



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2022 00788

(22) Data de depozit: 05/12/2022

(41) Data publicării cererii:
28/06/2024 BOPI nr. 6/2024

(71) Solicitant:
• CENTRUL INTERNAȚIONAL DE
BIODINAMICĂ,
INTRAREA PORTOCALELOR, NR.1B,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• GHEORGHIU EUGEN, BD.UNIRII NR.12,
BL.7 C, SC.A, AP.18, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;

• DAVID MIHAI SORIN, STR.STANISLAV
CIHOSCHI NR.7, AP.4, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
• GHEORGHIU MIHAELA, BD. UNIRII
NR. 12, BL.7C, SC.A, AP.18, SECTOR 4,
BUCUREȘTI, B, RO;
• POLONSCHII CRISTINA,
ȘOS. COLENTINA NR. 16, BL. A2, ET. 5,
AP. 38, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO

(54) METODĂ DE MĂSURARE A CONCENTRAȚIEI UNUI ANALIT ȚINTĂ, FĂRĂ UTILIZAREA UNEI CURBE DE CALIBRARE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă de măsurare a concentrației unui analit țintă, fără utilizarea unei curbe de calibrare. Metoda conform invenției constă în:

- iluminarea unui senzor cu proprietăți plasmonice în condiții de reflexie totală internă cu un fascicul de lumină polarizat,
- aducerea probei în contact cu senzorul,
- măsurarea distribuției intensității luminii reflectate, corespunzătoare probei, în funcție de unghiul de incidență,
- măsurarea distribuției intensității luminii reflectate, corespunzătoare unei probe de referință cu indice de refracție cunoscut, în funcție de unghiul de incidență,
- calcularea raportului dintre cele două curbe,
- efectuarea măsurătorilor și calculelor de mai sus pentru o probă alcătuită dintr-o soluție (5), cu indice de refracție cunoscut, în care va fi suspendat un analit (4),

- considerarea unui strat (2) cu grosimea d_{eff} și un indice de refracție ep_{Seff} situat deasupra unui strat (1) cu efect plasmonic al senzorului,
- fitarea curbelor experimentale cu matricea de transfer corespunzătoare reflectivității și calcularea d_{eff} și ep_{Seff} ,

- efectuarea măsurătorilor și calculelor de mai sus pentru o probă care conține un analit (4) cu concentrație cunoscută, suspendat într-o soluție (5),

- considerarea unui strat (3) util cu grosimea d_{utilxi} și indice de refracție ep_{utilxi} , situat deasupra stratului (2),
- fitarea curbelor experimentale cu matricea de transfer corespunzătoare reflectivității și calcularea d_{utilxi} și ep_{Seff} ,
- efectuarea măsurătorilor și calculelor de mai sus pentru o probă compusă din analitul (4) suspendat în soluție (5) la o concentrație necunoscută,
- calcularea concentrației necunoscute din curba liniară a dependenței d_{utilxi} în funcție de concentrația de analit (4).

Revendicări: 6
Figuri: 3

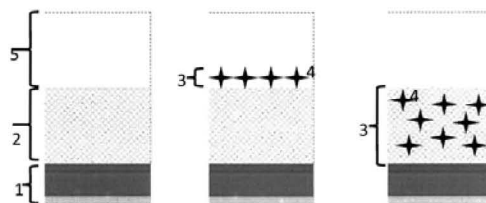


Fig. 1

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



Metodă de măsurare a concentrației unui analit țintă, fără utilizarea unei curbe de calibrare
DESCRIERE

Invenția se referă la o metodă măsurare a concentrației unui analit țintă, fără utilizarea unei curbe de calibrare. Metoda are aplicații practice în senzorică, pentru determinarea cu precizie a concentrației unui analit dintr-o probă analizată prin măsurători optice (e.g. tehnica rezonanței plasmonilor de suprafață) utilizând un formalism de calcul bazat pe un model teoretic al structurii senzorului de măsură împreună cu analitul cu care acesta a interacționat. Modelul are la bază metoda matricei de transfer, o metodă folosită în optică pentru a analiza propagarea undelor electromagnetice printr-un mediu stratificat.

În detecția de analiți se utilizează cu succes metodele de măsură optice, bazate pe rezonanța plasmonilor de suprafață. Stabilirea concentrației analitului dintr-o probă se realizează prin măsurarea unui parametru optic (e.g. unități de indice de refracție sau unități de răspuns) calculat pe baza reflectivității măsurate. În general sistemul de măsură este calibrat folosind probe cu parametrii optici cunoscuți iar senzorii de măsură specifici analitului țintă sunt calibrați utilizând probe cu concentrații cunoscute de analit pentru trasarea curbelor de calibrare. Determinarea proprietăților optice ale probelor prin utilizarea (fitarea cu modelul teoretic) a întregii informații unghiulare măsurate, nu numai a poziției minimumului sau a unei valori de intensitate/reflectivitate la un unghi de incidență fix, permite atât obținerea unui raport semnal zgomot foarte bun, cât și determinarea directă a concentrației analitului țintă, fără să mai fie nevoie de realizarea în prealabil și în aceleași condiții, a unui set de măsurători pentru obținerea curbei de calibrare, față de care se compară rezultatul măsurătorilor pe probe reale (cu concentrații necunoscute).

În brevetul EP3028033B1 se prezintă un senzor alcătuit dintr-o structură plasmonică multistratificată pentru detectarea unui și o metodă de utilizare a senzorului menționat pentru a determina prezența și cantitatea de analit.

Dezavantajul principal al metodelor și sistemelor descrise mai sus constă în faptul că necesită utilizarea unei curbe de calibrare prealabilă a senzorului înainte de a determina concentrația necunoscută a unui analit.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este aceea că permite măsurarea directă a concentrației analitului din probă considerând un strat efectiv (ai cărui parametrii fizici sunt cunoscuți) corespunzător straturilor dintre ultimul strat al senzorului de rezonanță a plasmonilor de suprafață (nemodificat) și stratul util, care conține analitul legat afin. Parametrii optici ai stratului afin se calculează împreună cu parametrii stratului efectiv.

Invenția se referă la o metodă măsurare a concentrației unui analit țintă, fără utilizarea unei curbe de calibrare.

Avantajul invenției este reprezentat de sensibilitatea crescută prin utilizarea curbelor unghiulare (nu numai o pereche valoare/unghi) ale reflectivității și/sau ale fazei fără a utiliza curbe de calibrare.

În cele ce urmează se prezintă un exemplu nelimitativ de realizare a invenției, în legătură cu figurile 1-3 care reprezintă:

Figura 1 Schema straturilor componente ale senzorului considerate în modelul teoretic

Figura 2 Curba experimentală (linie punctată) și cea rezultată din fitarea cu modelul teoretic, a raportului dintre intensitatea luminii măsurate pe o probă și intensitatea luminii măsurate într-un mediu de referință.

24

Figura 3 Dependența concentrației analitului din probă de permitivitatea stratului util rezultată în urma fitării datelor cu modelul teoretic

În conformitate cu figura 1 structura senzorului este alcătuită din mai multe straturi: straturi 1 suport, straturi mixte asociate straturilor suport (cu grosime d_s și indice de refracție/permitivitate, n_s/ϵ_{ps} , constant/ă) pentru legarea specifică (afină) a analiților țintă. Stratul 2 efectiv (parametrii $\epsilon_{p_{ef}}$ și d_{ef}) este corespunzător straturilor dintre ultimul strat 1 al senzorului de rezonanță a plasmonilor de suprafață (nemodificat) și stratul 3 util. Stratul 3 util care conține analitul 4 legat afin a cărui $\epsilon_{p_{util}}$ (se considera fix pentru analitul respectiv) și grosime d_{util} , (dependentă de concentrația C_{xi}) se determina împreună cu parametrii stratului efectiv.

În funcție de permeabilitatea straturilor suport și de modul în care se realizează legarea compușilor afini de analiții țintă, se disting trei cazuri:

i. Compușii țintă se leagă deasupra straturilor 1 suport, formând un strat afin, omogen, stratul 3 util, cvasi-uniform, cu indicele de refracție/permitivitatea n_a/ϵ_{pa} , constant/ă; dependența de concentrația C_{xi} a analitului țintă este relevantă de variația (cvasi-liniară) de grosimea a stratului util, $d_{util}(C_{xi})$;

ii. Compușii țintă se leagă în volumul stratului 1 suport superior (de la interfața cu proba), a cărui grosime rămâne ~ constantă, dar al cărui indice de refracție/permitivitate nu mai este constant/ă, ci depinde (cvasi-liniar) de concentrația C_{xi} a analitului țintă, $n_s \rightarrow n_s(C_{xi})/\epsilon_{ps} \rightarrow \epsilon_{ps}(C_{xi})$;

iii. Cazul în care se manifestă ambele variante de mai sus i.e., atât indicele de refracție/permitivitatea stratului suport 1 superior, cât și grosimea stratului 3 util au dependențe cvasi-liniare de concentrația analitului țintă, C_{xi} ($n_s \rightarrow n_s(C_{xi})/\epsilon_{ps} \rightarrow \epsilon_{ps}(C_{xi})$), respectiv, $d_{util}(C_{xi})$.

Modul de lucru

Se consideră măsurători efectuate cu un sistem de măsură a rezonanței plasmonice de suprafață (în sine cunoscut și nefigurat) care furnizează date de intensitate a luminii reflectate de un senzor în funcție de unghiul de incidență.

Se pot utiliza următoarele tipuri de date:

i. Pentru reflectivitate:

- Raportul dintre curba dependenței unghiulare a intensității corespunzătoare probei necunoscute și curba unghiulara a intensității corespunzătoare unei referințe (un material cu permitivitate cunoscută e.g. aer)

sau

- raportul dintre curba dependenței unghiulare a intensității corespunzătoare concentrației necunoscute la polarizarea P curba unghiulara a intensității corespunzătoare concentrației necunoscute la polarizarea S

ii. Pentru fază:

- Diferența dintre curba dependenței unghiulare a fazei corespunzătoare concentrației necunoscute și curba unghiulara a fazei corespunzătoare unei referințe (un material cu permitivitate cunoscută e.g. aer)

sau

- diferența dintre curba dependenței unghiulare a fazei corespunzătoare concentrației necunoscute la polarizarea P și curba dependenței unghiulare a fazei corespunzătoare concentrației necunoscute la polarizarea S

Se calculează parametrii sensorului i.e. grosimile și valorile parametrilor optici (permitivitate complexă) ale straturilor componente astfel:

Se măsoară curbele experimentale aferente dependenței de unghiul de incidență a rapoartelor de intensități sau/și a dependenței de unghiul de incidență a diferențelor de fază.

Se fitează cu matricele de transfer asociate curbilor măsurate utilizând soluții de referință cu parametrii optici (indice de refracție, permitivitate) cunoscuți.

Se măsoară sensorul

- fără analit, în soluția care va conține analitul (pentru curba de referință intensitate sau/și fază)
- cu o concentrație cunoscută, C_c , a analitului țintă

Se fitează curbele experimentale (rapoartele intensităților sau/și diferențe de fază) cu matricele de transfer corespunzătoare reflectivității sau/și fazei având ca necunoscute parametrii stratului suport (grosime d_s și indice de refracție/permitivitate, n_s/ϵ_{ps}) și a stratului 3 util.

Concentrațiile necunoscute se determină din curbe liniare de concentrații C_{x_i} (care trec prin zero și au panta dată de concentrația cunoscută C_c) a indicelui de refracție/permitivitatea stratului 1 suport superior sau/și a dependenței d_{utilx_i} .

Revendicări

1. Metodă optică de măsurare a concentrației unui analit **caracterizată prin aceea că cuprinde următoarele etape** 1) se iluminează un senzor cu proprietăți plasmonice în condiții de reflexie totală internă cu un fascicul de lumină polarizat P, 2) proba se aduce în contact cu senzorul, 3) se măsoară distribuția intensității luminii reflectate în funcție de unghiul de incidență corespunzătoare probei, 4) se măsoară distribuția intensității luminii reflectate în funcție de unghiul de incidență corespunzătoare unei probe de referință cu indice de refracție cunoscut, 5) se calculează raportul dintre cele două curbe, 6) se efectuează măsurătorile și calculele de mai sus pentru o probă compusă din soluția 5 (cu indice de refracție cunoscut) în care va fi suspendat analitul 4, 7) se consideră un strat 2 efectiv caracterizat de o grosime d_{eff} și un indice de refracție ϵ_{seff} situat deasupra stratului 1 cu efect plasmonic al senzorului, 8) se fitează curbele experimentale cu matricea de transfer corespunzătoare reflectivității și se calculează valoarea pentru grosimea d_{eff} și indicele de refracție ϵ_{seff} 9) se efectuează măsurătorile și calculele de mai sus pentru o probă care conține analitul 4 suspendat în soluție 5 la o concentrație cunoscută de analit, 10) se consideră un strat 3 util caracterizat de o grosime d_{utilxi} și un indice de refracție ϵ_{Sutilx} situat deasupra stratului 2 efectiv, 11) se fitează curbele experimentale cu matricea de transfer corespunzătoare reflectivității și se calculează valoarea pentru grosimea d_{utilxi} și indicele de refracție ϵ_{seff} 12) se efectuează măsurătorile și calculele de mai sus pentru o probă compusă din analitul 4 suspendat în soluție 5 la o concentrație necunoscută, 13) se calculează concentrația necunoscute din curba liniară a dependentei d_{utilxi} de concentrația de analit 4.
2. Metodă conform revendicării 1 **caracterizată prin aceea că** dependența grosimii d_{utilxi} de concentrația analitului este liniară.
3. Metodă conform revendicării 1 **caracterizată prin aceea că** dependența indicele de refracție ϵ_{seff} de concentrația analitului este liniară.
4. Metodă conform revendicărilor 1, 2 și 3 **caracterizată prin aceea că** senzorul se iluminează cu fascicul de lumină polarizat P și cu fascicul de lumină polarizat S, se măsoară distribuția intensității luminii reflectate în funcție de unghiul de incidență corespunzătoare unei probe iluminate cu fascicul de lumină polarizat P, se măsoară distribuția intensității luminii reflectate în funcție de unghiul de incidență corespunzătoare unei probe iluminate cu fascicul de lumină polarizat S și se calculează raportul dintre cele două curbe.
5. Metodă conform revendicării 1, 2 și 3 **caracterizată prin aceea că** se măsoară distribuția fazei în funcție de unghiul de incidență
6. Metodă conform revendicării 1, 2 și 3 **caracterizată prin aceea că** se măsoară distribuția fazei în funcție de unghiul de incidență la polarizările P și S

Desene

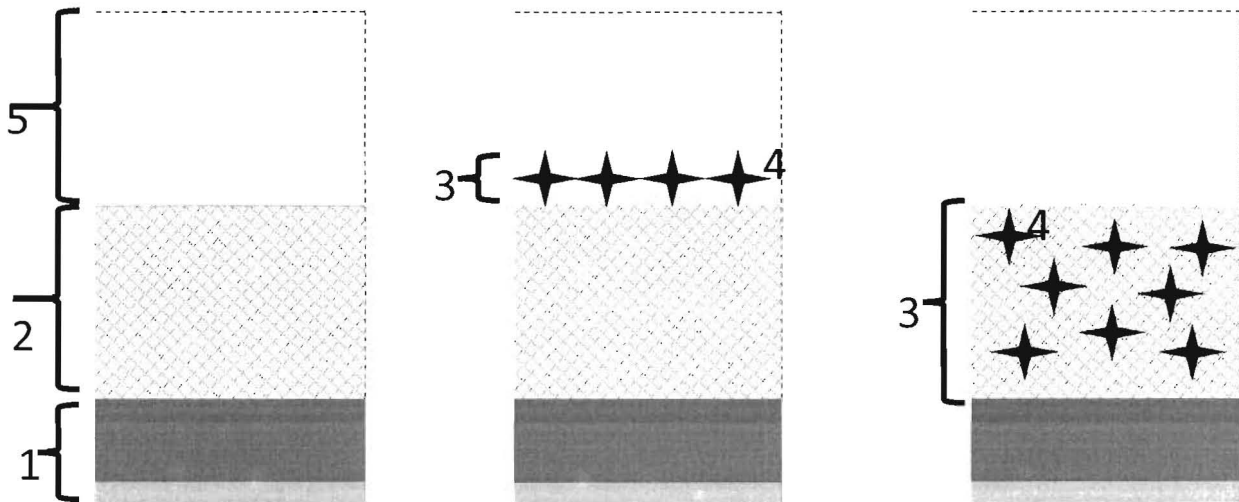


Figura 1 Schema straturilor componente ale senzorului considerate în modelul teoretic

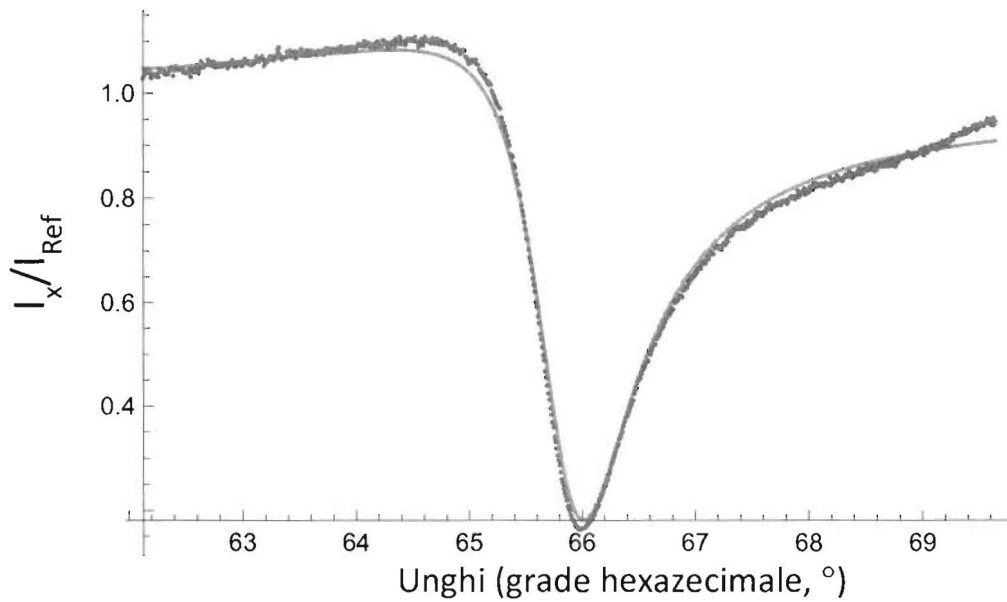


Figura 2 Curba experimentală (linie punctată) și cea rezultată din fitarea cu modelul teoretic, a raportului dintre intensitatea luminii măsurate pe o probă și intensitatea luminii măsurate într-un mediu de referință.

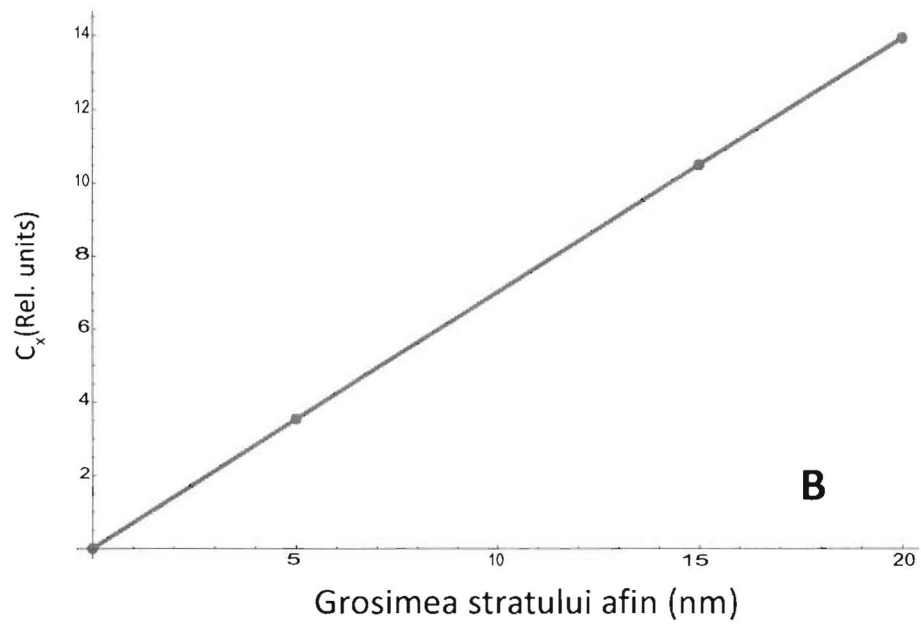


Figura 3 Dependența concentrației analitului din probă de permitivitatea stratului afin rezultată în urma fitării datelor cu modelul teoretic

24