

УДК 666.948 : 666.972.112

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.51542

АНАЛИЗ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПЬЕЗОКВАРЦЕВОГО БИОСЕНСОРА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОМАКРОМОЛЕКУЛ

© Т. И. Роман, Е. Н. Галайченко

Биосенсоры – это химические датчики, которые используют в своих интересах высокую селективность и чувствительность биологически активного материала. В этой работе рассмотрены возможные применения пьезоэлектрического кварцевого сенсора. Среди всех физических преобразователей, пьезоэлектрические системы являются наиболее привлекательными благодаря своей простоте, низкой себестоимости изготавливаемых приборов, возможности работы в реальном масштабе времени и, как правило, низкой себестоимости

Ключевые слова: биомакромолекулы, биосенсор, вещество анализируемое, золото, наночастицы, пьезоэлемент, трансдьюсер, селективность, химия биоаналитическая

Biosensors are chemical sensors that take advantage of the high selectivity and sensitivity of a biologically active material. In this work, biosensor applications of the piezoelectric quartz sensor are reviewed. Among all physical transducers, piezoelectric systems have emerged as the most attractive due to their simplicity, low instrumentation costs, possibility for real-time and label-free detection and generally high sensitivity

Keywords: biomacromolecules, biosensor, analyte, gold, nanoparticles, piezoelectric element, transducer, selectivity, bioanalytical chemistry

1. Введение

В настоящее время в самых различных областях нашей жизни, от фармакологии до военной промышленности, от переработки пищевых продуктов до химической индустрии необходим химический контроль не только выпускаемой продукции, но и побочных веществ производства. Одними из немаловажных направлений, где должен соблюдаться строгий контроль уровня веществ являются медицина и фармакология. Исходя из этого, для определения содержания биомакромолекул в средах применяется разнообразное оборудование и методики. Однако, все шире используются различного рода сенсорные устройства, в которых в качестве датчика применяются биологические элементы (ферменты, антитела, клетки, отдельные организмы или их ткани и т. п.).

2. Литературный обзор

С древних времен человек в своей повседневной практической деятельности анализировал состав среды, пищи, воды, сырья или продукции производства с помощью органов чувств. Однако такого рода анализ часто давал неточные результаты, более того, в определенных случаях таил смертельную опасность. Поэтому уже несколько тысячелетий назад в практику был внедрен биологический анализ среды, пищи, воды и других веществ на основе наблюдения за реакцией контрольного организма (в том числе и человека) в ответ на воздействие анализируемой субстанции. Наиболее достоверной оценкой реакции было наличие или отсутствие летального исхода для контрольного организма. Именно в это время были заложены основы проведения биологического анализа и подбора тест-объектов. Этот этап завершился приблизительно в первой половине XVI в.

Позднее, когда в практической деятельности человека круг анализируемых сред значительно расширился, и потребовалось более точно определять

содержание отдельных компонентов в сложных смесях, были изобретены более точные методы биологического анализа. Начиная со второй половины XVIII в. интенсивно развивается химия: неорганическая, затем органическая и биорганическая [1].

В этих условиях все более интенсивно применяются физико-химические методы анализа. При этом выделялись следующие преимущества физико-химических методов над биологическими: точность, широкий диапазон определяемых концентраций, независимость процедуры проведения анализа от условий окружающей среды, получение объективной оценки за относительно длительный период наблюдения, отсутствие адаптации к анализируемому соединению и ряд других достоинств. Все вышесказанное и привело к тому, что со второй половины XVIII в. и по настоящее время стали интенсивно развиваться и внедряться в практику именно физико-химические методы анализа. Биологические методы анализа отошли на второй план, но не были полностью заменены.

Сложность биологических методов анализа состоит в том, что определяемые вещества являются органическими соединениями, находящимися в сложных, многокомпонентных растворах и смесях. Именно с этого времени стало ясно, что традиционные методы физико-химического анализа не позволяют решать многие актуальные проблемы. Создание первых биосенсорных устройств можно отнести ко второй половине XX в.

В настоящее время описаны биосенсоры для определения веществ биологического и абиотического происхождения в самых разнообразных средах. Современные конструкции биосенсоров – довольно компактные устройства, совмещающие биологический тестирующий элемент и физико-химический анализатор. Габариты таких устройств обычно определяются размерами анализатора и могут быть весь-

ма малой величины (от нескольких миллиметров до нескольких десятков микрон).

Последние 20 лет отмечены интенсивным развитием исследований в области биосенсорных устройств [2, 3].

3. Принцип работы и структурные особенности сенсорных устройств

Сенсорные устройства, принцип работы которых может заключаться в абсолютно разных физических или биохимических процессах, обладают рядом отличительных особенностей: возможность определять интересующее нас соединение или комплекс в сложном компонентных смесях, высокая селективность и чувствительность, достаточно простая пробоподготовка, быстрота получения аналитического сигнала.

Использование биосенсоров для анализа содержания физиологически активных соединений зачастую позволяет упростить процедуру, повысить экспрессность и точность измерений. Общая схема построения биосенсоров следующая: биологический детектирующий элемент (БДЭ) изменяет свои параметры (или параметры среды вблизи него) под действием анализируемой пробы (для количественной оценки сдвига этих параметров служат преобразователь сигналов и сигнальный процессор), по величине сдвига параметров биологического детектирующего элемента определяется содержание анализируемого вещества (рис. 1).

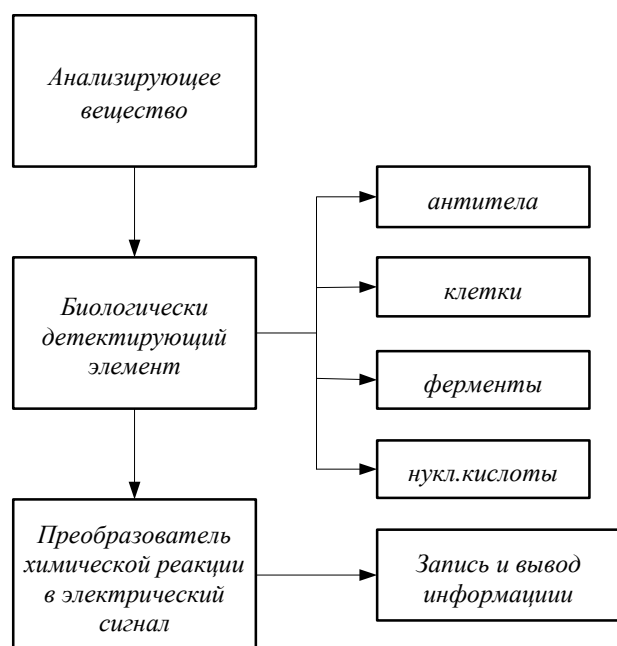


Рис. 1. Общая схема работы биосенсоров

Разработка сенсоров является чрезвычайно важной задачей биоаналитической химии.

На сегодняшний день существует значительное число принципов классификации биосенсоров – по типу преобразователя сигналов, типу биохимического компонента, решаемой аналитической задаче и т. д. При работе биосенсорных устройств, химические реакции, протекающие на его поверхности, могут вызывать изменение тока, напряжения, акустиче-

ских или оптических характеристик, в результате чего исследователи используют разные типы преобразователей – электрохимические, акустические, оптические и т. д. [1]. Одним из высокоперспективных сенсоров является пьезокварцевый гравиметрический сенсор (ПКГС), который находится все большее применение в медицине и биоаналитической химии [4].

4. Пьезокварцевый гравиметрический сенсор

Конструкция ПКГС состоит из тонкого диска кварцевого кристалла на обеих сторонах которого при помощи термического напыления сформированы электроды из различных металлов – золота, серебра, алюминия, никеля, хрома. Пьезоэлектрически активна только область между электродами, по мере удаления от центра массочувствительность пьезокварцевого сенсора снижается. Наиболее часто используются кристаллы с диаметром кварцевой пластины 10÷16 мм, золотыми электродами и с собственной частотой колебания 5÷15 Гц. Использование резонаторов с более высокими частотами (30, 70, 110 МГц) имеет двойственные характеристики, с одной стороны, они более чувствительны к изменению массы, а с другой стороны, достаточно хрупки и имеют значительный уровень шума.

Воздействие переменного электрического потенциала между электродами вызывает внутренне механическое напряжение, что приводит к появлению деформации кристалла. Резонанс достигается при включении кристалла в колебательный контур, где электрические и механические колебания совпадают с основной частотой кристалла. Собственная частота колебаний резонатора зависит от постоянных величин – размера и структуры пластины (толщины, плотности, шероховатости, формы и типа среза), также от изменяющихся параметров – массы металлических электродов и некоторых внешних факторов (плотности и вязкости газа или жидкости, состава, ионной силы, pH растворов).

Осциллирующая частота кристалла АТ-среза линейно уменьшается при увеличении массы материалов, которые осаждаются на поверхности электродов. Это выражается уравнением Зауэррея:

$$\Delta f = -\frac{2,3f_0^2 10^6 \Delta m}{A}, \quad (1)$$

где Δf – изменение частоты колебаний кристалла (Гц); f_0 – собственная (исходная) частота колебаний кристалла (МГц); Δm – масса нанесенного на электрод рецепторного покрытия (г); A – площадь поверхности электрода (см²).

Аналитическим сигналом ПКГС служит уменьшение частоты колебаний резонатора при увеличении массы рецепторного слоя. Также происходит изменение амплитуды и фазы колебаний преобразователя. При получении аналитического отклика сенсора выделяют два процесса: изменение массы покрытия за счет образования гетерогенного комплекса и преобразования этого приращения массы в электрический сигнал.

В химически чувствительном слое происходит «узнавание» биологическим детектирующим элемен-

том специфического для него вещества из многокомпонентной смеси. Исследуемое вещество сорбируется на рецепторный слой, тем самым изменяя массу пьезоэлемента. Чувствительный слой связан с преобразователем, поскольку аналитический сигнал (изменение частоты – Δf) рассчитывается как разность частот колебаний сенсора в начале измерения и в момент установления равновесия между процессами сорбции-десорбции на поверхность биосенсора. За счет того, что пластина вырезана из кристалла кварца под определенным углом, она совершает так называемые сдвиговые колебания, как бы покачиваясь из стороны в сторону. Поскольку пластина как механическая система имеет некоторую собственную частоту колебаний, то при определенной частоте переменного вынуждающего напряжения в такой колебательной системе наступает резонанс. После осаждения вещества на поверхность пластины биосенсора происходит понижение резонансной частоты системы «пластина – вещество». Масса осажденного на пластину вещества связана с изменением резонансной частоты соотношением Зауэрбрея:

$$C = \frac{A\sqrt{\rho_{кв}\mu_{кв}}}{2f_0^2}, \quad (2)$$

где $\rho_{кв}$ – плотность кварца; $\mu_{кв}$ – дигиговый модуль упругости кварца.

Использование ПКГС в жидких средах имеет свои особенности. На резонансную частоту кристалла, погруженного в раствор, существенное влияние оказывают характеристики жидкой фазы, и уравнение (1) не выполняется. До настоящего времени не существует унифицированного уравнения, учитывающего вклад всех факторов среды в величину отклика ПКГС в жидкости. Главным образом, сигнал зависит от структуры межфазной границы между покрытием сенсора и окружающим раствором. Данные эффекты нивелируются при контактировании раствора только с одной стороной резонатора, а также использовании оптически отполированных кристаллов.

В работах по использованию ПКГС в иммунохимическом анализе, отмечается тенденция к использованию наночастиц золота в качестве усиления комплекса антиген-антитело. Т. е. происходит маркирование антитела наночастицами золота (НЧЗ) (3÷5 нм), а в дальнейшем и образование комплекса антитело/НЧЗ+антиген. Результаты эксперимента показали преимущественное использование конъюгированных НЧЗ с антигеном для получения значительного аналитического сигнала [5, 6].

Отличительной особенностью ПКГС является прямой анализ биохимических веществ без использования специфических флуоресцентных, радиоактивных или ферментативных меток, использующихся во многих стандартных методиках. Кроме того, ПКГС характеризуются простотой использования, портативностью, использованием малых объемов реагентов, многофакторным анализом; высокой чувствительности, обеспечиваемой использованием в качестве физического преобразователя пьезокварцевого резонатора, и селективности, определяемой природой

применяемых рецепторных молекул. Еще одной важной особенностью ПКГС является возможность регенерации биологического слоя после каждого применения.

5. Результаты исследований

В рамках предложенной работы было проведено квантово-химическое моделирование золотой наночастицы в окружении молекул воды (рис. 2) с использованием программного продукта Gamess 6.0 (free software).

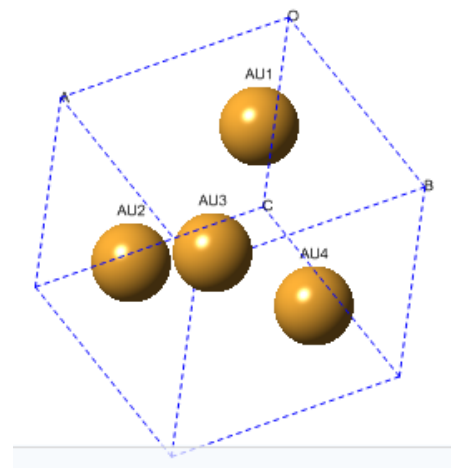


Рис. 2. Наночастица золота

Данные расчетов показали, что плотность для наночастицы золота составляет $19280,5625 \text{ кг/м}^3$; они практически не изменяют параметров при наличии молекул воды: НОМО (без H_2O) = $-9,77 \text{ эВ}$, НОМО (с H_2O) = $-9,79 \text{ эВ}$. Исходя из этого, можно сделать вывод о возможности использования золотых наночастиц для создания ПКГС с целью определения биомолекул в водных средах

6. Выводы

В данной работе проведен анализ разных типов сенсорных устройств, их достоинства и недостатки, возможности использования для целей биологии и медицины. Проведенный обзор литературных источников выявил ряд преимуществ ПКГС. Использование комбинации уникального физического преобразователя и наночастицы золота со специфическим биологическим рецепторным слоем позволит нам добиться высокой селективности определения биологически значимых молекул. Таким образом, расширив линейку аналитических устройств для биохимического, иммунологического или микробиологического анализа.

Литература

1. Ермолаева, Т. Н. Пьезокварцевые иммуносенсоры. Аналитические возможности и перспективы [Текст] / Т. Н. Ермолаева, Е. Н. Калмыкова // Успехи химии. – 2006. – № 75 (5). – С. 445–459.
2. Banica, F.-G. Chemical sensors and biosensors: fundamentals and application [Text] / F.-G. Banica. – United Kingdom: John Wiley&Sons Ltd., 2012. – 543 p.
3. Калмыкова, Е. Н. Разработка пьезокварцевых иммуносенсоров для проточно-инъекционного анализа высоко- и низкомолекулярных соединений [Текст] / Е. Н. Калмыкова,

Т. Н. Ермолаева, С. А. Еремин // Вестн. Моск. Ун-Та. Сер. 2. Химия. - 2002. - Т. 43, № 6. - С. 339-403.

4. Шашканова, О. Ю. Амплификация сигнала пьезокварцевого иммуносенсора на основе каликс арена для определения С-реактивного белка с помощью наночастиц золота [Текст] / О. Ю. Шашканова, Е. В. Мелихова, Т. Н. Ермолаева // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2013. - Т. 13, № 5. - С. 720-727

5. Krishnendu, S. Gold Nanoparticles in Chemical and Biological Sensing [Text] / K. Saha, S. S. Agasti, C. Kim, X. Li, V. M. Rotello // Chemical Reviews. - 2012. - Vol. 112, Issue 5. - P. 2739-2779. doi: 10.1021/cr2001178

6. Ray, P. C. Nanogold-based sensing of environmental toxins: excitement and challenges [Text] / P. C. Ray, H. Yu, P. P. Fu // Journal of Environmental Science and Health, Part C. - 2011. - Vol. 29, Issue 1. - P. 52-89. doi: 10.1080/10590501.2011.551315

References

1. Ermolaeva, T. N., Kalmikova, E. N. (2006). Piezoelectric immunosensors. Analytical possibilities and prospects. Chemical progress, 75 (5), 445-459.

2. Banica, F.-G. (2012). Chemical sensors and biosensors: fundamentals and application. John Wiley&Sons Ltd., 543.

3. Kalmykova, E. N., Ermolaeva, T. N., Eremin, S. A. (2002). The development of quartz crystal immunosensors for the flow-injection analysis of high - and low-molecular compounds. Vestn. Mosk. Univ. Ser. 2. Chemistry, 43 (6), 339-403.

4. Shashkanova, O. J., Melikhov, E. V., Ermolaeva, T. N. (2013). The signal is amplified piezoelectric immunosensor based on Calix arene for the determination of C-reactive protein with the help of gold nanoparticles. Sorption and chromatographic processes, 13 (5). 720-727.

5. Saha, K., Agasti, S. S., Kim, C., Li, X., Rotello, V. M. (2012). Gold Nanoparticles in Chemical and Biological Sensing. Chemical Reviews, 112 (5), 2739-2779. doi: 10.1021/cr2001178

6. Ray, P. C., Yu, H., Fu, P. P. (2011). Nanogold-Based Sensing of Environmental Toxins: Excitement and Challenges. Journal of Environmental Science and Health, Part C, 29 (1), 52-89. doi: 10.1080/10590501.2011.551315

*Рекомендовано до публікації д-р фіз.-мат. наук Бих А. І.
Дата надходження рукопису 21.09.2015*

Роман Татьяна Ивановна, кафедра біомедицинської інженерії, Харківський національний університет радіоелектроніки, пр. Леніна, 16, г. Харків, Україна, 61166
E-mail: tanechka.roman@mail.ru

Галайченко Елена Николаевна, кандидат технічних наук, доцент, кафедра біомедицинської інженерії, Харківський національний університет радіоелектроніки, пр. Леніна, 16, г. Харків, Україна, 61166
E-mail: olena.galaichenko@nure.ua

УДК 502.36:656.2

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.51200

ЕКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ПЕРСПЕКТИВИ ОРГАНІЗАЦІЇ ЗАЛІЗНИЧНИХ ТУРИСТИЧНИХ ПЕРЕВЕЗЕНЬ В ЗАКАРПАТСЬКОМУ РЕГІОНІ

© Ю. В. Зеленько, С. Ю. Трєпак, А. В. Самарська

Представлено результати досліджень перспективи організації залізничних туристичних перевезень в Закарпатському регіоні з позиції впливу на потенційні екологічні об'єкти, що знаходяться в сфері впливу залізничної інфраструктури. На базі геоінформаційної системи та системи управління базами даних розроблено інформаційно-аналітичну систему підтримки управлінських рішень для забезпечення високого рівня екологічності туристичних перевезень на фоні економічної рентабельності – «SAER»

Ключові слова: залізничний туризм, екологічна безпека, важкі метали, геоінформаційна система, інформаційно-аналітична система

Results of the research of perspective of rail travel transportation organization in Zakarpattya region from a position of influence on potential environmental objects in the sphere of influence of railway infrastructure are given in the article. On the basis of geographic information systems and database management systems it is developed information analytical decision support system to ensure a high environmental level of tourist traffic against a background of economic profitability - «SAER»

Keywords: railway tourism, environmental safety, heavy metals, geographic information system, information analytical system

1. Вступ

Сучасні тенденції прагнення до сталого розвитку вимагають застосування новітніх підходів щодо виведення комплексу «суспільство-природа-господарська діяльність» на новий рівень гармоній-

них відносин. Як приклад може бути розглянутий розвиток «зеленого» (екологічного) туризму із застосуванням новітніх ресурсозберігаючих технологій при організації туристичних маршрутів та перевезенні пасажирів.