 6 статей надруковано в провідних фахових виданнях, 5 з них у виданнях України, які включені до міжнародних науково-метричних баз: Index Copernicus, Google Scholar, Ulrich’s Periodicals Directory та 8 тезах доповідей на конференціях.

Викладені у дисертації нові практичні результати досліджень знайшли застосування у навчальному процесі підготовки фахівців за спеціальностями 162 «Біотехнології та біоінженерія» та 153 «Мікро- і наносистемна техніка» КПІ ім. Ігоря Сікорського.

Використання результатів роботи підтверджується відповідними актами (ДОДАТКИ А, Б). Результати досліджень можуть бути використані у лікувально-діагностичних центрах та медичних установах.

Структура та обсяг дисертації. Робота складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків, списку використаних джерел із 154 найменувань та 2 додатків. Робота містить 73 рисунки та 4 таблиці. Загальний обсяг дисертаційної роботи становить 152 сторінки тексту.

1. БІОСЕНСОРИ НА ТВЕРДОТІЛЬНИХ СТРУКТУРАХ

Сучасний біохімічний сенсор - це аналітичний пристрій, який формує цифровий сигнал пропорційний концентрації конкретного біо- або хімічного елементу або кількох їх сполук. Відповідно до міжнародної класифікації - це незалежний аналітичний прилад, що дає можливість проводити кількісний аналіз досліджуваних речовин, використовуючи спеціальний біорозпізнавальний шар, який знаходиться у тісному контакті з безпосереднім перетворювачем реакцій, що протікають на поверхні сенсора [10].



Рис.1.1. Складові елементи біосенсора.

На рис. 1.1 схематично показані складові частини типового біосенсора.

1.1. Характеристики біохімічних сенсорів

Принцип дії будь-якого біосенсора базується на основних життєво-важливих хімічних реакціях взаємодії: антиген-антитіло, фермент-субстрат, рецептор-гормон. Їх використовують для отримання високоселективних та чутливих біосенсорів на певні речовини. Для ілюстрації таких реакцій, які протікають між біологічними молекулами, запропоновано механізм, що має назву «ключ-замок» (рис 1.2).

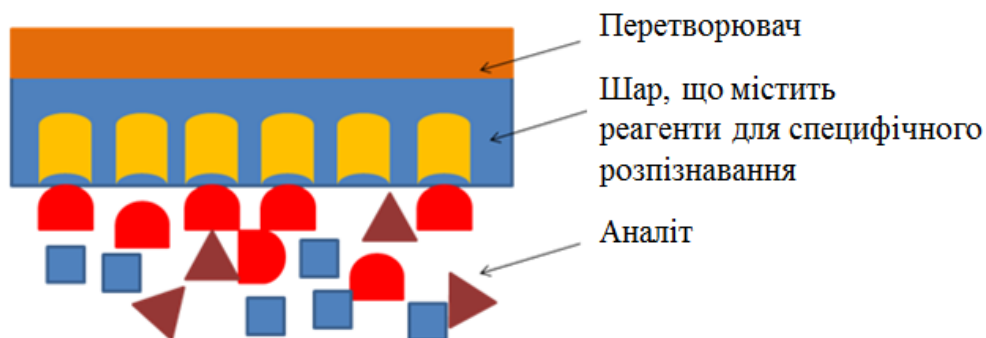


Рис.1.2. Схематичний вигляд біосенсора.

Біосенсор повинен відповідати ряду вимог [11]:

1. Біокаталізатор повинен бути специфічним для аналізу, стабільним за нормальних умов зберігання та забезпечувати високу стабільність результатів вимірювань.

2. Реакція повинна бути як незалежною у протіканні, так й легко керованою такими фізичними параметрами: перемішування, рН і температура. Це дозволить аналізувати зразки з мінімальною попередньою обробкою.

3. Відгук сенсора повинен бути точним, надійним, відтворюваним та лінійним у діапазоні досліджуваних концентрації, без її збільшення чи зменшення. Водночас відгук не повинен залежати від шуму, викликаного електричним чи іншим перетворювачем.

4. Якщо біосенсор використовується для інвазивного моніторингу в клінічній практиці, то зонд має бути мініатюрним, біосумісним та нетоксичним. Крім того, поверхня біосенсора не повинна піддаватися інактивації або протеолізу.

5. Для швидких вимірювань аналітів у зразках людини доцільно, щоб біосенсор забезпечував аналіз їх у реальному часі.

Розроблені біосенсори, як правило, мають високу селективність оскільки можуть адаптувати специфічну взаємодію сполук шляхом іммобілізації біорозпізнавальних елементів на сенсорній підкладці, що мають спорідненість щодо специфічного зв'язування з досліджуваною молекулою. Зазвичай елементами розпізнавання, що використовуються у біосенсорах, є: ферменти, нуклеїнові кислоти, антитіла, клітини та рецептори. Проте найбільш поширеними залишаються

ферменти. Окремо ці компоненти не є біорозпізнаваними об'єктами. Оскільки деякі молекулярні компоненти можуть розчинятися у досліджуваному середовищі, піддаватися впливу біологічної та хімічної деструкції, додаткової неспецифічної взаємодії та інших процесів, що у кінцевому випадку можуть призвести до спотворення реакції взаємодії досліджуваного середовища. Для використання специфічної взаємодії через біорозпізнавання поверхня датчика повинна пригнічувати будь-які інші неспецифічні взаємодії.

Тому, підвищення продуктивності біосенсорів, створення суцільних масивів біосенсорів для одночасного вимірювання декількох параметрів, неможливе без застосування досягнень сучасних нанотехнологій.

На даний час спостерігається тенденція до збільшення числа виконуваних функцій біосенсором. При цьому вони повинні задовольняти основним вимогам:

- високі кількісні показники: чутливість, селективність, точність, швидкодія, відтворюваність результатів, відсутність гістерезису та високе співвідношення сигнал-шум;
- висока надійність: довготривалий термін служби, стійкість до робочого середовища, безвідмовність в роботі;
- технологічність: малогабаритність, простота конструкції, економічність.

Основні критерії, які визначають конкурентність сенсорів – його собівартість та вартість проведення експерименту, стабільність отриманих даних, можливість автоматичної обробки результатів обстеження, швидкодія, необхідний робочий об'єм розчину, можливість одночасного аналізу кількох речовин.

Виготовлення як одиничних сенсорів, так і цілих систем, пов'язане з деякими складнощами, які гальмують їх ефективне використання. Основна з них полягає у розробці надійної герметизації контактів при контакті з розчинами електролітів.

Зазвичай у (біо-)електрохімії досліджувана реакція створює зміну різних величин: струму (амперометричний), потенціалу або накопичення заряду (потенціометричний) чи зміну провідних властивостей середовища (кондуктометричний) між електродами [12]. Також існують імпедансі сенсори (вимірювання імпедансу) та сенсори на основі ефекту поля (МДН-сенсори, ІСПТ-

сенсори). З переважної більшості потенціометричних методів сенсори на основі польового ефекту викликають найбільший інтерес, оскільки вони мають підвищений захист від впливу зовнішніх електромагнітних полів, можуть бути компактними та використовуватися для одночасного детектування кількох компонентів, забезпечують незначні витрати біологічних матеріалів, близько $0,2 \div 0,4$ нг/мм², мають швидкий час відгуку та легко поєднуються зі стандартними технологіями мікроелектроніки.

Одним із перспективних напрямів на шляху до детектування різних біологічних чи хімічних процесів через накопичення заряду, тобто через гібридизацію нуклеїнових кислот, реакцію взаємодії антиген-антитіло та інше є створення біосенсорів на основі МДН-транзисторів (біо-МДН-сенсори). Проведені дослідження показали, що таке накопичення заряду дозволяє реєструвати електричну активність біомолекул, яке відбувається у приповерхневій області МДН-сенсора. Біо-МДН-сенсори часто використовуються для моніторингу біологічних та хімічних забрудників, для вивчення молекулярної взаємодії та аналізу експресії генів. Окрім зазначених переваг ці сенсори мають й недоліки. З поміж них можна виділити недостатню кількість методів калібрування та неможливість кількісної оцінки біомолекулярних частинок. Саме вони є основною перешкодою, яка не дозволяє конкурувати з такими сучасними технологіями, як поверхнево-плазмонний резонанс (ППР) та імуноферментний (ІФА) аналіз. Іншою причиною, яка перешкоджає стати в один ряд з сучасними методиками для біо-МДН-транзисторів, є відсутність або ж наявність лише невеликої кількості експериментів, проведених не у модельних (еталонних) розчинах, а в реальних, наприклад, з використанням цільної крові, плазми або ж слини. В таких дослідженнях складнощі виникають через вплив неспецифічного зв'язування, біозасмічення розчину додатковими елементами, помилково позитивне детектування [13].

Окрім МДН-транзисторів для біохімічних досліджень використовують іон-селективні польові транзистори (ІСПТ).

Переважна більшість біохімічних реакцій з використанням ІСПТ, як правило, відбувається у приповерхневій області, тому потрібно враховувати особливості

електрода порівняння. У цих сенсорах за відсутності зовнішнього електрода, у режимі автозміщення, велике значення відіграє товщина подвійного шару і довжина екранування Дебая. Матеріал чутливого електрода та модифікація його поверхні суттєво впливають на властивість детектування. Проте сенсори на основі МДН-транзистора можуть виявити проходження реакції не лише на відстані, яка знаходиться у межах довжини Дебая, а й за її межами.

У випадку ІСПТ, коли подається додаткове зміщення на зовнішній електрод, на продуктивність сенсора впливають процеси екранування, які просторово співрозмірні з довжиною екранування Дебая, майже не впливають. Оскільки будь-яке зовнішнє зміщення, що подається на електрод порівняння, незалежно від товщини рідини на поверхні діелектрика, призводить до певного, конкретного для даного випадку перерозподілу потенціалу. І основною особливістю таких сенсорів є те, що процес протікання реакції реєструється у будь-якому випадку.

Що стосується нових тенденцій у розвитку сенсорів, то до них відносяться: зниження нижньої межі детектування (можливість детектувати менші значення концентрацій) на кілька порядків з рівня $10^{-5} \div 10^{-6}$ М і навіть до наноконцентрацій; мініатюризація з використанням сучасних мікроелектронних технологій, зокрема, удосконалення ІСПТ; створення сканованого лазером потенціометричного сенсора та створення мікроелектронних аналітичних пристроїв lab-on-chip; використання систем типу «електронний ніс» та «електронний язик». Тип датчика визначається особливістю реакцій та перетворень, що відбувається у досліджуваному розчині, й неможливо знайти якийсь один, універсальний перетворювач на всі випадки аналізу.

Функціональний інтерфейс у поєднанні з пристроями на основі ефекту поля дозволяє отримати портативну біосенсорну систему без спеціальних додаткових міток. Це робить процес аналізу простішим, дешевшим та зручнішим порівняно з ППР, кварцовими мікровагами та електрохімічними методами.

Проте також існують й інші варіанти реалізації сенсора з використанням МДН-транзисторів. Це можуть бути сенсори на основі транзисторів з високою рухливістю електронів (НЕМТ) з різними варіантами поєднання структурних шарів у залежності від матеріалу їх виготовлення та матеріалу виготовлення самої

підкладки (Si, Al₂O₃ і інші) [14]; на транзисторах, виготовлених за технологією «кремній на ізоляторі» [15]. Усі вони мають певні переваги та недоліки. Але, безперечно, основними перевагами сенсорів на основі МДН-транзисторів, порівняно з іншими сенсорами, – є їх висока чутливість і селективність реакції (особливо у випадку антиген-антитіло), можливість мініатюризації шляхом використання досягнень відомих напівпровідникових технологій, і сумісність з комп'ютерними процесами, а недоліком – обмежена стабільність отриманого відгуку та складність у приготуванні розчину з детектуючими біоелементами [16].

Варто зауважити, що біо-МДН сенсори мають аналогічні властивості. Основним завданням для їх виготовлення є розроблення чутливих поверхонь, які можуть захоплювати широкий спектр частинок з «брудного» природного середовища. Таким чином необхідно створити методи для проектування такого функціонального інтерфейсу.

Протягом останніх кількох десятиліть велика увага приділяється біосенсорам на основі кремнію для біоаналітичного використання, завдяки їх високій чутливості, швидкодії, надійності, компактності [17]. Використовуючи властивості напівпровідників, пристрої на основі МДН-транзисторів можуть перетворювати біохімічні процеси зв'язування у рідині чи зміни іонної концентрації на поверхні транзистора у вимірювальні електричні сигнали, які пов'язані з властивостями поверхні в області затвору [18]. ІСПТ чутливий до зміни рН використовується як трансдюсер у поєднанні з ферментами, що генерують або поглинають іон водню при ферментних реакціях. У результаті цього рН змінюється навколо нанесеної ферментної мембрани, а ці зміни реєструються за допомогою ІСПТ.

Після відкриття Бергвелдом ІСПТ-біосенсорів [19] створено велику кількість біосенсорів на його основі. Різна чутливість сенсорів на основі ІСПТ пов'язана з неорганічною природою затвору шляхом модифікації матеріалу затвору чи нанесенням чутливої мембрани або ж біорозпізнавального елемента на затвор.

1.2. Особливості роботи сенсорів на основі МДН-транзисторів

При нанесенні на поверхню підзатворного діелектрика розчину, наприклад, білка, який має сумарний негативний (позитивний) заряд в водному розчині, специфічне з'єднання призведе до збільшення (зменшення) на поверхні негативного заряду і збільшення (зменшення) провідності для МДН-транзистора (рис. 1.3).

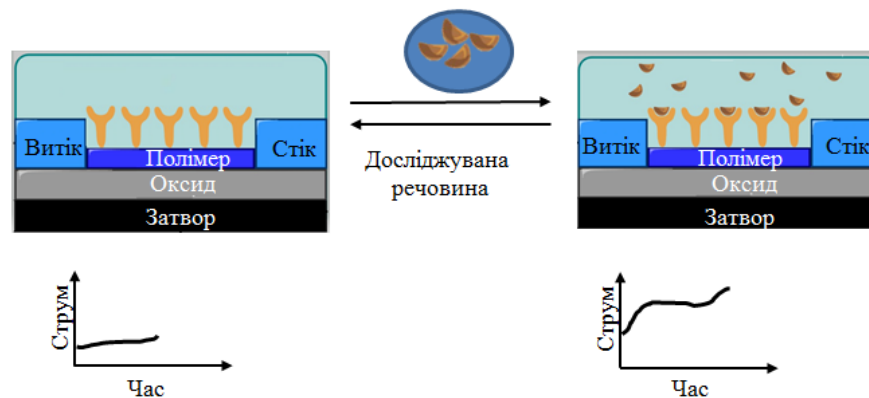


Рис. 1.3. Схематичний принцип дії біосенсора на основі МДН-транзистора.

Канал формується шляхом інверсії заряду поверхні підкладки з p -типу на n -тип (інверсійний шар). Прикладаючи напругу між стоком та витіком при утвореному каналі, струм проходить через n -канал внаслідок мобільних електронів (МДН-транзистор n -типу). У випадку напівпровідника p -типу (p -Si), позитивна напруга на затворі зменшує кількість носіїв, зменшуючи провідність, у той час як прикладання негативної напруги на затвор призводить до накопичення зарядів та збільшення провідності каналу. Порогова напруга $U_{\text{пор}}$ залежить від технологічного процесу виготовлення транзистора, властивостей матеріалу діелектрика, підзатворного діелектрика та фізичних властивостей транзистора [20]. Проте для ІСПТ можливо хімічно модифікувати порогову напругу через поверхневий потенціал на границі поділу діелектрик-електроліт. У такій ситуації зазвичай електрод порівняння з'єднується з витіком ($U_{\text{зв}} = 0$) і вхідною змінною величиною стає $U_{\text{пор}}$. Для забезпечення ІСПТ хімічною чутливістю до певної речовини селективну мембрану послідовно наносять на підзатворний діелектрик.

Схема МДН-транзистора з індукованим p -каналом у рівноважному стані

($U_{св}=0$) при відкритому каналі представлена на рис 1.4.

Зв'язування заряджених біомолекул призводить до збіднення або накопичення заряду у підзатворній області внаслідок зміни електричного заряду на затворі. А електричне поле, створене внаслідок такого зв'язування, аналогічне поданню напруги зміщення на затвор, призводить до зміни поверхневого потенціалу напівпровідника, модулюючи таким чином струм ІСПТ.

Для підвищення стабільності, селективності та чутливості сенсорів важливим є вибір методу та чутливого матеріалу для іммобілізації на поверхню електрода. Іммобілізовані біоселективні шари повинні відповідати певним вимогам, основними з яких є:

- селективність до досліджуваних компонентів чи навіть їх набору;
- забезпечення відтворюваності, стабільності та повторюваності результатів;
- можливість функціонування у чітко заданому діапазоні параметрів (температура, освітлення, вологість та ін.).

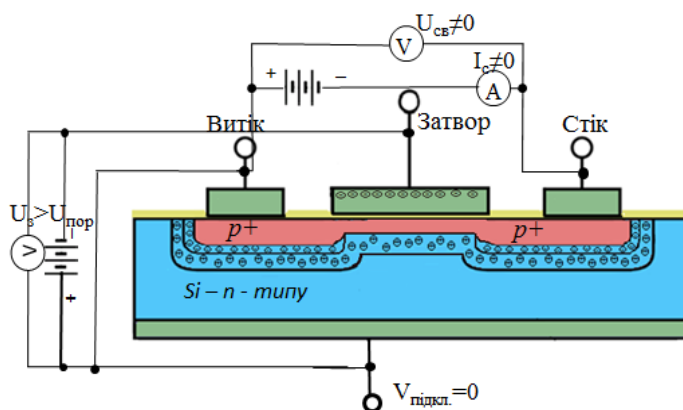


Рис. 1.4. МДП-транзистор з індуктованим каналом у рівноважному стані при відкритому каналі.

Розрізняють кілька методів іммобілізації біомолекул на поверхню, проте на практиці використовують переважно такі або ж їх комбінацію:

Фізична:

- адсорбція на поверхні;

- захоплення у полімерному гелі або в мікрокапсулах.

Хімічна:

- поперечне зв'язування за допомогою біфункціональних агентів;
- ковалентне зв'язування з реакційноздатною нерозчинною підкладкою.

Головною перевагою адсорбції є те, що для неї непотрібно жодних додаткових реагентів, точніше необхідна лише мінімальна активаційна обробка або очистка поверхні. При адсорбції компоненти утримуються на поверхні слабкими водневими Ван-дер-Ваальсовими зв'язками й фермент зазнає найменшого руйнування (у порівнянні з хімічними зв'язками). Але за таких умов система дуже чутлива до зміни рН та температури [21]. Крім того гель ускладнює дифузію досліджуваного матеріалу (субстрату) до реагенту та дифузію утворених продуктів реакції до діелектрика, що уповільнює реакцію, особливо у випадку субстрату з великою молекулярною масою.

У таких сенсорах потенціал вимірюється відносно опорного електроду і є сумою кількох міжфазних потенціалів, але лише міжфазний потенціал між зразком та підзатворним діелектриком змінюється у залежності від активності аналіту (рис.1.5).

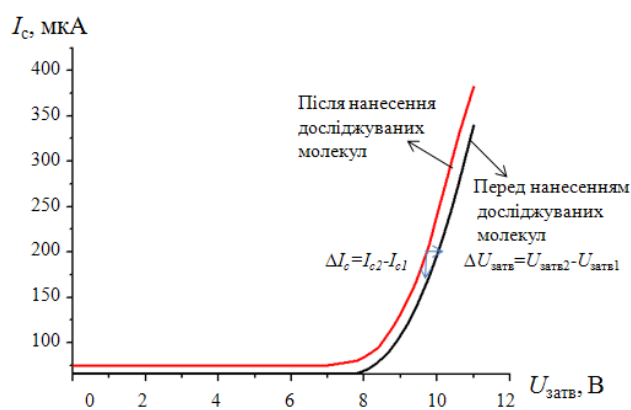


Рис. 1.5. Характеристики $I_c=f(U_{затв})$ біосенсора до та після нанесення досліджуваних молекул.

Модифікування поверхні ІСПТ, використовуючи ферменти, – це новий клас сенсорів – ферментні сенсори на основі МДН-транзисторів [22]. В таких сенсорах

зв'язаний фермент каталізує хімічну реакцію, що призводить до локальної зміни рН. Основним недоліком таких сенсорів є суттєва залежність від активності ферментів.

Ферментні мембрани наносяться на чутливу область підзатворного діелектрика, а зміна відгуку біосенсора реєструється відповідно зміною вихідного струму. Наприклад, для реалізації такої технології на поверхню ІСПТ наносять глюкозооксидазу з метою визначення рівня глюкози у крові [23].

1.3. Застосування біосенсорів на основі іон-селективних польових транзисторів

Основною перевагою ІСПТ, у порівнянні з широко застосованими оптичними системами, є можливість їх використання у мініатюрних вимірювальних системах та доступність монтування в електронні пристрої [24, 25]. Завдяки цьому легкий та малогабаритний ІСПТ-сенсор може бути використаний у портативних системах моніторингу, наприклад, портативних системах контролю рівня ліків в організмі.

Відомі ІСПТ-сенсори, які містять різні біокомпоненти для біологічного аналізу, такі як ферментні сенсори на основі ІСПТ, імуноферментні-ІСПТ сенсори та ДНК-ІСПТ сенсори, що містять шари іммобілізованих ферментів – антитіла та ділянки ДНК, відповідно [26, 27].

Процес розроблення біосенсора поєднує в собі вирішення ряду питань:

- вибір перетворювача та специфічної реакції, яка може бути використана для ідентифікації досліджуваної речовини;
- здійснення інтеграції біологічного матеріалу та поверхні перетворювача, зберігаючи його активність;
- вибір оптимальних умов проведення вимірювань та дослідження впливу різних чинників на величину вихідного сигналу;
- визначення стабільності, точності роботи сенсора та умови його зберігання між вимірюваннями.

1.3.1. Сенсори для імунологічного дослідження

Відомо, що ІСПТ чутливий до зміни значення рН. Він являється найпопулярнішим приладом, як імуносенсор, з використанням різних діелектриків (наприклад, SiO_2 , Si_3N_4 , Al_2O_3 та Ta_2O_5) [28]. Щодо елементів біорозпізнавання, то найчастіше використовують антитіла для захоплення антигенів, що дозволяють ідентифікувати та кількісно оцінювати окремі аналіти, завдяки специфічній взаємодії антиген-антитіло (рис.1.6).

Імунологічний ІСПТ складається з покритого специфічними антитілами затвора, який розпізнає антиген, і може бути використаним для клінічної діагностики [28]. Що стосується медичного застосування імуно-ІСПТ-біосенсорів, слід враховувати процеси екранування, які пов'язані з довжиною екранування Дебая. Як відомо, електричне поле зникає за її межами, тобто на відстані, де рухомі носії заряду екранують зовнішнє електричне поле. Тому саме це є одним з основних обмежень при біомолекулярному розпізнаванні. Для використання МДН-транзисторів ця реакція повинна відбуватися на відстанях у межах довжини Дебая (λ_D). Враховуючи це, слід відзначити, що використання імуно-ІСПТ для діагностичного моніторингу може бути обмежено лише через те, що біомолекулярна взаємодія зазвичай відбувається на відстані приблизно 10 нм від поверхні затвору з урахуванням додаткового шару.

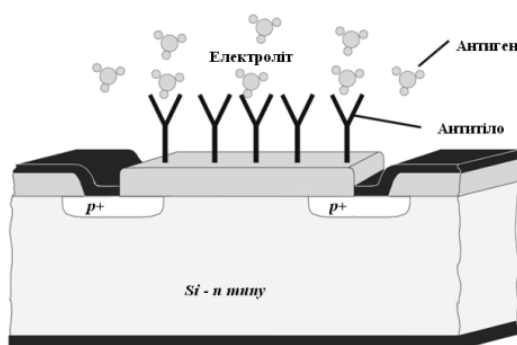


Рис. 1.6. Схематична структура імуно-ІСПТ з нанесеними антитілами.

Як правило, потенціометричні імуносенсори потребують іммобілізації імуноактивних біомолекул, наприклад, антитіл. Тому альтернативним методом модифікації поверхні ІСПТ можна вважати використання провідних полімерів,

завдяки їх високій хімічній стійкості, біосумісності, а також здатності до легування. У роботі [29] розроблено мікро-потенціометричний Hb/HbA1c ІСПТ імуносенсор для виявлення гемоглобіну (Hb) та гемоглобіну-A1c (HbA1c) у цільній крові з підвищеною чутливістю та іммобілізацією антитіл на золотий електрод.

1.3.2. Сенсори на основі іон-селективних польових транзисторів для ферментних досліджень

Ідея використання ІСПТ як ферментних датчиків вперше виникла ще в 1976 році [30]. Для виявлення пеніциліну за основу було взято ферментний біосенсор на основі ІСПТ, використовуючи два рН-чутливі ІСПТ. Один з них мав перехресно зв'язану мембрану альбумін-пеніциліназу, а інший - лише мембрану з альбуміну. Досліджуючи їх, було доведено, що випробуваний на основі ферментів ІСПТ може використовуватися для швидкого виявлення невеликої кількості аналіту з високою чутливістю. Ще один підхід щодо реалізації ІСПТ для моніторингу певних білків є використання протона або гідроксильного іона, отриманого під час гідролізу білка, як реакція на трипсин. Наприклад, у [31] запропоновано ІСПТ-біосенсор трипсину для аналізу субстрату (α -бензол-L-аргінін гідрохлоридного етилового ефіру) і показано доцільність використання ІСПТ для моніторингу малих пентапептидів, які складаються з п'яти амінокислот. Було запропоновано використовувати розроблений біосенсор для контролю якості косметичної продукції, так як цей пептид входить до їх складу. Разом з тим використання рН-чутливих електродів дає можливість дослідити концентрацію білка у продуктах розпаду білків.

Новий потенціометричний біосенсор дозволяє проводити кількісний аналіз протеїназ через активність естерази, як показано в [32]. Розроблений пристрій створено на основі рН-ІСПТ та іммобілізованого α_2 -макроглобулін-трипсинового комплексу. Цей рН-чутливий ІСПТ-біосенсор показав лінійну кореляцію з активністю естерази у діапазоні від 0,1 до 30 В/мл, а також продемонстрував суттєву стабільність і відтворюваність. Авторами запропоновано можливе використання таких сенсорів для одночасного виявлення інших трипсиноподібних протеїназ.

З метою застосування ІСПТ для виявлення токсичних речовин при екологічному моніторингу, розроблено потенціометричні та кондуктометричні біосенсори у поєднанні з холінестеразами [33, 34].

Досить широко для розробки та проведення експериментів використовують спеціальні мітки для відстеження поведінки досліджуваного компонента у розчині. Що стосується їх іммобілізації до поверхні в області затвору ІСПТ, відомі різні методики, включаючи використання магнітних наночастинок [35], де ліпаза, іммобілізована на магнітні нікель-феритні наночастинок, а потім такі наночастинок можуть зберігатися на поверхні затвора досить тривалий час (рис. 1.7). Запропонований метод лежить в основі поліпшення процесу масопередачі. До того ж він значно розширює можливості його використання в мультисистемі детектування на базі МДН-транзисторів та для збільшення кількості прив'язаного ферменту до поверхні.

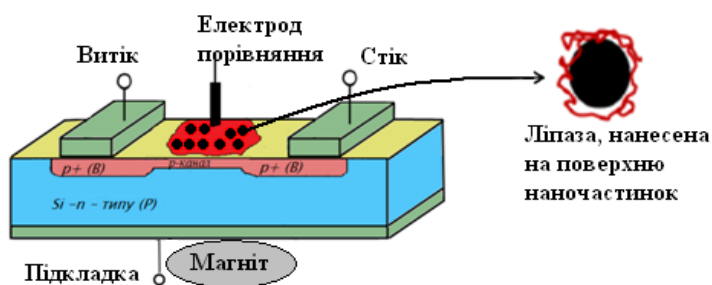


Рис.1.7. Схематичне зображення ІСПТ з наночастинками та магнітом (адаптовано з [35]).

В останні роки все більше зростає увага до виявлення аденозинтрифосфату (АТФ), використовуючи сенсори на основі ІСПТ [36]. Окрім того, що АТФ відома як основна речовина, яка відповідає за рівень енергії у всіх живих системах, вона ще використовується як маркер у дослідженні мікрогрибкового забруднення у харчовій промисловості, а також в інших галузях, що потребують контроль рівня чистоти.

На даний час у медицині, окрім контролю АТФ, не менш важливим залишається визначення та контроль рівня L-карнітину. Оскільки він відіграє основну роль у транспорті жирних кислот у мітохондрії, де, власне, й відбувається їх окиснення з утворенням АТФ, сприяючи розкладанню жирів. Запатентовано ІСПТ-

ферментний сенсор з рН-чутливою мембраною для визначення L-карнітину [37]. L-карнітин забезпечує кращу регенерацію тканин, покращує апетит та бере участь у великій кількості життєво важливих функцій організму.

Незважаючи на те, що сенсори на основі ІСПТ демонструють хорошу активність і надійність, у деяких випадках можуть мати певні обмеження, які пов'язані з характеристиками буфера, а саме з рН або з буферною ємністю, тому що в основі їх роботи лежить вимірювання змін рН, викликані ферментно-каталітичною реакцією на поверхні затвора, які є дуже чутливими до властивостей буфера. В [38] запропонували вирішити цю проблему використовуючи кілька принципів, а саме: з використанням додаткових заряджених полімерних мембран та буферних розчинів з низькими ємностями. Іншим прикладом ферментного МДН-сенсора, є сенсор на основі МДН-транзистора з віднесеним затвором, який дозволяє вимірювати зміни окисно-відновного потенціалу у ферментно-каталітичних реакціях.

Окрім переваг, як і будь-який пристрій, ІСПТ має й недоліки. Головним з них можна вважати його недовговічність (через вплив вологи), а точніше обмежений час життя іммобілізованого матеріалу при використанні його в якості чутливого компонента, що й зменшує період роботи сенсора. Також на етапі розроблення сенсорів на основі ІСПТ необхідно враховувати їх достатньо високу чутливість до впливу світла, температури. Сучасні біосенсори на основі ІСПТ функціонують не більше 1-2 тижнів.

При виготовленні ІСПТ виникають складності, пов'язані із забезпеченням довготривалої стабільності роботи сенсора, через використання проміжного оксидного шару, який впливає на його продуктивність, зокрема, внаслідок дефектів структури проміжного шару.

Альтернативою традиційним підзатворним оксидам для ІСПТ (SiO_2 , Si_3N_4 , Al_2O_3) слугують рідкоземельні метали, що забезпечують меншу товщину проміжного шару, більшу ємність та менші струми витоку. Важливе місце серед таких матеріалів займають нанокристалічні матеріали, у тому числі й оксид церію. Він має ширшу заборонену зону, хороші механічні та відновні властивості, тому й використовується для сенсорів газу та вологості [39]. У нанокристалічному стані

діоксид церію суттєво змінює свої фізико-хімічні властивості [40]. Суттєва киснева нестехіометрія спостерігається для частинок CeO_2 менших 5 нм, й саме такі частинки проявляють максимальну активність в окисно-відновних процесах. Зокрема, зменшення розміру частинок CeO_2 підвищує розпад перекису водню. Матеріали на його основі широко використовують у біосенсорах глюкози, етанолу [41] та ін.

1.4. Розподіл потенціалів в біосенсорах

Принцип роботи сенсора на основі ІСПТ полягає у перерозподілі потенціалів при нанесенні досліджуваної речовини. Реакція сенсора виникає внаслідок зміни заряду σ_0 , який є найменшим на поверхні. Розподіл заряду можна представити у вигляді ємностей (рис.1.8). Ця ємність є результуючою при паралельному з'єднанні ємності подвійного шару та ємності самого сенсора $C_{\text{ПШ}}$ та $C_{\text{МДН}}$. У свою чергу, $C_{\text{МДН}}$ це комбінація C_d – ємності підзатворного діелектрика та $C_{зб}$ - ємності області збіднення.

Залежно від електричного зміщення на МДН-транзисторі будь-яка з цих ємностей може переважати. При слабкому збідненні значення $C_{зб}$ є меншим й визначає ємність сенсора, але при сильній інверсії, значенням $C_{зб}$ можна нехтувати, а значення C_d є переважаючим. Але у будь-якому випадку ці ємності завжди менші, ніж ємність подвійного шару. Таким чином, подвійний шар - сильна потенціальна пара. У роботі [42] для кращого розуміння фізичних процесів було здійснено спробу декомпозиції областей сенсора на незалежні частини, що дозволяє у подальшому перейти до їх схематичного зображення.

Як в МДН-транзисторах, так і в ІСПТ опір каналу залежить від електричного поля, що розподіляється перпендикулярно до напрямку струму. Заряди з досліджуваного розчину акумулюються на поверхні мембрани та не проходять через іоночутливу мембрану. Залежність міжфазного потенціалу від концентрації описується теорією зв'язуючих центрів [43].

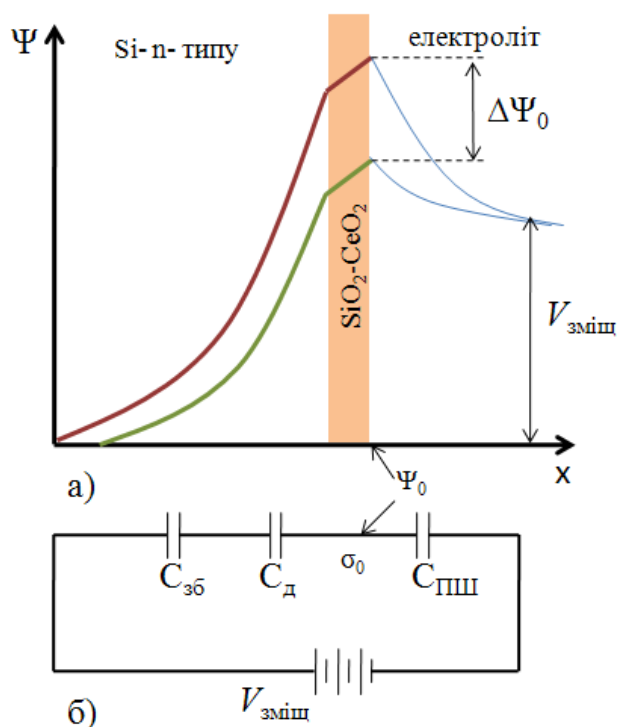


Рис. 1.8. а) розподіл потенціалу для узагальненої моделі з комплексом діелектриків, які використовувалися для виготовлення сенсора. Зв'язування зарядів з поверхнею призводить до зсуву потенціалу, що позначено $\Delta\Psi_0$, б) схематична модель сенсора, де $C_{\text{ПШ}}$, $C_{\text{д}}$ та $C_{\text{зб}}$ – ємності подвійного шару, підзатворного діелектрика та області збіднення, відповідно [42].

За наявності антитіл для детектування біологічних молекул з використанням ІСПТ подвійний шар відповідної товщини утворюється у приповерхневій області (рис. 1.9). Оскільки довжина екранування для фізіологічних розчинів набагато менша ніж розміри антитіл, заряд, що переноситься зв'язаними молекулами антиген-антитіло, локалізується за межами цієї відстані і часто не може бути зареєстрований ІСПТ. Однак можливо досягти деякого перекриття між «прив'язаними» молекулами та подвійним електричним шаром шляхом зменшення іонної сили (розведення досліджуваного розчину). Але така процедура може знизити афінність імунологічного зв'язування.

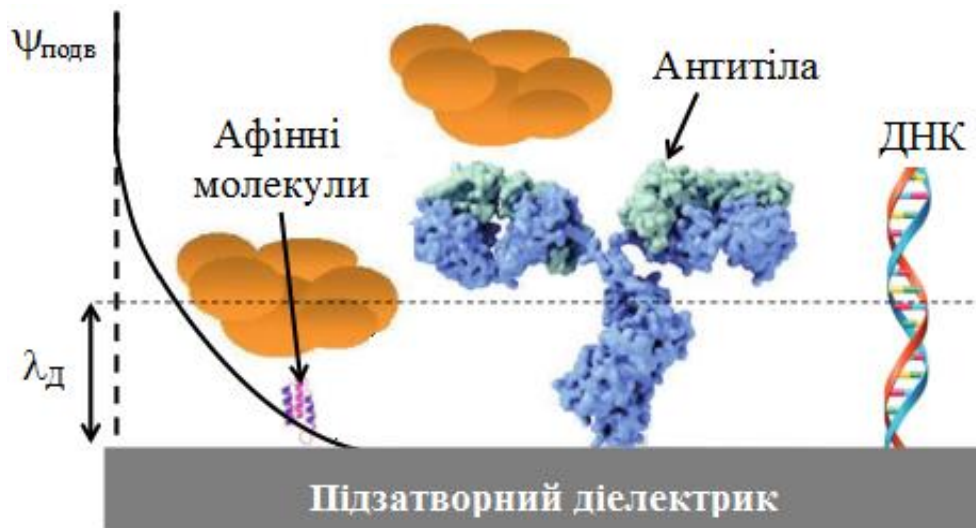


Рис.1.9. Схематичне представлення шару з довжиною екранування Дебая та біомолекул [44].

Водночас визначення значення фактичного заряду, який переносять зв'язані білки під час детектування, залишається складним процесом. Густина заряду визначається ізоелектричною точкою білка (pI) та pH електроліту.

1.5. С-реактивний білок в організмі людини: особливості та характеристики

В останні роки увагу дослідників все більше привертають процеси, що розвиваються у період гострої фази запальних процесів в організмі людини і представляють собою комплекс ранніх неспецифічних захисних реакцій організму. У цей період особливу роль відіграє різке зростання концентрації так званих позитивних гострофазних протеїнів. Серед них найважливішим для життєдіяльності людського організму є С-реактивний білок (СРБ).

СРБ – мультифункціональний білок в організмі людини, маркер гострої фази запальних процесів. Йому належить важлива роль у захисті організму від чужорідних тіл, при некрозі та в автоімунних процесах. СРБ є добре відомим білковим маркером, який використовується як прекурсор для розпізнавання симптомів, зокрема, серцево-судинних захворювань. При запальних процесах його концентрація у плазмі крові збільшується у 10 –100 разів й існує прямий зв'язок між

зміною рівня СРБ та рівнем захворюваності й динамікою клінічних проявів запалення. Підвищений його рівень у крові є фактором ризику виникнення запалення, а також швидким ангиогенезом, наприклад, пухлин [45]. СРБ дуже чутливий елемент крові, він швидше за інші білки реагує на пошкодження тканин. С-реактивний білок стимулює захисні реакції та активізує імунітет [46]. Чим більша концентрація – тим серйозніший рівень захворюваності й навпаки. Швидка та точна діагностика СРБ є вирішальною для профілактики великої кількості захворювань (особливо для запобігання розвитку серцево-судинних захворювань, туберкульозу, ревматоїдного артриту), моніторингу та контролю ефективності терапії при лікуванні бактеріальних та вірусних інфекцій, хірургічних ускладнень, для діагностики хронічних запальних процесів, онкологічних та гінекологічних захворювань. Водночас контроль рівня СРБ допомагає прогнозувати ймовірність виникнення злоякісних новоутворень, карциноми, саркоми [47]. Таким чином, тест на СРБ може замінити або доповнити традиційні аналізи, такі як визначення кількості лейкоцитів, швидкості осідання еритроцитів.

Американська асоціація серця та Центр контролю та профілактики захворювань США виділяють 3 категорії концентрації СРБ у крові пацієнта, які мають клінічне значення для прогнозування ризику запальних процесів та серцево-судинних ускладнень: менше 1 мг/л – мінімальний ризик, 1,0÷3 мг/л – середній, а вище 3÷10 мг/л - високий [45].

1.6. Існуючі методи аналізу С-реактивного білка

Першими способами визначення рівня СРБ були імунодифузія, турбідиметрія [48] та нефелометрія [49]. Проте ці способи вказували, що рівень білка менше 5 мг/л свідчив про повну відсутність запальних процесів [50,51]. Пізніше почали використовувати високочутливу імунотурбідиметрію, що полягає у використанні частинок латексу для іммобілізації СРБ [52]. У результаті таких змін нижня межа детектування цього білка знизилася майже на порядок, до значень < 1 мг/л. При вірусних інфекціях, метастазуванні пухлин, пасивно плинних хронічних та деяких

системних ревматичних захворюваннях концентрація СРБ може підвищуватися до 10-30 мг/л. Визначення базового рівня СРБ може використовуватися для прогнозування рівня ризику розвитку гострого інфаркту міокарда, інсульту, раптової смерті людей, які до того не страждали серцево-судинними захворюваннями [51, 53].

Біосенсорні системи, які використовують для визначення СРБ можна розділити на:

- сенсори на основі МДН-транзисторів [54, 55],
- оптичні імуносенсори на основі ППР [56];
- електрохімічні датчики на основі потенціометрії, амперометрії та електрохімічного імпедансу [57];
- п'єзорезистивні датчики, такі як кварцові кристалічні мікроваги [58] та мікрокантиливери [59, 60].

До найважливіших характеристик СРБ можна віднести його здатність зв'язувати іони Ca^{2+} , що призводить до зміни його фізико-хімічних властивостей [61]. Саме завдяки цій властивості СРБ вперше був виявлений в сироватці хворих пневмококовою пневмонією [62].

Також СРБ у присутності іонів кальцію набуває деякої стійкості до структурно-функціональних змін у денатуруючих умовах. Іони Ca^{2+} в концентрації 0,7÷2,0 мМ захищають СРБ від термічної денатурації при 63°C протягом 1 год. [63]. Таким чином, здатність СРБ зв'язуватися з іонами Ca^{2+} має важливе фізіологічне значення, оскільки може служити захистом білка від деградації або денатурації у крові у період гострої фази запалення.

1.7. Сенсори С-реактивного білка на основі польових транзисторів

Серед усіх класів сенсорів СРБ сенсори на основі польових транзисторів посідають окреме місце. Оскільки основна частина процесу їх виготовлення – це стандартна процедура виготовлення польового транзистора, що є технологічно простою та не надто фінансово затратною (є можливість одночасного виготовлення великої кількості транзисторів в одному технологічному циклі).

Виявлення СРБ за допомогою сенсорів на основі МДН-транзисторів переважно здійснюється шляхом іммобілізації анти-СРБ на поверхню підзатворного діелектрика МДН-транзистора. Оскільки молекула СРБ електронейтральна, то залежно від поверхні, на яку вона осаджується, ферментативна реакція може призводити або до збільшення, або до зменшення значення струму у каналі [64].

Виявлення біомолекул за допомогою польових транзисторів залежить від зміни провідності каналу між стоком і витком при взаємодії досліджуваних молекул з поверхнею транзистора. СРБ вносить додатковий негативний заряд при зв'язуванні з анти-СРБ і змінює струм стоку. Ця зміна також залежить від концентрації СРБ [64].

У роботі [53] було представлено і описано одну з перших спроб виявлення СРБ за допомогою МДН-транзисторів, використовуючи анти-СРБ, яке було прикріплене до затвору. Автори запропонували конфігурацію МДН-транзистора з віднесеним затвором, тобто, чутливий шар був зовнішнім по відношенню до транзистора, але був приєднаний до затвору. Цей сенсор був протестований у буферному розчині та показав можливість виявлення СРБ у діапазоні 3-10 мг/л. У роботі [65] було запропоновано використовувати *n*-канальний МДН-транзистор для виявлення концентрації СРБ у діапазоні 3÷20 мг/л у буферному розчині. Для цього сенсора використано МДН-транзистор з підзатворним діелектриком $\text{SiO}_2\text{-Si}_3\text{N}_4$ та Au/NiCr затвором з використанням Ag/AgCl електроду порівняння. Нанесення на затвор білка, міченого цистеїном, сприяло утворенню моноклонального шару анти-СРБ, а використання буферного розчину – для уникнення неспецифічних зв'язків.

На сьогодні відомі сенсори СРБ на основі кремнієвих нанодротів [1], які показують лінійну залежність відгуку від концентрації й отримані дані корелюють з результатами, отриманими за допомогою лабораторних аналізів. Такі сенсори показали суттєву біосумісність з молекулами СРБ та можуть бути використані при виготовленні мультисенсорів у поєднанні з виявленням маркерів різних захворювань. Вибір нанодротів пов'язаний з тим, що збіднення/накопичення носіїв заряду відбувається переважно у товщі підкладинки, а не на поверхні нанодротів. Це призводить до більшої чутливості, ніж у планарних МДН-транзисторах, де

спостерігається менший ефект зв'язування зарядів. Поверхні нанодротів були оброблені моношаром з альдегідними залишками, на які було іммобілізовано анти-СРБ. Такий сенсор протестовано у буферному розчині з концентрацією солі 1,37 мМ та концентрацією СРБ 1 фМ, 1 пМ та 1 нМ. Проте чутливість такого сенсора дослідниками не зазначалася. Вищезгадана група використовувала розроблений сенсор з нанодротами для проведення клінічного випробування та аналізу рівня СРБ у 83 пацієнтів з раком шлунку [66]. Селективність такого сенсора була підтверджена проведенням досліджень у фосфатному буфері з додаванням специфічного антигену простати та маркером пухлини канціноембріонального антигену. Підтвердженням селективності сенсора є те, що він не реагував на наявність додаткових антигенів, а лише на СРБ. Доказом корисності запропонованої концепції використання кремнієвих нанодротів є перевірка можливості роботи такого сенсора у діапазоні концентрацій СРБ від 3,2 до 10,4 мг/л у сироватці крові. Однак через шуми цей сенсор погано розрізняє різні концентрації. Удосконалення такого сенсора, використовуючи золь-гелеві матеріали для іммобілізації анти-СРБ [67] дозволило зберегти активність антитіл протягом декількох місяців. Випробування у сироватці людини показали лінійний відгук сенсора на СРБ у діапазоні 0,12÷10 мкг/л. Проте повторюваності таких результатів, на жаль, не вдалося досягти.

Також відомі сенсори на базі [68] МДН-транзистора з вбудованими нанодротами для виявлення концентрації СРБ у фосфатному буфері при рН 7,4 (рис. 1.10. а,б). Для такої конструкції, як і для попередньої, не наведено даних щодо відтворюваності результатів та чутливість сенсора.

У роботі [69] представлено МДН-транзистор з наношліною у підзатворному діелектрику SiO₂ висотою 50 нм та довжиною 450 нм (рис. 1.10.в). Тестування такого сенсора на сироватці крові людини продемонструвало поріг детектування 0,1 мкг/л, близький до аналогічного показника для ІФА (0,25 мкг/л), але він може працювати у більшому діапазоні концентрацій (МДН сенсор до 100 мкг/л, тоді як ІФА до 5 мкг/л).

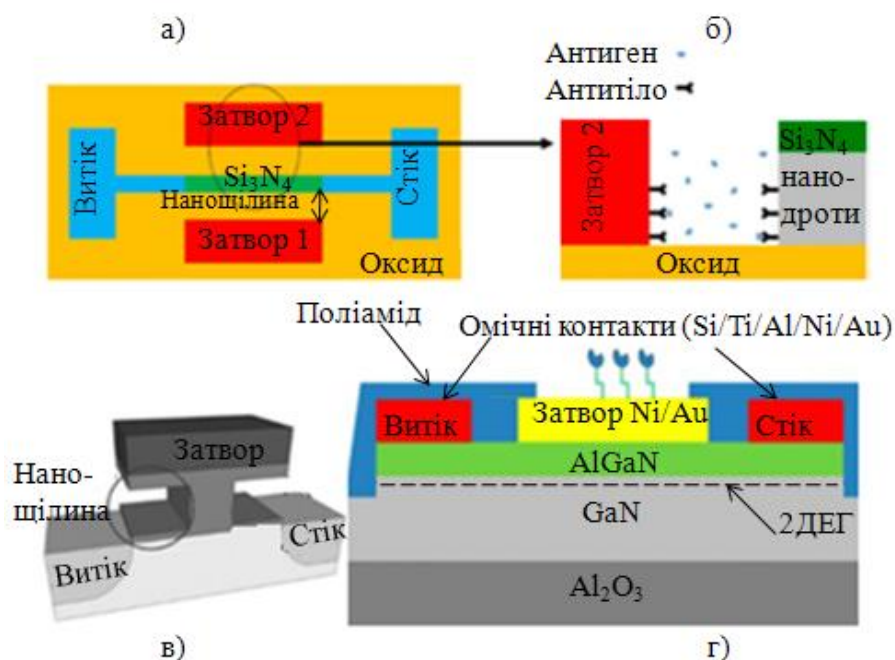


Рис. 1.10. Структури сенсорів для СРБ на основі: а) МДН-транзистора з вбудованими нанощілинами (вигляд зверху), б) імуносенсор для СРБ (адаптовано з [68]), в) МДН з нанощілиною у підзатворному діелектрику SiO₂ (адаптовано з [69]), г) транзистора з високою рухливістю електронів для детектування СРБ [55].

Також для детектування СРБ використовують транзистор з високою рухливістю електронів, у якому канал виготовлений з AlGaN/GaN для підвищення чутливості до СРБ [55]. На рис. 1.10.г показано такий сенсор з резистивним шаром GaN товщиною 2 мкм, нелегованим шаром GaN товщиною 80 нм, і шаром Al_{0,3}Ga_{0,7}N, товщиною 25 нм.

Селективність запропонованого сенсора виключно до СРБ була підтверджена шляхом додавання тропоніну Т. Також його тестували для концентрацій СРБ 0,01 ÷ 1000 мкг/л у фосфатному буфері.

Результати досліджень показали чітке розділення для концентрацій більше 10 мкг/л, проте для розрізнення менших значень шум вимірювання був набагато більшим, ніж корисний сигнал, що ускладнило роботу сенсора для малих концентрацій.

Як і для попереднього сенсора, для такого датчика СРБ жодної інформації про чутливість не наведено [55] (табл. 1.1).

Таблиця. 1.1

Порівняння основних характеристик сенсорів СРБ

Тип сенсора	Лінійний діапазон детектування	Поріг детектування	Тривалість вимірювання	Аналіз реальних зразків
[71]	0,05÷ 2,5 мг/л	25 мкг/л	45 хв	Так
[72]	0,05÷5 мг/л	0,011 мг/л	60 хв	Ні
[73]	0,2÷200 мкг/л	-	5 хв	Ні
[74]	0,002÷10 мг/л	0,002 мг/л	30 хв	Так
[55]	10÷1000 мкг/л	10 мкг/л	-	Ні
[65]	3÷20 мг/л	-	-	Ні
[66]	0,12÷10 мкг/л	-	-	Ні
[69]	0÷100 мкг/л	0,1 мкг/л	-	-
Запропонований сенсор	0÷1 мг/л	0,1 мг/л	~1 хв	Так

Проведений аналіз показує, що серед широкого кола існуючих сенсорів СРБ оптимального сенсора для використання у скринінгових дослідженнях не існує. Тому актуальним завданням залишається удосконалення існуючих методів аналізу або розробка нових структур сенсорів з метою зменшення часу детектування, досягнення нижчого порогу детектування, підвищення чутливості, зокрема, з використанням новітніх наноматеріалів [70].

1.8. Висновки до розділу 1

З огляду на матеріал, викладений в розділі, можна зробити наступні висновки:

1. Проведено аналіз властивостей і характеристик хімічних і біомедичних сенсорних структур, зокрема на основі ІСПТ, та основних сфер їх застосування. Показано, що такі структури є перспективними для виявлення рівня глюкози, уреазі, визначення рівня рН, дослідження гібридизації ДНК, для імунологічних та ферментних досліджень.

2. Проведено аналіз шляхів покращення характеристик хімічних і біомедичних сенсорів, зокрема, щодо чутливості, селективності, стабільності отриманих даних, можливості автоматичного оброблення результатів, швидкодії, необхідного робочого об'єму розчину, можливостей одночасного аналізу кількох речовин, часу релаксації та динаміки протікання біохімічних реакцій, а також показано роль додаткових чутливих шарів та різних технологічних факторів на роботу сенсора.

3. Для виявлення рівня С-реактивного білка, підвищений рівень якого свідчить про наявність запальних процесів в організмі, а при деяких значеннях навіть можливість виникнення захворювань серцево-судинної системи, все ще використовують імуноферментні методи, які потребують попередньої пробопідготовки та додаткових матеріалів для аналізу. Даний факт спонукає до удосконалення методу аналізу та розробки нових типів сенсорів для дослідження СРБ з підвищеною чутливістю і швидкістю та зменшеним порогом детектування.

4. Залишається актуальним завдання удосконалення методу детектування, розроблення, дослідження нових типів твердотільних хімічних сенсорів рН та H_2O_2 на базі МДН-транзистора з підзатворним діелектриком на основі наноматеріалів та топологією структури, що забезпечують нові властивості чутливого шару.

5. Потребують удосконалення методи детектування та структури сенсори бета-лактоглобуліну для виявлення основного алергену молока щодо підвищення їх селективності, точності і швидкодії із забезпеченням технологічності в умовах широкого застосування.

2. УДОСКОНАЛЕННЯ МЕТОДУ АНАЛІЗУ РІВНЯ pH ТА NaCl НА ОСНОВІ СЕНСОРНОЇ СТРУКТУРИ НА БАЗІ ІОН-СЕЛЕКТИВНОГО ПОЛЬОВОГО ТРАНЗИСТОРА

2.1. Фізичні процеси на границі діелектрик-електроліт

Поверхня будь-якого твердого тіла (метал, діелектрик, та інше) завжди містить гідроксильні групи. Система електроліт-діелектрик не є винятком. На поверхні діелектрика утворюється заряд, під час одного з процесів:

- адсорбції іонів на поверхні твердого тіла;
- дисоціації молекул на поверхні твердого тіла;
- переходу іонів з однієї фази в іншу при електрохімічній рівновазі.

При контакті діелектрика з електролітом через деякий час встановлюється електрохімічна рівновага. Якщо хімічний потенціал іонів діелектрика μ_d перевищує потенціал цих же іонів в електроліті μ_e , то іони переходять з діелектрика у розчин й поверхня діелектрика стає негативно зарядженою, а якщо $\mu_e > \mu_d$, то позитивно.

Виникнення зарядів на поверхні діелектрика призводить до появи різниці потенціалів на границі діелектрик-електроліт, значення якого знаходиться відповідно до рівняння Нернста:

$$\varphi = \varphi_0 + \frac{RT}{Fz} \ln \frac{a_n}{a_e}, \quad (2.1)$$

де φ_0 – стандартний потенціал окисно-відновної реакції; R – універсальна газова стала; T – температура; F – число Фарадея; z – число електронів, що віддають атом металу, перетворюючись в іон; a_n , a_e – активність іонів біля поверхні та в електроліті.

При контакті діелектрика з електролітом на границі оксид-електроліт утворюються поверхневі гідроксильні групи. Заряд цих груп залежить від pH

розчину. У буферному розчині ($\text{pH} \approx 7$) поверхневий заряд SiO_2 (найпоширеніший підзатворний діелектрик) є негативним.

Проте діелектрик CeO_2 , який у даній роботі використано для дослідження МДН-транзистора та ІСПТ, має позитивний вбудований заряд – аніони, а його поверхня – це функціональні групи OH^- , що перебувають в електрохімічній рівновазі з іонами OH^- та H^+ електроліту. До поверхні діелектрика зі сторони електроліту притягуються іони протилежного знаку – катіони.

Теоретичні дослідження процесів, що відбуваються на границі «тверда речовина–рідина» для ІСПТ сенсорів зазвичай описується так званою теорією зв'язуючих центрів, яка зв'язує поверхневий потенціал та концентрацію іонів водню у досліджуваному розчині. Відповідно до цієї теорії іони, які є у розчині, реагують з позитивно чи негативно зарядженими центрами на поверхні діелектрика, утворюючи активні пари й, таким чином, змінюючи загальний заряд на поверхні діелектрика. Це в свою чергу впливає на струм у транзисторі через зміну порогової напруги. Крім того, активні ділянки можуть реагувати не лише з іонами водню, а й з іншими іонами, які є у розчині. Всі ці хімічні реакції, що відбуваються на поверхні, є оборотними та описуються константою дисоціації K , яка також залежить від температури. Оскільки іони зв'язуються з активними центрами, в електроліті утворюється градієнт концентрації, що призводить до утворення у подальшому подвійного шару.

$$K_+ = \frac{[\text{CeOH}][\text{H}^+]}{[\text{CeOH}_2^+]}, \quad K_- = \frac{[\text{CeO}^-][\text{H}^+]}{[\text{CeOH}]} \quad (2.2)$$

Хімічна реакція показує, що нейтральні поверхневі гідроксильні групи можуть приєднувати протони з розчину і, отже, ставати позитивно зарядженими з константою дисоціації K_+ , а також віддавати протони у розчин, залишаючи негативний заряд на поверхні з константою дисоціації K_- . Принцип роботи ІСПТ, як сенсора, може бути описано з використанням теорії зв'язуючих центрів [43], що

пов'язує поверхневий потенціал зі значенням рН розчину. Амфотерна природа оксидних груп на межі поділу, в випадку CeO_2 це є групи CeOH , спричиняє зміну поверхневого заряду оксиду за умови різних значень рН. Нейтральна гідроксильна група на поверхні може приєднати (CeO) або віддати протон залежно від значення рН розчину. Через зв'язування іонів з активними центрами, утворюється градієнт концентрації та, відповідно до теорії Гуї-Чепмена-Штерна, утворюється подвійний шар на межі поділу діелектрик-електроліт. Відповідно до цієї теорії потенціал на затворі описується:

$$\varphi_3 = \varphi_{\text{диф}} + \frac{2kT}{q} \sinh^{-1} \left[\frac{C_x (\varphi_{\text{диф}} - \varphi_0)}{\sqrt{\varepsilon_B kT \varepsilon C_0}} \right], \quad (2.3)$$

де φ_3 та $\varphi_{\text{диф}}$ – потенціал на затворі та дифузійного шару, $C_x \cdot (\varphi_{\text{диф}} - \varphi_0) = \sigma_{\text{диф}}$ – густина заряду у дифузійному шарі, C_x – питома ємність шару Гельмгольца на одиницю площі, C_0 – концентрація розчину, ε_0 – діелектрична проникність вакууму, ε_B – діелектрична проникність води. Отже, умова електронейтральності для розглянутої структури буде описуватися:

$$\sigma_{\text{диф}} + \sigma_0 + \sigma_{\text{МДН}} = 0, \quad (2.4)$$

де σ_0 – густина заряду поверхневих станів, $\sigma_{\text{МДН}}$ – отримана з:

$$\sigma_{\text{МДН}} = \pm \sqrt{2\varepsilon_0 \varepsilon_{\text{нап}} kT p_0} \left[\left(\frac{q\varphi_{\text{нап}}}{kT} - 1 + \exp\left(-\frac{q\varphi_{\text{нап}}}{kT}\right) \right) + \frac{n_0}{p_0} \left(-\frac{q\varphi_{\text{нап}}}{kT} - 1 + \exp\left(-\frac{q\varphi_{\text{нап}}}{kT}\right) \right) \right]^{\frac{1}{2}}, \quad (2.5)$$

де $\varepsilon_{\text{нап}}$ – відносна діелектрична проникність напівпровідника, n_0 та p_0 – рівноважна концентрація відповідно електронів та дірок.

Густина заряду приймається позитивною для $\varphi_{\text{нап}} < 0$ та негативною

для $\varphi_{\text{нап}} > 0$. В іншому випадку σ_0 записується:

$$\frac{\sigma_0}{qN_{\text{пов}}} = \left(\frac{[H_{\text{пов}}^+]^2 - K_+K_-}{[H_{\text{пов}}^+]^2 + K_+[H_{\text{пов}}^+] + K_+K_-} \right) \frac{N_{\text{сил}}}{N_{\text{пов}}} + \left(\frac{[H_{\text{пов}}^+]}{[H_{\text{пов}}^+] + K_{N^+}} \right) \frac{N_{\text{амін}}}{N_{\text{пов}}}, \quad (2.6)$$

де $N_{\text{пов}}$ – загальна кількість вільних поверхневих станів, $N_{\text{сил}}$ та $N_{\text{амін}}$ – кількість сіланових та амінних станів на одиницю площі, K_i – стала дисоціації для хімічної реакції та $H_{\text{пов}}^+$ – концентрація протонів на поверхні діелектрика. А вираз для $\sigma_{\text{диф}}$ буде наступним:

$$\sigma_{\text{диф}} = -\sqrt{8kT\varepsilon_{\text{нап}}\varepsilon_0 \left([K_{\text{заг}}^+] + [H_{\text{пов}}^+] \right)} \sinh\left(\frac{q\varphi_{\text{від}}}{2kT}\right), \quad (2.7)$$

де $\varepsilon_{\text{нап}}$ – відносна діелектрична проникність напівпровідника, $K_{\text{заг}}^+$ – концентрація катіонів на поверхні.

Розв'язок цих рівнянь дозволяє обчислити залежності поверхневого потенціалу напівпровідника від концентрації іонів водню (рН).

$$\begin{aligned} \Phi_{\text{нап}} = & \frac{2kT}{q} \left(\sqrt{\varepsilon_{\text{нап}}\varepsilon_0 kT (n_0 + p_0)} \right)^{-1} \times \\ & \left[\left(\frac{[H_{\text{пов}}^+]^2 - K_+K_-}{[H_{\text{пов}}^+]^2 + K_+[H_{\text{пов}}^+] + K_+K_-} \right) qN_{\text{сил}} + \left(\frac{[H_{\text{пов}}^+]}{[H_{\text{пов}}^+] + K_{N^+}} \right) qN_{\text{амін}} \right] \\ & - \frac{q\varphi_3}{2kT} \sqrt{2kT\varepsilon_{\text{в}}\varepsilon_0 \left([K_{\text{заг}}^+] + [H_{\text{пов}}^+] \right)} + \sqrt{8kT\varepsilon_0 \sqrt{\varepsilon_{\text{нап}}\varepsilon_{\text{в}} C_0 \left([K_{\text{заг}}^+] + [H_{\text{пов}}^+] \right)}}, \end{aligned} \quad (2.8)$$

де $\varepsilon_{\text{в}}$ – діелектрична проникність води, $\varepsilon_{\text{нап}}$ – відносна діелектрична проникність напівпровідника, ε_0 – діелектрична проникність вакууму та C_0 – концентрація розчину [75].

Відомо кілька моделей щодо представлення уявлення про цей подвійний шар (рис. 2.1).

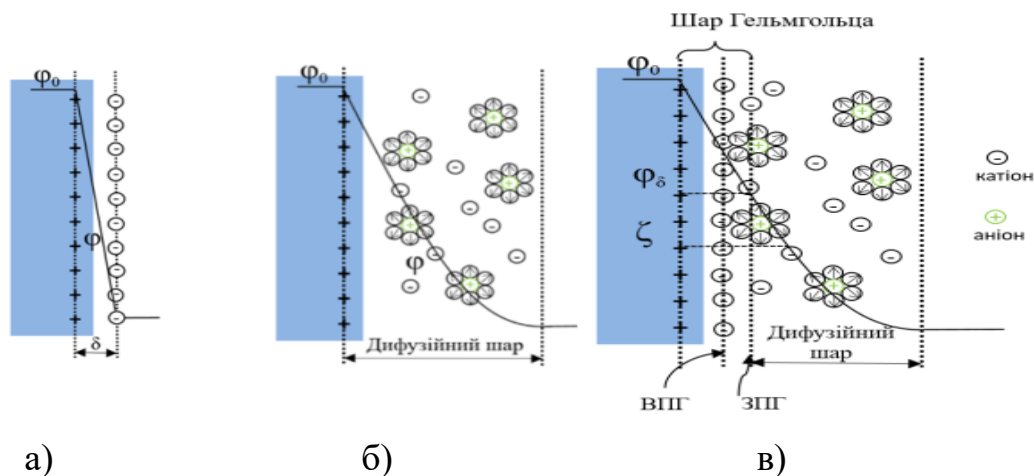


Рис.2.1. Моделі подвійного електричного шару: а) Гельмгольца, б) Гуї-Чепмена, в) Гуї-Чепмена-Штерна: δ – товщина адсорбційного шару, ВІГ- внутрішня площина Гельмгольца, ЗІГ- зовнішня площина Гельмгольца.

Проте відповідно до сучасної теорії структури подвійного електричного шару він складається з адсорбційного шару (Гельмгольца) та дифузійного (шар Гуї) (рис. 2.1.в). Дифузійний шар має товщину λ , яка залежить від властивостей системи та може мати різні значення.

Отримані з наведеної теорії значення поверхневого потенціалу напівпровідника використовуються при моделюванні твердотільних сенсорів для розрахунку відгуку як реакція на додатковий заряд на чутливій поверхні.

2.2. Особливості процесів екранування для біосенсорів

Сенсори на основі МДН-транзисторів мають високу чутливість, компактні та можуть використовуватися без додаткових спеціальних міток для розпізнавання біомолекул. Проте вони мають низьку чутливість при прямому детектуванні білків у фізіологічних розчинах, таких як сироватка або кров.

Чутливість приладу залежить як від біологічного компонента так і від перетворювача, оскільки у цьому випадку має бути тісна взаємодія між

біомолекулою та досліджуваною речовиною, а також дуже висока ефективність реєстрування реакції перетворювачем. На відміну від хімічних сенсорів, біологічні сенсори забезпечують високу специфічність, що є результатом оптимального молекулярного розпізнавання. Переконливим доказом цього є взаємодія антиген-антитіло, під час якої антитіло може розпізнати та приєднати відповідний антиген з достатньо високою специфічністю.

У біосенсорах на основі МДН-транзисторів параметри розчину відіграють важливу роль у визначенні ефективності детектування. Для створення робочих умов біосенсора максимально близькими до нормального фізіологічного розчину, плазми чи сечі, у переважній більшості використовують натрій-фосфатний (PBS) чи звичайний фосфатний (PS) буфер як матрицю для розчинення досліджуваної речовини при вимірюваннях. Однак у розчині, що містить таку високу концентрацію солі, потенціал взаємодії між рецептором та аналітом, який викликає зміну провідності у МДН-сенсорі, може бути частково екрановано іонною силою електроліту, водночас зменшуючи величину сигналу, що реєструється. Встановлено, що значення екранованого потенціалу у таких сенсорах зменшується експоненціально зі збільшенням відстані від поверхні польового транзистора до області утворення комплексу «антиген-антитіло» й описується:

$$V(r) = V_0 \cdot e^{-\frac{r}{\lambda_D}}, \quad (2.9)$$

де V_0 – розподілений розмазаний потенціал на поверхні транзистора, а λ_D – довжина екранування Дебая-Хукеля, що обчислюється

$$\lambda_D = \sqrt{\frac{\epsilon_0 \epsilon_c k_B T}{2 N_A e^2 I}}, \quad (2.10)$$

де ϵ_0 – відносна діелектрична проникність вакууму, ϵ_c – відносна діелектрична проникність середовища, k_B – стала Больцмана, T – абсолютна температура, N_A – стала Авогадро, e – елементарний заряд, I – іонна сила буферного розчину.

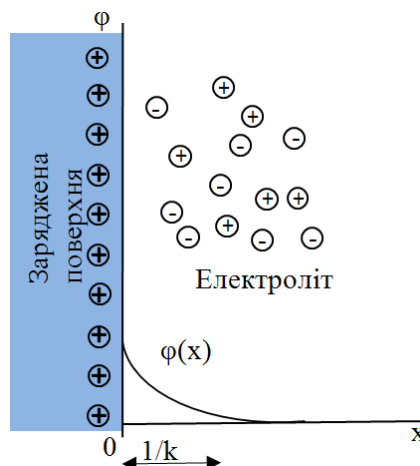


Рис. 2.2. Розподіл потенціалу від зарядженої поверхні у товщу електроліту.

Математично, λ_D – відстань від поверхні діелектрика у товщу електроліту, на якій електричний потенціал зменшується в $1/e$ раз, як зображено на рис. 2.2. З формули (2.10) видно, що розчин з більшою іонною силою має меншу довжину екранування Дебая, таким чином утворюючи сильніше екранування.

Наприклад, довжина екранування Дебая у фізіологічних розчинах 1xPBS становить близько 0,7 нм [76], що є набагато менше товщини шару молекул С-реактивного білка – $3,03 \pm 0,37$ нм [77], не говорячи вже про комплекс «СРБ-анти-СРБ». Тому для ефективного виявлення білків, використовуючи сенсори на основі МДН-транзисторів вимірювання переважно проводять у розведених буферних розчинах 0,1xPBS чи 0,01xPBS, які є слабшими, а довжина екранування збільшується і становить 2,4 та 7,4 нм відповідно [76]. Водночас розбавлення розчину може негативно вплинути безпосередньо на властивості самого білка, а точніше змінити його структуру, що призведе до зменшення активності зв'язування. Для переважної більшості біологічних реакцій, сенсор, що здатен працювати в сильних розчинах є кращим, оскільки його можна відразу використовувати у реальних, а не модельних фізіологічних розчинах. Також слід враховувати, що для сенсорів на основі МДН транзисторів перед вимірюванням необхідно змивати незв'язаний антиген, що також ускладнює процес вимірювання. Таким чином, забезпечення прямого детектування білка у фізіологічному розчині залишається непростим завданням і все ще вимагає удосконалення.

Розроблений сенсор СРБ на основі ІСПТ, який розглянуто у розділі 4 більш детально, не потребує ні змивання незв'язаного анти-СРБ, ні розведення буферного розчину. До того ж, він може визначити рівень СРБ у досліджуваному зразку з високою чутливістю за час, менший, ніж одна хвилина.

2.3. Біосенсори на МДН-транзисторах з різними підзатворними діелектриками: SiO₂ та CeO₂

Як зазначалося раніше, основною робочою поверхнею у сенсорах на основі МДН-транзисторів є область підзатворного діелектрика. Тому для забезпечення їх високої чутливості найчастіше намагаються підвищити чутливість активного шару, зокрема, шляхом використання більш досконалих діелектриків у робочій області. Сьогодні у сенсорах на основі МДН-транзисторів, чутливих до певного виду іонів, використовують різні оксиди – SiO₂, Si₃N₄, Al₂O₃, Ta₂O₅ та інші.

Але ці діелектрики не завжди можуть забезпечити достатню чутливість до іонів у порівнянні зі скляними електродами.

У медицині залишається актуальним селективне визначення органічних сполук у біологічних рідинах або у крові. Проте використання сенсорів з такою метою обов'язково повинно забезпечити високу селективність та бути малогабаритними. Саме тому для покращення їхньої чутливості варто застосовувати нові чутливі матеріали. Доречно зауважити, що не будь-які матеріали можуть бути використані у таких цілях. Вони повинні відповідати певним критеріям: висока діелектрична проникність, стійкість до переміщення іонів з розчину до об'єму діелектрика та якомога більша кількість рН-чутливих центрів [78].

Цим вимогам відповідає діоксид церію CeO₂. Він має підвищену діелектричну проникність $\epsilon = 26$, а ширина забороненої зони складає $E_g = 3,6$ еВ. Вказані особливості забезпечують кращу діелектричну ізоляцію структури і зменшують струми витоку через діелектрик. Розбіжність між сталою ґратки CeO₂ та Si $\Delta a/a = 0,35\%$ сприяє низькій концентрації пасток на границі кремній-діелектрик до 10^{20} см⁻² та більшому коефіцієнту перекриття по ємності, ніж для SiO₂. Така

близькість сталої решітки для CeO_2 та Si покращує адгезію з Si . Унаслідок чого збільшується крутизна ВАХ, а отже і рН-чутливість, та зменшується струм витоку через діелектрик. Також CeO_2 має високу термічну та хімічну стійкість. Всі ці характеристики оксиду церію здатні забезпечити необхідну чутливість та стабільність сенсорів МДН-транзистора на його основі. Діоксид церію, запропонований для використання у розроблених експериментальних зразках сенсора, формувався методом вибухового випаровування при температурі 200°C з характерним розміром нанокристалів $18\div 24$ нм (рис. 2.3) [79].

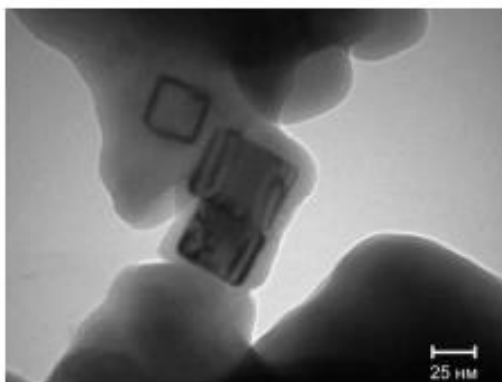


Рис.2.3. Світлопольне зображення плівки CeO_2 отриманої методом вибухового випаровування при $T = 200^\circ\text{C}$.

Характерною особливістю для більшості матеріалів є те, що при зменшенні розмірів частинок, параметри елементарної комірки також зменшуються. Проте для CeO_2 ця особливість не зберігається. А навпаки, стала решітки збільшується зі зменшенням розмірів частинок [80].

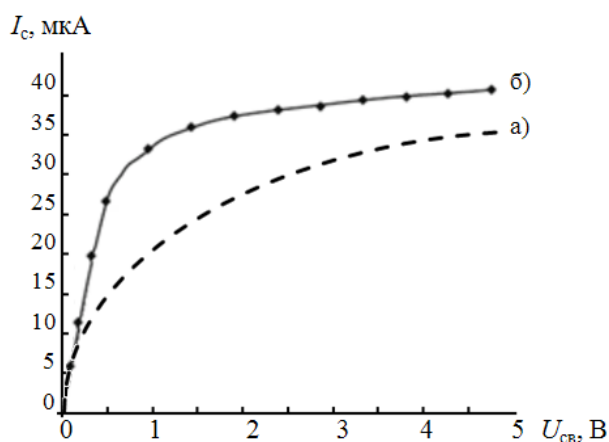


Рис. 2.4. ВАХ транзистора з підзатворним діелектриком CeO_2 : а) модельна [81] та б) експериментальна [34].

Результати моделювання вихідних характеристик сенсора на основі аналітичної моделі для структури з підзатворним діелектриком CeO_2 у порівнянні з експериментальними даними наведено на рис.2.4.

2.4. Чутливість діелектриків щодо рН та сенсор рН на основі іон-селективного польового транзистора

Використання іон-селективних електродів у складі біосенсорів у першу чергу пов'язано з реєстрацією зміни рН, що супроводжує ферментативну реакцію. З того часу, як Бергвелд запропонував МДН-транзистор [19], ІСПТ сенсори почали використовувати як новий тип хімічного сенсора.

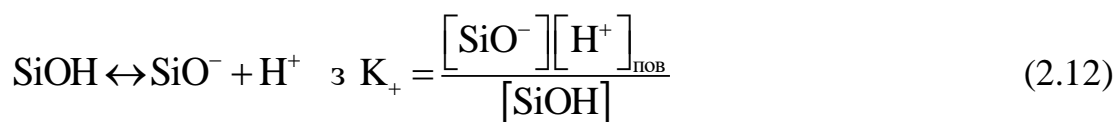
У даний час відомо кілька провідних компаній, які виробляють рН-сенсори саме на основі ІСПТ (ThermoScientific ORION (USA), Sentron (NL), Microsens S.A. (CH), Honeywell (USA), Microelectronica (SP)).

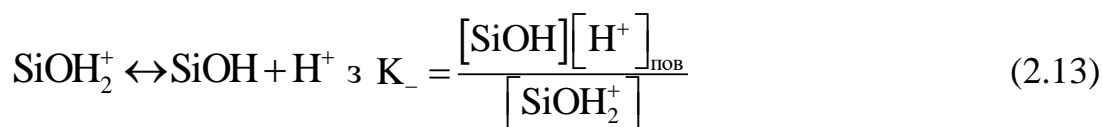
Відповідно до теорії Соренсена, рН – це від'ємний десятковий логарифм концентрації іонів водню, H^+ .

$$\text{pH} = -\log_{10} [\text{H}^+] \quad (2.11)$$

Спочатку значення рН описувалося з використанням лише рівняння Нернста, проте експерименти часто давали суб-Нернстівський нахил.

Оксид кремнію найпершим використано для виготовлення ІСПТ і сьогодні він є найпоширенішим діелектриком для таких застосувань. Він має велику густину поверхневих станів, які або захоплюють або віддають протони при контакті оксиду з електролітом, змінюючи $\sigma_{\text{пов}}$, що залежить від хімічної рівноваги поверхневої реакції. Відповідно до теорії зв'язуючих центрів, реакція на поверхні на границі діелектрик-електроліт описується двома константами рівноваги: K_+ та K_- .





Що стосується випадку з підзатворним діелектриком CeO_2 , то гідроксильні групи на його поверхні або утворюють, або поглинають аніони H^+ й при контакті з водним розчином зміна рН змінює його поверхневий потенціал. Дисоціація гідроксильних груп відбувається відповідно до рівнянь 2.14 та 2.15:



Як видно з рівнянь, гідроксильні групи можуть або захоплювати протони й ставати позитивно зарядженими або ж віддавати та ставати негативно зарядженими. Саме через цю особливість вони отримали назву – амфотерні.

Відповідно до моделі зв'язуючих центрів [89] залежність зміни поверхневого потенціалу до значення рН в об'ємі електроліту описується:

$$\frac{\partial \varphi_{\text{пов}}}{\partial \text{pH}_{\text{об}}} = -2,3 \frac{kT}{q} \alpha, \quad (2.16)$$

$$\alpha = \frac{1}{\left(\frac{2,3kTC_{\text{д}}}{q^2 \beta_{\text{влас}}} + 1 \right)}, \quad (2.17)$$

де φ_0 – поверхневий потенціал на границі електроліт-діелектрик, $\text{pH}_{\text{об}}$ – значення рН рідини в об'ємі, k – стала Больцмана, T – температура, q – елементарний заряд, α – коефіцієнт чутливості, значення якого залежить від власної буферної ємності $\beta_{\text{влас}}$ CeO_2 та $C_{\text{д}}$ – диференціальна ємність подвійного електричного шару, α – безрозмірна величина, яка приймає значення у діапазоні від 0 до 1.

Для підзатворного діелектрика з високою поверхневою буферною ємністю при

контакті з електролітом з малою диференціальною ємністю α близьке до одиниці і таким чином можна отримати високу рН-чутливість, а саме Нернстівську чутливість, що дорівнює 59 мВ/рН.

Для досягнення значення $\alpha \approx 1$, потрібно, щоб діелектрик мав велику власну буферну ємність. Широко відомий у використанні підзатворний діелектрик SiO_2 має чутливість всього лише ≈ 30 мВ/рН, а Si_3N_4 – 53-55 мВ/рН, а Al_2O_3 – 54-56 мВ/рН [82]. Оскільки для CeO_2 власна буферна ємність дуже велика, то значення C_d не є особливо важливим, унаслідок чого може бути досягнута висока чутливість у діапазоні рН 1÷14 незалежно від концентрації аналіту.

У сучасній біомедичній практиці використовуються скляні електроди, незважаючи на їхні розміри та високу вартість. Сенсори рН на основі ІСПТ можна розглядати як гідну альтернативу скляним рН-сенсорам [83].

Перевага останніх очевидна з огляду на те, що сенсори рН на базі польових транзисторів з використанням в якості підзатворного діелектрика Si_3N_4 характеризуються більшою чутливістю, порівняно з SiO_2 , та лінійністю у широкому діапазоні рН. Це пов'язано з тим, що поверхня такого діелектрика має кращу здатність прив'язувати протони. Також нітрид кремнію є більш хімічно стійким у порівнянні з оксидом кремнію, а при контакті з розчином піддається меншому впливу іонних взаємодій [84].

Враховуючи той факт, що розглянуті діелектрики не забезпечують рН-чутливість, близьку до нернстівської, тому пропонується використовувати у якості підзатворного діелектрика для рН-сенсорів та сенсорних структур для біомолекулярних сполук діоксид церію. Як уже зазначалось, він має велику власну буферну ємність за рахунок високої щільності поверхневих станів $\approx 10^{20} \text{см}^{-2}$ й тому значення C_d не відіграє значної ролі, а значення рН-чутливості високе для різного роду середовищ (рН від 1 до 14).

Структура запропонованого рН-сенсора на основі ІСПТ з індукованим каналом показана на рис. 2.5.

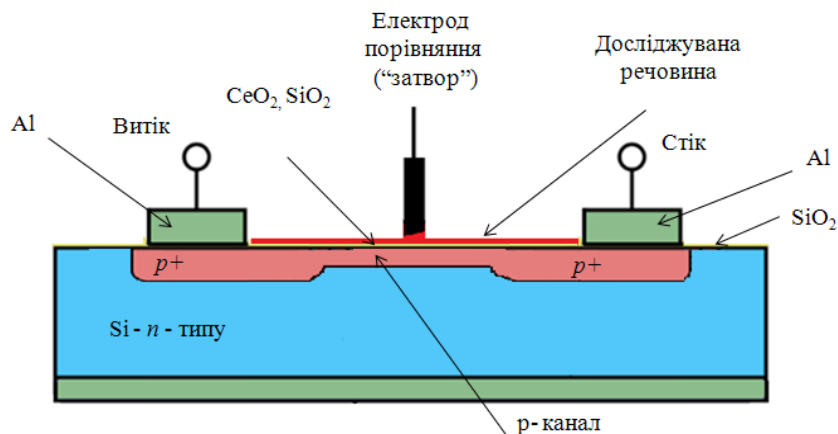


Рис.2.5. Загальний вигляд структури ІСПТ у робочому режимі на основі оксиду церію.

Основними параметрами такого сенсора є: напруга зміщення ($U_{зв}$) – -9 В, ширина каналу (W) – 5 мм, довжина каналу (L) – 50 мкм, напруга між стоком та витокком ($U_{св}$) – $0 \div 5$ В.

При такій реалізації структури польового транзистора при нульовій напрузі на затворі струм стоку теж нульовий. Як правило, найбільша зміна струму сенсора під дією активної речовини на поверхні відбувається в області насичення струму стоку. Тому оцінювання рівня чутливості такого сенсора здійснюється саме у цій області його вольт-амперних характеристик.

Ще однією особливістю при виготовленні сенсорів на основі МДН-транзисторів є необхідність забезпечення вільного доступу до активної (робочої) області для нанесення біоселективних мембран та досліджуваної речовини. Саме тому конструкція сенсора була вибрана такою, що області стоку та витокку рознесені від затвору на різні сторони кристалу (рис.2.6).

Тривалість роботи сенсора на основі МДН-транзисторів визначається надійністю та ізоляцією контактів від електроліту. Для виконання цієї умови використовують різноманітні герметики. У запропонованій методиці використано клей ВК-9 для ізоляції контактів від впливу вологи.

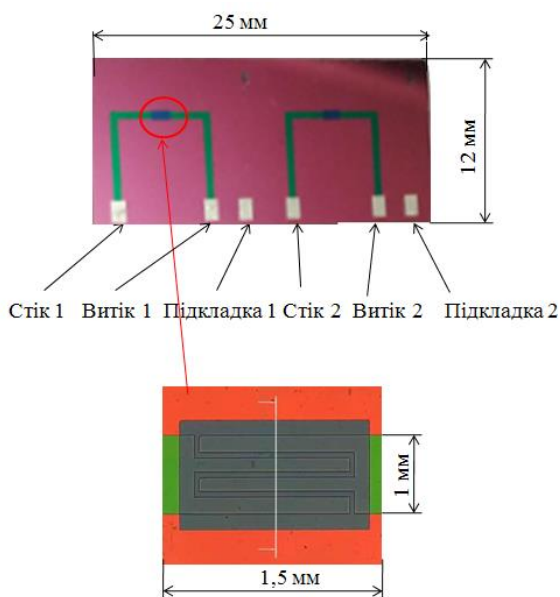


Рис.2.6. Зовнішній вигляд запропонованого сенсора на основі ІСПТ: а) реальне фото ІСПТ, б) параметри зустрічно-штирьової робочої області ІСПТ.

Тестування такого сенсора для дослідження розчинів з різними значеннями рН показало перспективні результати для подальшого його застосування. Аналіз отриманих експериментально даних показав, що збільшення рівня рН підвищує значення вихідного струму (рис.2.7). Це пояснюється тим, що збільшення рН розчину змінює заряд на поверхні підзатворного діелектрика CeO_2 , і, як наслідок, змінюється струм стоку ІСПТ.

Процес вимірювання виконувався з використанням удосконаленого методу вимірювання, що полягає у використанні мікропотокової системи. Така система забезпечує фіксований об'єм досліджуваного розчину у чутливій області, а також виключає можливе його нагрівання та випаровування. Отримані результати дають можливість з впевненістю стверджувати, що сенсори з підзатворним діелектриком CeO_2 можуть бути використані для виготовлення широкого кола біосенсорів, зокрема сенсора С-реактивного білка, який буде розглянуто у 4 розділі.

Значення чутливості для такої структури з удосконаленою процедурою вимірювання складає 58,5 мВ/рН, що практично дорівнює максимально можливому значенню (чутливості Нернста, 59 мВ/рН) для структур напівпровідник-діелектрик-рідина. А чутливість щодо струму стоку становить 0,7 мкА/рН.

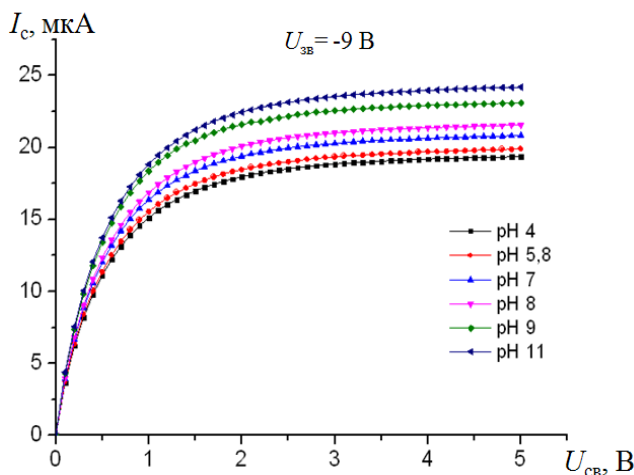


Рис.2.7. Вихідні характеристики ІСПТ при різних значеннях рН розчину, $U_{зб} = -9$ В.

Як і будь-якому сенсору на основі МДН-транзисторів, запропонованому експериментальному зразку рН-сенсора з удосконаленим методом вимірювання характерна деяка нестабільність отриманих значень. Перевірку було проведено як для еталонних значень (рис.2.8.а), так і для розчинів, підготовлених самостійно (рис.2.8.б). Рівень рН перевірявся за допомогою рН-метра, SevenCompact™ рН/Іон S220. Рис. 2.9 наочно демонструє, що стабільність результатів вимірювань для одного й того ж сенсора, проведених з інтервалом у 24 години, становила практично 100% (99,65%). Тобто розбіжності у результатах вимірювань майже відсутні.

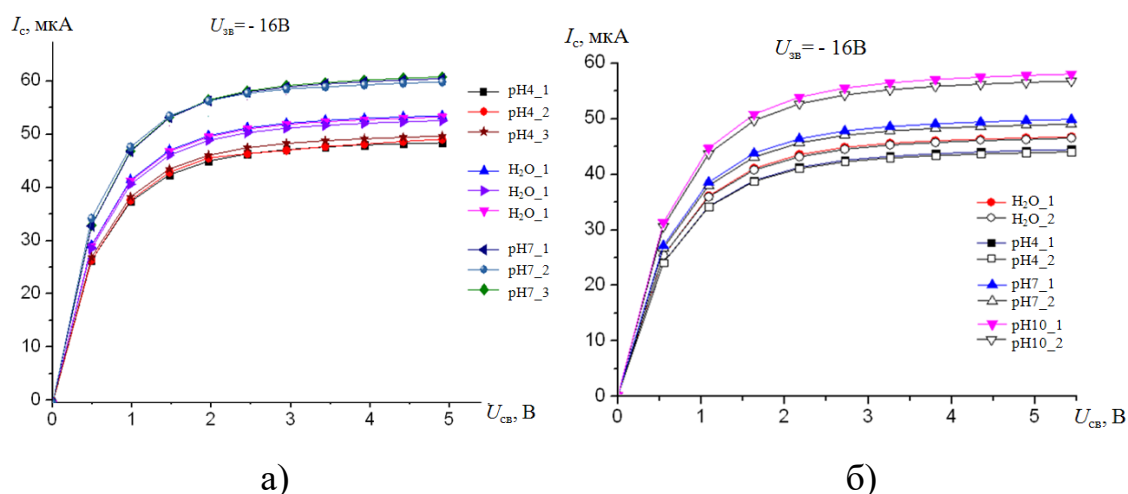


Рис. 2.8. Стабільність отриманих результатів для вимірювання рН: а) еталонні значення рН; б) отримані самостійно розведенням H_2O з HCl , $NaOH$.

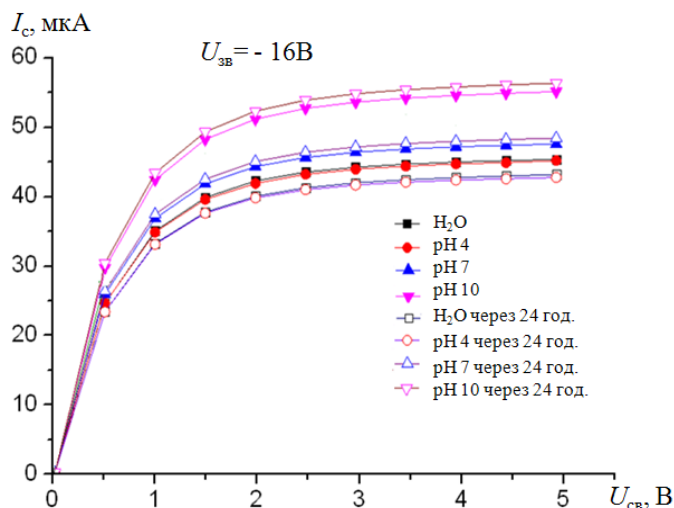


Рис. 2.9. Стабільність результатів вимірювання для еталонних розчинів рН, проведені з інтервалом в 24 години.

Аналіз отриманих результатів показує, що структура сенсора рН на основі ІСПТ та підзатворним діелектриком CeO_2 з удосконаленим методом вимірювання є перспективною для використання її як чутливого хімічного сенсора та має широкі перспективи застосування, зокрема, в біохімії завдяки біосумісності оксиду церію.

Не менш значущим постає питання про впровадження запропонованого сенсора у біомедицину, для визначення рівня рН крові. Оскільки органи людського організму на 70÷80% складаються з води, то кожен з них може повноцінно функціонувати лише у чітко встановлених межах рН, тобто за певних рівнів кислотності. Так, для крові рівень рН вважається нормою в межах 7,35÷7,45 для артеріальної крові та 7,32÷7,42 - для венозної [86]. Відхилення ж від цих норм призводить до виникнення хвороб або навіть до летальних наслідків [85].

2.5. Дослідження методу аналізу морської води

Застосування розробленої сенсорної системи не обмежується лише детектуванням рівня рН різних фізіологічних розчинів. Вона продемонструвала достатньо задовільні результати при оцінці рівня забруднення навколишнього середовища. Експериментально оцінювався рівень чистоти морської води (рис. 2.10).

Технологічно така структура аналогічна сенсорній структурі для детектування рівня рН.

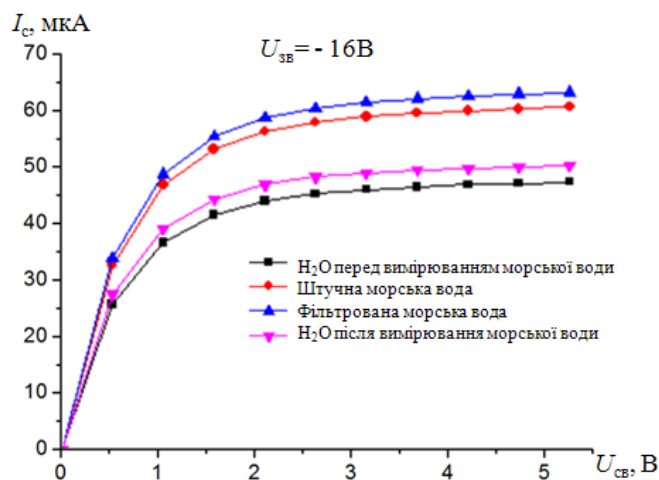


Рис. 2.10. ВАХ сенсора для різних проб морської води.

При проведенні досліджень використано розчини максимально близькі до реальної морської води, а саме: відфільтрована від великого сміття морська вода та штучно створена у лабораторних умовах вода, яка за хімічним складом практично ідентична природній морській воді.

Вихідні характеристики для таких експериментів можуть бути описані експоненціальною функцією: $I_c = 48,89 - 48,66 \cdot \exp(-1,53 \cdot U_{св})$, і крутизна характеристики становить:

$$\beta = \frac{dI_c}{dU_{св}} = 74,45 \text{ мкА/В} \quad (2.18)$$

Отримані результати (рис.2.10) свідчать про можливість розпізнавання різного складу морської води, а значення сигналу перед експериментом та після нього – про встановлення рівноважного стану на поверхні сенсора та можливість його повторного використання.

2.6. Метод аналізу NaCl за допомогою сенсора на основі іон-селективного польового транзистора

Запропонований сенсор може використовуватися не лише для детектування рН, а й для визначення концентрації солі NaCl, що є основою фізіологічного розчину. Оскільки для біологічних експериментів найчастіше використовують концентрацію солі 0,1М та 1М, був перевірена можливість сенсора на здатність детектувати саме такі концентрації NaCl.

Як показують результати експериментів (рис.2.11, 2.12), сенсор реагує на зміну концентрації вже при подачі зміщення на затвор від -8 В.

Аналізуючи результати зміни вихідного струму ІСПТ для різних концентрацій солі порівняно з H_2O , варто зазначити, що найкращими умовами для проведення таких вимірювань є $U_{зб} = -9,5В$.

Зміна струму при збільшенні концентрації солі у 10 разів відповідає однаковому зміщенню вихідного струму (2.19). А у інших випадках, коли $U_{зб} = -8,0 В$, $U_{зб} = -5,0 В$ (2.20, 2.21), зміна струму немає чітко визначеної залежності. Тому такі умови не є достатніми та надійними для проведення експериментів.

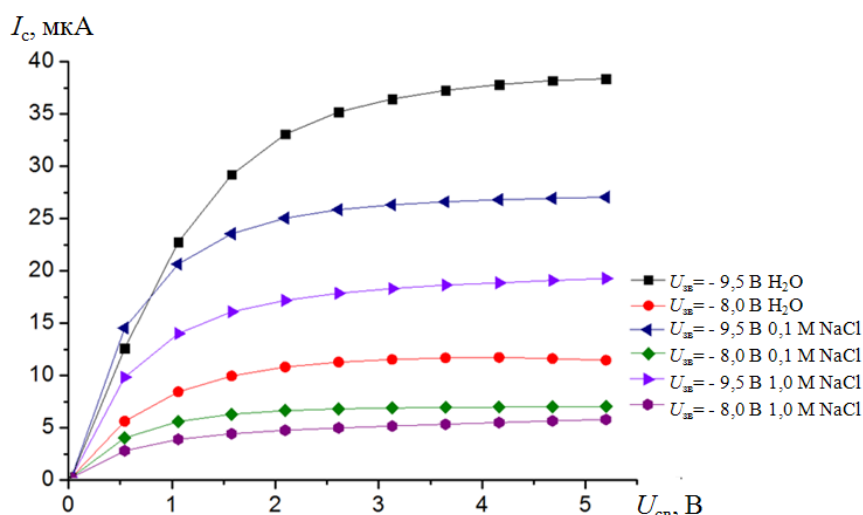
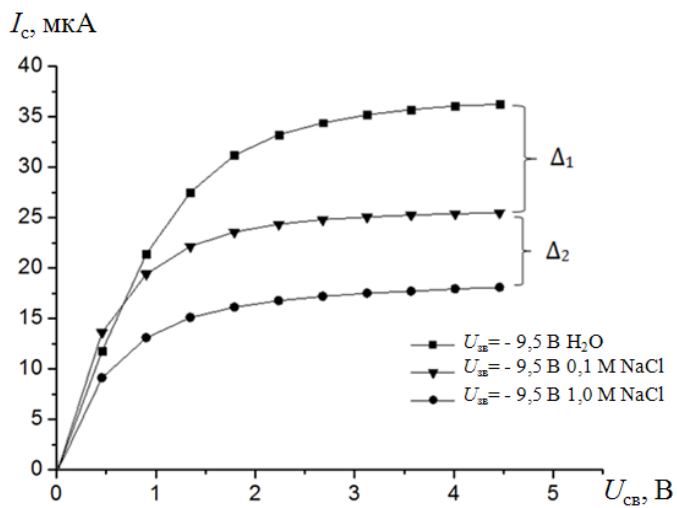
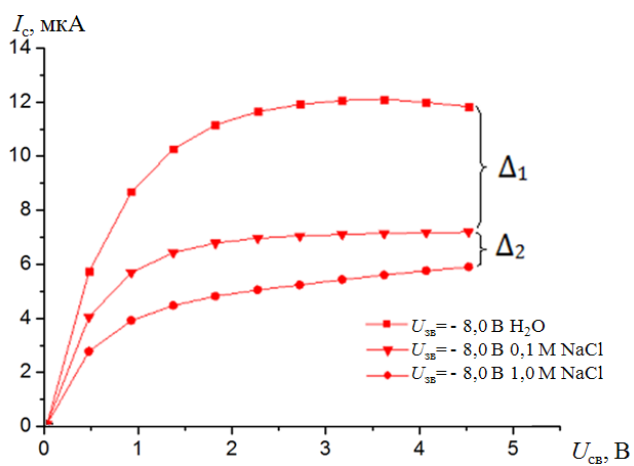


Рис.2.11. ВАХ сенсора NaCl для різних концентрацій та різних напруг зміщення ІСПТ.



а)



б)

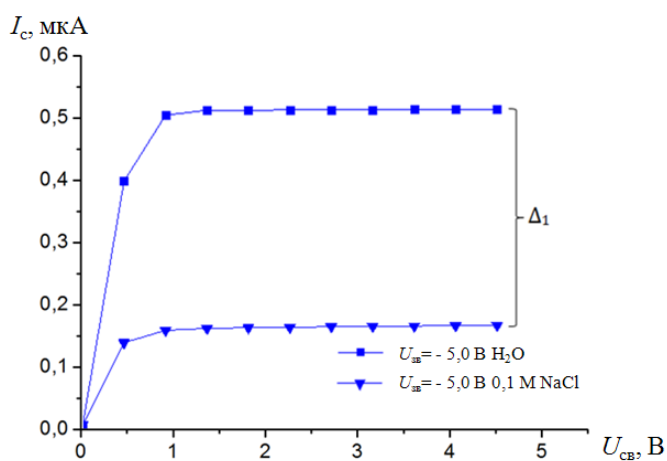


Рис.2.12. Зміна відгуку сенсора NaCl у порівнянні з водою для різних напруг зміщення: а) -9,5 В, б) -8 В, с) -5В.

Зміна струму сенсора для $U_{зв} = -9,5$ В:

$$\Delta_1 = \frac{\Delta I_c}{I_c} = \frac{I_c(\text{H}_2\text{O}) - I_c(0,1\text{MNaCl})}{(I_c(\text{H}_2\text{O}) + I_c(0,1\text{MNaCl})) / 2} = 0,35 \text{ або } 35\% \quad (2.19)$$

$$\Delta_2 = \frac{\Delta I_c}{I_c} = \frac{I_c(0,1\text{MNaCl}) - I_c(1\text{MNaCl})}{(I_c(0,1\text{MNaCl}) + I_c(1\text{MNaCl})) / 2} = 0,34 \text{ або } 34\%$$

Зміна струму сенсора для $U_{зв} = -8,0$ В:

$$\Delta_1 = \frac{\Delta I_c}{I_c} = \frac{I_c(\text{H}_2\text{O}) - I_c(0,1\text{MNaCl})}{(I_c(\text{H}_2\text{O}) + I_c(0,1\text{MNaCl})) / 2} = 0,52 \text{ або } 52\% \quad (2.20)$$

$$\Delta_2 = \frac{\Delta I_c}{I_c} = \frac{I_c(0,1\text{MNaCl}) - I_c(1\text{MNaCl})}{(I_c(0,1\text{MNaCl}) + I_c(1\text{MNaCl})) / 2} = 0,2 \text{ або } 20\%$$

Зміна струму сенсора для $U_{зв} = -5,0$ В:

$$\Delta_1 = \frac{\Delta I_c}{I_c} = \frac{I_c(\text{H}_2\text{O}) - I_c(0,1\text{MNaCl})}{(I_c(\text{H}_2\text{O}) + I_c(0,1\text{MNaCl})) / 2} = 1,03 \text{ або } 103\% \quad (2.21)$$

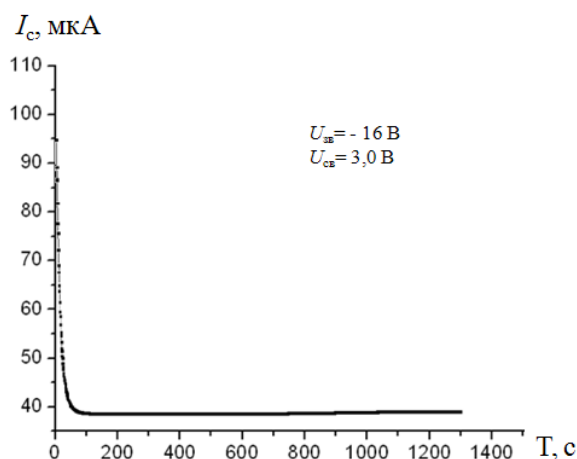


Рис. 2.13. Часові залежності відгуку сенсора на детектування H_2O .

Оскільки досліджувана речовина багатоконпонентна, то для проходження хімічної реакції на робочій поверхні необхідний певний час – час стабілізації, котрий становить близько $25 \div 30$ с (рис.2.13).

2.7. Висновки до розділу 2

У результаті проведених досліджень, можна зробити наступні висновки:

1. Обґрунтовано та досліджено вибір діоксиду церію у якості підзатворного діелектрика для виготовлення біосенсора на основі *p*-канального МДН транзистора.
2. Наведено результати аналізу чутливості рН-сенсорів на основі CeO_2 та SiO_2 та аргументовано переваги використання CeO_2 для біологічних та хімічних застосувань. Як результат, досягнуто чутливість на рівні 58,9 мВ/рН, що є дуже близьким до максимально можливої – Нернстівської чутливості (59 мВ/рН) для структур «напівпровідник-діелектрик-рідина».
3. Удосконалено метод аналізу рН фізіологічних розчинів на на базі *p*-канального іон-селективного польового транзистора з шаром підзатворного діелектрика CeO_2 , використовуючи мікропотокову систему, що забезпечує постійний об'єм досліджуваного розчину та виключає його зменшення внаслідок випаровування.
4. Експериментально встановлено, що удосконалена методика та запропонована структура рН-сенсора забезпечує практично стабільні результати, відхилення вимірювань складає менше 1 % (~0,35%), що майже не впливає на результати досліджень хімічних чи органічних сполук.
5. Отримані результати чутливості сенсорів рН на основі діоксиду церію показують їх перспективи щодо використання для визначення рівня рН крові у поєднанні з проведенням інших аналізів крові.
6. Вперше запропоновано застосування сенсорної структури ІСПТ на основі CeO_2 для моніторингу стану забруднення морської води та рівня NaCl – основного компоненту фізіологічного розчину.

3. СЕНСОРИ НА ОСНОВІ КРЕМНІЄВИХ СТРУКТУР ДЛЯ БІОМЕДИЧНИХ ЗАСТОСУВАНЬ

3.1. Методи аналізу перекису водню

Перекис водню є дуже важливим аналітом виходячи з багатьох сфер використання: при виготовленні продуктів харчування, для детоксикації органічних забрудників, у текстильній та паперовій галузях для знебарвлення сировини, у клінічних лабораторіях та медичних діагностиках як антисептична та дезінфікуюча речовина, для фармакологічних досліджень, для аналізу стану навколишнього середовища та інші. Перекис водню виробляється у невеликій кількості у біологічних системах чітко визначеним, контрольованим шляхом, що впливає на стан клітин. У процесі захворювання людини може виникати неконтрольоване утворення пероксиду водню. При вищих концентраціях запальні клітини додатково локально виробляють певну кількість цього окислювача, щоб убити збудників. По-друге, H_2O_2 бере участь у кількох біологічних процесах і міжклітинному транспорті та є продуктом каталізу оксидаз, таких як глюкозооксидаза, холестеролоксидаза, глутаматоксидаза, алкогольоксидаза, лактатооксидаза та інші, а також є субстратом для ферменту хрінпероксидази. Тобто за рівнем перекису водню оцінюють ферментативну активність. По-третє, як потужний окислювач, H_2O_2 може бути використаний у багатьох реакціях синтезу органічних сполук. Контроль рівня перекису водню у біологічних зразках є важливим, його надлишок у клітинних мембранах та біомолекулах може їх руйнувати, а його надмірна кількість є навіть отруйною для організму та викликає різні захворювання, однак, його вимірювання у режимі реального часу при низькій концентрації все ще є непростим завданням.

Надійне, точне, швидке та ефективне детектування перекису водню є практично важливим та досліджується досить широко [87].

Існують різні методи та способи визначення H_2O_2 , які можна розділити на дві великі групи: електрохімічні [88] та сенсори на основі МДН-транзисторів [89].

Основним недоліком всіх стандартних методів дослідження перекису водню можна вважати участь людини, що у переважній більшості призводить до наявності суб'єктивної похибки.

Тому останнім часом все більшого розвитку та впровадження набувають автоматизовані засоби аналізу. Для промислового застосування важливими критеріями конкурентоспроможності таких аналізаторів є вартість їх виготовлення і обслуговування, селективність до визначеного компонента, час і точність аналізу. Існуючі на даний час засоби контролю рівня перекису водню мають різні недоліки: складну конструкцію, високу вартість, потребують додаткових реагентів, що ускладнюють їх застосування у промислових об'ємах.

З розвитком нанотехнологій унікальні властивості наночастинок металів (оптичні, електричні, термічні та каталітичні) привертають значну увагу та відіграють важливу роль для каталізу, для виготовлення наносенсорів, для біомедицини та мікроелектроніки [90].

Використання наночастинок благородних металів у структурі сенсора значно покращує його властивості завдяки великому співвідношенню площі поверхні до об'єму, високій електропровідності, біосумісності, хорошим каталітичними властивостям та реакційній взаємодії з поверхнею.

Варто зазначити, що на сьогоднішній день відомо багато наукових праць та досліджень з використання наноматеріалів для виготовлення сенсорів H_2O_2 [91, 92]. Для іммобілізації білків також використовують різноманітні матеріали, включаючи наноматеріали [87], поверхнево-активні речовини [93], біоматеріали, такі як ДНК [94], целюлоза [95] та інші.

У розвитку сучасних технологій з виготовлення сенсорів усе більшу роль відіграють платина, срібло та золото. Вибір металу визначається досліджуваною речовиною та типом сенсора. Як вже було показано, серед оксидів діоксид церію (CeO_2) є одним з перспективних матеріалів для виготовлення не лише сенсорів перекису водню, а й біосенсорів загалом. Його перевага серед інших оксидів полягає в таких властивостях: хороша біосумісність, висока хімічна стабільність та електропровідність [96].

Окрім залучення можливостей нанотехнологій на сьогоднішній день неабияка увага приділяється виготовленню пористих структур електродів для використання у якості каталізаторів, хімічних сенсорів та наноелектронних приладів. Основною перспективною характеристикою таких пористих електродів в аналітичній області можна відзначити високе співвідношення площі поверхні до об'єму, що сприяє високій взаємодії з зовнішніми реагентами та забезпечує високу провідність й взаємозв'язок пор між собою. Структури з макропорами можуть бути спеціально оброблені різними біомолекулами для використання у якості біосенсорів [97]. Оскільки наночастинки Pt являються каталізатором H_2O_2 та є неактивними з кремнієвою підкладкою, тому вони були вибрані для розроблення і виготовлення сенсора.

3.2. Моделювання польових структур для біосенсорів з системами квантових точок

Питання підвищення чутливості оксидного шару польової структури, який реагує на наявність досліджуваного біологічного матеріалу (ферменту, ДНК, бактерії тощо) та генерує сигнал, який функціонально пов'язаний з його концентрацією, залишається відкритим та актуальним. Тому подальші дослідження та удосконалення сенсорної структури були зосереджені на моделюванні структури сенсора з використанням нульвимірних наноб'єктів, а саме, квантових точок, сформованих у приповерхневому об'ємі діелектрика. На чутливість напівпровідникового сенсора, виготовленого на основі польової структури, у більшості випадків впливають такі фактори: ступінь чистоти напівпровідника, напруга між підкладкою та витокком, геометричні розміри структури, матеріали, технологія виготовлення, рухливість носіїв заряду. З урахуванням цих факторів було здійснено моделювання та аналіз вихідних характеристик польової кремнієвої структури з квантовими точками германію і оцінка її чутливості.

Переважає більшість модифікацій сенсорів розрізняється як за структурою, так і за типами матеріалів та розмірами чутливої області. Отримують розвиток як

мікророзмірні так і нанорозмірні структури сенсорів, які використовують низькорозмірні системи квантових точок, нанопровідників, вуглецевих нанотрубок тощо. У роботах [20, 98] запропоновано нові конструкції іон-чутливих сенсорів на основі МДН-структур p - та n -типу, відповідно, для детектування органічних молекул. Оригінальні конструкції містять два типи затворів – керуючий і затвор, розташований безпосередньо у рідині.

Для підвищення чутливості сенсора конструкція може мати дві чутливі поверхні [99] на протилежних від p -Si каналу транзистора сторонах та чотири затвори. При цьому довжина каналу біосенсора складає 800 нм.

Інший підхід щодо підвищення чутливості передбачає використання на активній поверхні біосенсора чутливої органічної плівки. Практична конструкція реалізована на структурі з довжиною каналу 50 нм і з співвідношенням довжини до ширини 900 [100]. Цікавою є також реалізація конструкції біосенсора, яка дозволяє детектувати біомолекули як у рідині, так і у газах [101].

Застосування вбудованих у приповерхневий провідний шар польової структури квантових точок пов'язано, у першу чергу, з їх впливом на фононні механізми розсіювання носіїв заряду [102].

Оцінку характеристик сенсорної структури на основі МДН-транзистора можна провести з використанням аналітичної моделі транзистора [103], доповненої апроксимаціями рухливості носіїв заряду з урахуванням впливу фононних механізмів розсіювання внаслідок вбудовування системи квантових точок (КТ). Прикладом розрахунку вихідних характеристик для МДН-структури може служити аналітична модель:

$$I_D = \begin{cases} \frac{K_1 K_B}{\sqrt{L^*}} \cdot f(U_B), & U_B < U_{\text{нас}}; \\ \frac{K_1 K_B}{\sqrt{L^*}} \cdot f(U_{\text{нас}}), & U_B \geq U_{\text{нас}}, \end{cases} \quad (3.1)$$

$$K_B = 0,5 \cdot \left[2 + \left(\sqrt{1 + \frac{2eL}{m\mu_0^2 E_k}} \right) \cdot \exp\left(-\frac{L}{L_{\text{cp}}}\right) \right]; \quad (3.2)$$

$$f(U) = \left[\begin{aligned} & \frac{U^3}{3} - \frac{8}{15} K_3 (U + K_4)^{5/2} + \frac{4}{3} K_3 (U + K_4)^{3/2} (U - K_2) \\ & + \left(\frac{K_3^2}{2} - K_2 \right) U^2 + (K_2^2 + K_3^2 K_4) U \\ & + \frac{4}{3} K_2 K_3 K_4^{3/2} + \frac{8}{15} K_2 K_4^{5/2} \end{aligned} \right]^{1/2}; \quad (3.3)$$

$$L^* = L - \sqrt[3]{\frac{12 \varepsilon \varepsilon_0}{e N^*} \cdot U_{\text{св}}}; \quad (3.4)$$

$$K_1 = \mu W C_0 \sqrt{E_{\text{к}}} \quad (3.5)$$

$$K_2 = U_3 - \varphi_{\text{мн}} - 2\varphi_{\text{ф}} + Q / C_0 \quad (3.6)$$

$$K_3 = \sqrt{2e N \varepsilon \varepsilon_0} / C_0 \quad (3.7)$$

$$K_4 = 2\varphi_{\text{ф}} - U_6, \quad (3.8)$$

де L , W – довжина і ширина каналу; m – маса електрона; $L_{\text{ср}}$ – середньостатистична довжина балістичного прольоту електрона; C_0 , Q – питомі ємність і заряд діелектрика; e – заряд електрона; ε – діелектрична проникність напівпровідника; ε_0 – електрична стала; $U_{\text{с}}$, U_3 , U_6 – напруги стоку, затвора відносно витоку; $U_{\text{нас}}$ – напруга насичення; N – концентрація домішки в області підкладки; μ – рухливість вільних носіїв при нульовій напруженості електричного поля; $E_{\text{к}}$ – критична напруженість електричного поля; T – температура; $\varphi_{\text{мн}}$ – контактна різниця потенціалів метал-напівпровідник; $\varphi_{\text{ф}}$ – різниця між рівнем Фермі та серединою забороненої зони; $K_{\text{в}}$ – коефіцієнт, для врахування впливу балістичного прольоту. Найбільш системно аналіз апроксимацій рухливості носіїв заряду в залежності від напруженості електричного поля, концентрації домішок, температури кристалічної ґратки наведено у роботі [104]. Рухливість носіїв у каналі МДН-транзистора, як правило, визначається фононними механізмами розсіювання, розсіюванням на заряджених центрах і розсіюванням на границях. Найбільш суттєвим є фононне розсіювання.

В аналітичній дифузійно-дрейфовій моделі для врахування впливу фононних механізмів розсіювання може бути використана модель рухливості:

$$\mu = \frac{\mu_0}{1 + (E/E_{\text{нас}})^\alpha}, \quad (3.9)$$

де $E_{\text{нас}}$ – напруженість електричного поля у режимі насичення, α – коефіцієнт для врахування ступеня фононного розсіювання (приймає значення у межах $1,2 \div 1,8$), а також модель, яка окрім залежності від електричного поля, враховує концентрацію домішок [105]:

$$\mu = 10^{-4} \times \left(65 + \frac{1265}{1 + \left(\frac{N}{8,5 \cdot 10^{16}} \right)^{0,72}} \times \left(\frac{1}{1 + \left| \frac{E}{8 \cdot 10^9} \right|^2} \right)^{1/2} \right), \quad (\text{м}^2/(\text{В} \cdot \text{с})) \quad (3.10)$$

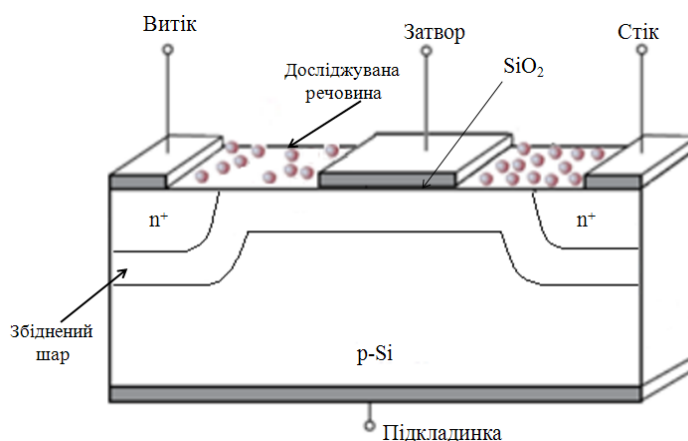


Рис. 3.1. Топологія біосенсора на основі МДН-транзистора

Топологію МДН-транзистора з p -Si підкладинкою з індукованим каналом для розрахунків наведено на рис.3.1.

Вплив на дрейфову швидкість носіїв заряду можна розрахувати за формулами (3.9) і (3.10) за відомих значень рухливості як $v_{\text{др}} = \mu(E) \cdot E$.

Нижче наведено теоретичний аналіз характеристик МДН-транзистора з шаром підзатворного діелектрика SiO_2 виконаного для структури з довжиною затвору 1 мкм та шириною 50 мкм й рівнем легування домішок у підкладці 10^{23} м^{-3} та іншими

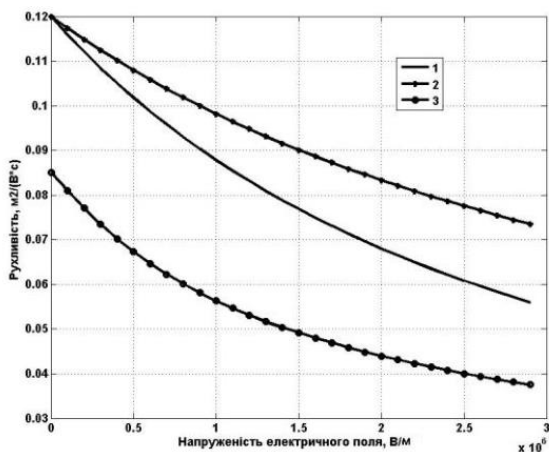
параметрами структури (табл. 3.1).

Зменшення показника α у формулі (3.9), який характеризує вплив фононного розсіювання, призводить до збільшення рухливості електронів в каналі, що, у свою чергу, обумовлює збільшення значення вихідного струму транзистора. Проведені розрахунки рухливості і дрейфової швидкості (рис.3.2) показали, що фононні механізми розсіювання суттєвим чином впливають на дрейф електронів у каналі.

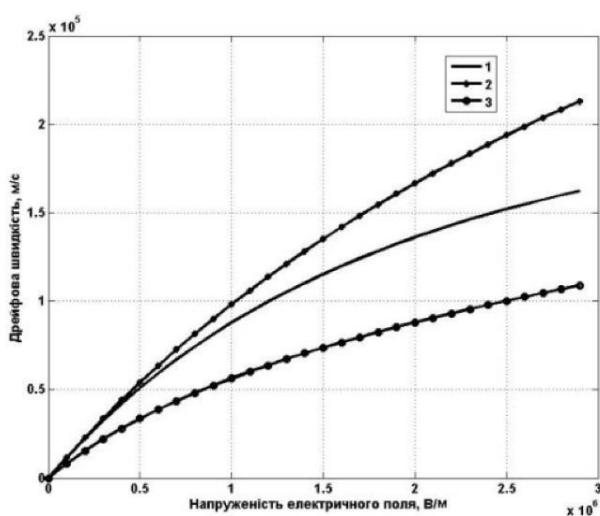
Таблиця 3.1.

Параметри структури сенсора

Параметр	Значення
L , мкм	50
W , мм	5
m , кг	$9,1 \cdot 10^{-31}$
$L_{\text{ср}}$, м	$1 \cdot 10^{-7}$
C_0 , Ф	$1 \cdot 10^{-1}$
Q , Кл	$1 \cdot 10^{-5}$
E , В/м	$1,6 \cdot 10^{-19}$
ϵ_0 , Ф/м	$8,85 \cdot 10^{-12}$
$U_{\text{св}}$, В	4
$U_{\text{зв}}$, В	-18
$U_{\text{нас}}$, В	5
$E_{\text{нас}}$, В/м	$4 \cdot 10^6$
N , м ⁻³	10^{23}
μ , м ² /(В*с)	0,15
$E_{\text{к}}$, В/м	$3 \cdot 10^6$
$\varphi_{\text{мн}}$, В	0
$\varphi_{\text{ф}}$, В	0,5
$K_{\text{в}}$	1
A	1,2-1,8



а)



б)

Рис.3.2. Вплив на рухливість носіїв заряду (а) і дрейфову швидкість (б) показника фононного розсіювання у каналі структури: криві 1, 2 – розраховано за формулою (3.9) зі значенням α відповідно 1,8 і 1,2, а крива 3 – за формулою (3.10).

Структура, подібна сенсору рис.3.1, але з системою квантових точок (Ge), вбудованих у міжелектродному проміжку витік-стік, зображена на рис.3.3. За результатами моделювання встановлено, що вольт-амперні характеристики для структур за відсутності КТ та за їх наявності суттєво відрізняються. Дослідження проведено для біомолекул сироватки бичачого альбуміну (СБА) (рис.3.4), у результаті адсорбції якого, на поверхні може акумулюватися максимальний питомий заряд 5×10^{-2} Кл/см². Відгук сенсора з КТ виявляється більшим, а ніж за їх відсутності, а чутливість такого сенсора складає для структури з КТ 0,1 мкА/В, а без

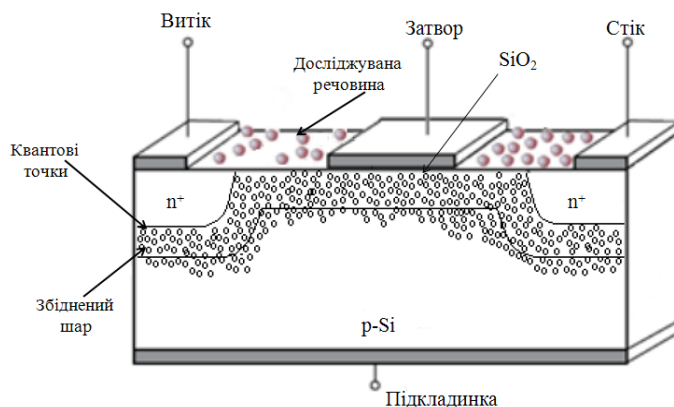
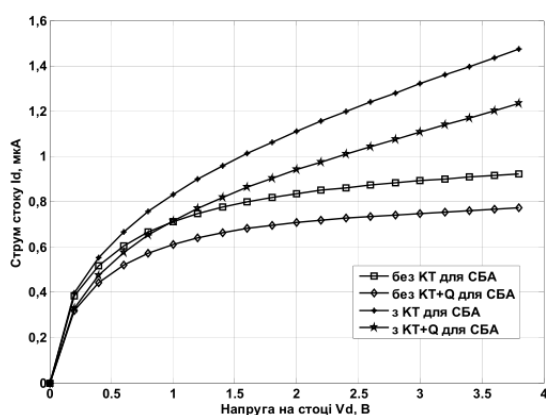
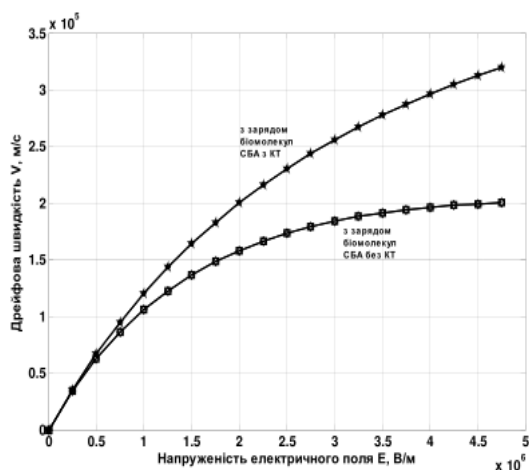


Рис. 3.3. Структура сенсора на основі МДН-транзистора з вбудованими КТ для моделювання.



а)



б)

Рис.3.4. Вольт-амперні характеристики (а) та залежності дрейфової швидкості (б) для сенсора з КТ та без КТ з урахуванням впливу заряду досліджуваної речовини.

КТ – 0,05 мкА/В.

Верифікацію аналітичної моделі було проведено для експериментальної

структури сенсора з підзатворним діелектриком CeO_2 . Як зазначалося раніше, оксид церію у порівнянні з SiO_2 має ряд переваг, що забезпечує його перспективне використання. Результати моделювання представлено на рис.3.5.

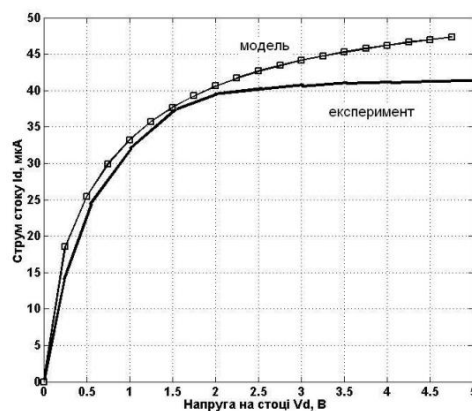


Рис. 3.5. Порівняння результатів моделювання сенсора на основі CeO_2 з експериментальною характеристикою.

З отриманих результатів моделювання можна зробити висновки, що така модель дозволяє теоретично оцінити вплив КТ, детально не враховуючи всі фізичні процеси. Більш детальне дослідження та врахування всіх процесів потребує застосування дво- і тривимірних моделей з самоузгодженим розв'язком рівнянь щодо дрейфу і енергетичних характеристик електронів з квантовими ефектами (для КТ) і рівняння Пуассона-Больцмана для моделювання процесів на поверхні сенсора. Така математична модель може бути використана для аналізу характеристик і оптимізації параметрів широкого спектру біосенсорів на основі польових структур [106]. Для оцінки практичного впливу КТ надалі запропоновано дослідити вплив наночастинок на чутливість сенсорної структури, які осаджено на чутливій поверхні сенсора. Наночастинки при цьому осаджені з тильної сторони МДН-структури для дослідження їх впливу на детектування перекису водню.

3.3. Сенсор перекису водню на основі МДН-транзистора з пористим кремнієм

Використання перекису водню у багатьох технологічних процесах медицини та сільського господарства пояснюється його відновними властивостями. Дисоціація

H_2O_2 у водних розчинах відбувається мимоволі. Швидкість протікання такої реакції може бути змінена, використовуючи різноманітні каталізатори. Також на процес дисоціації впливає рН середовища та стан активної поверхні. У живих клітинах вивільнення перекису водню відбувається під впливом ферментів каталази та пероксидази. Причиною використання саме наночастинок, обумовлено тим, що атоми наночастинок, після осадження на поверхні мають малу кількість завершених зв'язків, порівняно з атомами у твердому тілі, що у свою чергу призводить до збільшення каталітичної, хімічної активності наноб'єктів. Також у наночастинках сили лінійного та поверхневого натягів проявляються набагато сильніше, оскільки ці сили значно слабшають при віддаленні від поверхні у об'ємі твердого тіла. Їх величина призводить до очищення об'єму наночастинок від дефектів кристалічної структури. Тому наночастинки мають досконалішу кристалічну структуру.

Сенсори на основі МДН-структур є селективними за умови використання спеціального додаткового селективного шару. Пористий шар збільшує активну область, саме тому він використовувався як робоча поверхня сенсора на основі МДН-структур. Пористий кремній перспективний матеріал для багатьох сфер застосувань [107], у тому числі для цільової доставки ліків [108]. Процес його виготовлення відносно простий та дозволяє контролювати розмір необхідних пор. До того ж він легко поєднується з традиційною технологією обробки кремнію.

Сама структура пористого кремнію містить значний відсоток атомів водню. Раніше пористий кремній використовували для виготовлення рН-сенсорів на основі ІСПТ [109]. Чутливість такого сенсора у діапазоні рН 4÷9 була 300 мВ/рН, що значно вище максимального теоретичного значення чутливості Нерста (59мВ/рН). Також потенціометричний метод на основі пористого кремнію використовується для ферментних біосенсорів з чутливістю 30 мВ/рН для значень рН у діапазоні 4÷8 [110].

Виходячи з вищезазначених особливостей, з метою покращення можливостей детектування H_2O_2 традиційну МДН-структуру доповнено пористим кремнієм та металевими наночастинками.

3.3.1. Структура сенсора перекису водню на базі МДН-транзистора з активною областю зі сторони підкладинки

Для виготовлення такого сенсора у якості базового був обраний звичайний МДН-транзистор. Після формування пористого кремнію на тильній стороні та додавання наночастинок каталізатора така структура стає більш чутливою до H_2O_2 . У стандартних сенсорах на основі ІСПТ його чутливість визначається безпосередньо чутливістю селективної мембрани. Для досягнення значення чутливості більшого, ніж теоретичний максимум рН-чутливості (59 мВ/рН), запропоновано кілька способів. Один з них дозволив отримати чутливість 130 мВ/рН [111] шляхом збільшення чутливої області в ІСПТ. Пориста структура чутливої мембрани також підвищує чутливість до рН до 300 мВ/рН [109]. Пористий кремній з наночастинками Pt є перспективним матеріалом для виготовлення сенсорів рН зі стабільною продуктивністю у широкому діапазоні рН, на відміну від використання наночастинок ZnO, оксиду титану, вольфраму, які руйнуються при певних значеннях рН [112].

Запропонований сенсор виготовлено на основі польового транзистора з *p*-каналом (рис. 3.6). Транзистор безпосередньо було виготовлено на кремнієвій пластині, легованій фосфором (*n*-тип) з опором 4,5 Ом/□, орієнтацією (111), товщиною 450 мкм.

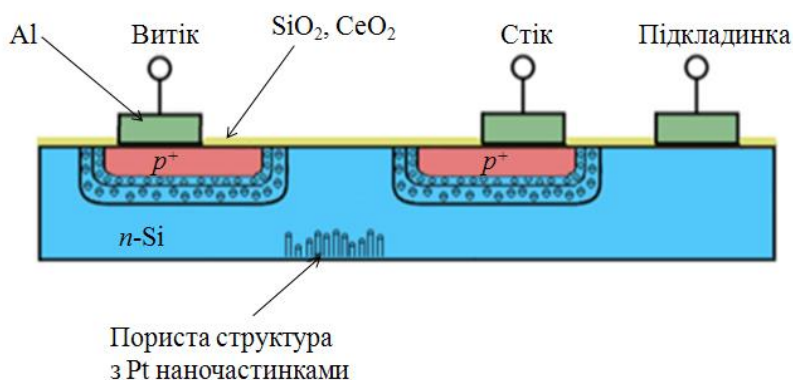


Рис. 3.6. Структура сенсора з пористим кремнієм в області підкладинки.

У якості підзатворного діелектрика використано комплекс «SiO₂–CeO₂» ($d_{\text{SiO}_2}=10$ нм, $d_{\text{CeO}_2}=50$ нм), який отримано термічним окисленням при $T=400^\circ\text{C}$ та методом «окислення металевого дзеркала», відповідно. Омичні контакти були виготовлені з Al [113]. Гранична товщина підзатворного діелектрика при виготовленні транзисторів склала $1,5\div 2$ нм. Запропонована товщина підзатворного оксиду знаходиться ще далеко від критично допустимого значення [114].

3.3.2. Формування Pt наночастинок

Науковому світу відомі різні методики отримання наночастинок. Проте найпоширенішою методикою є диспергування, тобто роздрібнення [115]. Для зниження поверхневого натягу, а, отже, й повторного їх злиття використовують спеціальні середовища у вигляді поверхнево-активних речовин. З використанням цього методу можливо отримати порошки з розміром частинок у десятки нанометрів.

До поширених методів отримання наночастинок також відноситься випаровування твердої речовини з наступною конденсацією [116]. Цей спосіб дозволяє отримати порошки з розміром частинок $3\div 5$ нм. Крім цих методів існує метод розплавлення речовини у потоці охолодженого газу N₂, Ar або ж рідини (спирт, ацетон, вода). Це дозволяє отримати частинки розміром близько 100 нм [117].

Проте за допомогою хімічного відновлення іонів PtCl₆²⁻ аскорбіновою кислотою у дисертаційній роботі були отримані квазісферичні наночастинки платини з середнім діаметром 26 нм (рис.3.7.).

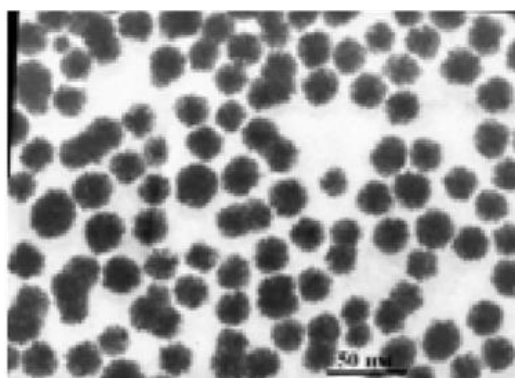


Рис. 3.7. SEM зображення наночастинок Pt (JEM 2000FXII) [119].

Для визначення хімічного складу синтезованих частинок проводився рентгенівський енергетично-дисперсійний аналіз (РЕД, XRED - analysis) – за допомогою аналізатора AN 10000/95S. Після аналізу цих спектрів програмою RTS2/FLS та порівняння їх зі стандартним набором спектрів елементів було встановлено характерні для кремнію та платини спектри (рис.3.8).

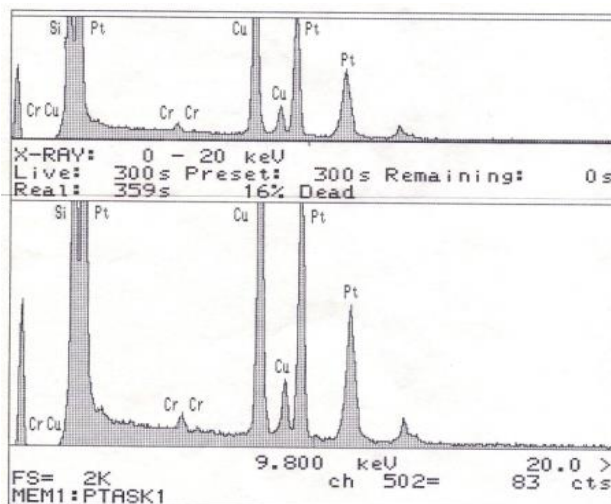
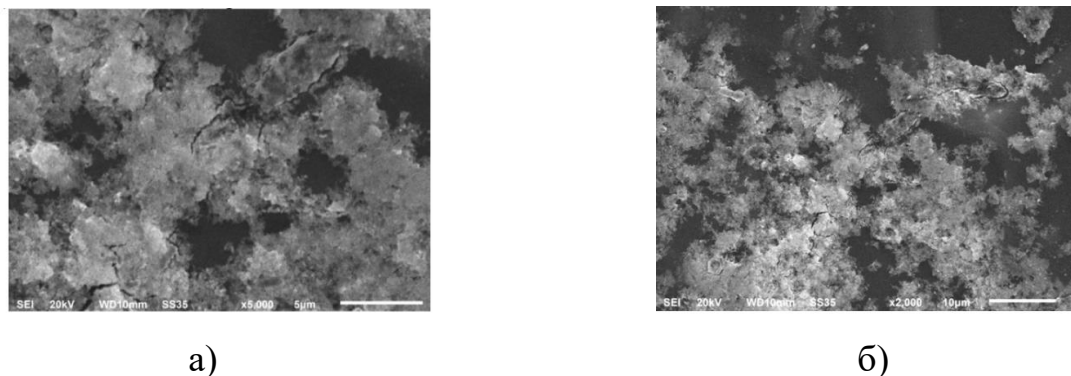


Рис. 3.8. Спектрограма РЕД-аналізу наночастинок платини [118].

З отриманого колоїдного розчину наночастинок Pt наноситься необхідна їх кількість на поверхню МДН-транзистора та формується пориста структура методом метал-стимульованого хімічного травлення з осадженими у порах наночастинками.

3.3.3. Хімічне травлення з використанням металів

Пориста структура з осадженими у порах наночастинками формувалася у два етапи методом метал-стимульованого хімічного травлення [120]. Спочатку висаджувались металеві наночастинки на поверхню кремнію шляхом нанесення дозованої краплі розчину наночастинок. Після чого виконувалося метал-стимульоване травлення кремнію у розчині 5М HF + 0,3М H₂O₂ при кімнатній температурі. Пори утворювалися безпосередньо під наночастинками у напрямку (111) (рис. 3.9) [119].



а)

б)

Рис. 3.9. СЕМ зображення активної поверхні з пористим кремнієм та Pt наночастинками з різною роздільною здатністю: а) 2000, б) 5000 (JEOL, JEM 2100 HR, Le-Mans, France) [118].

Тривимірне зображення робочої поверхні запропонованого сенсора з наночастинками каталізатора зображено на рис. 3.10.

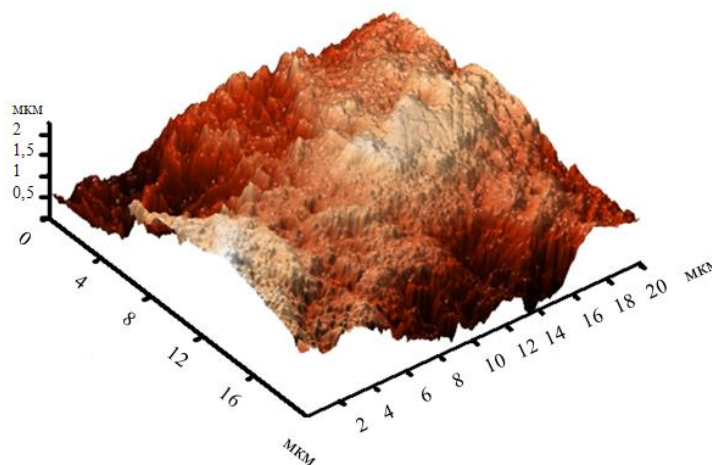


Рис.3.10. Тривимірне зображення активної області сенсора з пористим кремнієм та Pt наночастинками (SOLVER Nano) [111].

Для оцінки ефективності та доцільності використання такої структури сенсора було проведено порівняння чутливості пористої структури з наночастинками Pt та без модифікації тильної сторони.

Пориста структура кремнію на тильній стороні МДН-транзистора призводить до зміни об'ємного заряду підкладинки та відповідно до суттєвих змін робочих характеристик (рис.3.11), та вихідних ВАХ (рис.3.12).

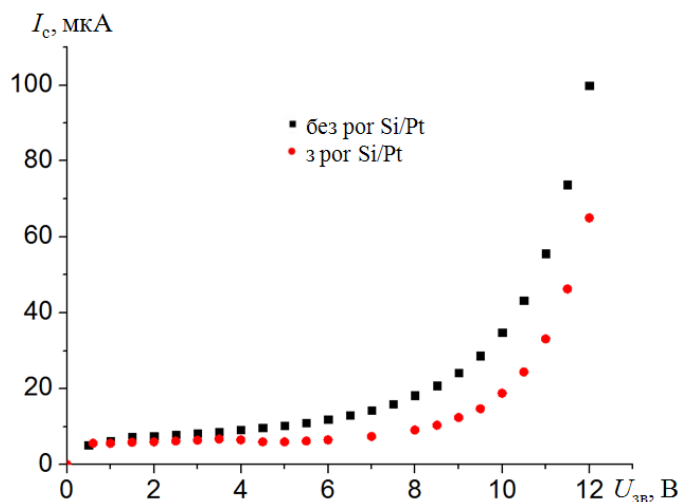


Рис. 3.11. Робочі характеристики МДН-структур з пористим кремнієм з наночастинками Pt та без активної області.

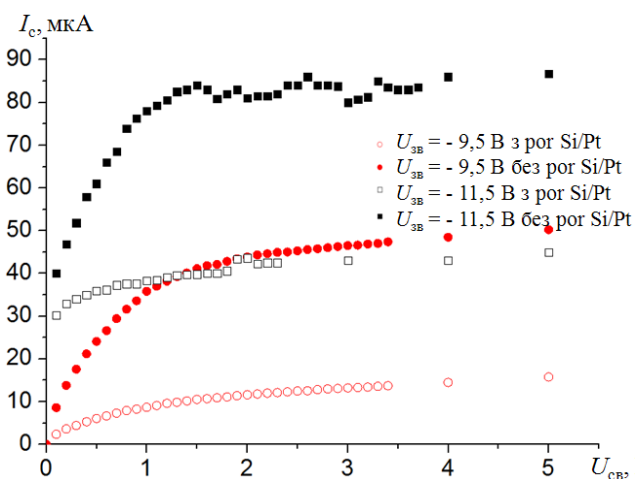


Рис.3.12. ВАХ МДН-структур з пористим кремнієм та без нього.

Струм стоку для МДН з пористою структурою з наночастинками каталізатора нижчий та більш стабільний (рис.3.12), ніж без наночастинок. Це пояснюється накопиченням негативного заряду у порах, завдяки високій концентрації зв'язуючих центрів.

3.3.4. Концентраційні залежності для досліджуваних сенсорів H_2O_2

Тестування запропонованих структур сенсорів було здійснено для концентрацій H_2O_2 у діапазоні 0÷3%, оскільки для медичних застосувань важливим

є детектування малих його значень. Сенсор з пористим кремнієм і платиновими наночастинками показав більш стабільну і чітко визначену залежність вихідного струму від концентрації перекису водню (рис.3.13). Робочими параметрами для запропонованих сенсорних структур є $U_{\text{св}}=3\div 5\text{В}$, $U_{\text{зв}}=-11,5\text{В}$.

Залежність нормованого вихідного струму сенсора (на значення струму при максимальній концентрації H_2O_2) від концентрації перекису описується експоненціальною залежністю (рис.3.14). Очевидно причиною цього є насичення робочої області продуктами реакції, що буде досліджено далі. Такого негативного ефекту можна уникнути збільшивши площу поверхні затвору та чутливої поверхні.

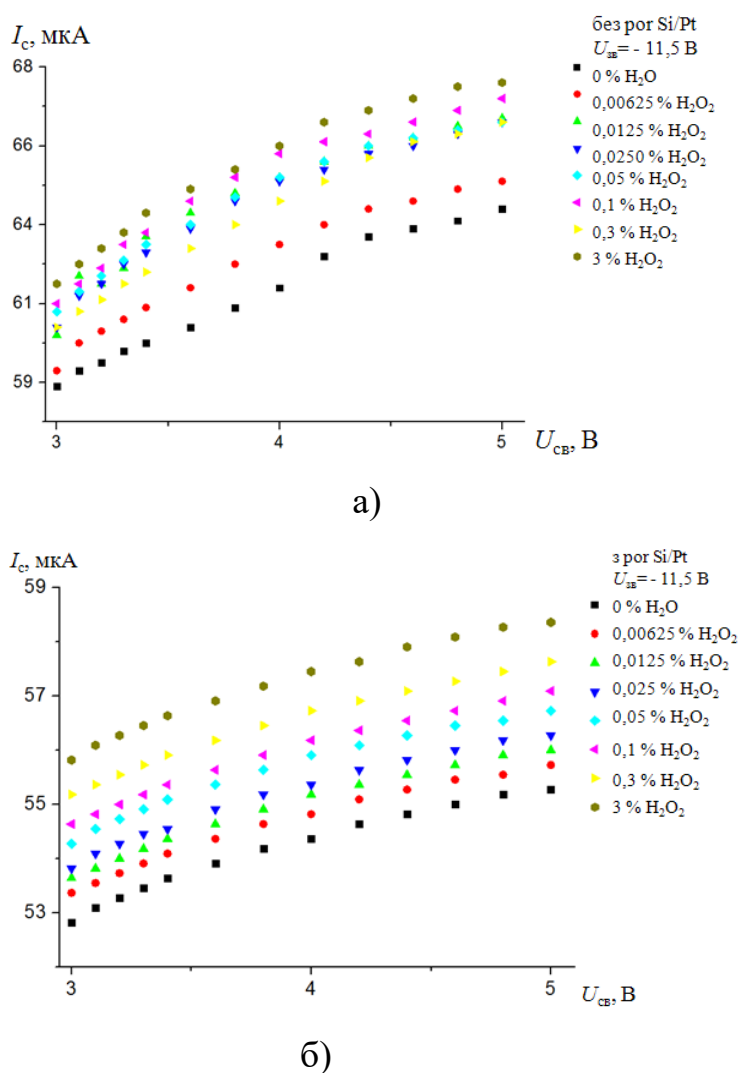


Рис.3.13. ВАХ структур для різних концентрацій H_2O_2 : а) сенсор без модифікованої області, б) сенсор з пористим кремнієм та Pt наночастинками.

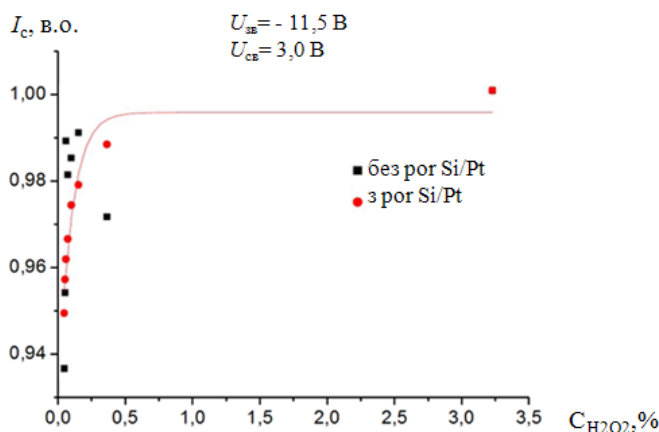


Рис.3.14. Нормована залежність струму сенсорів від концентрації H_2O_2 ($U_{\text{св}}=3\text{В}$, $U_{\text{зб}}=-11,5\text{В}$).

Результати показників чутливості для розроблених сенсорів у діапазоні малих концентрацій $0\div 0,3\%$ H_2O_2 без пористої структури складає ~ 6 мкА/%, а для структури з пористим кремнієм та Pt наночастинками $\sim 8,3$ мкА/%. А чутливість сенсорів для всього досліджуваного діапазону концентрацій перекису водню складає ~ 103 мкА/% та ~ 135 мкА/%, відповідно.

Дослідження впливу температури на коректність отриманих результатів сенсора підтверджує необхідність оснащення його датчиком температури, оскільки температурний коефіцієнт складає ~ 3 мкА/°C. При розпаді однієї проби перекису (1,2 г) виділяється 0,3 мДж теплоти, а для зміни температури самого сенсора на 1°C необхідно 0,2 Дж енергії (рис.3.15).

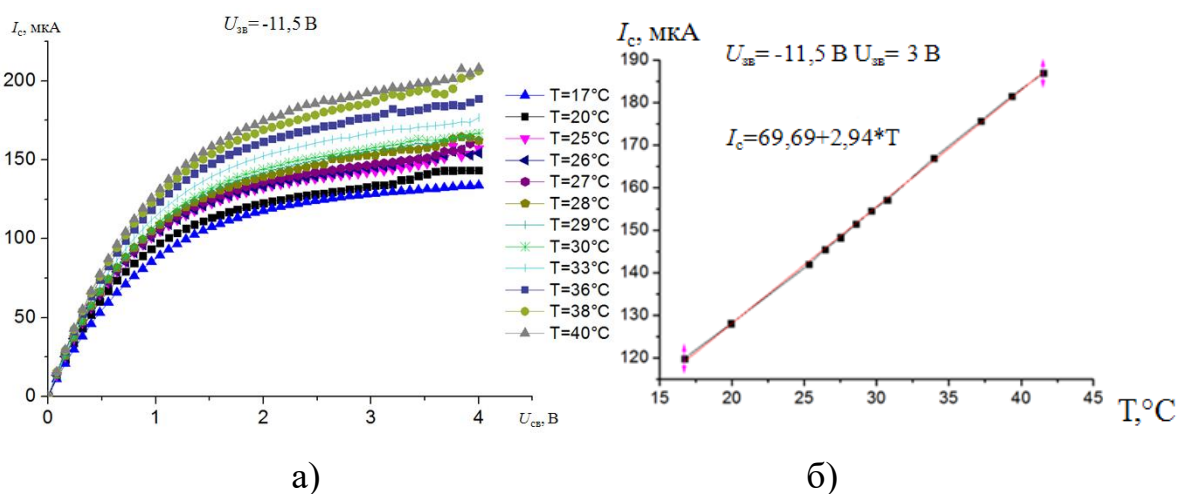


Рис. 3.15. ВАХ сенсора з активною тильною стороною при різних температурах (а) та залежність струму стоку від температури (б) [116].

3.3.5. Часові залежності для досліджуваних сенсорних зразків

Для оцінки часу відгуку сенсора достатньо проаналізувати його часові залежності (рис.3.16). Оскільки сенсорна структура з Pt наночастинками є каталізатором H_2O_2 , то такий сенсор з пористим кремнієм проявляє швидшу реакцію (час відгуку менше 2 хв.), а для структури без модифікованої області стабільність результату не досягається навіть після 8 хв. спостереження.

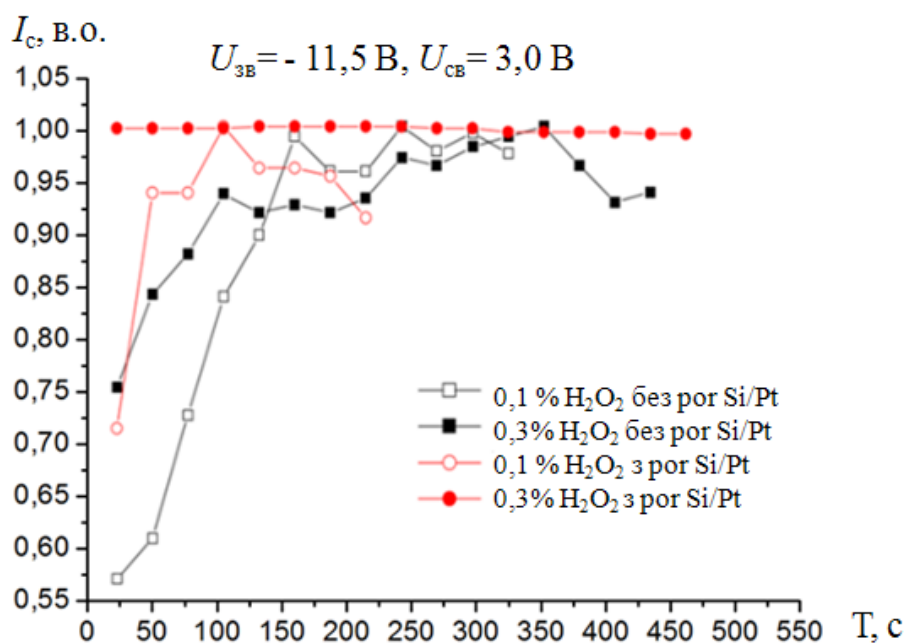


Рис.3.16. Нормовані часові залежності вихідного струму сенсорів при різних концентраціях H_2O_2 : $U_{\text{св}} = 3 \text{ В}$, $U_{\text{зв}} = -11,5 \text{ В}$.

Окрім використання пористої структури у сенсорах на основі МДН-транзисторів для детектування перекису водню, він має інші особливості, зокрема, проявляє фотолюмінесценцію при кімнатній температурі, що викликає однорідне червоно-оранжеве світло [120]. Тому для коректності роботи сенсора експеримент потрібно проводити без впливу світла. Нахил кривої (рис.3.17) залежності струму стоку від світлового потоку складає 34 мкА/лм . Отриманий результат спонукав дослідити також фототранзистор з пористою структурою як сенсор H_2O_2 .

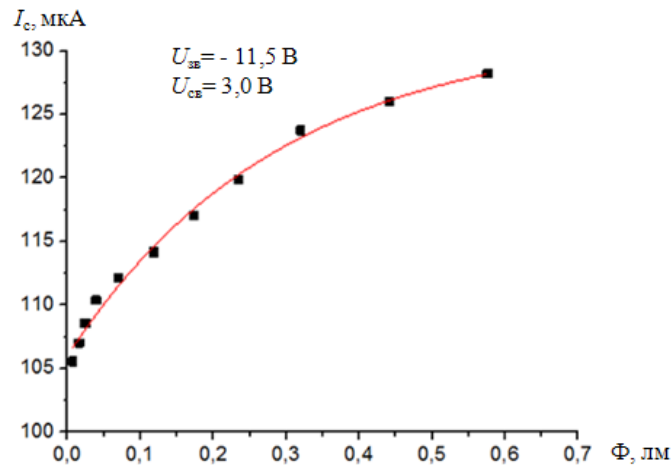


Рис. 3.17. Залежність струму стоку структури від світлового потоку.

Результат, представлений на рис. 3.17, демонструє нелінійну залежність струму стоку структури від світлового потоку.

3.4. Сенсори на основі польового транзистора та фототранзистора з металевими наночастинками та пористим кремнієм

За основу для дослідження зазначених сенсорів взято МДН-транзистор з робочою областю, сформованою на тильній стороні. Протестовано фототранзистор з чутливою тильною стороною, виготовленого з використанням аналогічної технології, що й для МДН-транзисторів, лише з видаленням підзатворного діелектрика хімічним травленням. На першому етапі наносились наночастинки срібла (Ag) на поверхню, а на наступному - при травленні утворювалися пори під цими наночастинками. Форма та густина пор залежить як від форми частинок, так і від умов травлення.

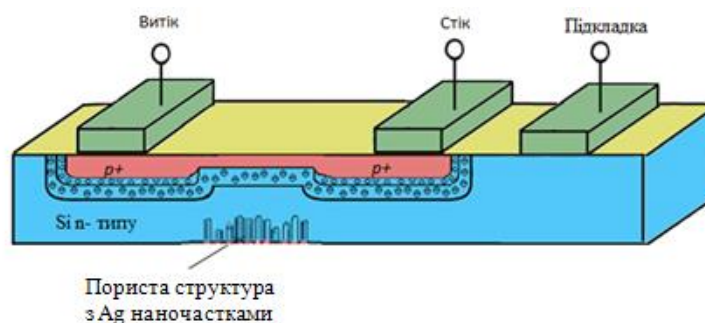


Рис. 3.18. Структура фототранзистора з Ag наночастинками.

Формування пористого кремнію на тильній стороні призводить до зміни об'ємного заряду підкладинки та впливає як на зсув робочої характеристики так і на вихідні характеристики транзистора. Струм стоку для структур з пористим кремнієм нижчий, ніж для структури без такої області (рис.3.13). Це пояснюється накопиченням негативного заряду у пористому кремнії, завдяки високій концентрації зв'язуючих центрів. Залежність струму стоку для фототранзистора від струму світлодіода практично лінійна (рис. 3.19). А характер залежності струму стоку від напруги стік-витік подібний до аналогічних характеристик для МДН-транзистора (рис. 3.20).

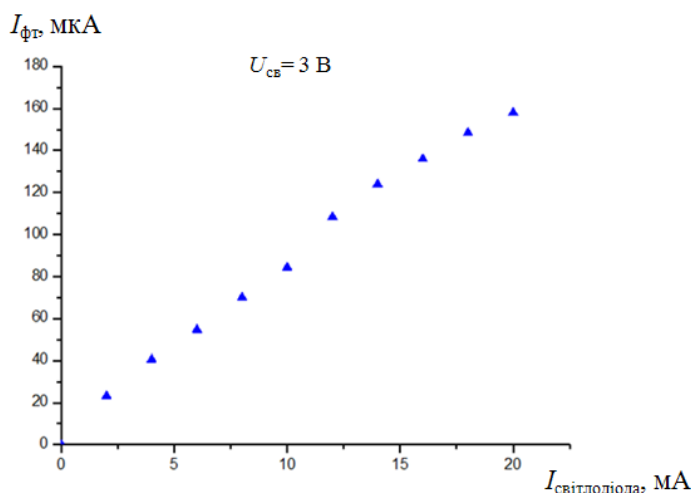


Рис. 3.19. Залежність струму стоку для фототранзистора від струму світлодіода.

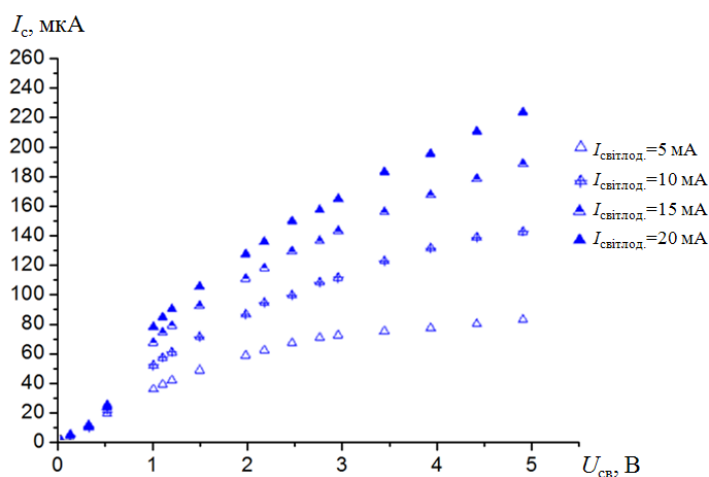


Рис.3.20. Залежність струму стоку фототранзистора від напруги стік-витік при різній інтенсивності світлодіода (різному струмі).

МДН-структура з пористим кремнієм та наночастинками Pt та фототранзистор з пористим кремнієм та наночастинками Ag показали більшу стабільність та чітко визначену залежність струму стоку від концентрації перекису водню, ніж структура без пористої області (рис.3.20, рис.3.21).

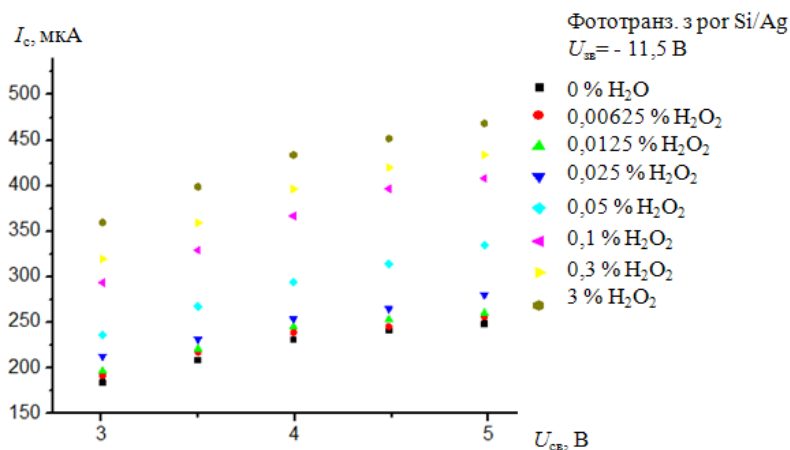


Рис.3.21. Залежність струму стоку від концентрації для фототранзистора з пористим кремнієм та наночастинками Ag.

Однак всі запропоновані сенсорні структури мають насичення струму стоку для концентрацій $0,5 \div 1\%$, а залежність струму сенсора від концентрації має експоненціальний характер. Очевидно це відбувається внаслідок насичення робочої області продуктами реакції або ж теплового ефекту при її розпаді. Для концентрацій H_2O_2 до $0,3\%$ найбільш чутливим є фототранзистор з наночастинками Ag ($574 \text{ мкА}/\%$). Сенсори за наявності наночастинок срібла та платини, каталізаторами розпаду перекису водню, мають швидшу реакцію (максимальний час відгуку менше, ніж 3 хв.), ніж сенсорна структура без наночастинок. Сенсор H_2O_2 в обох модифікаціях показує хороші робочі показники, як з активною тильною стороною, так і у вигляді фототранзистора. Існуючий МДН-транзистор з робочою тильною стороною є простішим у керуванні, але й має нижчу чутливість ($8 \text{ мкА}/\%$). У той час, як фототранзистор конструктивно простіший, але складніший у керуванні, хоча й має більшу чутливість практично до $600 \text{ мкА}/\%$. Така поведінка пористого

кремнію при детектуванні H_2O_2 вимагає детального вивчення процесу зміни провідності під дією перекису водню [121].

3.5. Зміна провідності структур «пористий кремній з наночастинками срібла - кремній» при детектуванні перекису водню

Для вивчення процесу зміни провідності пористої структури під дією перекису водню проведено дослідження найпростіших резистивних датчиків, у яких чутливою областю є шар пористого кремнію з наночастинками Ag.

Такі датчики виготовлялися з пластини КЕФ 4,5 *n*-типу орієнтації (100) та товщиною 450 мкм. Пориста структура формувалася аналогічним методом, що й для сенсорів у роботі [118] – метал-стимульованим хімічним травленням. До особливостей отриманої структури (рис. 3.22) можна віднести розвинений рельєф поверхні та наявність нанокристалітів срібла субмікронного розміру.

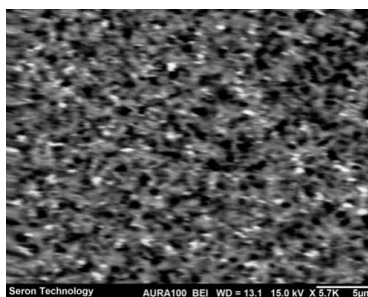


Рис. 3.22. РЕМ-зображення пористої поверхні з наночастинками срібла (РЕМ AURA 100).

Чутлива резистивна структура мала вигляд представлений на рис.3.23.

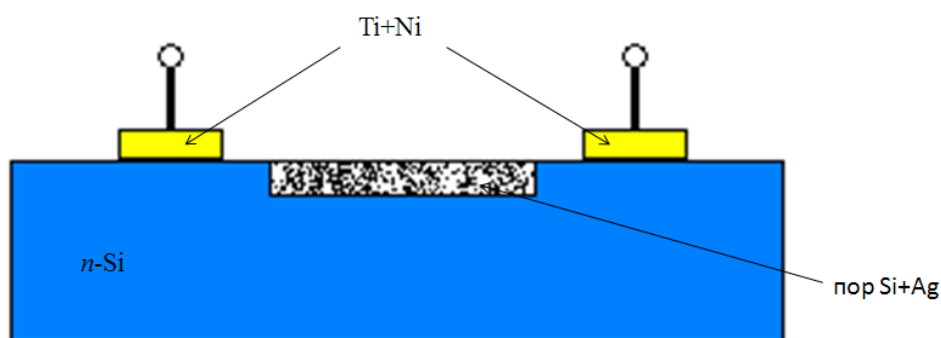


Рис. 3.23. Схематичний вигляд сенсора.

Безпосередньо перед проведенням вимірювань опір зразків складав $0,2 \div 5$ кОм. Розбіжність значень опору пов'язана з різною глибиною пористого шару. Дослідження процесу зміни провідності пористого кремнію проводилися в діапазоні концентрацій H_2O_2 $1 \div 3\%$ при кімнатній температурі.

У процесі реакції розпаду перекису водню відбувається обмін зарядами між каталізатором (Ag) та H_2O_2 . Результатом такого обміну є екстракція електронів із підкладки.



А так як підкладка виготовлена з n -Si, то зростання концентрації перекису водню при досить малих значеннях ($0,02 \div 0,1\%$) призводить до посилення екстракції електронів з підкладки до області пористої структури. У результаті такого процесу збільшується опір резистивної структури з коефіцієнтом чутливості $\alpha = 0,01 \div 0,2\%/%$, що обчислювалася відповідно до формули:

$$\alpha = \frac{\Delta R}{R_2(C_{2\text{H}_2\text{O}_2} - C_{1\text{H}_2\text{O}_2})} \cdot 100\%, \quad (3.12)$$

де $\Delta R = R_1 - R_2$, а R_1 , R_2 – опори сенсора відповідно при різних концентраціях H_2O_2 ($C_{1\text{H}_2\text{O}_2}$, $C_{2\text{H}_2\text{O}_2}$).

При дослідженні низьких значень концентрації перекису (до $0,5\%$) коефіцієнт чутливості структур з глибшими порами (довший час травлення, 50 мкс) менший, а ніж для структур з дрібними порами (30 мкс). Однак нахил кривої, яка відображає залежність нормованої зміни опору від концентрації перекису водню, зберігається до 1% , а для деяких зразків навіть до $1,5\%$ (рис.3.24). При більших концентраціях опір структури продовжує зменшуватися. Було зроблено припущення, що це пов'язано з підвищенням температури поверхні зразка, внаслідок виділення тепла (99 кДж/моль

[122]) у процесі реакції розпаду перекису водню. Слід зауважити, оскільки об'єм зразка ($\sim 22 \text{ см}^3$) по відношенню до об'єму краплі ($\sim 30 \text{ см}^3$) відносно малий, то збільшення температури структури може бути досить суттєвим.

З таблиці 3.2. видно, що розігрів підкладки може бути досить суттєвим, навіть досягати $5 \div 10^\circ\text{C}$ для концентрацій 1,5-3%.

Таблиця 3.2.

Розігрів зразків у результаті реакції розпаду перекису

Концентрація H_2O_2 , %	Кількість виділеного тепла, Дж (об'єм 30 мм^3)	Зміна температури кремнію, $^\circ\text{C}$
0,1	0,013	0,34
0,12	0,015	0,41
0,14	0,018	0,47
0,19	0,024	0,64
0,27	0,034	0,91
0,3	0,038	1,01
0,33	0,042	1,12
0,38	0,048	1,29
0,43	0,054	1,45
0,5	0,063	1,69
0,6	0,076	2,03
0,75	0,095	2,54
1,0	0,127	3,38
1,5	0,190	5,07
3,0	0,380	10,15

Оскільки у переважній більшості досліджень вимірювання проводять для малих значень концентрації H_2O_2 до 0,1%, то такими ефектами нехтують [88, 121, 122].

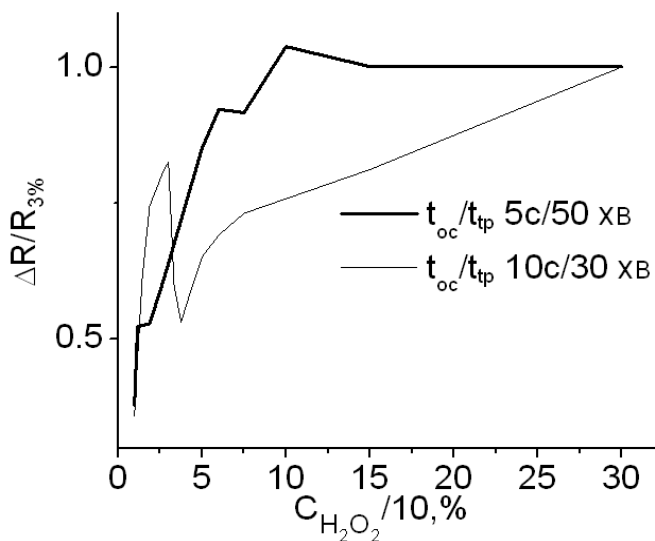


Рис. 3.24. Залежність відносної зміни опору від концентрації для зразків з різними умовами (t_{oc}/t_{tp}).

Збільшення концентрації H_2O_2 призводить до зменшення опору та наявності максимуму на залежності опору від концентрації (рис.3.24), так як досліджувані зразки мають від'ємний ТКО ($0,5-0,8\%/^{\circ}C$) (рис.3.25). Розташування цього максимуму залежить від товщини пористого шару та концентрації Ag наночастинок.

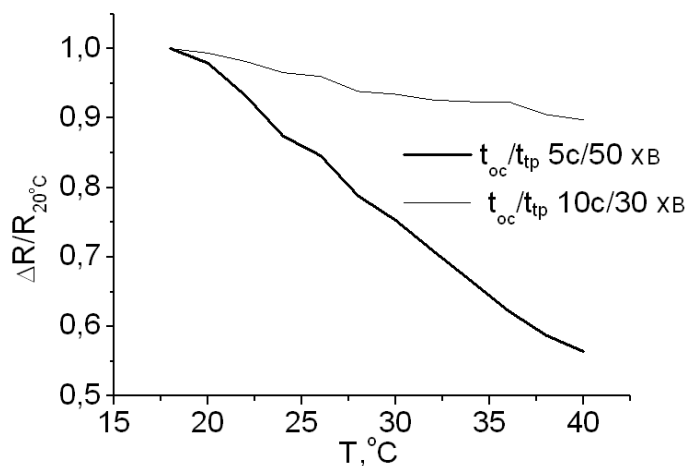


Рис. 3.25. Залежність опору зразків від температури для зразків з різними умовами (t_{oc}/t_{tp}).

Подальше збільшення концентрації H_2O_2 посилює екстракцію електронів з кристалічного кремнію, але на досить малі значення, які не перевищують зменшення

опору від розігріву й коефіцієнт чутливості спадає до 0,001 – 0,003%/%

Для підтвердження теорії впливу тепла на провідність сенсора було проведено корекцію залежностей зміни опору від концентрації H_2O_2 , враховуючи зменшення опору з підвищенням температури (рис. 3.26). Отримані залежності мають практично ідентичні коефіцієнти чутливості (0,01 – 0,1%/%), як і для низьких концентрацій без корекції, що підтверджує припущення, зроблене у попередньому розділі.

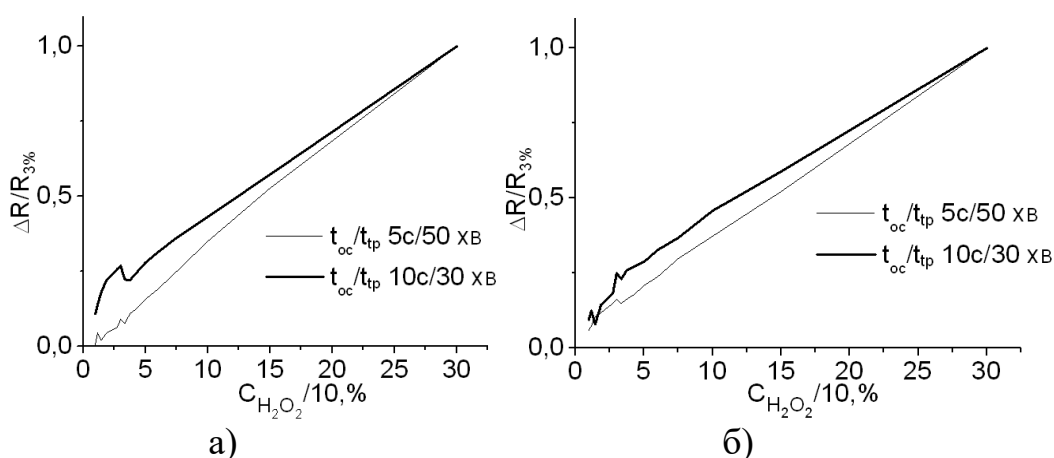


Рис. 3.26. Залежність опору зразків з урахуванням температурного зменшення опору: глибина прогрівання пластини (а) 450 мкм, (б) 150 мкм [125].

Точніші результати отримані для випадку прогріву структури не на всю глибину, а лише на 30% (рис. 3.26.б).

Таким чином, на основі досліджень провідності резистивних структур «пористий кремній з срібними наночастинками – кремній» встановлено проходження двох паралельних процесів: підвищення опору внаслідок екстракції електронів у пористу структуру та зменшення опору при зміні температури у результаті виділення тепла в процесі розпаду перекису водню. Такі отримані результати спростовують припущення, зроблені в [113], де вважалося, що насичення струму витoku зумовлене перенасиченням чутливої області продуктами реакції. Водночас вони дозволяють стверджувати, що процес насичення струму може зумовити локальний розігрів підкладки у результаті реакції розпаду перекису водню [125].

3.6. Висновки до розділу 3

Підсумовуючи результати, викладені у розділі, можна зробити наступні висновки:

1. Досліджено можливість збільшення чутливої поверхні сенсора перекису водню та вплив наночастинок на його роботу. Подальшого розвитку набув метод детектування перекису водню у фізіологічних розчинах, а саме запропоновано та розроблено сенсор на основі МДН-транзистора з робочою тильною стороною та у вигляді фототранзистора з використанням новітніх наноматеріалів, зокрема, пористого кремнію та наночастинок. Обидві структури демонструють підвищену продуктивність та чутливість у порівнянні зі звичайним МДН-транзистором. Для концентрацій H_2O_2 до 3% найбільш чутливим є фототранзистор з наночастинами срібла $574 \text{ мкА}/\%$. Чутливість МДН-транзистора без пористої структури складає $6 \text{ мкА}/\%$, а для сенсора з активною тильною областю з Pt наночастинами чутливість становить близько $8,3 \text{ мкА}/\%$. МДН-транзистор з робочою тильною стороною є простішим у керуванні, але й має нижчу чутливість у той час, як фототранзистор конструктивно простіший, але складніший у керуванні. Використання наночастинок (срібла чи платини) прискорює час відгуку сенсора до $2\div 3$ хв, порівняно з часом відгуку сенсора без пористої структури.

2. Використання пористого кремнію у поєднанні з Pt наночастинами для виготовлення сенсорів H_2O_2 підвищує чутливість майже на 28% та зменшує час відгуку практично в 5 разів (від 550 до 120 с) порівняно зі структурою без використання наноматеріалів.

3. Досліджено вплив температури на вихідні характеристики сенсора. Показана необхідність контролю температури сенсора, а саме, можливе оснащення сенсором температури, оскільки температурний коефіцієнт складає $\sim 3 \text{ мкА}/^\circ\text{C}$. Пористий кремній чутливий до світла, тому для достовірності результатів експерименти потрібно проводити у світлозахисному боксі. Дослідження процесу провідності резистивних структур «пористий кремній-кремній» дозволило виявити два конкуруючі процеси. Перший з них полягає у зростанні опору внаслідок

екстракції електронів до пористого шару, а другий – у температурному зменшенні опору в результаті виділення тепла при розпаді перекису водню. Результатом цього є зменшення чутливості структур з $0,01 \div 0,2\%/%$ до $0,001 \div 0,003\%/%$ та поява піків на графіках залежності опору структури від концентрації H_2O_2 .

4. Запропоновано аналітичну модель сенсора з квантовими точками, розміщеними у приповерхневій області напівпровідника між стоком та витокком, що теоретично прогнозує підвищення чутливості на 50% (структура з КТ має чутливість $0,1 \text{ мкА/В}$, а без КТ – $0,05 \text{ мкА/В}$).

5. Сенсор перекису водню на основі p – канального польового транзистора з пористою структурою з наночастинками платини на тильній стороні показує хорошу чутливість до пероксидази і може бути застосований для детектування малих концентрацій H_2O_2 у медичній практиці і при здійсненні імунно-ферментного аналізу, а також в аграрній галузі.

4. СЕНСОР СРБ НА ОСНОВІ ІОН-СЕЛЕКТИВНОГО ПОЛЬОВОГО ТРАНЗИСТОРА

На сьогоднішній день існує низка біосенсорів на основі ІСПТ для дослідження взаємодії біомолекул, що є ключовою особливістю біологічних реакцій у системах *in vitro* та *in vivo*. Не є винятком дослідження й такого важливого компонента живих організмів, як С – реактивний білок (СРБ). Це багатофункціональний біомаркер гострої фази при запаленнях та захисті від чужорідних агентів, при некрозах та аутоімунних процесах [126, 127]. Його рівень у біологічних рідинах дозволяє прогнозувати ступінь ризику розвитку гострого інфаркту міокарда, мозкового інсульту, раптової смерті людей, які навіть не страждають серцево-судинними захворюваннями [128, 129, 130]. Саме тому контролю рівня СРБ у сироватці крові або інших біологічних рідинах людини надається першочергове значення під час діагностики та прогнозу розвитку будь-якого запального процесу в організмі.

У наш час переважна більшість вимірювань СРБ виконуються у стаціонарних лабораторіях з використанням спеціального додаткового обладнання та за участі висококваліфікованого персоналу, що призводить до значних затримок у часі одержання результату. А це не завжди є зручним під час проведення скринінгових та маркерних досліджень.

На сьогодні існують сенсори на основі різних модифікацій транзисторів, проте вони все ж мають певні недоліки (низьку чутливість, нестабільність результатів, високий поріг детектування, складність пробопідготовки та інше) [7, 60]. Тому актуальним залишається питання розробки мініатюрної сенсорної системи, яка має переваги у часі та забезпечує зручність під час використання її у системах сімейної медицини.

4.1. Вибір способу формування біорозпізнавального шару для сенсора С-реактивного білка

Незалежно від методу розпізнавання та типу перетворювача у всіх біосенсорах важливою складовою частиною залишається біорозпізнавальний елемент (специфічно модифікована поверхня), іммобілізований на поверхню перетворювача, де відбувається реакція та реєструється сигнал. У загальному випадку біорозпізнавальний шар – це сукупність біологічних молекул, який відображає властивості досліджуваного середовища у вигляді специфічного сигналу та визначається ефективністю реакції розпізнавання.

Усі відомі методи іммобілізації речовин поділяються на 2 групи: захоплення та зв'язування. Але у переважній більшості випадків їх поєднують. Іммобілізація біорозпізнавального елемента може проходити у декілька етапів. Біорозпізнавальна молекула може безпосередньо осаджуватися на робочу поверхню або ж на субстрат передавача, який потім осаджується на робочу поверхню (у запропонованому сенсорі таким субстратом передавача є комплекс «стрептавідин-біотин»).

Основною вимогою до біорозпізнавального елемента сенсора є його вибіркова реакція лише на певний тип молекул серед всіх наявних у розчині.

Таким вимогам відповідають ферменти, рецептори, антитіла та нуклеїнові кислоти. Найчастіше у розпізнавальних елементах в біосенсорів використовують ферменти. Вони прискорюють перебіг біохімічних реакцій та специфічно зв'язуються зі своїми субстратами.

При конструюванні біосенсора головним завданням постає підвищення тривалості дії ферменту. Нативний фермент не може забезпечити виконання цієї вимоги, оскільки зберігає свої властивості протягом лише невеликого проміжку часу. Тому процеси іммобілізації ферменту на поверхню здійснюють з використанням спеціальних допоміжних речовин для фіксації біоселективного шару: «закріплюють» на робочій поверхні, або вводять у плівку пористого полімеру, або ковалентно, тобто за допомогою хімічних зв'язків, «пришивають» до поверхні. У такому випадку

біоселективний шар стає нерухомим і не вимивається, а його каталітична дія зберігається.

Ефективність роботи імуносенсора (чутливість, селективність, відтворюваність отриманих результатів, тривалість експлуатації) у першу чергу визначається якістю біорецепторного шару, який повинен відповідати наступним вимогам:

- збереженню високої активності іммобілізованих біомолекул;
- рівномірності розподілу активних центрів зв'язування по всій площі робочої поверхні;
- забезпеченню фізичної та хімічної стійкості покриття при контакті з рідиною, включаючи стійкість до регенерації;
- використання мінімальної маси рецепторного шару для реєстрації якомога більшого об'єму сорбуючого аналіту.

Проте використання польових транзисторів з полімерними іон-селективними мембранами нерідко ускладнюється низькою адгезією мембрани до поверхні діелектрика, що призводить до її поступового відшарування від поверхні діелектрика й, таким чином, до утворення електролітичних шунтів навколо мембрани.

Афінна іммобілізація – відносно новий напрям у створенні біосенсорів. Він передбачає використання специфічної взаємодії між конкретними рецепторними ділянками природних біохімічних компонентів. Не дивлячись на оборотність таких процесів, міцність зв'язування, а головне, специфічність взаємодії, вона забезпечує надійне просторово-орієнтоване закріплення біокомпонентів на поверхні перетворювача, трансдюсера [131].

Одним з найпоширеніших способів афінної іммобілізації є авідин (стрептавідин)-біотинове зв'язування. У результаті такого зв'язування утворюється комплекс природного амін-біотину з білком авідином чи стрептавідином. Білкова частина комплексу має чотири потенційні центри зв'язування біотину, що дозволяє використовувати його в якості містка для утворення досить складних

надмолекулярних сполук. Зазвичай, біотин ковалентно прив'язується до поверхні перетворювача, до якого прив'язується стрептавідин, й лише після цього нерозчинний комплекс відмивають від надлишку білка та обробляють біотинованим біополімером.

Суттєвою ефективністю відзначається комбінування різних способів прикріплення молекул до поверхні електродів сенсорів.

Характерною особливістю імуносенсорів є можливість регенерації біошару після кожного експерименту. Як і будь-який елемент сенсорної системи, він повинен мати високу хімічну та біологічну стійкість, міцну механічну стійкість, достатню проникність для комплексу «антиген-антитіло», велику питому поверхню та ємність, що забезпечує можливість зв'язування ферменту з носієм у водному розчині.

Базовим розчином для іммобілізації найчастіше використовують багатофункціональні агенти (глутаровий альдегід), які утворюють ковалентні зв'язки між білками, а також різні непровідні полімери (поліакриламід, поліфенол), що формують структури, подібні до сітки для захоплення й утримання біологічного матеріалу. Також використовують органічні електропровідні полімери, оскільки під час іммобілізації біологічного об'єкта на електроді утворюється поверхня, яка має електричний контакт з металевим чи вуглецевим провідником [10]. Для додаткових зовнішніх мембран, застосовують різні полімери, а саме: полівінілхлорид, поліетилен, поліметакрилат, нафіон, поліуретан [132]. Проте найчастіше використовують кислі або лужні регенеруючі розчини: буферний розчин на основі 0,2 М гліцину і соляної кислоти або натрій-фосфатний буферний розчин (PBS).

З огляду на вищезазначені міркування саме такий розчин був вибраний для десорбції аналіту з чутливої поверхні сенсора.

Стандартний та широковідомий розповсюджений ІФА аналіз є ефективним, зручним для використання *in vitro*. Але, по-перше, ферменти надто вразливі до зовнішніх умов, а, по-друге, складні етапи роботи дещо обмежують можливості його практичного використання.

4.2. Виготовлення та дослідження сенсора С-реактивного білка на основі іон-селективного польового транзистора

Дослідження останніх років свідчать про те, що моніторинг рівня СРБ дозволяє розробити нові критерії для діагностики різних захворювань. Крім цього, виходячи з даних про структуру, лігандну специфічність і функції СРБ в організмі, на сьогодні вже розпочато створення лікувальних і профілактичних препаратів на його основі [53].

Підвищені концентрації СРБ, які виявляються при діагностиці патологій, знаходяться у діапазоні 5-500 мг/л і більше, тобто лежать у межах діапазону концентрацій, що визначаються стандартними методами, наведеними у таблиці 4.1.

Таблиця 4.1.

Стандарті методи визначення СРБ у біологічних рідинах [133].

Метод	Чутливість	Час аналізу
РЕІД	10 мкг/л	9 днів
РІД	2 – 3 мг/л	24 – 48 год.
РІА	3 мкг/л	24 год.
ЕІД	6 мг/л	5 – 22 год.
ІФА	4 – 8 мкг/л	12 – 16 год.
ФІА	20 мкг/л	12 год.
ІНМ	1 – 2 мг/л	0,25 – 3 год.
ЛА+ІНМ	30 – 50 мкг/л	0,5 – 1 год.

РЕІД – радіоелектроімунодифузія, РІД – радіальна імунодифузія, РІА – радіоіmunний аналіз, ІНМ – імунонефелометрія, ЕІД – електроімунодифузія, ІФА – імуноферментний аналіз, ФІА – флуоресцентно-іmunний аналіз, ІНМ – імунонефелометрія, ЛА+ІНМ – латексна аглютинація з урахуванням результатів реакції імунонефелометрії.

Кожен з перерахованих методів має свої переваги (швидкість аналізу, точність, чутливість і т.д.) та недоліки (трудомісткість виконання аналізу, необхідність у громіздкому обладнанні, тривалість реакції, необхідність попередньої обробки досліджуваного зразка).

Стандартним та найпоширенішим методом для визначення базового рівня СРБ є метод ІФА [62, 134, 135]. Суть методу полягає в утворенні комплексних структур при взаємодії моноклональних антитіл до СРБ, адсорбованих у лунках мікропланшету, з аналітом у пробі та антитілами міченими ферментом (пероксидазою хрому). Варто зазначити, що проведення аналізу неможливо без спеціального лабораторного обладнання. Водночас така процедура трудомістка, оскільки на процес детектування СРБ впливають інші неспецифічні зв'язування [136]. А для візуальної реєстрації цього процесу преципітації необхідні високі концентрації компонентів і тривалий час проведення реакції. До того ж результати такого аналізу не завжди можна однозначно інтерпретувати і в більшості випадків вони носять якісний чи напівкількісний характер. Реєстрація утворення комплексу «антиген-антитіло» у розчині може бути здійснена з використанням додаткової мітки, яка легко детектується відповідним високочутливим фізико-хімічним методом.

4.3. Вплив підзатворного діелектрика на чутливість сенсора С-реактивного білка

Дослідження на основі ІСПТ сенсорів є новим підходом для детектування СРБ [137]. До основних переваг таких сенсорів можна віднести: високу чутливість, точність, компактність, можливість використання у системах «point of care» та можливість масового виробництва. Для виготовлення біосенсорів у якості підзатворних діелектриків необхідно використовувати біосумісні та стабільні матеріали. ІСПТ з підзатворним діелектриком у вигляді плівки нанокристалічного CeO_2 ефективно функціонують в імунних біосенсорах токсичності, які базуються на

зміні рН середовища у результаті утворення імунного комплексу між антитілом та мікотоксином [34].

При виготовленні сенсорів переважно використовують *n*-канальні транзистори, ніж *p*-канальні, оскільки рухливість електронів значно більша, ніж дірок. Проте *p*-канальний транзистор є більш чутливим, тому що на межі поділу кремній/діелектрик рухливість та час життя основних носіїв менша й при русі дірок через канал, ефективність реагувати на зміну зарядових станів на цій межі вища.

Для вибору оптимального підзатворного діелектрика для сенсора СРБ були виготовлені ІСПТ сенсори з CeO_2 та Al_2O_3 у якості підзатворного діелектрика (рис.4.1). А дослідження сенсора для СРБ проводилися при $U_{зв} = -2,5\text{В}$ та $U_{зв} = -5,0\text{В}$ для CeO_2 та Al_2O_3 відповідно, у стандартному діапазоні концентрацій СРБ. За основу для реалізації сенсора СРБ було взято аналогічний ІСПТ, що і для сенсора H_2O_2 [113].

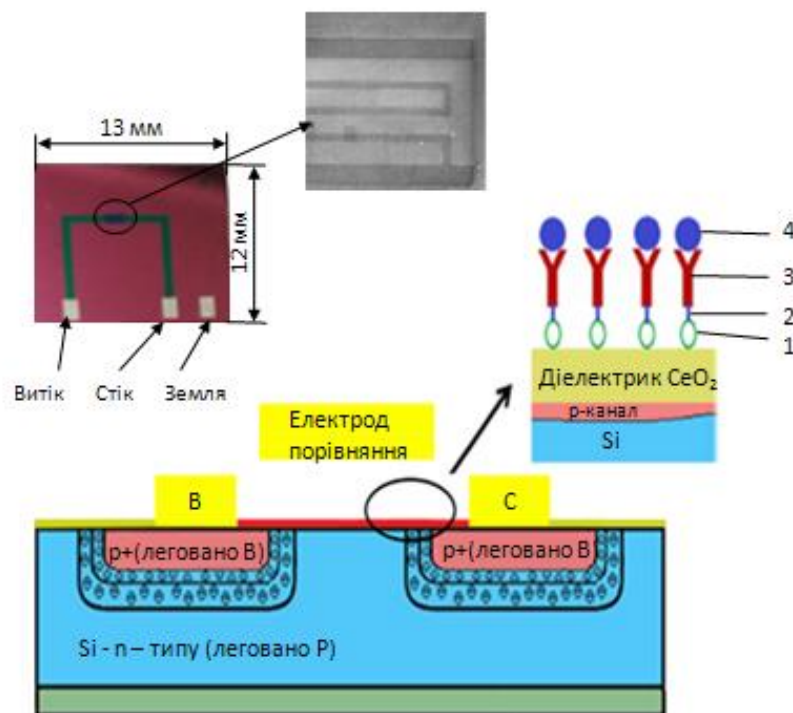


Рис. 4.1. Структура сенсора СРБ: 1 – стрептавідин, 2 – біотин, 3 – анти-СРБ, 4 – антиген (адаптовано з [139, 140]).

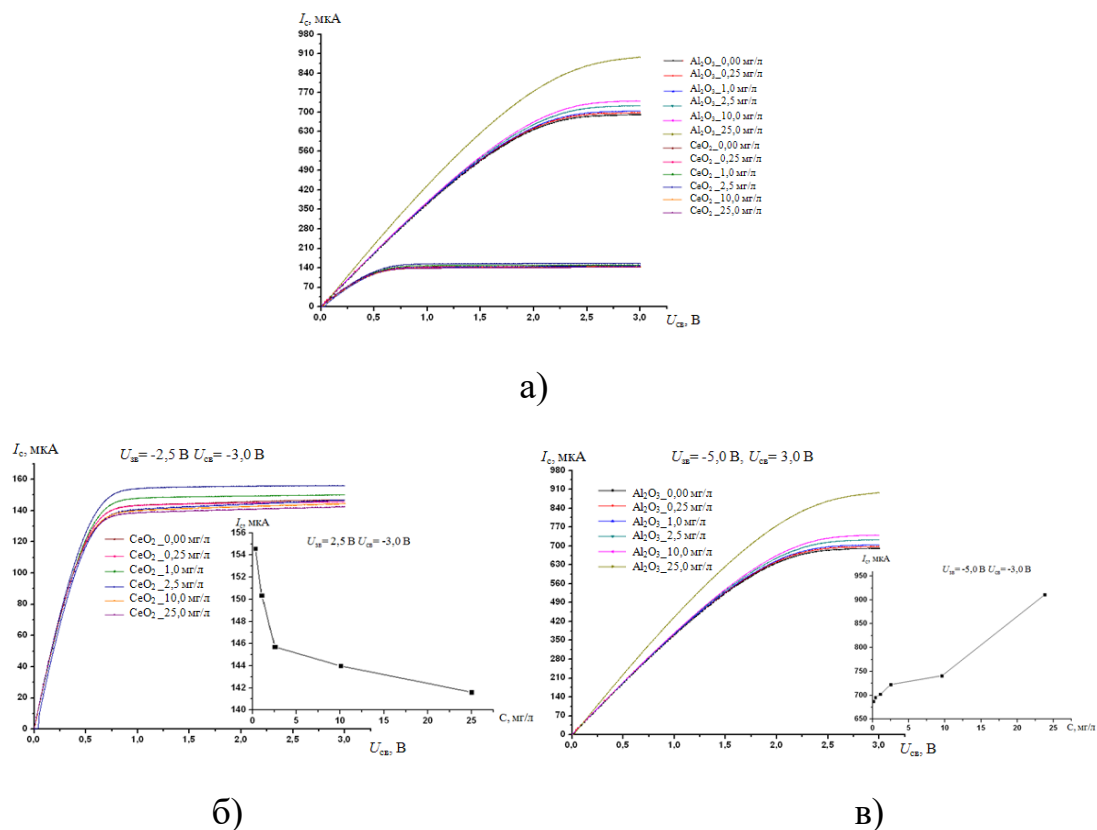


Рис.4.2. ВАХ ІСПТ сенсорів з підзатворними діелектриками: а) об'єднаний графік для обох матеріалів та розділені для б) CeO_2 та в) Al_2O_3 (вставки – залежність струму від концентрації СРБ).

Отримані результати вимірювання (рис.4.2) дозволяють стверджувати, що сенсори для СРБ на основі CeO_2 мають меншу чутливість по струму – 0,15 мкА/(мг/л), а з Al_2O_3 в якості чутливого елемента мають 2,23 мкА/(мг/мл) [140]. Тому оцінку чутливості сенсора більш доцільно та точніше проводити за результатами зміни напруги, а не струму, що буде здійснено далі.

4.4. Формування біоселективної поверхні та особливості комплексу «біотин – стрептавідин»

Для утворення біоселективного шару на поверхню підзатворного діелектрика дозуючою піпеткою наноситься стрептавідин (~30 мкл на 16÷18 год. при $T=+2\div 8^\circ C$) для забезпечення прив'язування антитіла до поверхні.

У такому вигляді сенсор можна зберігати до 30 діб. По завершенню цього часу шар стрептавідину починає руйнуватися. Безпосередньо перед вимірюванням після промивки сенсора у фосфатному буфері для іммобілізації антитіла наноситься біотинилуючий агент на 15-20 хв.

Для запропонованого сенсора СРБ процес іммобілізації біоселективного шару полягає у формуванні шарів стрептавідину та біотину з антитілом. Така загальновідома багат шарова структура використовується як лінкер для приєднання антитіла до поверхні сенсора. Це *in vitro* система, саме тому було взято білки, які забезпечують міцне прикріплення [141].

Безпосередня взаємодія біотину зі стрептавідином використовується у багатьох методах детектування білків та нуклеїнових кислот. Така біотинова мітка стабільна, а також має малі розміри й дуже рідко безпосередньо впливає на функцію досліджуваних молекул. Завдяки такій властивості взаємодії стрептавідину з біотином вони використовуються для розробки надійних та високочутливих аналізів.

Окрім цього комплекс стрептавідин-біотин має такі переваги:

- високу специфічність;
- стійкість до малих змін температури та рН;
- стабільність властивостей за наявності органічних розчинників та денатуруючих агентів.

Слід відмітити, що основна перевага, яка дозволяє використовувати систему «стрептавідин-біотин» для детектування білків, це здатність підсилювати вихідний сигнал від білків для покращення їх виявлення. Ці комплекси збагачують додаткові, кон'юговані ферменти для прив'язування до цільового антигену для кращого детектування сигналу [141].

Після нанесення стрептавідину з антитілом на поверхню підзатворного діелектрика робоча характеристика $I_{ce}=f(U_{зв})$ для ІСПТ при фіксованій напрузі $U_{св}=2,5$ В та вибраній робочій точці $U_{зв} = -16$ В виглядає як показано на рис. 4.3.

Після повторної промивки зразків для видалення незв'язаного антитіла у фосфатному буфері проводяться безпосередні вимірювання з нанесенням за допомогою дозуючої піпетки розчинів з різною концентрацією антигену об'ємом 20

мкл: 0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,25; 0,3; 0,4; 0,5; 0,75; 1; 2,5 мг/л. У період між нанесенням розчинів з різними концентраціями антигену та вимірюваннями поверхня сенсора очищується за допомогою 1%-TRITON X100. Для повного очищення поверхні використовується 2%-TRITON X100. Між проведеннями серій вимірювань сенсор зберігається у фосфатному буфері при $T=+4^{\circ}\text{C}$ та вологості 100%.

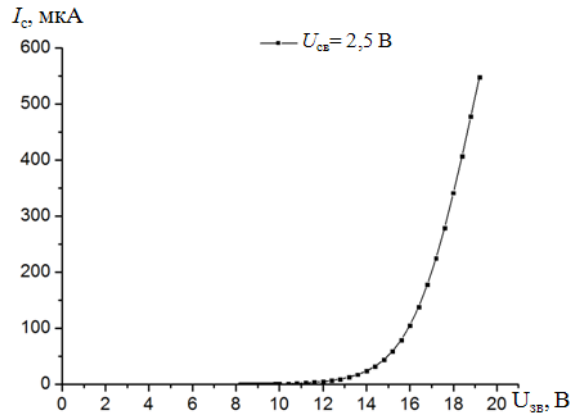


Рис. 4.3. Робоча характеристика біосенсора при $U_{св} = 2,5 \text{ В}$.

Електрична схема, яка використовувалася для проведення експерименту, зображена на рис.4.4.

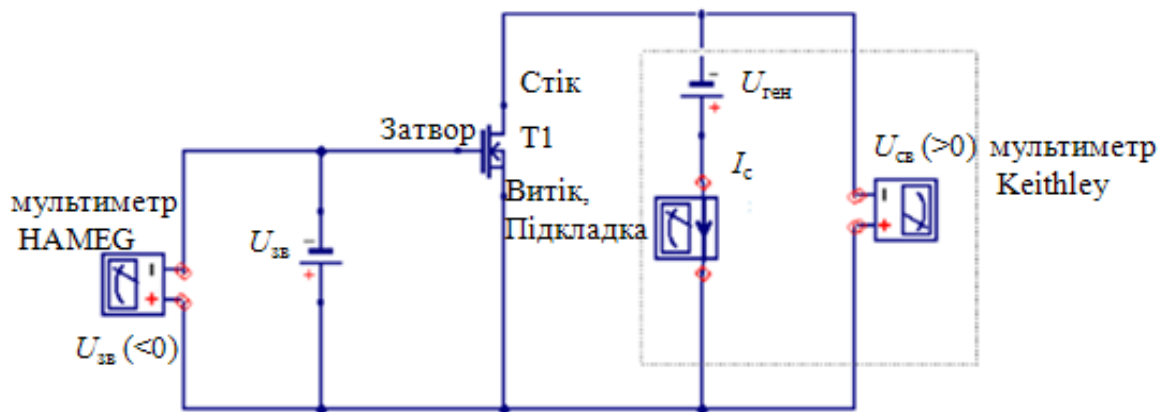


Рис.4.4. Електрична схема вимірювального стенду (адаптовано з [111]).

Вимірювання відгуку сенсора здійснюється за допомогою реєстрації вихідного сигналу ІСПТ, використовуючи одне джерело живлення для подачі напруги між витком та стоком (Keithley 2410), а інше для напруги зміщення на затворі (HAMEG – 10450122). Оптимальними умовами для проведення експерименту є: температура

$T = +18 \div 19^\circ\text{C}$, а для уникнення фантомних сигналів, зумовлених зміною освітлення робочої поверхні, сенсор поміщається у світлозахисний бокс.

Вихідні характеристики ІСПТ (рис. 4.5) для різної концентрації СРБ при робочій напрузі на затворі $U_{зв} = -16 \text{ В}$ мають чітко визначену залежність з насиченням струму стоку.

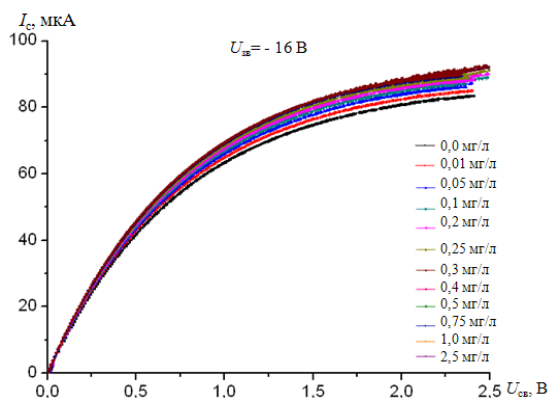


Рис. 4.5. ВАХ ІСПТ для різних концентрацій СРБ стандартного набору при $U_{зв} = -16 \text{ В}$.

Оскільки стандартний набір концентрацій анти-СРБ має у 1000 раз більші значення, ніж його значення, які свідчать про запальні процеси в організмі, то для проведення вимірювань виконуються розведення, похибка яких перевірялась за допомогою NanoDrop™ 2000/2000c Spectrophotometers та складала 1-2%.

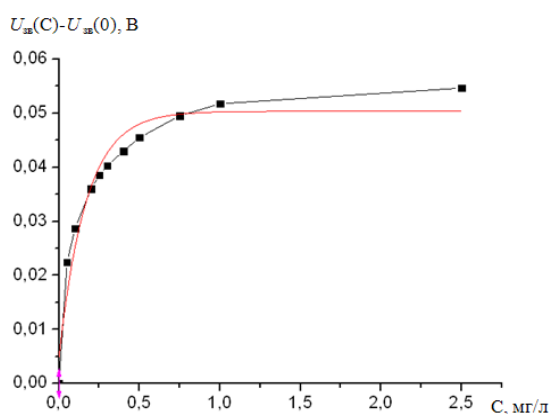


Рис. 4.6. Залежність зміни напруги на затворі $\Delta U_{зв}$ від концентрації СРБ.

Значення чутливості розробленого сенсора визначається кутом нахилу

характеристики $\Delta U_{зв} = f(\Delta C)$ (рис.4.6) та (4.1).

$$\alpha = \frac{d\Delta U_{зв}}{d\Delta C} \quad (4.1)$$

Апроксимуючи отриману залежність виразом $\Delta U_{зв} = 0,049 - 0,045 \cdot \exp(-6,45 \cdot C)$ вдалося отримати значення чутливості розробленого сенсора $\alpha = 292$ мВ/(мг/л).

4.5. Аналіз поверхні сенсора та дослідження селективності сенсора

Виявлення СРБ відбувається через іммобілізацію анти-СРБ на поверхню підзатворного діелектрика МДН-транзистора. Тому для достовірності роботи сенсора та детектування СРБ необхідно забезпечити наявність тонкого та рівномірного розподілу стрептавідину на робочій поверхні. Тільки дотримання такої умови гарантує рівномірне зв'язування СРБ під час вимірювання. Фізична іммобілізація стрептавідину та антитіла на поверхню підтверджена формуванням пористої дендритової структури на поверхні, як це видно з зображень атомно-силового мікроскопа (АСМ) (рис.4.7), оптичного мікроскопа (рис. 4.8) та скануючого електронного мікроскопа (СЕМ) (рис. 4.9).

Така сенсорна конфігурація сприятлива для іммобілізації анти-СРБ, не погіршуючи його біологічну активність і полегшує перенесення електронів між ІСПТ та біопробу. За результатами СЕМ знімків бокової сторони робочої області сенсора товщина стрептавідину становлять 500 нм, а комплексу «стрептавідин – антитіло» – 1230 нм (рис.4.10).

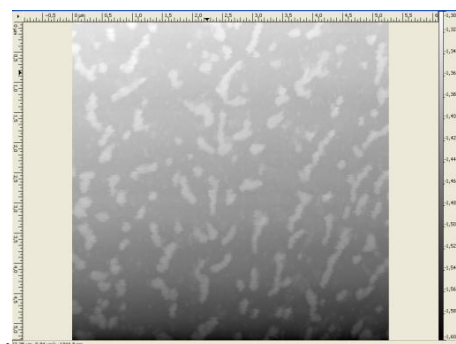


Рис. 4.7. Знімок чутливої поверхні сенсора з шаром стрептавідину (АСМ, Flex-Axiom).

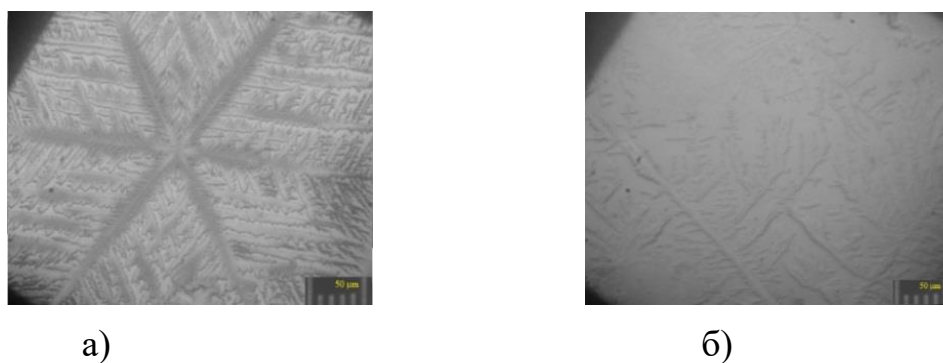


Рис. 4.8. Оптичні знімки поверхні сенсора покриті: а) стрептавідином та б) стрептавідин+антитіло (Olympus BX53).

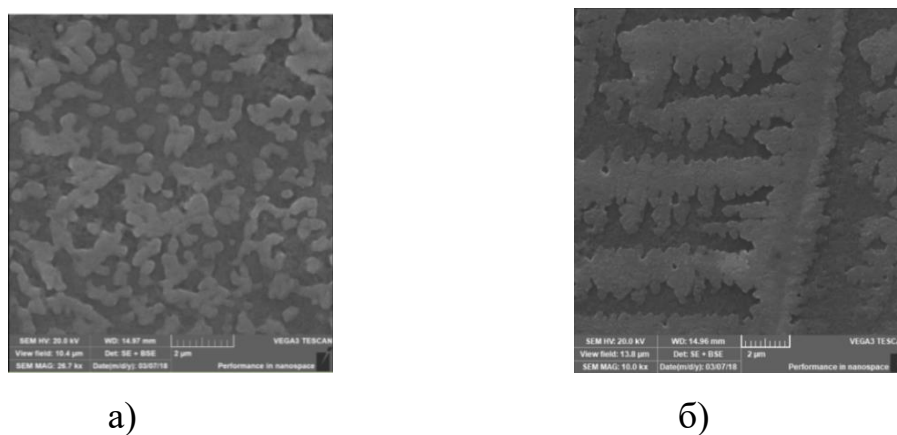


Рис. 4.9. Зображення чутливої поверхні сенсора за допомогою СЕМ зі збільшенням 2 мкм, покритою: а) стрептавідином та б) стрептавідин-антитілом (VEGA3 TESCAN).

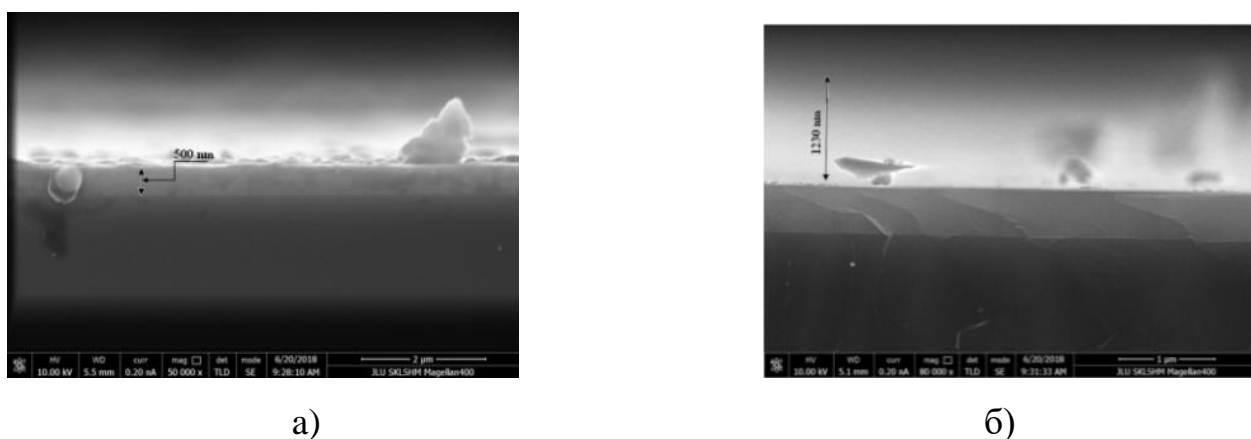


Рис.4.10. СЕМ зображення сколу робочої області сенсора з різним збільшенням: а) стрептавідин зі збільшенням 2 мкм та б) комплекс «стрептавідин-антитіло» зі збільшенням 1 мкм.

Біотинильоване антитіло до СРБ ковалентно зв'язується з шаром стрептавідину, який наноситься на поверхню ІСПТ в області затвору. СРБ наноситься на поверхню сенсора, що специфічно зав'язується з попередньо мобілізованим анти-СРБ. Результат утворення на поверхні комплексу «антиген-антитіло» оцінюється шляхом вимірювання електричних характеристик ІСПТ. Детектування СРБ зазвичай відбувається внаслідок іммобілізації анти-СРБ на підзатворний діелектрик МДН-транзистора. При утворенні комплексу «антиген-антитіло» відбувається істотна зміна потенціалу затвору, яка викликана зміною поверхневого заряду. Значення густини поверхневого заряду є важливою вихідною характеристикою при детектуванні взаємодії біомолекул, використовуючи ІСПТ.

Варто звернути увагу на те, що ізоелектрична точка pI , значення pH розчину, за яких переважна більшість іонів має нейтральний заряд, залежить від густини поверхневого заряду. Якщо значення pH буферного розчину перевищує pI досліджуваного розчину, тоді аналіт має негативний заряд. Носії рухаються через канал від витоку до стоку відповідно до зміни густини поверхневого заряду досліджуваного аналіту.

Після зв'язування СРБ з анти-СРБ на поверхні ІСПТ спостерігається збільшення струму стоку, оскільки СРБ має негативний заряд у робочому буфері при значенні pH 7 (pI 5,45), що і змінює струм стоку [138].

Для перевірки селективності сенсора на утворення комплексу «антиген-антитіло» у присутності стрептавідину було здійснено ряд експериментів без стрептавідину. Отримані результати підтвердили чутливість сенсора до СРБ лише при наявності стрептавідину, оскільки за його відсутності не прослідковується жодна залежність сигналу сенсору від концентрації СРБ (рис.4.11.а (залежність 2)).

Запропонований сенсор може функціонувати не лише з еталонними розчинами, але й з реальними зразками сироватки крові. Підтвердженням цього є результати експерименту, проведені з використанням проб реальної сироватки крові людини, рівень СРБ у яких попередньо визначався за допомогою ІФА.

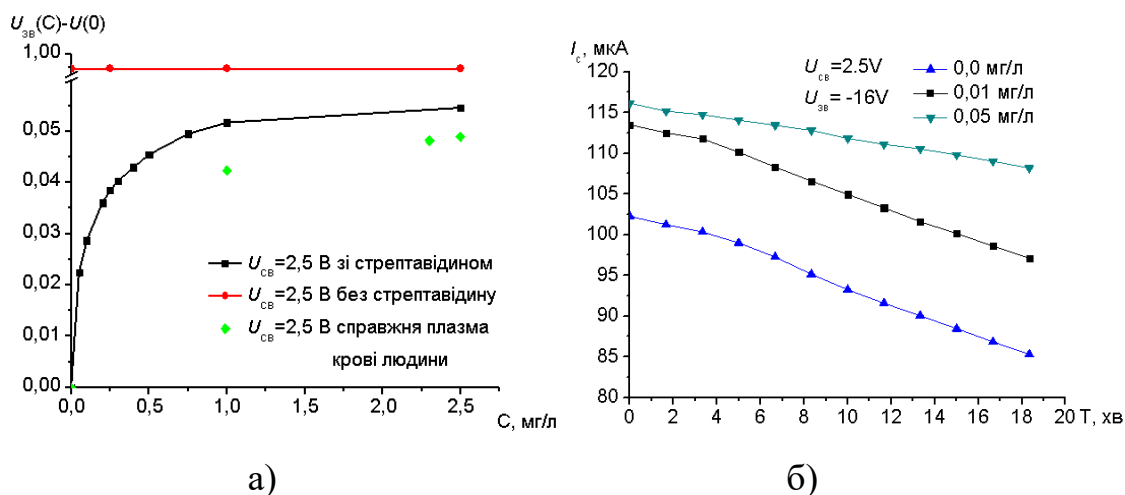


Рис. 4.11. а). Залежність зміни сигналу сенсора від концентрації СРБ у випадку 1). наявності та 2). відсутності шару стрептавідину. Точками показано сигнал сенсора для трьох концентрацій СРБ у плазмі крові; б). вплив ефекту осадження СРБ залежно від часу на струм сенсора для кількох концентрацій СРБ.

Спостерігається певна кореляція результатів з тестовими розчинами: відгук сенсора на зразках сироватки крові був на 18% менше значень від калібровочних для стандартного тестового набору концентрацій антигену СРБ (рис.4.11.а (залежність 3)). Хоча запропонований біосенсор – селективний, вплив деяких елементів, які також є у сироватці крові (глюкоза, аскорбінова кислота) зменшують його відгук у сироватці крові людини. На продуктивність біосенсора переважно впливає концентрація антитіл і час осадження СРБ. У період осадження СРБ на поверхню значення струму зменшується і стабілізується через 20-30 хв. (рис. 4.11.б). Це вказує на формування імунокомплексу «СРБ–анти-СРБ». Для отримання оптимального відгуку сенсора інкубаційний час становить 30 хв.

4.6. Розподіл потенціалів у структурі «рідина-тверда поверхня»

Для запропонованої конфігурації сенсора в системі «рідина-тверда поверхня» розподіл потенціалів має вигляд (рис.4.12) та описується відповідно до умови потенційної рівноваги рівнянням:

$$\varphi_d + \varphi_0(\varphi_1) + \varphi_{\text{пов}} = \varphi_{\text{пор}} \quad (4.2)$$

де φ_d – електричний потенціал на краю дифузійного шару, φ_0 – електричний потенціал системи «електроліт-діелектрик» для буферного розчину, φ_1 – для СРБ та $\varphi_{\text{пов}}$ – електричний потенціал на границі «діелектрик-напівпровідник».

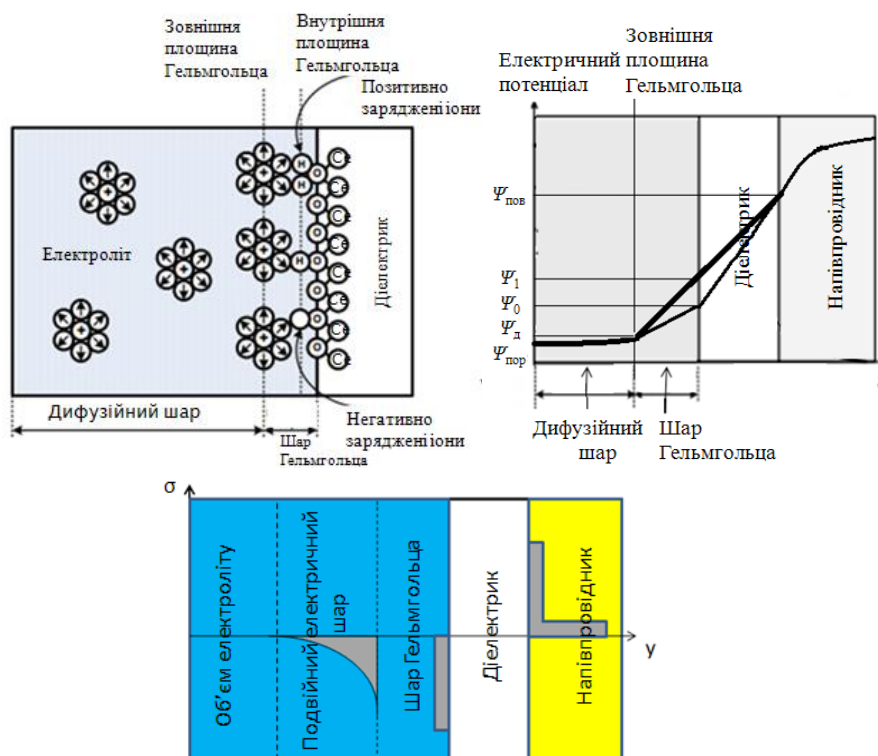


Рис.4.12. Розподіл потенціалів для системи «електроліт-діелектрик-напівпровідник»: φ_d – електричний потенціал на краю дифузійного шару, φ_0 – електричний потенціал системи електроліт-діелектрик для буферного розчину, φ_1 – для СРБ та $\varphi_{\text{пов}}$ – електричний потенціал на межі поділу «діелектрик-напівпровідник».

Наприклад, для концентрації 0,5 мг/л розподіл значення потенціалу наступний:

$$\varphi_d + \varphi_0(0,04) + \varphi_{\text{пов}} = -16B; \quad (4.3)$$

Для розрахунків потенціалів на кожному з шарів використовують ємнісно-резистивну модель [142]. Проте для оцінки розподілу потенціалів різноманітними втратами можна знехтувати і замінити кожний шар лише ємністю відповідного значення. Враховуючи товщини кожного із шарів та їх діелектричні проникності, значення потенціалу на кожному з шарів вважається пропорційним його ємності.

Відомо, що прикладена до транзисторної структури (твердотільної її частини) постійна напруга $U_{зв}$ розподіляється між напівпровідником і діелектриком наступним чином:

$$\varphi = \varphi_{Si} + \varphi_0 = \varphi_{Si} + E_s d_{SiO_2} (\epsilon_s / \epsilon_{SiO_2}) + E_s d_{CeO_2} (\epsilon_s / \epsilon_{CeO_2}) = \varphi_{Si} - Q_s / C_0, \quad (4.4)$$

де φ_s – напруга на шарі кремнію, φ_0 – загальне падіння напруги на обох діелектричних шарах, d_{SiO_2} та d_{CeO_2} – товщини цих шарів, Q_s – заряд на поверхні структури.

Зауважимо, що у цьому виразі врахований стрибкоподібний перехід електричного поля між шарами оксиду кремнію та церію, а саме воно відрізняється від поля у кремнії E_s на величину відношення діелектричних проникностей оксиду церію та кремнію ($\epsilon_{CeO_2} / \epsilon_{Si} = 6,5$ разів).

Аналогічно до (4.4), можна припустити, що при знаходженні на оксиді церію низки додаткових біологічних селективних шарів прикладена напруга буде розподілятися між шарами наступним чином:

$$\varphi = E_s d_1 (\epsilon_s / \epsilon_1) + E_s d_2 (\epsilon_1 / \epsilon_2) + E_s d_3 (\epsilon_2 / \epsilon_3) + \dots + E_s d_n (\epsilon_{n-1} / \epsilon_n) \quad (4.5)$$

Запропонована оцінка стосується ідеального випадку, коли відсутні будь-які втрати, тобто кожен з вказаних шарів вважається щільним діелектричним шаром. Тоді система біологічних шарів реалізується схемною моделлю з послідовно з'єднаних ємностей шарів.

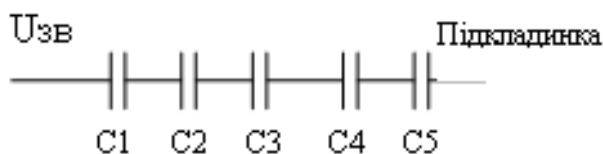


Рис.4.13. Ємнісна схемна модель шарів сенсорної структури:

C_1 – ємність шару електроліту, C_2 – ємність шару біотину, C_3 – ємність шару стрептавідину, C_4 – ємність шару діелектрика, C_5 – ємність шару кремнію.

Таким чином, знаючи товщини кожного біошару та значення їх відповідних діелектричних констант з останнього виразу можна записати розподіл прикладеної напруги по шарах. А саме,

$$U_{зв} = Q_s / C_1 + Q_s / C_2 + Q_s / C_3 + Q_s / C_4 + Q_s / C_5 \quad (4.6)$$

При цьому однак, необхідно врахувати, що прикладена напруга $U_{зв}$ у формулі (4.6) насправді дорівнює не -16 В (що прикладалося до електроду порівняння), а менше на величину приблизно 4,8 В [143].

Таким чином, відповідно до (4.6) розподіл потенціалів для розробленої сенсорної структури СРБ наступний:

$\varphi_1 \approx 0,69$ В, $\varphi_2 \approx 1,5$ В, $\varphi_3 \approx 1,3$ В, $\varphi_4 \approx 1,1$ В, $\varphi_5 \approx 6,61$ В, де φ_1 – потенціал на шарі електроліту, φ_2 – потенціал на шарі біотинильованого антитіла, φ_3 – потенціал на шарі стрептавідину, φ_4 – потенціал на шарі діелектрика, φ_5 – потенціал на шарі кремнію.

Виходячи отримані результати (4.4) для досліджуваного сенсора мати вигляд:

$$\varphi_d + \varphi_0(\varphi_1) + \varphi_{пов} + 4,8 = 16В; \quad (4.7)$$

а саме,

$$0,69 + 3,9 (\pm 0,04) + 6,9 + 4,8 = 16 В, \quad (4.8)$$

де φ_d , φ_0 , φ_1 , $\varphi_{пов}$ – аналогічні значенням у формулі 4.3.

4.4. Вплив додаткового буферного шару на чутливість сенсора СРБ на основі ІСПТ

Перспективним біомакромолекулярним напівпровідником для застосування у сенсорах рН є меланін. Меланіни – це клас пігментної зв’язаної біомакромолекули, що зустрічається у багатьох біологічних системах та може бути отриманий синтетичним шляхом [144]. Меланіни не мають широкої молекулярної закономірності, й вважається, що їх структура переважно складається з макромолекул неупорядкованих структур мономерів 5,6-дигідроксиндол-хінон і 5,6-дигідроксиндол-2-карбонової кислоти.

Структурні особливості меланінів дозволяють використовувати їх у сенсорах на основі польових транзисторів з віднесеним затвором через велику кількість потенційних зв’язуючих центрів для іонів H^+ .

Меланінові плівки ведуть себе як напівпровідники залежно від вмісту води. Більш важливою особливістю меланіну щодо використання у якості рН чутливої плівки є електронна та іонна провідність [145].

Для покращення чутливості сенсора СРБ, запропонованого раніше, методом центрифугування наноситься додатковий буферний шар меланіну. Підготовка та принцип роботи сенсора не відрізняється від описаного у роботі [70]. Лише перед формуванням комплексу «СРБ–анти-СРБ» наноситься органічний напівпровідник рослинного походження – меланін. Його хімічні властивості багато у чому визначаються наявністю в нього фрагментів карбонових кислот, амінів, катехінів з різними ступенями окиснення структури макромолекули. Тому можна припустити, що меланін проявляє загальні поліелектролітичні властивості, у яких кислотність відіграє важливу роль.

Після попередньої підготовки виконується стандартна процедура формування імуноферментного комплексу [138] та проводиться безпосереднє вимірювання відгуку сенсора, зразки якого наведено на фото (рис.4.14), для того ж стандартного набору концентрацій антигену СРБ, що використовувався у п.п. 4.1 – 4.3.

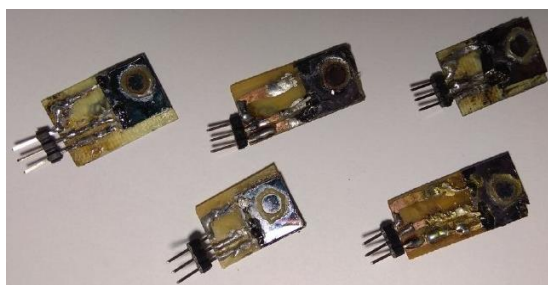
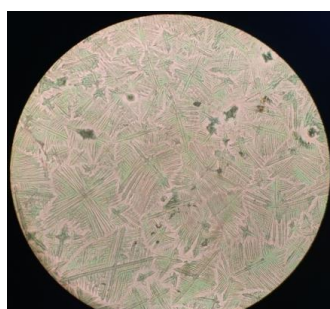
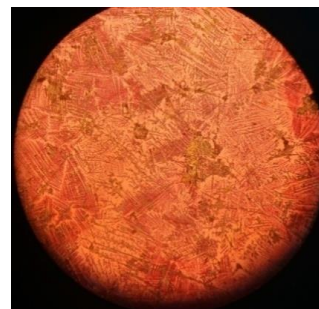


Рис.4.14. Досліджувані зразки сенсора.

Знімки поверхні сенсора з нанесеним шаром стрептавідину та меланіну зі стрептавідином, отримані за допомогою оптичного мікроскопу (МКИ-2М), мають подібну дендритну структуру (рис.4.15). На основі цього зроблено припущення, про можливість адсорбції на такій поверхні сенсора з меланіном і стрептавідином більшої кількості стрептавідину (рис. 4.15.б), що сприятиме адсорбції більшої кількості антитіл на поверхні у порівнянні з поверхнею лише з нанесеним шаром стрептавідину.



а)

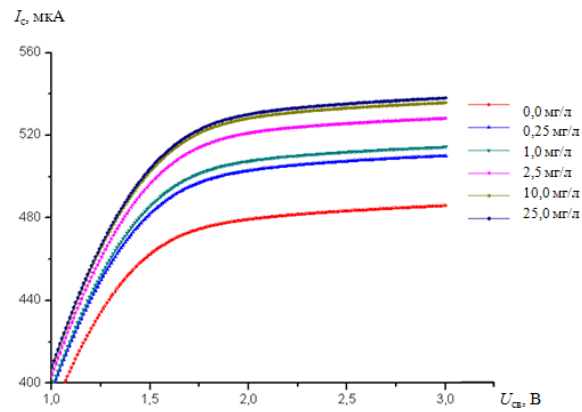


б)

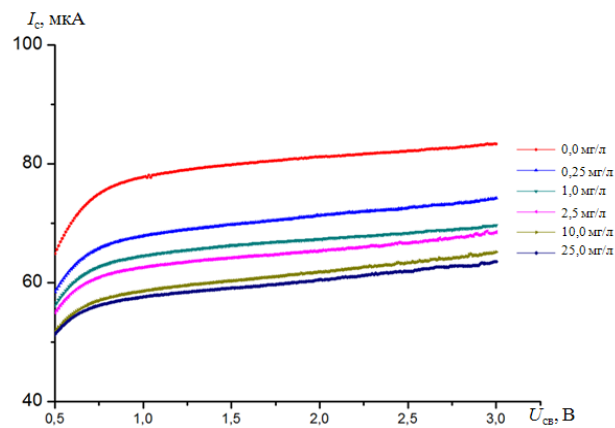
Рис.4.15. Знімки поверхні з шаром: а) стрептавідину та б) меланін-стрептавідину.

Як видно з рис. 4.16.а у випадку вимірювання сенсора без меланіну зі збільшенням концентрації антигену збільшується значення струму. А при наявності меланіну на поверхні спостерігається зворотна залежність (рис. 4.16.б): збільшення концентрації зменшує струм сенсора. Це можна пояснити наступними процесами, що відбуваються на його робочій поверхні:

- без буферного шару меланіну на комплексі «стрептавідин-антиген-антитіло» зростає негативний заряд і, як наслідок, змінюється провідність каналу



а)



б)

Рис. 4.16. ВАХ сенсора: (а) без шару меланіну та (б) з меланіном.

транзистора, що призводить до збільшення вихідного струму сенсора (рис. 4.16.а);

- у випадку наявності буферного шару накопичення негативного заряду компенсується стоком електронів на вільні пастки у меланіні [146]. Це поряд зі збільшенням товщини шару призводить до зниження величини негативного потенціалу на затворі і, як наслідок, до зменшення струму (рис. 4.16.б);

Інше пояснення можна зробити на основі теорії зв'язуючих центрів та теорії Гуї-Чепмана-Штерна. Зміна струму сенсора при нанесенні додаткового буферного розчину – меланіну пояснюється такими процесами: генерацією потенціалу на границі «стрептавідин – плівка меланіну» та потоком іонів через плівку.

Перший процес відбувається внаслідок безпосередньої адсорбції іонів у площині Гельмгольца, який регулюється константою кислотної дисоціації тією частиною меланіну, що прив'язується. У розчинах із значеннями рН нижче 4,2 всі

гідроксильні групи меланіну протоновані, що призводить до збільшення струму I_c . А при рН розчину (рІ стрептавідину ~ 5), більшого константи кислотної дисоціації, для деяких функціональних груп меланіну існує менша кількість зв'язуючих центрів, що призводить до зменшення струму I_c .

Другий механізм – дифузія протонів з площини Гуї-Чапмена електроліту у плівку. У цьому випадку, чим вище рН розчину електроліту, тим менший потік іонів H^+ й менший потенціал генерується на поверхні плівки, а отже, й нижчий вихідний струм I_c (рис.4.16.б) [147].

Чутливість сенсора для обох зразків визначається крутизною характеристики функціональної залежності зміни напруги між затвором та витокком від зміни концентрації виду ($\Delta U_{зв} \equiv f(\Delta C)$) (4.9), (рис.4.17):

$$\alpha(U_{зв} = 3В) = \frac{d\Delta U_{зв}}{d\Delta C}, \text{ при } U_{зв} = 5В \quad (4.9)$$

Використовуючи експоненціальну апроксимацію кривої $\Delta U_{зв} \equiv f(\Delta C)$ для експерименту без меланіну була отримана залежність $\Delta U_{зв} = 0,13 - 0,12 \cdot \exp(-0,77 \cdot C)$, та для випадку з меланіном: $\Delta U_{зв} = -0,12 + 0,11 \cdot \exp(-2,13 \cdot C)$. З аналітичних формул були обчислені значення чутливості, які становили 92 мВ/(мг/л) та 234 мВ/(мг/л), відповідно (рис.4.17).

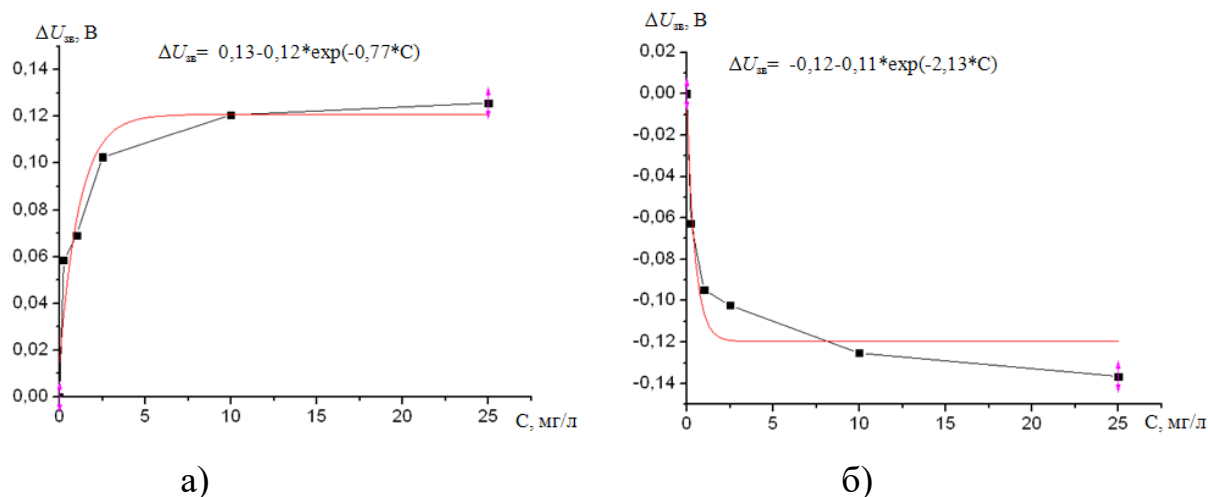


Рис. 4.17. Залежність напруги на затворі від концентрації СРБ для сенсора: а) без шару меланіну та б) з меланіном.

Аналізуючи отримані результати можна зробити припущення, що шар меланіну підвищує чутливість сенсора на основі ІСПТ майже на 61%. Тобто меланін сприяє адсорбції більшої кількості стрептавідину, а отже, й антитіл з антигеном на робочій поверхні ІСПТ [148].

4.7. Інфрачервона спектроскопія досліджуваного сенсора С-реактивного білка

Стандартним методом дослідження хімічного складу білків є хімічний аналіз. Проте для дослідження його просторової структури застосовують рентгенструктурний аналіз [149], а також ІЧ-спектроскопію. Вона є однією з відносно простих та недорогих методів аналізу структури білків. Суть методу полягає у реєстрації коливальних спектрів молекул, що дозволяє отримати детальну інформацію про стан функціональних груп та хімічних зв'язків у молекулі. Досить поширений цей метод при дослідженні структури білків. Відомо кілька режимів вимірювання ІЧ-спектрів. Класичним є режим «пропускання». Він дає можливість вимірювати параметри речовин, які можна самостійно помістити у спеціальну кювету, тобто він не дозволяє аналізувати плівки білків нанесених на поверхні. На сьогоднішній день у науковому світі все більшої популярності набуває інший метод ІЧ – спектроскопії – Фур'є-спектроскопія порушеного повного внутрішнього відбивання (ППВВ чи FTIR-ATR). Основною його перевагою є висока чутливість, необхідність невеликого об'єму проби, а також зручність проведення експериментів. Завдяки високій чутливості цей метод дає можливість швидко та точно провести аналіз структури біомолекул, використовуючи всього лише кілька мікрограмів досліджуваного зразка. Іншою підставою для впровадження цієї методики для дослідження поверхні сенсора є здатність працювати в оптично-непрозорих середовищах (структура сенсора – оптично непрозора).

Результати ІЧ – спектроскопії – Фур'є (рис.4.18) демонструють адсорбцію стрептавідину та антитіла на чутливу поверхню сенсора шляхом наявності характерних піків для компонентів білка.

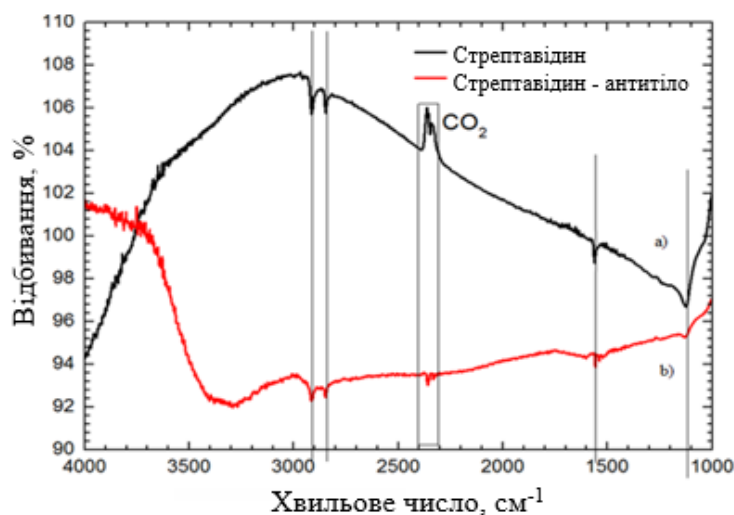


Рис. 4.18. Інтерферограми для досліджуваної поверхні: (а) покритої стрептавідином та (б) стрептавідином з антитілом (IRAffinity-1S, Shimadzu).

Спектри мають піки поблизу 1560 cm^{-1} , характерні для (C–O), (–NH) та (–CONH–) груп стрептавідину, іммобілізованого на поверхнях CeO_2 . А коливання, що спостерігаються при 2914 та 2845 cm^{-1} характерні для зв'язків C–H. Крім того, піки відбивання поблизу 1100 cm^{-1} обумовлені коливанням фосфатів з буфера, що використовується для розчинення стрептавідину [150, 151].

4.8. Метод динамічного аналізу бета-лактоглобуліну використовуючи сенсор на основі іон-селективного польового транзистора

На сьогоднішній день зростає популярність на виготовлення продуктів спеціального функціонального призначення, оскільки з'являються нові, сучасні технології, які дають можливість створювати продукт із конкретно заданими властивостями. Гіпоалергенні продукти, особливо молочні, найбільш популярні на ринку функціонального харчування.

До складу молока окрім корисних мікроелементів та вітамінів входить велика кількість білків антигенів, які можуть викликати алергічну реакцію організму. Серед усього розмаїття білків алергію викликають всього чотири: казеїн (80%), сироватковий альбумін, альфа-лактоглобулін та бета-лактоглобулін (β -

лактоглобулін). Найчастіше алергія проявляється саме на β -лактоглобулін, але у більшості випадків непереносимість цього білка зникає самостійно після першого року життя дитини. Хоча у грудному молоці він відсутній, алергією на нього страждає п'ята частина малюків віком до 1 року, оскільки це є одним з найсильніших алергенів серед всіх білків коров'ячого, овечого та навіть козиного молока. Проте цього білка можна позбутися після 20-хвилинного кип'ятіння [152, 153].

Концентрація β -лактоглобуліну в середньому у сироватці молока становить 2-4 г/л [154]. Для виявлення і кількісної характеристики вмісту β -лактоглобуліну використовують різні фізико-хімічні методи (високоєфективна рідинна хроматографія, електрофорез [155]), а також імунохімічні методи аналізу, принцип роботи яких полягає у специфічному зв'язуванні антитіл з відповідними детермінантами білка. Метод імунодетекції вирізняється порівняно невисокою вартістю необхідного обладнання, а також великою продуктивністю за рахунок можливості одночасної роботи з серіями проб [156]. Стандартний ІФА аналіз вмісту β -лактоглобуліну у пробі займає до 3 годин, оскільки лише для інкубації імунореагентів потрібно 1÷1,5 год. Таке дослідження також потребує проведення інкубації при підвищеній температурі (37°C), а ніж проведення всього експерименту, що є не досить зручним. Тому залишається актуальним розроблення методики детектування β -лактоглобуліну у звичайних умовах та з відносно невеликим затратами часу.

На практиці часто використовують сенсори не для статичного вимірювання з почерговою реєстрацією відгуку сенсора на окремі досліджувані речовини, а динамічні – шляхом заміщення одного досліджуваного розчину іншим, структурно однаковим, але з іншою концентрацією. Саме тому для сенсора бета-лактоглобуліну були проведені експерименти на можливість зміни відгуку сенсора на зміну складу (концентрації, рівня рН) розчину (рис. 4.19÷4.22).

При вимірюванні відгуку сигналу сенсора для розчину β -лактоглобуліну при рН 4 встановлено, що його значення інше, ніж для води, оскільки рІ для бета-лактоглобуліну – 5,2, то при менших значеннях рН розчину він стає позитивно

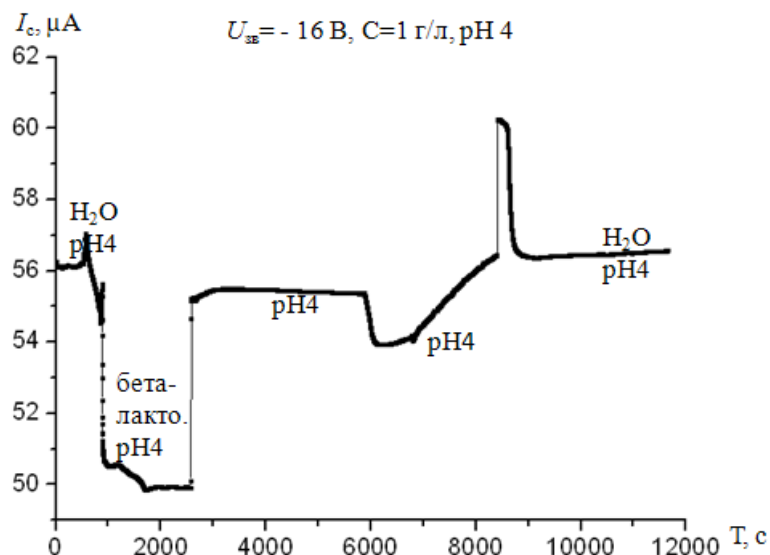


Рис.4.19. Циклічні вимірювання для розчину β -лактоглобуліну з концентрацією 1г/л та рН 4.

зарядженим, що спричиняє зменшення падіння потенціалу на межі поділу «електроліт-діелектрик»(рис. 4.19).

Проте для випадку розчину рН 6 та рН 8 спостерігається обернена залежність, оскільки такі розчини призводять до негативного зарядження розчину білка, що еквівалентно додатковому негативному зміщенні на затворі, який призводить до збільшення товщини каналу провідності, а, отже, й до збільшення вихідного струму (рис.4.20÷4.22).

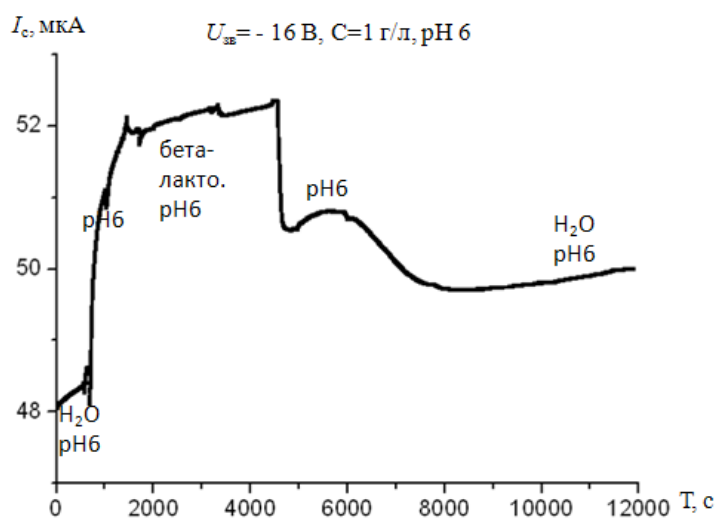


Рис. 4.20. Циклічні вимірювання для розчину β -лактоглобуліну з концентрацією 1 г/л та рН 6.

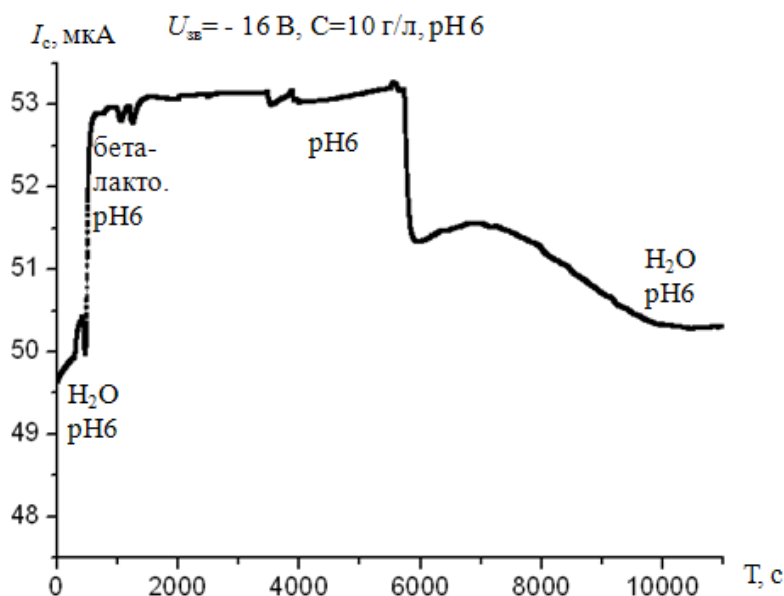


Рис. 4.21. Циклічні вимірювання для розчину β -лактоглобуліну з концентрацією 10 г/л та рН 6.

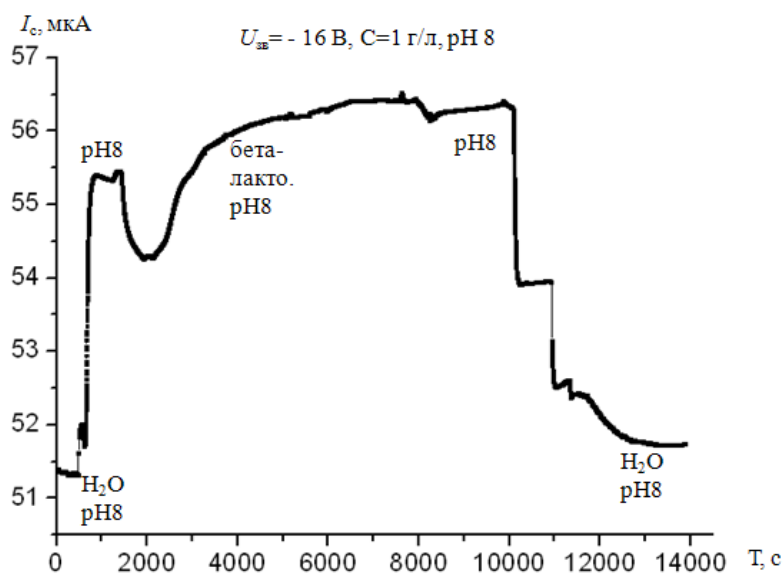


Рис. 4.22. Циклічні вимірювання для розчину β -лактоглобуліну з концентрацією 1 г/л та рН 8.

Для всіх проведених експериментів характерне повернення рівня сигналу ІСПТ після вимірювань до початкового значення. Це дає можливість стверджувати про повну десорбцію білка з поверхні та можливість його повторного використання.

ВАХ сенсора перед вимірюванням бета-лактоглобуліну та після (рис. 4.23) практично ідентичні, що є чудовим показником повної десорбції білка у процесі очищення його поверхні.

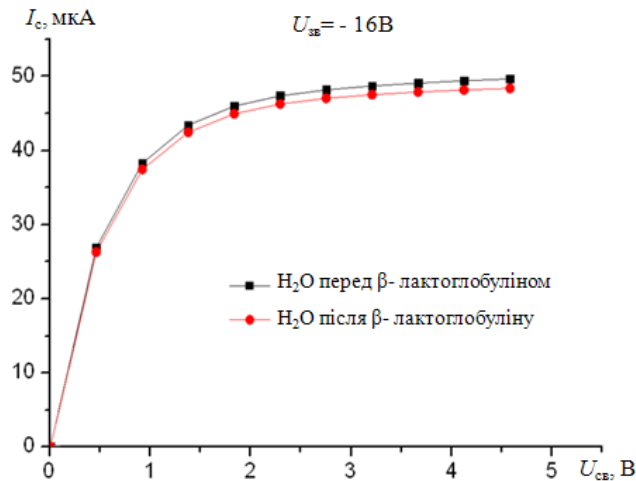


Рис. 4.23. ВАХ сенсора перед нанесенням бета-лактоглобуліну та після проведення вимірювань.

Вплив освітлення на проведення вимірювань наведено на рис. 4.24. Оскільки освітлення призводить до збільшення відгуку сенсора, тому для проведення експериментів потрібно забезпечувати стабільні умови щодо освітлення, а саме, поміщати робочу область сенсора у світлонепроникний бокс.

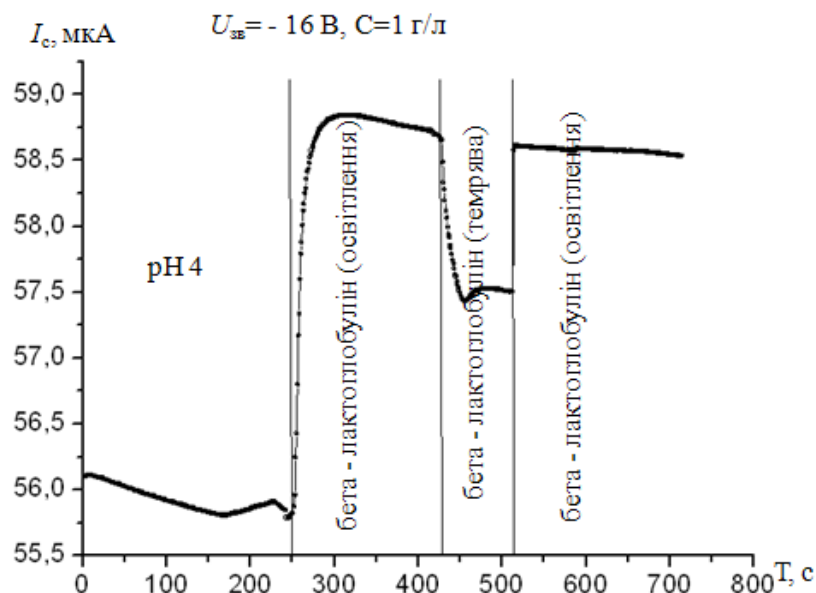


Рис. 4.24. Вплив освітлення на роботу сенсора бета-лактоглобуліну.

Таким чином, отримані результати дослідження чутливості сенсора для детектування біологічних компонентів продемонстрували перспективну його практичного використання.

4.9. Висновки до розділу 4

Резюмуючи викладене вище можемо виділити наступне:

1. Удосконалено метод селективного виявлення С-реактивного білка у плазмі крові, як маркера гострої фази процесів запалення, внаслідок модифікації ІСПТ сенсора обраним іммобілізованим антитілом. Запропоновано, досліджено й реалізовано простий, швидкий та високочутливий спосіб детектування СРБ, який потребує менше часу для дослідження хоча й має вищий поріг детектування. Проведено апробацію створеної біосенсорної системи, котра дає змогу визначати вміст СРБ не лише в еталонних розчинах, а й у реальній плазмі крові людини у встановленому діапазоні детектування протягом менше, ніж 1 хв.

2. Вперше запропоновано багат шарову структуру для детектування СРБ, використовуючи сенсор на базі ІСПТ з CeO_2 у якості підзатворного діелектрика. Порівняно з відомими аналогічними засобами вимірювання, розроблений біосенсор відрізняється простотою конструкції, технологією виготовлення та нескладним процесом іммобілізації обраного антитіла без використання додаткових витратних матеріалів для кожного експерименту, а також широкою доступністю необхідних матеріалів для виготовлення сенсора (Si , SiO_2 , CeO_2).

3. Реалізовано оригінальну конструкцію багаторазового сенсора на основі ІСПТ для детектування СРБ у плазмі крові людини. Досліджено специфічність детектування СРБ модифікованого сенсора у порівнянні зі стандартним ІФА методом використовуючи реальну плазму крові людини.

4. Експериментальні дослідження продуктивності сенсора з використанням стандартного набору проб СРБ сенсора показали, що чутливість біосенсора складає 92 мВ/(мг/л) при роботі сенсора в діапазоні концентрацій $0 \div 25$ мг/л, а при низьких концентраціях СРБ ($0,1 \div 2,5$ мг/л) – 290 мВ/(мг/л). Поріг детектування становить 0,1 мг/л.

5. Встановлено, що для розробленого сенсора тривалість одного вимірювання не перевищує 1 хв. (47 ± 2 с). Час підготовки сенсора становить приблизно 20-30

хвилин, а об'єм проби для вимірювання складає лише 20 мкл зразка. Найбільш оптимальними робочими умовами для сенсора є: температура $+19\pm 2^\circ\text{C}$, вологість $80\div 90\%$ та відсутність освітлення.

6. Розроблений сенсор показав хорошу стабільність роботи протягом 30 днів. Вагомою перевагою такого сенсора над ІФА аналізом є його можливість роботи з реальними зразками – плазмою крові. Максимальна похибка вимірювань складає до 18%, що дозволяє розглядати цей сенсор як принципову можливість впровадження його у реальних клінічних дослідженнях.

7. Експериментально встановлено, що використання додаткового буферного шару – меланіну, підвищує чутливість сенсора майже на 61% внаслідок утворення більш розгалуженої дендритної поверхні. Така структура сприяє адсорбції більшої кількості стрептавідину, а, отже, й антитіл з антигеном на робочій поверхні ІСПТ.

8. Розвинено метод детектування білка бета-лактоглобуліну і запропоновано сенсор для динамічного аналізу білка бета-лактоглобуліну на основі МДН-транзистора з підзатворним діелектриком CeO_2 в умовах забезпечення постійного об'єму аналіту, що відкриває перспективи його використання у технологіях виготовлення дієтичних продуктів харчування та експрес-аналізу.

ВИСНОВКИ

У представленій роботі вирішено важливе науково-технічне завдання – удосконалено низку методів детектування, розроблено і досліджено кремнієві сенсорні польові структури для виявлення біомолекулярних та хімічних сполук на основі нових технологій і наноматеріалів з метою покращення швидкодії, селективності, технологічності конструкції, що перевищують існуючі аналоги.

1. Вперше запропоновано сенсорні структури на базі р-канального іон-селективного польового транзистора з шаром підзатворного діелектрика CeO_2 та вперше експериментально з використанням удосконаленої методики на основі мікропотокової системи встановлено можливість досягнення чутливості на рівні 58,5 мВ/рН, максимально близької до теоретично можливої щодо рН.

2. Удосконалено метод аналізу рН фізіологічних розчинів та вперше запропоновано і розроблено сенсор перекису водню на основі МДН-транзистора з робочою тильною стороною з використанням новітніх наноматеріалів, а саме, пористого кремнію та наночастинок для порогових концентрацій до 3%. Створено прототип сенсора з вищою чутливістю (практично на 30%) у порівнянні з структурою без використання наноматеріалів.

3. Подальшого розвитку набув метод детектування перекису водню та розроблено сенсор на основі МДН-транзистора з робочою тильною стороною та експериментально встановлено, що для концентрацій перекису водню до 3% чутливість сенсора без пористої структури складає 6 мкА/%, а для сенсора з активною тильною областю з наночастинками платини чутливість становить близько 8,3 мкА/%. Використання пористого кремнію у поєднанні з наночастинками платини (каталізатора перекису водню) при виготовленні сенсорів H_2O_2 підвищує чутливість майже на 28% та зменшує час відгуку практично у 5 разів (від 550 с до 120 с) порівняно зі структурою без використання наноматеріалів. Аналіз поверхні сенсора здійснено з використанням різних методів спектроскопії.

4. Удосконалено метод селективного виявлення С-реактивного білка у плазмі крові, як маркера гострої фази процесів запалення та вперше розроблено сенсорну

структуру для його детектування на основі ІСПТ р-типу з підзатворним діелектриком CeO_2 структура поверхні якого досліджена різними методами спектроскопії.

5. Вперше експериментально встановлено властивості сенсора СРБ на основі розробленої сенсорної структури ІСПТ з підзатворним діелектриком CeO_2 та з іммобілізованим антитілом і додатковим буферним шаром меланіну для визначення маркера гострої фази СРБ. Поріг детектування такого біосенсора становить 0,1 мг/л у діапазоні вимірюваних концентрацій СРБ 0,1÷2,5 мг/л; чутливість дорівнює 290 мВ/(мг/л); час проведення вимірювань становить близько 1 хв.; необхідна кількість розчину для аналізу - 20 мкл; підвищення чутливості на 61% з використанням додаткового буферного шару – меланіну, порівняно з сенсором без такого шару. Практичність розробленого сенсора перевірено на реальних зразках плазми крові. Відхилення результатів від калібровочних для стандартного тестового набору концентрацій антигену СРБ (MyBioSource, USA) склало менше 18%.

6. Удосконалено метод детектування білка бета-лактоглобуліну та вперше запропоновано і досліджено сенсорну структуру на основі МДН-транзистора з підзатворним діелектриком CeO_2 щодо проведення динамічних досліджень білка бета-лактоглобуліну та удосконалено методику проведення його вимірювання, яка полягала у забезпеченні постійного об'єму аналіту в умовах мінімізації впливу на вимірювання зовнішніх факторів.

7. Вперше запропоновано застосування сенсорної структури ІСПТ на основі CeO_2 для моніторингу стану забруднення морської води та рівня NaCl – основного компоненту фізіологічного розчину.

8. Запропоновано аналітичну модель сенсора з квантовими точками, розміщеними у приповерхневій області напівпровідника між стоком та витоком, що теоретично прогнозує підвищення чутливості сенсора на 50%.

Викладені у дисертації нові практичні результати досліджень знайшли застосування у навчальному процесі підготовки фахівців за спеціальностями 162 «Біотехнології та біоінженерія» та 153 «Мікро- і наносистемна техніка» КПІ ім. Ігоря Сікорського. Використання результатів роботи підтверджується відповідними

актами (ДОДАТОК А, Б). Результати роботи можуть бути впроваджені у лікувально-діагностичних центрах, медичних наукових установах, які дозволять підвищити ефективність їх роботи.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Lee, M. H. Quantitative measurements of C-reactive protein using silicon nanowire arrays / M. H. Lee, K. N. Lee, S. W. Jung, W. H. Kim, K. S. Shin and W. K. Seong // *International journal of nanomedicine*. – 2008. – №3 (1). – p.117-124.
2. Джелали, В. В. Количественная экспресс-идентификация антигенов и антител / В. В. Джелали // *Sensor Electronics and Microsystem Technologies*. - 2013 – Т.10. –№1. – с.85-96.
3. Lee C.-S. Ion-Sensitive Field-Effect Transistor for Biological Sensing / C.-S. Lee, S.-K. Kim, M. Kim // *Sensors*. – 2009. – № 9. – p.7111-7131. – ISSN 1424-8220.
4. Wenjia W. A. label-free fiber optic SPR biosensor for specific detection of C-reactive protein / W. Wang, M. Zhigang, C. Yuzhi, W. Jiaqi, Li. Liang, Su Qingnin, Li Xuejin, H. Xueming // *Scientific Reports*. – 2017. – №7. – Article number: 16904.
5. Prakrankamanant P. Quartz crystal microbalance biosensors: prospects for point-of-care diagnostics / P. Prakrankamanant // *Journal of the Medical Association of Thailand*. 2014. – № 97 (4). – p.56-64.
6. Drain P. K. Diagnostic point-of-care tests in resource-limited settings / P. K. Drain, E. P. Hyle, F. Noubary, K. A. Freedberg, D. Wilson, W. R. Bishai, W. Rodriguez and I. V. Bassett // *The Lancet Infectious Diseases*. – 2014. –№14 (3). – p.239-249.
7. Chen Pei-Chi. Field-Effect Transistor-Based Biosensors and a Portable Device for Personal Health care / Pei-Chi Chen, Yen-Wen Chen, Indu Sarangadharan, Chen-Pin Hsu, Chih-Chen Chen, Shu-Chu Shiesh, Gwo-Bin Leeand, Yu-Lin Wang // *ECS Journal of Solid State Science and Technology*. 2017. - №6 (7). - p.Q71-Q76.
8. Stern E. Electrical characterization of single GaN nanowires / E. Stern, G. Cheng, E. Chimpoiasu, R. Klie, S. Guthrie, J. F. Klemic, I. Kretzschmar, E. Steinlauf, D. B. Turner-Evans, E. Broomfield, J. Hyland, R. Koudelka, T. Boone, M. Young, A. Sanders, R. Munden, T. Lee, D. A. Routenberg, M. A. Reed. // *Nanotechnology*. – 2005. – №16. – p.2941–2953.
9. Stern E. A. Nanoelectronic Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Proteins in Physiological Solutions / E. Stern, A. Vacic, C. Li, F. N. Ishikawa,

C. Zhou, M. A. Reed and T. M. Fahmy // *Small*. – 2010. – № 6 (2). – p.232-238.

10. Дзядевич С. В. Наукові та технологічні засади створення мініатюрних електрохімічних біосенсорів / С. В. Дзядевич, О. П. Солдаткін. – Наукова думка: Київ. – 2006. – 256 с.

11. Shruthi G. S. Biosensors: A Modern Day Achievement / G.S. Shruthi, C.V. Amitha and Blessy Baby Mathew. // *Journal of Instrumentation Technology*. – 2014. – №2(1). – p.26-39.

12. Grieshaber D. Electrochemical Biosensors – Sensor Principles and Architectures / D. Grieshaber, R. MacKenzie, J. Vörös and E. Reimhult // *Sensors*. – 2008. – №8. – p.1400-1458. – ISSN 1424-8220.

13. Vacic A. Determination of Molecular Configuration by Debye Length Modulation / A. Vacic, J. M. Criscione, N. K. Rajan, E. Stern, T. M. Fahmy and M. A. Reed // *Journal of the American Chemical Society*. – 2011. – №133, p.13886-13889.

14. Mohanty P. Y. Field Effect Transistor Nanosensor for Breast Cancer Diagnostics / P. Y. Mohanty, Y. Chen, X. Wang, M. K. Hong, C. L. Rosenberg, D. T. Weaver and S. der Erramilli // *Biosensors and Molecular Technologies for Cancer Diagnostics*. – 2012. – p.747–764.

15. Dmitrienko E. Surface modification of SOI-FET sensors for label-free and specific detection of short RNA analyte / E. Dmitrenko, O. Naumova, B. Fomin, M. Kupryushkin, A. Volkova, N. Amirkhanov, D. Semenov, I. Pyshnaya, D. Pyshnyi // *Nanomedicine*. – 2016. – № 11(16). – p.2073-2082.

16. Гайда Г. Біосенсори: наукові основи конструювання та приклади їх застосування для аналізу токсичних сполук/ Г. Гайда, М. Гончар, О. Демків // *Вісник НТШ: інформаційне видання / Світова рада Наукових товариств імені Шевченка*. – Львів. – 2013. – №49. – с.66–70. – Бібліографія.

17. Favetta M. Development of Si-based electrical biosensors: Simulations and first experimental results / M. Favetta, A. Valletta, G. Fortunato, M-E. Castagna, S. Conoci, E-L. Sciuto, T. Cosentino, F. Sinatra, S. Libertino // *Sensing and Bio-Sensing Research*. – 2015. – №6. – p.72-78.

18. Poghossian A. Label-free detection of charged macromolecules by using a

field-effect-based sensor platform: Experiments and possible mechanisms of signal generation / A. Poghosian, S. Ingebrandt, M. H. Abouzar, M. J. Schoning // *Appl. Phys. A.* – 2007. – Vol. 87, №3. – p.517–524.

19. Bergveld P. Development of an ion-sensitive solid-state device for neurophysiological measurements / P. Bergveld // *IEEE Trans. Biomed. Eng.* – 1970. – 17.- p.70-71.

20. Zhang Qi. Surface Functionalization of Ion-Sensitive Floating-Gate Field-Effect Transistors With Organic Electronics / Qi Zhang, S. M. Himadri, K. Matti, P. Alok, I. Ari, O. Ronald, R. Arifur and L. Kalle // *IEEE Transaction on Electron Devices.* – Vol. 62, № 4. – April 2015. – p.1291– 1298.

21. Chiang J.- L. Study on the temperature effect, hysteresis and drift of pH-ISFET devices based on amorphous tungsten oxide / J.- L.Chiang, S. – S. Jan, J.-C. Chou, Y.-C. Chen.// *Sensors and Actuators, B.* –2001. - c.624-628.

22. Schoot B. H. V. D. ISFET Based Enzyme Sensors / B. H. V. D. Schootand P. Bergveld // *Biosensors.* – 1988. – №3. – p.161-186.

23. Dzyadevich S. V. Application of enzyme field-effect transistors for determination of glucose concentrations in blood serum / S. V. Dzyadevich, Y. I. Korpan, V. N. Arkhipova, M. Y. Alesina, C. Martelet, A. V. El'Skaya, A. P. Soldatkin. // *Biosensor and Bioelectronics.* – 1999. – 14. – p.183-187.

24. Pijanowska D. Biosensors for bioanalytical applications / D. Pijanowska, W. Torbicz // *Bull. Pol. Acad. Sci. - Tech. Sci.* – 2005. – №53. – p.251–260.

25. Schöning M. Bio FEDs (Field-Effect devices): State-of-the-art and new directions. / M. Schöning, A. Poghosian // *Electroanalysis.* – 2006. – №18. – p.1893–1900.

26. Zayats M. An integrated NAD⁺-dependent enzyme-functionalized field-effect transistor (ENFET) system: development of a lactate biosensor / M. Zayats, A. Kharitonov, E. Katz, A. Bückmann, I. Willner // *Biosensors and Bioelectronics.* – 2000. –№15. – p.671–680.

27. Schasfoort R. A new approach to immunoFET operation / R. Schasfoort, R. Kooyman, P. Bergveld, J. Greve // *Biosensors and Bioelectronics.* – 1990. – №5. – p.103–

124.

28. Yuqing M. Ion sensitive field effect transducer-based biosensors / M. Yuqing, G. Jianguo, C. Jianrong // *Biotechnol. Adv.* – 2003. – №21. – p.527–534.

29. Qu L. A micro-potentiometric hemoglobin immunosensor based on electropolymerized polypyrrole–gold nanoparticles composite / L. Qu, S. Xia, C. Bian, J. Sun, J. Han // *Biosensors and Bioelectronics.* – 2009. – №24. – p.3419-3424.

30. Janata J. Chemically sensitive field effect transistors / J. Janata, S. Moss. // *Biomed. Eng.* – 1976. – №6. – c.241–245.

31. Marrakchi M. Development of trypsin biosensor based on ion sensitive field-effect transistors for proteins determination / M. Marrakchi, S. Dzyadevych, O. Biloivan, C. Martelet, P. Temple, N. Jaffrezic-Renault // *Mater. Sci. Eng. C.* – 2006. – №26. – p.369–373.

32. Marrakchi M. Development of trypsin biosensor based on ion sensitive field-effect transistors for proteins determination / M. Marrakchi, S. Dzyadevych, O. Biloivan, C. Martelet, P. Temple, N. Jaffrezic-Renault // *Mater. Sci. Eng. C.* – 2006. – №26. – p.369–373.

33. Freeman R. Analysis of dopamine and tyrosinase activity on Ion-Sensitive Field-Effect Transistor (ISFET) devices / R. Freeman, J. Elbaz, R. Gill, M. Zayats, I. Willner // *Chem. Eur. J.* – 2007. – №13. – p.7288–7293.

34. Shmyreva[†] A. N. Electronic Sensors Built on Nanostructured Cerium Oxide Films / A. N. Shmyreva[†], A. V. Borisov, and N. V. Maksimchuk // *Nanotechnologies in Russia.* – 2010. – Vol. 5. – № 5–6. – p.382–389.

35. Vijayalakshmi A. Enzyme field effect transistor (ENFET) for estimation of triglycerides using magnetic nanoparticles / A. Vijayalakshmi, Y. Tarunashree, B. Baruwati, S. Manorama, B. Narayana, R. Johnson, N. Rao // *Biosensors and Bioelectronics.* – 2008. – № 23. – c.1708-1714.

36. Migita S. Enzyme-based field-effect transistor for adenosine triphosphate (ATP) sensing / S. Migita, K. Ozasa, T. Tanaka, T. Haruyama // *Analyt. Sci.* – 2007. – №23. – c. 45–48.

37. Патент 56857 Україна МПК G01N 27/414 Ферментний біосенсор для

визначення концентрацій L-карнітину / О. А. Назаренко, С. В. Марченко, В. М. Архипова, О. П. Солдаткін, О. С. Павлюченко, О. Л. Кукла (Україна) Бюл.№2, Заявл. 08.07.2010; Опубл. 25.01.2011.

38. Volotovskiy V. Glucose-sensitive ion-sensitive field-effect transistor-based biosensor with additional positively charged membrane. Dynamic range extension and reduction of buffer concentration influence on the sensor response / V. Volotovskiy, A. Soldatkin, A. Shul'ga, V. Rossokhaty, V. Strikha, A. El'skaya // *Anal. Chim. Acta.* – 1996. – №322. – p.77–81.

39. Иванов В. К. Нанокристаллический диоксид церия: свойства, получение, применение / В. К. Иванов, А. Б. Щербаков, А. Е. Баранчиков, В. В. Козик // под ред. член-корр. НАНУ Н. Я. Спивака и акад. РАН Ю.Д. Третьякова, Томск: Изд-во Том. Ун-та, 2013. 284 с.

40. Baranchikov A. E. Lattice expansion and oxygen on stoichiometry of nanocrystalline ceria / A. E. Baranchikov, O. S. Polezhaeva, V. K. Ivanov, Y. D. Tretyakov // *Cryst. Eng. Comm.* – 2010. – № 12. – с.3531–3533.

41. Faisal M. Role of ZnO–CeO₂ nanostructures as a photo-catalyst and chemi-sensor / M. Faisal, S.B.Khan, M. M. Rahman, A. Jamal, K. Akhtar, M. M. Abdullah // *Journal Mater. Sci.Technol.* – 2011. – №27. – p.594–600.

42. Kaisti M. Detection principles of biological and chemical FET sensors / M.Kaisti // *Biosensors and Bioelectronics.* – 2017. – №98. – p.437–448.

43. Yates D. E. Site-binding model of the electrical double layer at the oxide/water interface / D. E.Yates, S. Levine, T. W.Healy // *Journal Chem Soc., Faraday Trans .* – 1974. – №70. – p.1807-1818.

44. Chen S. Electronic Sensors Based on Nanostructured Field-Effect Devices / S. Chen // *Acta Universitatis Upsaliensis. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology* 1018. – 2013. – p.72. – ISBN 978-91-554-8596-2.

45. Bryan T. An optimised electrochemical biosensor for the label-free detection of C-reactive protein in blood / T. Bryan, L. Xiliang, R. B. Paulo, J. D. Jason // *Biosensors and Bioelectronics.* – 2013. –№39. – p.94–98.

46. Cheng X. Pu. Rapid and quantitative detection of creactive protein using quantum dots and immunochromatographic test strips / X. Pu. Cheng, P. Jun, X. Zhu, D. Zhu, M. Chen // *Int. J. Nanomedicine*. – 2014. – №9. – p.5619.
47. Prestegard E. The future of point-of-care testing using C-reactive protein – ideal tool for diagnosis, prognosis and therapy management / E. Prestegard // *Business briefing: Europeanen doctrine review*. – 2006. – p.1-4.
48. Espe K. High-normal C-reactive protein levels do not affect the vitamin A transport complex in serum of children and adolescents with type 1 diabetes / K. Espe, A. Galler, J. Raila, W. Kiess, F. Schweigert // *Pediatr. Res*. – 2007. – №62. – p.741-745.
49. Ducloux D. C-reactive protein and cardiovascular disease in peritoneal dialysis patients / D. Ducloux, C. Bresson-Vautrin, M. Kribs, A. Abdelfatah, J.-M. Chalopin // *Kidney Int*. – 2002. – №62. – p.1417-1422.
50. Anne M. D. Immunoturbidimetric determination of C-reactive protein (CRP) and high-sensitivity CRP on heparin plasma. Comparison with serum determination / M. D. Anne, S. Badiou, B. Descomps, P. Cristol Jean // *Clin. Chem. Lab. Med*. – 2003. – №41. – p.948-949.
51. Borque L. Development and validation of an automated and ultrasensitive immunoturbidimetric assay for C-reactive protein / L. Borque, L. Bellod, A. Rus, M.L.Seco, F. Galisteo-González // *Clin. Chem*. – 2000. – №46. – p.1839-1842.
52. Kamath D. Y. High sensitivity C-reactive protein (hsCRP) & cardiovascular disease: An Indian perspective / D. Y Kamath, D. Xavier, A. Sigamani and P. Pais // *Indian J Med Res*. – 2015. – №142(3). – p.261-268.
53. Sohn Y.-S. Detection of C-reactive protein using BioFET and extended gate / Y.-S. Sohn, S.-K. Lee, S.-Y. Choi // *Sens. Lett*. – 2007. – №5. – p.421-424.
54. Justino C. I. L. Disposable immunosensors for C-reactive protein based on carbon nanotubes field effect transistors / C. I. L. Justino, A. C. Freitas, J. P. Amaral, T. A. P. Rocha-Santos, S. Cardoso, A. C. Duarte // *Talanta*. – 2013. – №108. – p.165–170.
55. Lee H. H. AlGaIn/GaN High Electron Mobility Transistor-Based Biosensor for the Detection of C-Reactive Protein / H. H. Lee, M. Bae, S. H. Jo, J. K. Shin, D. H. Son, C. H. Won, H. M. Jeong, J. H. Lee, S.W. Kang // *Sensors*. – 2015. – №15. – p.18416-

18426.

56. Vance S. A. Zeptomole Detection of C-Reactive Protein in Serum by a Nanoparticle Amplified Surface Plasmon Resonance Imaging Aptasensor / S. A. Vance, M. G. Sandros. // *Sci. Rep.* – 2014. - № 4. – Article number 5129.

57. Hennessey H. Electrochemical investigations of the interaction of C-reactive protein (CRP) with a CRP antibody chemically immobilized on a gold surface /H. Hennessey, N. Afara, S. Omanovic, A. L. Padjen // *Anal.Chim.Acta.* – 2009. – №643. – p.45-53.

58. Kim N. Development of indirect-competitive quartz crystal microbalance immunosensor for C-reactive protein / N. Kim, D.-K. Kim, Y.-J. Cho // *Sens. Actuators B Chem.* – 2009. – №143. – p.444-448.

59. Yen Y. K. Electrical detection of C-reactive protein using a single free-standing, thermally controlled piezoresistive microcantilever for highly reproducible and accurate measurements / Y. K. Yen, Y. C. Lai, W. T. Hong, Y. Pheanpanitporn, C. S. Chen, L. S. Huang. // *Sensors.* – 2013. – №13. – p.9653-9668.

60. Salvo P. Sensors and Biosensors for C-Reactive Protein, Temperature and pH, and Their Applications for Monitoring Wound Healing: A Review / P. Salvo, V. Dini, A. Kirchhain, A. Janowska, T. Oranges, A. Chiricozzi, T. Lomonaco, F. Di Francesco, M. Romanelli // *Sensors.* – 2017. – Т. 17. – №.12. – p.2952.

61. Зотова Е. Г. С-реактивный белок: строение, свойства и способы его выделения / Е. Г. Золотова, Е. Б. Мысякин, С. Ж. Токсамбаева, К. С. Рубцов, Г. А. Серебренникова // *Биоорган. химия.* – 1995. – Т. 25. – №. 10. – с.739-751.

62. Wu T.-L. Establishment of an in-house ELISA and the reference range for serum amyloid A (SAA): complementarity between SAA and C-reactive protein as markers of inflammation / T.-L.Wu, I. C. Tsai, P.-Y. Chang, K.-C. Tsao, C.-F. Sun, L. L.Wu, J. T. Wu // *Clin. Chim. Acta.* – 2007. – №376. – p.72–76.

63. Sadir S. Fiber based enzyme linked Immuno Sorbent assay for C-reactive protein / S. Sadir, M. P. Prabhakaran, D. H. B. Wicaksono, S. Ramakrishna. // *Sensors Actuators B Chem.* – 2014. – №205. – p.50–60.

64. Park H.-J. Monitoring of C-Reactive Protein Using Ion Sensitive Field Effect

Transistor Biosensor / H.-J. Park, S. K. Kim, K. Park, S. Y. Yi, J. W. Chung, B. H. Chung, M. Kim / *Sens. Lett.* – 2010. – №8. – p. 233–237.

65. Sohn Y.-S. Field-effect-transistor type C-reactive protein sensor using cysteine-tagged protein G / Y.-S. Sohn, Y. T. Kim // *Electron. Lett.* – 2008. – №44. – p.955–956.

66. Lee M. H. Measurements of serum C-reactive protein levels in patients with gastric cancer and quantification using silicon nanowires arrays / M. H. Lee, D. H. Lee, S. W. Jung, K. N. Lee, Y. S. Park, W. K. Seong // *Nanomedicine.* – 2010. – №6. – p.78–83.

67. Lee M. H. Multiplexed detection of protein markers with silicon nanowire FET and sol-gel matrix /M. H. Lee, K. Lee, S. W. Jung // In Proceedings of the 34th Annual International Conference of the IEEE EMBS, San Diego, CA, USA, 28 August–1 September 2012.

68. Ahn J.-H. A nanogap-embedded nanowire field effect transistor for sensor applications: Immunosensor and humidity sensor / J.-H. Ahn, J.-Y. Kim, M. Im, J.-W. Han, Y.-K. Choi // In Proceedings of the 14th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences 2010, Groningen, The Netherlands, 3–7 October 2010. – p.1301–1303.

69. Kim C. H. CRP detection from serum for chip-based point-of-care testing system / C. H. Kim, J. H. Ahn, J. Y. Kim, J. M. Choi, K. C. Lim, T. J. Park; N. S. Heo, H. G. Lee, J. W. Kim, Y. K. Choi // *Biosensors and Bioelectronics.* – 2013. – №41. – p.322–327.

70. Кутова О. Ю. Швидкий аналіз СРБ з використанням біосенсора на основі ІСПТ / О. Ю. Кутова, М. Г. Душейко, К. О. Шкель, В. І. Тимофєєв. // *Вчені записки Таврійського Національного університету імені В.І. Вернадського, Серія: технічні науки, Том 29 (68).* – № 4(2). – 2018. – с.176-180.

71. Koukouvinos G. Simultaneous determination of CRP and D-dimer in human blood plasma samples with White Light Reflectance Spectroscopy / G. Koukouvinos, P. Petrou, K. Misiakos, D. Drygiannakis, I. Raptis, G. Stefanitsis, S. Martini, D. Nikita, D. Goustouridis, I. Moser, G. Jobst, S. Kakabakos // *Biosensors and Bioelectronics.* – 2016. – № 84. – p.89–96.

72. Gupta R. K. Label-free detection of C-reactive protein using a carbon nanofiber based biosensor / R. K. Gupta, A. Periyakaruppan, M. Meyyappan, J. E. Koehne // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2014. – №59(9). – с.112-119.

73. Liu C. Research on highly sensitive optomagnetic sensor for rapid detection of inflammation / C. Liu, H. Cai, J. Jia, T. Cao, C. Xu, C. Liu // *Technology and Health Care*. – 2017. – №25(S1). – p.151-156. – doi.org/10.3233/THC-171317.

74. Guo L. A sensitive and innovative detection method for rapid C-reactive proteins analysis based on a micro-flux gate sensor system / L. Guo, Z. Yang, S. Zhi, Z. Feng, C. Lei, Y. Zhou // *PLoS ONE*. – 2018. – №13(3). – doi.org/10.1371/journal.pone.0194631.

75. Surmalyan A. V. Surface potential behavior in ISFET based bio-(chemical) sensors with two insulator layers in dark and under intensity modulated irradiation / A. V. Surmalyan and F.V. Gasparyan // *Armenian Journal of Physics*. – 2009. – №2 (4). – p.326-332.

76. Chu C.-H. Beyond the Debye length in high ionic strength solution: direct protein detection with field-effect transistors (FETs) in human serum / C.-H. Chu, I. Sarangadharan, A. Regmi, Y.-W. Chen, C.-P. Hsu, W.-H. Chang, G.-Y. Lee, J.-I. Chyi, C.-C. Chen, S.-C. Shiesh, G.-B. Lee, Yu-L. Wang // *Scientific Reports*. – 2017. – № 7. – Article number: 5256.

77. Lin S. Measurement of dimensions of pentagonal doughnut-shaped C-reactive protein using an atomic force microscope and a dual polarisation interferometric biosensor / S. Lin, C.-K. Lee, Y.-M. Wang, L.-S. Huang, Y.-H. Lin, S.-Y. Lee, B.-C. Sheu, S.-M. Hsu // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2006. – № 22. – p.323–327.

78. Максимчук Н. В. Процеси взаємодії біохімічних комплексів з поверхнею плівки нанокристалічного оксиду церію / Н. В. Максимчук // *Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології*. – 2009. – Т.7, №3. – с. 813–824.

79. Максимчук Н. В. Свойства и практическое применение нанокристаллических пленок оксида церия / Н. В. Максимчук, А. Н. Шмырева, А. В. Борисов // *Технология и конструирование в электронной аппаратуре*. – 2010. – №5–6. – с.54-59.

80. Иванов В. К. Структурно-чувствительные свойства и биомедицинские применения нанодисперсного диоксида церия / В. К. Иванов, А. Б. Щербаков, А. В. Усатенко // *Успехи химии*. – 2010. – №78 (9). – с.924 - 941.
81. Кутова О. Ю. Біосенори на МДН-транзисторах на основі SiO_2 та CeO_2 // О. Ю. Кутова / *Електроніка–2016: збірник тез ІХ міжнародної науково-технічної конференції молодих вчених, Україна, ФЕЛ НТУУ «КПІ». 13-15 квітня. 2016.* – с.162-165.
82. Herman S. H. pH sensing characteristics of silicon nitride thin film and silicon nitride-based ISFET sensor / S. H. Herman, A. Z. Abdulah, M. Zolkapli, W. F. H. Abdulah // *IEEE 4th Control Syst. Grad. Res Collog.* – 2013. – p.132-135.
83. Duroux P. The ion sensitive field effect transistor (ISFET) pH electrode: a new sensor for long term ambulatory pH monitoring / P. Duroux, C. Emde, P. Bauerfeind, C. Francis, A. Grisel, L. Thybaud, D. Armstrong, C. Depeursinge, A. L. Blum // *Gut*. – 1991. – №32(3). – p.240–245.
84. Павлюченко А. С. Дослідження стабільності характеристик рН-чутливих польових транзисторів / А. С. Павлюченко, А. Л. Кукла, Ю. В. Голтвянский, В. М. Архипова, С. В. Дзядевич, А. П. Солдаткин // *Оптоэлектроника и полупроводниковая техника*. – 2010. – № 45. – с.90-99.
85. Scott J. G. National Kidney Foundation Primer on Kidney Diseases / J. G. Scott and D. E. Weiner // A. N. Mehta and M. Emmett. – 12 – Approach to Acid-Base Disorders. – 2014. – с.113-122.
86. Singh V. Blood gas analysis for bed side diagnosis / V. Singh, S. Khatana and P. Gupta // *National journal of maxillofacial surgery*. – 2013. – №4(2). – с.136-141.
87. Chen S. H. Electrochemical sensing of hydrogen peroxide using metal nanoparticles: a review / S. H. Chen, R. Yuan, Y. Q. Chai, F. X. Hu. // *Microchim Acta*. – 2013. – №180. – p.15-32. – doi.org/10.1007/s00604-012-0904-4.
88. Ensafi Ali A. Electrochemical sensor based on porous silicon/silver nanocomposite for the determination of hydrogen peroxide / Ali A. Ensafi, F. Rezaei, B. Rezaei // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2016. – № 231. –p. 239-244. – doi.org/10.1016/j.snb.2016.03.018.

89. Dam T. V. Anh Electroactive Gate Materials for a Hydrogen Peroxide Sensitive E MOSFET. / T. V. Anh Dam, W. Olthuis and P. Bergveld // IEEE sensor journals. – № 2 (1). – 2002. – p.26-33.
90. Guo S. J. Carbon nanotube/silica co axial nanocables a three-dimensional support for loading diverse ultra-high-density metal nanostructures: facile preparation and use as enhanced materials for electrochemical devices and SERS // S. J.Guo, J. Li,W. Ren, D. Wen, S. J. Dong, E. K. Wang / Chem. of Mater. – 2009. – №21. – p. 2247–2257.
91. Rad A. A review on glucose and hydrogen peroxide biosensor based on modified electrode included silver nanoparticles / A. S. Rad, A. Mirabi, E. Binaian, H. Tayebi // Int J Electrochem Sci. – 2011. – №6. –p.3671–3683.
92. Ampelli C. Electrochemical H₂O₂ sensors based on Au/CeO₂ nanoparticles for industrial applications / C. Ampelli, S. Leonardi, A. Bonavita, C. Genovese, G. Papanikolaou, S. Perathoner, G. Centi, G. Neri // Chemical Engineering Transactions. – 2015. – №43. – p.733-738. – doi.org/10.3303/CET1543123.
93. Wang F. Direct electron-transfer of myoglobin within a new zwitterionicgemini surfactant film and its analytical application for H₂O₂ detection / F. Wang , S. S. Hu // Colloid Surf. B. – 2008. – №63. p.262-268.
94. Cui K. A Novel hydrogen peroxide sensor based on Ag nanoparticles electrodeposited on DNA-networks modified glassy carbon electrode / Y. H. Song, Y. Yao, Z. Z. Huang, L. Wang // Electrochem. Commun. – 2008. – №10. – p.663-667.
95. Wang W. Amperometric hydrogen peroxide biosensor based on the immobilization of heme proteins on gold nanoparticles-bacteria cellulose nanofibers nanocomposite / W. Wang, T. J. Zhang, D. W. Zhang, H. Y. Li, Y. R. Ma, L. M. Qi, Y. L. Zhou, X. X. Zhang // Talanta. – 2011. – №84. – p.71-77.
96. Zhang W. Au / CeO₂ – chitosan composite film for hydrogen peroxide sensing / W. Zhang, G. Xie, S. Li, L. Lu, B.Liu // Appl. Surf. Sci. – №258. –p.8222-8227.
97. Walcariusand A. Ordered porous thin films in electrochemical analysis / A. Walcariusand, A. Kuhn // Trends Anal. Chem. 2008. – №27. – p.593–603.
98. Kaisti M. An Ion-Sensitive Floating Gate FET Model: Operating Principles and Electrofluidic Gating / M. Kaisti, Q. Zhang, F. Lehmusvuori, A. Rahman, K. Levon //

IEEE Transactions On Electron Devices.– 2015. – Vol. 62. – №8.– p.2628-2635.

99. Narang A. R. Drain current model of a four-gate dielectric modulated MOSFET for application as a biosensor / A. R. Narang, M. Saxena, M. Gupta // IEEE Transactions On Electron Devices. – 2015. – Vol. 62. – №8. – p.2636-2644.

100. Popescu D. Modeling of electrolyte-gated organic thin-film transistors for sensing applications / D. Popescu, B. Popescu, M. Brändlein, K. Melzer, P. Lugli // IEEE Transactions On Electron Devices.– 2015. –Vol. 62. – №12. – p.4206-4212.

101. Kim J-Y. An under lap channel-embedded field-effect transistor for biosensor application in watery and dry environment / J-Y. Kim, J-H. Ahn, S-J. Choi, M. Im, S. Kim, J. P. Duarte, C-H. Kim, T. J. Park, S.Y. Lee, Y-K.Choi // IEEE Transactions On Electron Devices. – 2012. – Vol. 11. – №2. – p.390-394.

102. Тимофеев В. И. Анализ процессов релаксации импульса и энергии в гетеротранзисторах с системами квантовых точек / В. И. Тимофеев, Е. М. Фалеева // Электроника и связь.– 2014.– №6.– с.54-56.

103. Рындин Е.А. Субмикронные интегральные схемы: элементарная база и проектирование / Е. А. Рындин, Б. Г. Коноплев. – Таганрог: Изд-во ТРГУ. – 2001. – 147 с.

104. Нелаев В. В. Основы САПР в микроэлектронике / В. В. Нелаев, В. Р. Стемпичкий. – Минск: БГУИР. – 2008. – 221 с.

105. Польский Б.С. Численное моделирование полупроводниковых приборов / Б.С. Польский. – Рига: Зинатне, 1986. – 168 с.

106. Кутова О. Ю. Моделирование полевых структур для биосенсоров с системами квантовых точек / О. Ю. Кутова, В. И. Тимофеев, О. И. Шуляк // Electronics and Communications. – 2016. – Т. 21, №2. – с.18-24.

107. Harraz F. A. Porous silicon chemical sensors and biosensors: A review / F. A. Harraz // Sens. Actuators B Chem. – 2014 . – №202. – p.897-912.

108. Anglin E. J. Porous silicon in drug delivery devices and materials /E. J. Anglin, L. Cheng, W. R. Freeman, M. J. Sailor // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2008. – № 60. – p.1266–1277.

109. Zehfroosh N. High-Sensitivity Ion-Selective Field-Effect Transistors Using

Nanoporous Silicon / N. Zehfroosh, M. Shahmohammadi, S. Mohajerzadeh // IEEE Electron Device Lett. – 2010. – №31. – p.1056–1058.

110. Reddy R. R. K. Estimation of triglycerides by a porous silicon based potentiometric biosensor / R. R. K. Reddy, I. Basu, E. Bhattacharya, A. Chadha // Curr. Appl. Phys. – 2003. – №3. – p.155–161.

111. Parizi K.B. Exceeding Nernst limit (59 mV/pH): CMOS-based pH sensor for autonomous applications / K. B. Parizi, A. J. Yeh, A. S. Y. Poon, H. S. P. Wong // Electron Devices Meeting (IEDM). In Proceedings of the 2012 IEEE International, San Francisco, CA, USA, 10–13 December, 2012. – p.24.7.1–24.7.4.

112. Al-Hardan N. H. High Sensitivity pH Sensor Based on Porous Silicon (PSi) Extended Gate Field-Effect Transistor / N. H. Al-Hardan, M. A. Hamid, N. M. Ahmed, A. Jalar, R. Shamsudin, N. K. Othman, L. K. Keng, W. Chiu and H. N. Al-Rawi // Sensors. – 2016. – №16(6). – p.839.

113. Kutova O. H₂O₂ sensor based on MOSFET with active layer in substrate area / O. Kutova, M. Dusheiko, T. Obukhova, N. Maksimchuk, T. Borodina, V. Tymofeev // Sensor Electronics and Microsystem Technologies. – 2017 – Т. 14, №4. – p.5-12.

114. Захарова И. Б. Физические основы микро-и нанотехнологий / И. Б. Захарова – Санкт-Петербург, Издательство Политехнического университета. – 2010. – 201 с.

115. Мурзагулова К. Б. Диспергирование и синтез «зеленой химии» наночастиц металлов / К. Б. Мурзагулова, З. Ж. Арипжанова, Б. Х. Мусабаева // Молодой ученый. – 2014. – №7. – с.17-20.

116. Fendrych F. Preparation of Nanostructured Magnetic Films by the Plasma Jet Technique / F. Fendrych, L. Kraus, O. Chayka, P. Lobotka, I. Vavra, J. Tous, V. Studnicka, Z. Frait. // Monatsh. Chem. – 2002. – №133. – с.773.

117. Генералів М. Б. Криохімічна нанотехнологія: Учеб. Посібник для вузів / М. Б. Генералів. – М.: ІКЦ. Академкнига, 2006. – 325 с.

118. Кутова О. Ю. H₂O₂ сенсор на базі польового транзистора з модифікованими наночастками платини // О. Ю. Кутова, Т. І. Бородінова, Н. В. Максимчук, М. Г. Душейко // Функціональна база наноелектроніки 18-23 вересня:

Сборник научных трудов IX международной конференции, Украина, м. Одеса, Одеський національний університет ім. Мечникова. – 2017. – с.82-85.

119. Li X. Metal-assisted chemical etching in HF/H₂O₂ produces porous silicon / X. Li, P. W. Bohn // *Applied Physics Letters*. – 2000. – №77 (16). – p.2572.

120. Вашпанов Ю. О. Адсорбційна чутливість напівпровідників: Монографія / Ю. О. Вашпанов, В. А. Сминтина. – Одеса: Астропринт. – 2005. – 216 с. (рос. мовою).

121. Kutova O. Hydrogen Peroxide Measurements by MISFET and LET Structures with Rear Porous Silicon Layer and Metallic Nanoparticles / Oksana Kutova, Mykhailo Dusheiko, Bogdan Loboda, Tetyana Obukhova, Tetyana Borodinova, Serhyi Tkach // *Microsystems, Electronics and Acoustics*. – 2018. – Т. 23, – № 5 – p.17-24. – doi.org/10.20535/2523-4455.2018.23.5.141665

122. Schumb W. C. Hydrogen peroxide / W. C. Schumb, C. N. Satterfield and R. L. Wentworth // A. C. S. Monograph №. 128. Reinhold Publishing Corporation. – New York.–1955. – p. xiii+759.

123. Ensafi Ali. A. Electrochemical determination of hydrogen peroxide using copper/porous silicon based non-enzymatic sensor / Ali A. Ensafi, M. Mokhtari Abarghoui, B. Rezaei // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2014. – №196. – p.398-405.

124. Al-Hardan N. H. Electrochemical Hydrogen Peroxide Sensor Based on Macroporous Silicon / N. H. Al-Hardan, M. A. Abdul Hamid, R. Shamsudin, E. M. Al-Khalqi, L. Kar Keng, N. M. Ahmed // *Sensors*. – 2018. – №18. – p.716.

125. Кутова О. Ю. Зміна провідності структур «пористий кремній з наночастинками срібла - кремній» при детектуванні перекису водню / О. Ю. Кутова, М. Г. Душейко, Б. О. Лобода, Т. Ю. Обухова // *Технологія та конструювання в електронній апаратурі*. – 2018. – №4. – с.28-32. – doi.org/10.15222/ТКЕА2018.4.28.

126. Hom N. M. Detection of DNA Hybridization Using Protein A Modified Ion Sensitive Field Effect Transistor / N. M. Hom, C. Promptmas W.-A. Kesara // *Analytical Letters*. – 2015. – №48(7). –с.1128–1138.

127. Dong Z. Fabrication and testing of ISFET based pH sensors for microliter targetsolutions / Z. Dong, U. C. Wejinyaa, I. H. Elhajj // *Sensors and Actuators A:*

Physical.-2013. - №194. – p.181–187.

128. Poghossian A. Field-effect devices for detecting cellular signals / A. Poghossian, S. Ingebrandt, A. Offenhäusser, M. J. Schöning // *Semin. Cell Dev. Biol.* – 2009. – №20(1). – p.41–48.

129. Clark L. C. Jr. Electrode Systems for Continuous Monitoring in Cardiovascular Surgery / L. C. Jr. Clark And C. Lyons // *Annals of the New York Academy of Sciences.* – 1962. №102. – p.29–45. – doi.org/10.1111/j.1749-6632.1962.tb13623.x.

130. Fakanya W. M. Detection of the Inflammation Biomarker C-Reactive Protein in Serum Samples: Towards an Optimal Biosensor Formula / W. M. Fakanya and I. E. Tohill // *Biosensors.* – 2014. – №4. – p.340-357. – doi.org/10.3390/bios4040340.

131. Andreescu S. Affinity Immobilization of Tagged Enzymes / S. Andreescu, B. Bucur, J. L. Marty // In: Guisan J. M. (eds) *Immobilization of Enzymes and Cells. Methods in Biotechnology.* – 2006. – №22. – p.97-106. – doi.org/10.1007/978-1-59745-053-9_9.

132. Piro B. Transistors for Chemical Monitoring of Living Cells / B Piro, G. Mattana and S. Reisberg // *Biosensors.* – 2018. – №8(3). – p.E65. – doi.org/10.3390/bios8030065.

133. Алешкин В. А. Значение определения С-реактивного белка для диагностики и мониторинга острых и хронических инфекций / В. А. Алешкин, Л. И. Новикова // *Медицинские новости.* – 1996. – №.5 – с.7-13.

134. Barka N. Use of whole *Streptococcus pneumoniae* cells as a solid phase sorbent for C-reactive protein measurement by ELISA / N. Barka, J. -P. Tomasi, S. Stadtsbaeder // *J. Immunol. Methods.* – 1985. – №82. – p.57–63.

135. Sadir S. Fiber based enzyme linked immunosorbent assay for C-reactive protein / S. Sadir, M. P. Prabhakaran, D. H. B. Wicaksono, S. Ramakrishna // *Sensors Actuators B Chem.* – 2014. – №205. – p. 50–60.

136. Dong M. Rapid and Low-Cost CRP Measurement by Integrating a Paper-Based Microfluidic Immunoassay with Smartphone (CRP-Chip) / M. Dong, J. Wu, Z. Ma, H. Peretz-Soroka, M. Zhang, P. Komenda, N. Tangri, Y. Liu, C. Rigatto and F. Lin // *Sensors (Basel).* – 2017. – №17(4). – Article number 684.

137. Park J. Applications of Field-Effect Transistor (FET)-Type Biosensors / J. Park, H. N. Nguyen, A. Woubit, M. Kim // *Appl. Sci. and Conv. Tech.* 2014. – №23(2). – p.61-71. – doi.org/10.5757/ASCT.2014.23.2.61.
138. Kutova O. Y. ISFET sensors for biomedical applications / Kutova O. Y. // *Вісник Національного університету «Львівська політехніка», Серія: Радіоелектроніка та телекомунікації*, 2018, №884, с.10-19.
139. Kutova O.Y. Detection of the inflammation biomarker CRP using ISFET / O. Y. Kutova, M. G. Dusheiko, M. O. Semenenko, L. A. Stoliar // *Напівпровідникові матеріали, інформаційні технології та фотовольтаїка*, 17-19 травня, Україна, м. Кременчук, Кременчуцький національний університет імені Михайла Остроградського. – 2017. – с.115-117.
140. Кутова О. Ю. Сенсор С-реактивного білка на основі ІСПТ / О. Ю. Кутова, М. Г. Душейко, М. О. Семененко, В. І. Тимофєєв // *Лашкарьовські читання*, 4-6 квітня 2018. – Україна. – с.79-80.
141. Thermo Scientific Avidin-Biotin Technical Handbook, Sept. 2009. [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <https://bit.ly/2uRGPPo>.
142. Kaisti M. Detection principles of biological and chemical FET sensors / M. Kaisti // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2017. – №98. – p.437-448.
143. Prischera M. Іон-селективні польові транзистори. Розрахунок порогової напруги / М. Prischera, S. Lozovyi // *Вісник НТУУ "КПІ", Серія Радіотехніка, Радіоапаратобудування*. – 2012. – №50. – с.105-113. – doi.org/10.20535/RADAR.2012.50.105-113.
144. Felix C. C. Interaction of melanins with metal ions. Electron spin resonance evidence for chelate complexes of metal ions with free radicals / C. C. Felix, J. S. Hyde, T. Sarna and R. C. Sealy // *J. Am. Chem. Soc.* – 1978. – №100. – с.3922-3926.
145. Mostert A. B. Role of semiconductivity and ion transport in the electrical conduction of melanin / A. B. Mostert, B. J. Powell, F. L. Pratt, G. R. Hanson, T. Sarna, I. R. Gentle, and P. Meredith // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2012. – №109. – p.8943-8947.
146. Longuet – Higgins H. C. On the origin of the free radical property of melanins

/H. C. Longuet – Higgins // Arch Biochem Biophys. –1960. – №86. – p. 231-232.

147. Piacentida da Silva M. Melanin as an active layer in biosensors /M. Piacenti da Silva, J. C. Fernandes, N. B. Figueiredo, M. Congiu, M. Mulato and C. F. de O.Graeff // AIP Advances. – 2014. – №4(037120). – doi.org/10.1063/1.4869638.

148. Кутова О. Ю. Вплив додаткового буферного шару на чутливість сенсора СРБ на основі ІСПТ / О. Ю. Кутова, М. Г. Душейко, М. О. Семененко, Л. А. Столяр, В. І. Тимофєєв // Вісник Вінницького політехнічного інституту, 2018, №5, с.98-104.

149. Papageorgiou A. C. Protein structure validation and analysis with X-ray crystallography / A. C. Papageorgiou, J. Mattsson // Methods Mol Biol. – 2014. – №1129. – p.397-421. – doi.org/10.1007/978-1-62703-977-2_29.

150. Torati S. R. Protein immobilization onto electrochemically synthesized CoFe nanowires / S. R. Torati, V. Reddy, S. S. Yoon, C. G. Kim // International Journal of Nanomedicine. – 2015. – №10. – p.645–651.

151. Balan V. Biotinylated chitosan-based SPIONs with potential in blood-contacting applications / V. Balan, I. A. Petrache, M. I. Popa, M. Butnaru, E. Barbu, J. Tsibouklis, L. Verestiuc // Journal of Nanoparticle Research. – 2012. – №14. – p. 730-743. – doi.org/10.1007/s11051-012-0730-y.

152. Restani P. Cross-reactivity between milk proteins from different animal species / P. Restani, A. Gaiaschi, A. Plebani, B. Beretta, G. Cavagni, A. Fiocchi, C. Poiesi, T. Velonà, A. G. Ugazio, C. L. Galli // Clin. Exp. Allergy. – 1999. – №29 (7). – p.997–1004.

153. Nowak-Wegrzyn A. Tolerance to extensively heated milk in children with cow's milk allergy / A. Nowak-Wegrzyn, K. A. Bloom, S. H. Sicherer, W. G. Shreffler, S. Noone, N. Wanich, H. A. Sampson // Journal of Allergy and Clinical Immunology. – 2008. – №122(2). – p.342 - 347. – doi.org/10.1016/j.jaci.2008.05.043.

154. Andersson J. Simulated moving bed technology with a simplified approach for protein purification: separation of lactoperoxidase and lactoferrin from whey protein concentrate / J. Andersson, B. Mattiasson // Journal of Chromatography A. – 2006. – №1107(1–2). – p.88-95.


155. Bonfatti V. Validation of a new reversed-phase high-performance liquid

chromatography method for separation and quantification of bovine milk protein genetic variants / V. Bonfatti, L. Grigoletto, A. Cecchinato, L. Gallo, P. Carnier // J. Chromatogr. A. – 2008. – №1195. – p.101-106.

156. Зверева Е. А. Разработка методики определения бета-лактоглобулина в молоке и молочных продуктах с применением метода иммуноферментного анализа / Е. А. Зверева, Н. И. Смирнова, А. В. Жердев, Б. Б. Дзантиев, Е. А. Юрова, Е. Ю. Денисович, Н. А. Жижин, В. Д. Харитонов, Е. Ю. Агаркова, С. Г. Ботина, Н. В. Пономарева, Е. И. Мельникова // Рациональное питание, пищевые добавки и биостимуляторы. – 2014. – №1 – с.23-24.

ДОДАТОК А

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор КПІ ім. Ігоря
Сікорського
академік НАН України, проф.

Ю.І. Якименко
« 27 » 06 2018 р.

АКТ

впровадження результатів дисертаційного дослідження аспіранта
Кутової Оксани Юріївни на тему: «Сенсори на основі кремнієвих польових
структур для детектування хімічних і біомолекулярних сполук»

Комісія у складі:

голова – в. о. завідувача кафедри екобіотехнології та біоенергетики
КПІ ім. Ігоря Сікорського, д.х.н., проф. Кузьмінський С.В;
члени комісії – професор кафедри екобіотехнології та біоенергетики
КПІ ім. Ігоря Сікорського, д.т.н., доц. Голуб Н.Б.;
доцент кафедри екобіотехнології та біоенергетики
КПІ ім. Ігоря Сікорського, к.т.н. Щурська К.О.

цим Актом засвідчує, що результати дисертаційного дослідження Кутової
Оксани Юріївни на тему: «Сенсори на основі кремнієвих польових структур
для детектування хімічних і біомолекулярних сполук» використані
співробітниками кафедри екобіотехнології та біоенергетики факультету
біотехнології і біотехніки Національного технічного університету України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» (у вересні 2017 р.
– січні 2018 р.) при підготовці та викладанні лекцій, при розробці
лабораторних робіт та проведенні практичних занять з дисципліни «Біологічні
та хімічні сенсорні системи» для підготовки студентів за спеціальністю 162
Біотехнології та біоінженерія.

В навчальний процес було впроваджено:

- 1) огляд та класифікацію існуючих сенсорів на основі польових транзисторів, сфери їх застосування;
- 2) опис процесу виготовлення біосенсора для детектування рН та H_2O_2 ;
- 3) опис впливу напояток платини для детектування H_2O_2 ;
- 4) результати дослідження чутливості сенсора на основі МДН-структур для детектування рН.

Впровадження отриманих за дисертаційною роботою Кутовою О.Ю. результатів дослідження в начальний процес підвищує якість підготовки студентів за спеціальністю 162 Біотехнології та біоінженерія, відображає стан та перспективи розвитку наукових досліджень у галузі біосенсорики.

Голова комісії

Д.Х.Н., проф.

(науковий ступінь, вчене звання)


(підпис)

Кузьмінський С. В.

(прізвище та ініціали)

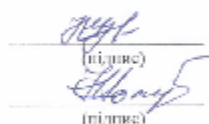
Члени комісії

К.Т.Н.

(науковий ступінь, вчене звання)

Д.Т.Н., доц.

(науковий ступінь, вчене звання)


(підпис)

Шурська К. О.

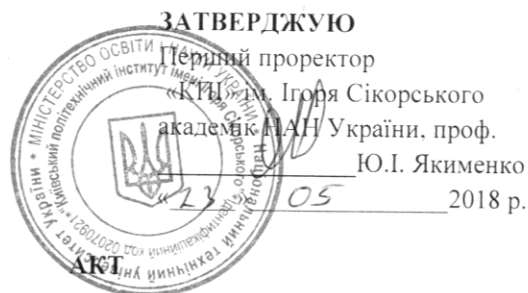
(прізвище та ініціали)

Голуб Н. Б.

(прізвище та ініціали)

«20» 06 2018 р.

ДОДАТОК Б



впровадження результатів дисертаційного дослідження аспіранта Кутової Оксани Юріївни на тему: «Біомолекулярні і хімічні сенсори на основі кремнієвих структур»

Комісія у складі:

- голова – завідувач кафедри електронної інженерії «КПІ» ім. Ігоря Сікорського,
д. т. н., проф. Тимофєєв В.І;
- члени комісії – доц., к.т.н., доц. Іванушкіна Н. Г.
доц. к.т.н. Саурова Т. А.

цим Актом засвідчує, що результати дисертаційного дослідження Кутової Оксани Юріївни на тему: «Біомолекулярні і хімічні сенсори на основі кремнієвих структур» використані кафедрою електронної інженерії факультету електроніки Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут» імені Ігоря Сікорського» при підготовці атестаційних робіт бакалаврів та магістрів за спеціальністю 153 «Мікро- та наносистемна техніка» і у конспектах лекцій і методичних вказівках щодо лекційних та лабораторних занять з навчальних дисциплін:

- Електронні сенсори;
- Прикладна біофізика.

Впровадження отриманих за дисертаційною роботою Кутовою О. Ю. результатів дослідження у начальний процес дозволило застосувати нові методичні і практичні розробки щодо біохімічних сенсорів у підготовці фахівців за спеціальністю 153 «Мікро- і наносистемна техніка».

Голова комісії

д. т. н., проф.
(науковий ступінь, вчене звання)
(прізвище та ініціали)

В. І.Тимофєєв
(підпис)

Члени комісії

доц., к.т.н.,
(науковий ступінь, вчене звання)
(прізвище та ініціали)

Н. Г.Іванушкіна
(підпис)

доц. к.т.н.
(науковий ступінь, вчене звання)
(прізвище та ініціали)

Т. А. Саурова
(підпис)

«16» 05 2018 р.