

(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2009 00847

(22) Data de depozit: 23.10.2009

(41) Data publicării cererii:  
29.07.2011 BOPI nr. 7/2011

(71) Solicitant:  
• UNIVERSITATEA "ȘTEFAN CEL MARE"  
DIN SUCEAVA, STR.UNIVERSITĂȚII NR.13,  
SUCEAVA, SV, RO

(72) Inventatori:

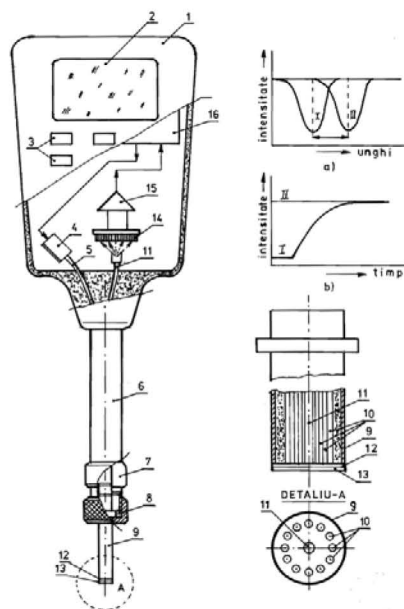
• GUTT SONIA, STR.VICTORIEI NR.185  
BIS, SAT SFÂNTU ILIE, SV, RO;  
• GUTT GHEORGHE, STR.VICTORIEI  
NR. 185 BIS, SAT SFÂNTU ILIE, SV, RO;  
• GUTT ANDREI, STR.VICTORIEI NR.185  
BIS, SAT SFÂNTU ILIE, SV, RO

(54) BIOSENZOR PENTRU DETERMINAREA VARIAȚIEI DE MASĂ  
ȘI A GROSIMII DE STRAT

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un biosenzor portabil pentru determinarea variației de masă și/sau a grosimii de strat ale unor specii biologice active. Biosenzorul conform invenției constă dintr-o structură optoelectronică echipată cu sonde detașabile și schimbabile, alcătuită dintr-un corp (1), o sursă (4) de radiație monocromatică de tip diodă laser sau led, o fibră optică (5) de iradiere, o tijă (6) de legătură, un cap optic (7) divizor, o piuliță (8) de strângere, o sondă (9) schimbabilă ce conține douăsprezece fibre optice (10) dispuse radial în jurul unei optice (11) centrale, pe capătul plan al sondei (9) fiind depus un strat (12) subțire de aur peste care este depus un alt strat (13) subțire de material biologic activ ceurmează a interacționa cu speciile biologice urmărite, fibra optică (11) centrală fiind cuplată cu un detector (12) optoelectronic de tip Diode-Array legat printr-un amplificator (13) electronic la o unitate electronică digitală de achiziție, prelucrare și afișare date.

Revendicări: 1  
Figuri: 1



18

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCA
Cerere de brevet de invenție
Nr. a 2009 00847
Data depozitului ...2.3.10.2009...

## BIOSENZOR PENTRU DETERMINAREA VARIATIEI DE MASĂ ȘI A GROSIMII DE STRAT

Invenția se referă la un aparat optoelectronic portabil, de tip biosenzor, folosit pentru determinarea variațiilor extrem de mici de masă și/sau de grosime de strat ale unor specii biologice active.

În vederea determinării modificărilor masice și indirect a grosimii filmelor în zona activă a biosenzorilor este folosită la ora actuală balanța piezoelectrică și aparate bazate pe rezonanța plasmonică de suprafață (SPR).

Balanța piezoelectrică se bazează pe corelarea frecvenței de rezonanță a unei plăcuțe de cuarț cu fețe plan paralele, pe ale cărei suprafețe se găsește depus un strat subțire de aur, iar peste acesta o substanță biologic activă. La scufundarea plăcuței piezoelectrice în mediul analizat substanța activă de pe fețele plan paralele ale acesteia interacționează cu specia urmărită, cea din urmă fiind reținută pe cele două fețe ale plăcuței piezoelectrice pe care o îngreunează provocând o abatere a frecvenței de rezonanță de ordinul MHz pentru creșteri de masă de ordinul mg ceea ce asigură o rezoluție foarte bună a metodei. Dezavantajul metodei balanței cu cristal de cuarț constă în prețul de cost relativ mare al piezo - oscilatoarelor aurite pe două fețe, acestea fiind elemente de uzură și putând fi refolosite numai de câteva ori. La aceasta se mai adaugă faptul că piezosenzorii sînt deosebit de sensibili la variații de temperatură, determinări exacte necesitînd termostatări avansate și scumpe. De asemenea, piezo-oscilatoarele nu pot fi utilizate ca detectori în celule de curgere pentru analiza continuă în regim de by-pass deoarece convertesc cele mai mici variații de presiune sau de debit în indicații eronate de variație de masă ale speciei urmărite.

Rezonanța plasmonică de suprafață (SPR-Surface Plasmon Resonance) folosește o radiație monocromatică polarizată de tip laser care este trimisă perpendicular pe o față a unei prisme echilaterale din sticlă de unde cade pe o suprafață subțire de aur sau argint depusă pe o față adiacentă a aceleiași prisme, suprafață de pe care este reflectată total cu un unghi egal cu unghiul de incidență. Fotonii radiației laser ce cad pe depunerea metalică de aur sau argint interferă cu electronii liberi ai acestor metale și formează un nor de electroni liberi denumit "structură plasmonică de suprafață". Dacă între electronii liberi din structura plasmonică și fotonii sursei monocromatice de iradiere se ajunge la rezonanță din radiația reflectată de stratul de aur sau argint se extrage energia consumată la rezonanță, în spectrul de reflexie apărînd o cădere energetică ce se manifestă printr-o abatere a unghiului de reflexie a radiației ce iese prin cealaltă față a prisme de sticlă, față de valoarea teoretică a unghiului de reflexie dată de legile lui Snellius. Această abatere se manifestă sub forma unui unghi de refracție a cărui valoare depinde de intensitatea rezonanței plasmonice de suprafață. Rezonanța plasmonică se manifestă energetic și pe partea exterioară a stratului metalic de aur sau argint printr-un așa numit "cîmp evanescent" a cărui intensitate reacționează extrem de sensibil la orice modificare de masă ce are loc pe această față exterioară. Acest fenomen stă la baza detecției modificării de masă sau de grosime de strat

pe această suprafață. Limita de detecție a modificărilor masice măsurabile se situează la nivelul de  $10^{-15}$  grame (femtograme), acest principiu stînd la baza celei mai sensibile metode de bilanț de masă cunoscute la ora actuală. Pentru aplicații concrete pe suprafața senzorului este immobilizat un receptor specific care urmează a interacționa cu un potențial ligand urmărit a se determina. Dacă interacțiunea intervine crește proporțional gradul de încărcare masică a stratului de metal și tot proporțional crește nivelul rezonanței plasmonice de suprafață, unghiul de refracție corespunzător acestui nivel fiind măsurat manual fie cu un goniometru optic fie automat prin intermediul unui detector Diode - Array plasate pe fața prisme unde iese radiația reflectată și refractată

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în realizarea unui biosenzor optoelectronic performant, bazat pe rezonanța plasmonică de suprafață (SPR), care permite determinarea într-un timp scurt a modificărilor de masă, respectiv de grosime de strat a unor specii biologice active. În acest scop este folosit un sistem optoelectronic portabil monobloc ce are la un capăt sistemul electronic de procesare și afișare date, iar la celălalt capăt o sondă optică, bazată pe fenomenul de rezonanță plasmonică de suprafață, ce se scufundă în mediul urmărit.

Biosenzorul propriu-zis, ce formează obiectul invenției, este format dintr-o sursă de radiație monocromatică de tip LED sau diodă laser ce transmite radiația luminoasă printr-o fibră optică flexibilă la un cuplor optic ce permite conectarea rapidă și pe rînd a unor sonde interschimbabile bazate pe fenomenul de rezonanță plasmonică de suprafață, sonde care se prezintă sub formă unor tije cilindrice, cu cămașă inoxidabilă în interiorul căreia există un pat polimeric în care se găsește distribuit circular un pachet de douăsprezece fibre optice subțiri (zeci de  $\mu\text{m}$ ) în jurul unei fibre optice centrale de diametru mai mare (sute de  $\mu\text{m}$ ). La capătul opus fixării în cuplorul optic sonda prezintă o suprafață circulară plană pe care este depus un strat subțire de aur pur, iar peste acesta este depus în laborator un strat subțire ce conține componentele biologice active ce urmează a interacționa cu speciile sau speciile urmărite. În urma iradierii luminoase a stratului subțire de aur dinspre cele douăsprezece fibre optice are loc excitarea plasmonică de rezonanță, iar răspunsul sistemului este transmis prin fibra optică centrală, printr-un anumit unghi de refracție, unghi măsurat de către un detector optoelectronic de tip șir de fotodiode (diode-array), ce are în componență cca 4.000 de fotodiode. Detectorul convertește valoarea unghiului de refracție într-un fotocurent a cărui valoare reflectă mărimea acestui unghi care la rîndul ei este proporțională cu modificarea grosimii stratului biologic activ. Rezoluția unor asemenea sisteme poate ajunge pînă la  $10^{-15}\text{g}$  (femtogram).

Prin aplicarea invenției se obțin următoarele avantaje:

- se realizează un biosenzor optoelectronic portabil bazat pe fenomenul de rezonanță plasmonică de suprafață folosit pentru determinarea creșterilor de masă sau a grosimii de strat la măsurări rapide in-situ
- se pune la punct un sistem de lucru cu chituri interschimbabile folosind în acest scop niște sonde cu pachete de fibră optică, sistem care permite pregătirea prealabilă a mai multor substraturi active biologice fiind posibil

lucrul în serie, determinările durînd în aceste condiții maxim cîteva zeci de secunde fiecare.

- se elimină prisma optică scumpă și voluminoasă din sistemul clasic de măsurare
- folosirea unui detector optoelectronic de tip diode-array, de înaltă rezoluție, face posibilă preluarea concomitentă a tuturor unghiurilor de refracție cu efecte deosebit de favorabile asupra productivității și asupra posibilității urmăririi proceselor de transformare cu cinetică rapidă

Se dă în continuare un exemplu de realizare a invenției în legătură cu:

- Figura 1 care reprezintă o vedere a biosenzorului portabil miniatural bazat pe fenomenul de rezonanță plasmonică de suprafață .
- Figura 2 care reprezintă o schemă de principiu a biosenzorului portabil miniatural bazat pe fenomenul de rezonanță plasmonică de suprafață. a)-diagrama de înregistrare unică, b)- diagramă de înregistrare în timp.

Biosenzorul pentru determinarea variației de masă și/sau a grosimii de strat conform invenției este format dintr-un corp **1** prevăzut cu display **2** alfanumeric și tastatură **3**, o sursă **4** de radiație monocromatică de tip diodă laser sau LED, o fibră **5** optică de iradiere, o tijă **6** de legătură, un cap **7** optic divizor, o piuliță **8** de strîngere, o sondă **9** schimbabilă cu alte sonde ce fac parte dintr-un set, fiecare sondă din set fiind formată din douăsprezece fibre **10** optice subțiri dispuse radial în jurul unei alte fibre **11** optice centrale de diametru mai mare, un strat **12** subțire de aur depus pe capătul plan al sondei **9** și un strat **13** subțire de material biologic activ ce urmează a interacționa cu speciile biologice urmărite, strat depus la rîndul lui pe suportul de aur. Fibra optică centrală **11** este cuplată cu un detector **14** optoelectronic de tip Diode - Array legat printr-un amplificator electronic **15** la o unitate electronică digitală de achiziție , prelucrare și afișare date.

Modul de lucru cu acest biosenzor este foarte simplu. Se prepară în laborator componentele biologice active împreună cu substratul de fixare a acestora după care acestea se întind în strat subțire pe stratul de aur pe tot setul de sonde interschimbabile disponibile și se usucă la temperatura prescrisă. După uscare, oricare din sonde poate fi cuplată la aparat prin fixarea și strîngerea acestora cu piulița **8** pe corpul de legătură **6**. Înainte de scufundarea sondei **9** interschimbabile în mediul biologic analizat se inițiază electronic o diagramă de rezonanță plasmonică pentru a obține peak-ul de calibrare I , fig. 2a, după care se scufundă sonda în mediul analitic și la un timp prescris se execută o nouă înregistrare a unei diagrame de rezonanță plasmonică pentru obținerea peak-ului de măsurare II, fig. 2a. Diferența ungiulară între peak-u I și peak-ul II este convertită electronic fie în unități de variație masică fie în unități de grosime de strat și afișată electronic pe display-u **2** alfanumeric al aparatului. În cazul urmăririi unei cinetici a evoluției speciei biologice vizate se prescrie din tastatura **3** a aparatului timpul de citire, ca urmare memoria stochează perechile de valori masă și /sau grosime de strat în funcție de timpii de citire corespunzători, iar pe display-ul **2** alfanumeric apare afișată evoluția grafică a variației masei și/sau a grosimii de strat la fiecare timp citit.

## REVENDICARE

Invenția Biosenzor pentru determinarea variației de masă și a grosimii de strat, caracterizată prin aceea că în vederea realizării unui biosenzor bazat pe rezonanța plasmonică de suprafață, echipat cu sonde detașabile și schimbabile, este folosită o structură optoelectronică compactă portabilă formată dintr-un corp (1), o sursă (4) de radiație monocromatică de tip diodă laser sau LED, o fibră (5) optică de iradiere, o tijă (6) de legătură, un cap (7) optic divizor, o piuliță (8) de strângere, o sondă (9) schimbabilă ce conține douăsprezece fibre (10) optice dispuse radial în jurul unei alte fibre (11) optice centrale, un strat (12) subțire de aur depus pe capătul plan al sondei (9), peste acest strat fiind depus în laborator ori de câte ori este necesar un strat (13) subțire de material biologic activ ce urmează a interacționa cu speciile biologice urmărite, la rîndul ei fibra (11) optică centrală este cuplată cu un detector (12) optoelectronic de tip Diode - Array legat printr-un amplificator (13) electronic la o unitate electronică digitală de achiziție, prelucrare și afișare date.



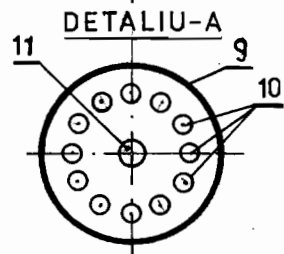
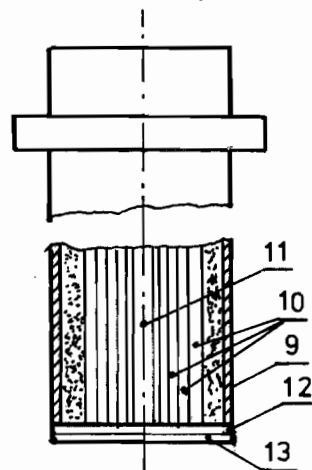
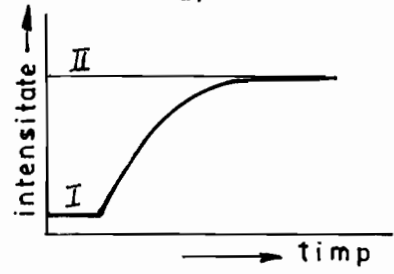
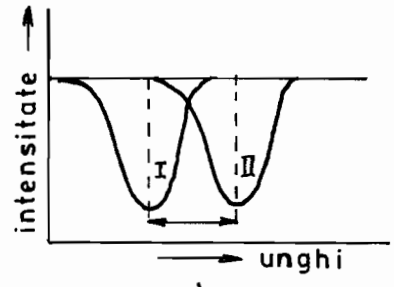
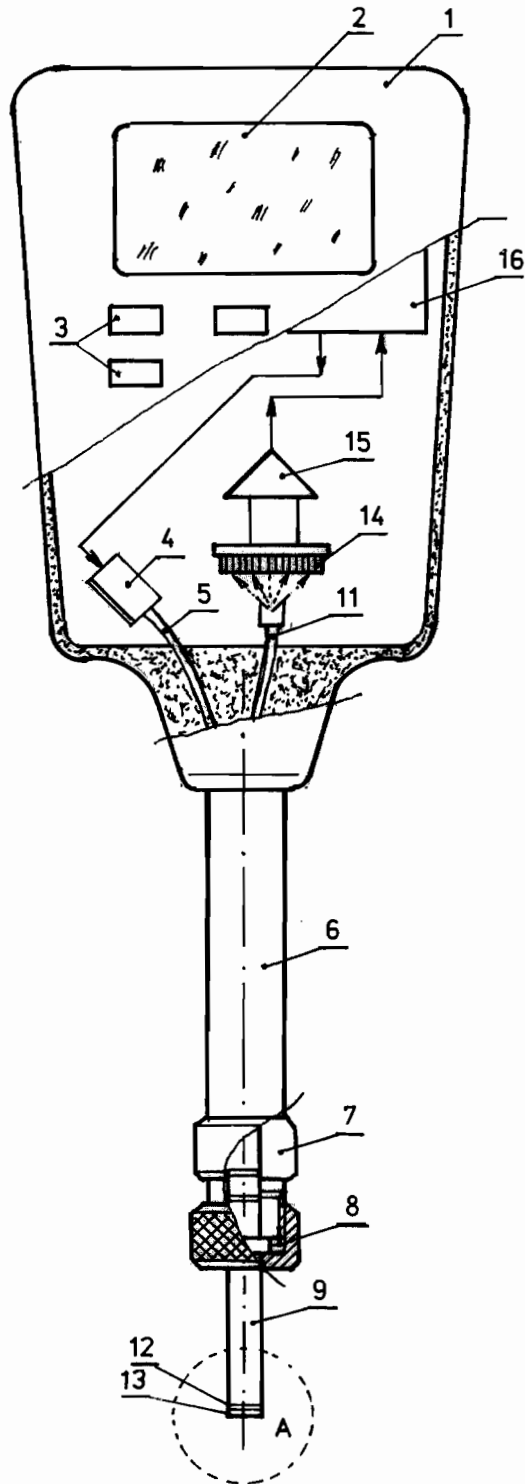


FIG. 1