

КОМП'ЮТЕРНІ ЗАСОБИ, МЕРЕЖІ ТА СИСТЕМИ

T. Lebyedyeva, P. Shpylovyi

INCREASING SENSITIVITY OF SENSORS BASED ON SURFACE PLASMON RESONANCE

The increasing of sensitivity of SPR sensors by applying an additional layer of dielectric Nb₂O₅ is theoretically substantiated and experimentally demonstrated.

Key words: surface plasmon resonance, biosensor, sensitivity, thin-film technology.

Теоретически обосновано и экспериментально доказано повышение чувствительности ППР-сенсоров при нанесении дополнительного диэлектрического слоя Nb₂O₅.

Ключевые слова: поверхностный плазмонный резонанс, биосенсор, чувствительность, тонкопленочная технология.

Теоретично обґрунтовано та експериментально доведено підвищення чутливості ППР-сенсорів при нанесенні додаткового діелектричного шару Nb₂O₅.

Ключові слова: поверхневий плазмонний резонанс, біосенсор, чутливість, тонкоплівкова технологія.

© Т.С. Лебедева, П.Б. Шпильовий,
2016

УДК 535.016

Т.С. ЛЕБЕДЕВА, П.Б. ШПИЛЬОВИЙ

ПІДВИЩЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ СЕНСОРІВ, БАЗОВАНИХ НА ПОВЕРХНЕВОМУ ПЛАЗМОННОМУ РЕЗОНАНСІ

Вступ. Оптичні сенсори, які використовують явище поверхневого плазмонного резонансу (ППР) застосовуються останнім часом дуже широко – як рефрактометричні сенсори для газових та рідких середовищ, а також як сенсори, що відображають зміну стану шару, прилеглого до плівки плазмононосія – адсорбційні газові сенсори та біосенсори. Як біосенсори вони застосовуються для виявлення певних речовин шляхом «біорозпізнання», тобто при протіканні на сенсорній поверхні високоспецифічних біомолекулярних реакцій.

Привабливість методу ППР для біосенсорних досліджень пов'язана з його порівняно з іншими методами простотою, швидкістю, невеликою кількістю потрібних реагентів, можливістю відстеження реакцій в реальному часі та високою чутливістю. Незважаючи на високу чутливість ППР-аналізу, вона часто виявляється недостатньою. На сьогоднішній день запропонований ряд методів, що дозволяють на порядки покращити межу детекції методом ППР. Деякі з них вимагають модифікації конструкції ППР-пристрою (методи вимірювання фазового зсуву, спектроскопії з Фур'є перетворенням та ін.). Інші методи не потребують конструктивних змін приладу, а базуються на удосконаленні сенсорних підкладок або посиленні вихідного сигналу за рахунок приєднання до молекул рецептора або аналіту певних наночастинок.

Класифікація ППР-сенсорів заснована на тих параметрах світлової хвилі, які є вихідним сигналом детектора.

Розрізняють чотири типи реєструючих пристроїв, заснованих на вимірюванні зсуву кута мінімуму відбиття, зсуву частоти мінімуму відбиття, зміні інтенсивності при сталому куті або частоті та вимірюванні фазового зсуву світлової хвилі. Основними характеристиками ППР-детекторів є чутливість, роздільна здатність, межа детекції та динамічний діапазон [1–6].

Чутливість ППР-детектора при рефрактометричних вимірюваннях – відношення зміни сигналу сенсора до зміни показника заломлення. Показник заломлення вимірюється в одиницях показника заломлення (ОПЗ), а сигналом детектора можуть бути резонансний кут, резонансна довжина хвилі, інтенсивність або фазовий зсув відбитого світла. Тому для різних типів ППР-детекторів одиниці виміру чутливості розрізняються.

ППР-сенсори при біосенсорних дослідженнях характеризують спеціально введеною одиницею 1 RU (Resonance Unit – резонансна одиниця), яка відповідає зміні вимірюваного фізичного параметра, що викликається зв'язуванням 1 пікограма (10^{-15} кг) протеїну на 1 мм^2 чутливої поверхні. Чутливістю ППР сенсора іноді називають ту найменшу концентрацію аналіту, яку можна надійно зафіксувати за допомогою цього сенсора [1]. Чутливість залежить від ряду факторів, зокрема, від того, яка частина аналіту вже зв'язалася з рецепторним шаром. А це залежить від температури і часу їх взаємодії. Але визначальну роль відіграє той мінімальний кут зсуву кривої ППР, який можна надійно зафіксувати за допомогою програмно-технічних засобів сенсора.

В даній роботі ми під чутливістю ППР-сенсора при проведенні біосенсорних досліджень будемо розуміти дещо інше – кутовий відгук сенсора на зміну показника заломлення «біошару» сталої товщині 10 нм що формується при протіканні біосенсорного аналізу при заповненні його білковими молекулами.

ППР-детектори з вимірюванням резонансного кута завдяки простоті реалізації, високій чутливості та широкому робочому діапазону, на сьогоднішній день набули найбільшого поширення. Розроблений в Інституті кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України сенсорний пристрій «Плазмонтест» є ППР-пристроєм кутового типу. Він базований на розбіжному промені поляризованого випромінювання, скляній призмі з показником заломлення 1,61 та центральним кутом 63,5 градуси, системі лінз та фотодіодній ПЗС-лінійці з 2048 елементів (пікселів). Прилад оснащений термостабілізаційною вимірювальною коміркою ($\pm 0,1^\circ$). Особливістю приладу є можливість його використання зі стаціонарним комп'ютером, ноутбуком, а також у автономному режимі, з відображенням ППР-кривих, сенсограм або результатів діагностики на дисплеї приладу. Він добре зарекомендував себе як рефрактометр [7] та імуносенсор [8–10]. Пристрій може бути використаний як звичайний ППР-сенсор, як хвилеводний сенсор з металевим підшаром та діелектричним щільним або наноструктурованим поруватим шаром (ХСМП), а також як ППР-сенсор з підвищеною чутливістю при застосуванні ППР-підкладок з тонким діелектричним шаром.

Методи покращення чутливості ППР-сенсора з вимірюванням резонансного кута.

Чутливість ППР-сенсорів з вимірюванням резонансного кута – одна з найбільш високих в ППР-техніці, але й вона може бути підвищена. Перший метод базується на тому, що чутливість ППР-аналізу з кутовими спектрами залежить насамперед від точності визначення положення резонансного мінімуму. А точність визначення положення резонансного мінімуму залежить від його ширини і форми кривої кутового спектра поглинання. Тому звуження резонансного спектра істотно підвищує чутливість аналізу. Так, помістивши додаткову дифракційну решітку поблизу сенсорної поверхні ППР-аналізатора з кутовим скануванням, можна отримати замість одного широкого резонансного мінімуму набір вузьких піків, що відповідають дифрагованим променям різного порядку [3]. Таким способом лінії поглинання на кутовій діаграмі випромінювання значно – до тисячі разів, звужуються порівняно з вихідними. Подальше підвищення чутливості обмежується шириною спектра джерела випромінювання, шумами і тепловим дрейфом апаратури [3]. Інший спосіб підвищення чутливості пов'язаний із застосуванням нанопокриттів, які підвищують інтенсивність поля світлової хвилі в області проведення аналізу.

Звичайна підкладка ППР-сенсора, як правило, являє собою скляну пластину з осадженою золотою плівкою товщиною 50 нм, але як плазмонопідтримуючий шар можуть бути використані плівки інших металів – срібла або алюмінію з оптимізованою для збудження ППР товщиною. При осадженні на метал додаткової тонкої діелектричної плівки з високим показником заломлення, повинен змінитись розподіл енергії електричного поля поверхневого плазмона, а отже, можна очікувати вищих значень чутливості такого сенсора, оскільки енергія електромагнітної хвилі буде концентруватись не біля поверхні металу, а в області з високим показником заломлення.

Теоретичні дослідження можливості покращення чутливості ППР-сенсорів за допомогою нанопокриттів. Програма та моделі для розрахунків.

Для проведення аналізу вищеописаних структур нами був розроблений пакет програм у середовищі Matlab, які дозволяють розраховувати кутову залежність коефіцієнта відбивання поляризованого світла багат шаровими структурами, в тому числі з неоднорідними (поруватими) шарами та проводити розрахунки чутливості [11].

Оскільки нас цікавить розробка сенсорних підкладок, що відповідають наявній технологічній базі, ми розглядали тонкоплівкові структури з плазмонопідтримуючими плівками золота і алюмінію та додатковими шарами із оксидів алюмінію та ніобію. Зазначимо, що верхні значення товщини оксидних шарів при проведенні розрахунків обмежувалися зсувом мінімуму ППР-кривої до кута у 85 °.

Моделювання біохімічних досліджень проведені наступним чином. Було прийнято, що показник заломлення буферної рідини, у якій проводяться дослідження, має значення 1,33. Для біошару, стан якого залежить від умов експерименту, взята модель, в якій вважається, що поверхня сенсорної плівки під час біосенсорних досліджень вкривається шаром рецептор-аналіт товщиною 10 нм, показник заломлення якого змінюється від показника заломлення буфера 1,33

(до іммобілізації біошару) до показника заломлення білку – 1,43 (при 100 % іммобілізації біошару по всій поверхні сенсорної плівки). Тобто, біосенсорна плівка при неповному заповненні моделюється поруватою плівкою білку товщиною 10 нм з буферною рідиною в порах.

Схематичний вигляд сенсорних структур для моделювання рефрактометричних та біосенсорних вимірювань показано на рис. 1.

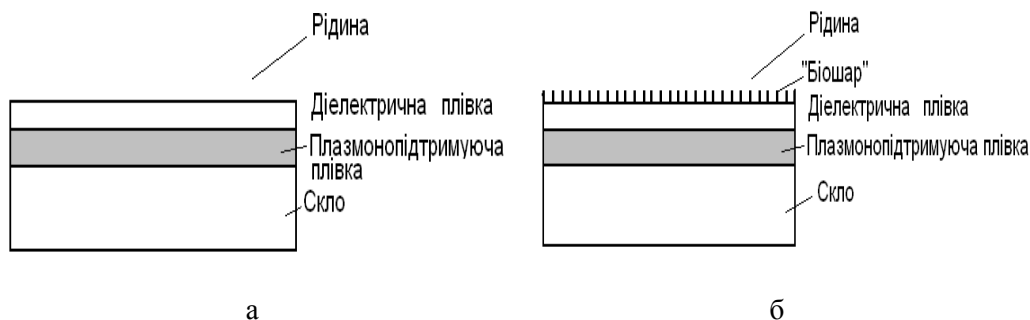


РИС. 1. Схематичне зображення структур для комп'ютерного моделювання

Параметри шарів досліджуваних структур при моделюванні рефрактометричних та біосенсорних вимірювань приведені в таблиці.

ТАБЛИЦЯ

Склад шару	Показник заломлення	Показник поглинання	Товщина, нм
Скло	1,61	0	Нескінченна
Au	1,9	3,4	50
Al	1,4	6,8	15
Al ₂ O ₃	1,63	0	0 - 100
Nb ₂ O ₅	2,2	0	0 - 40
Біошар	1,33-1,43	0	10
Рідина, рефрактометричні дослідження	Змінювався від 1,33 до 1,6 для моделювання	0	Нескінченна
Рідина, біосенсорні дослідження	1,33	0	Нескінченна

Результати моделювання рефрактометричних досліджень.

Чутливістю при рефрактометричних дослідженнях називають зміну кута положення ППР-мінімуму при зміні показника заломлення оточуючого середовища на одиницю показника заломлення.

На рис. 2 та 3 показані результати моделювання чутливості структур на базі золотої та алюмінієвої плівок з додатковими шарами оксидів.

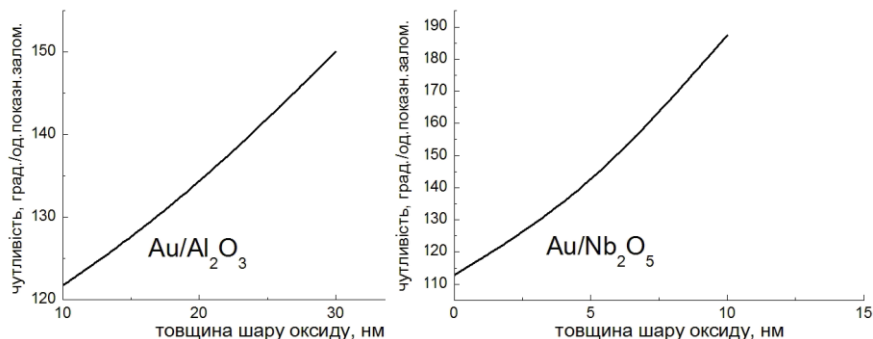


РИС. 2. Результати моделювання рефрактометричних досліджень для ППР на плівці золота товщиною 50 нм

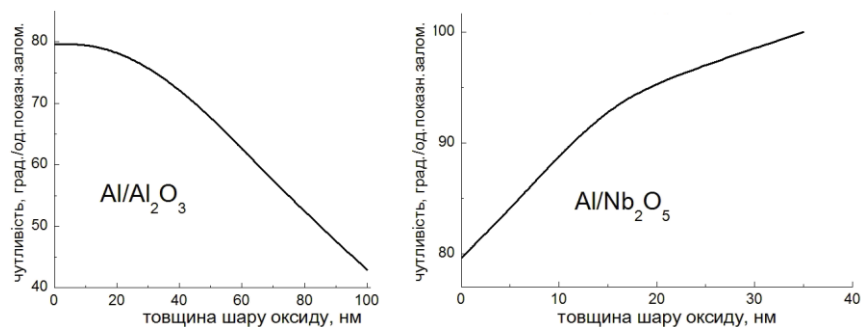


РИС. 3. Результати моделювання рефрактометричних досліджень для ППР на плівці алюмінію товщиною 15 нм

З наведених результатів бачимо, що накладення тонкого шару Al_2O_3 з показником заломлення 1,63 збільшує чутливість рефрактометричних вимірювань лише для ППР-сенсора з плівкою золота, для плівки алюмінію чутливість не підвищується. Тонкий шар Nb_2O_5 з високим показником заломлення (2,2) підвищує чутливість ППР-сенсора як для алюмінієвого, так і для золотого плазмоносія, особливо для другого.

Результати моделювання біосенсорних досліджень.

Чутливістю до біосенсорних досліджень тут будемо вважати зміну кута положення ППР-мінімуму при зміні показника заломлення біошару товщиною 10 нм на одиницю показника заломлення.

На рис. 4 та 5 показані результати розрахунків чутливості ППР-сенсорів до біосенсорних досліджень. З рис. 4, а та б видно, що чутливість біосенсорів на золоті зростає з товщиною діелектричної плівки до досягнення нею деякого оптимального значення. Оптимальне значення товщини суцільного оксиду алюмінію на золоті складає 42 нм, а чутливість сенсора при цій товщині 20,43 град/ОПЗ – вдвічі більше, ніж для золота без покриття (рис. 5, а).

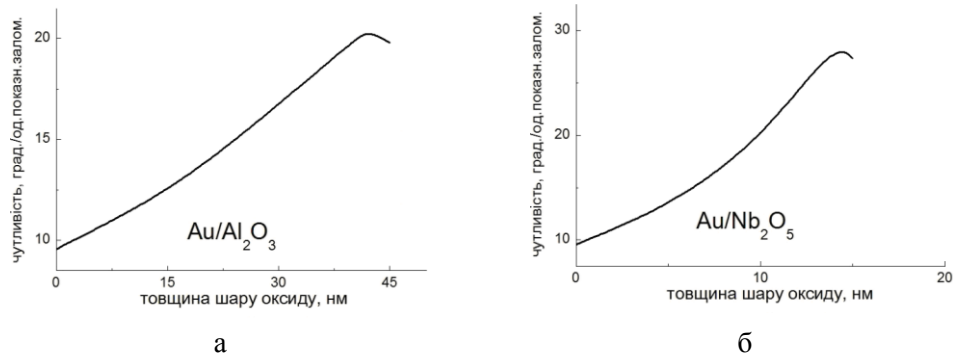


РИС. 4. Залежність чутливості ППР-сенсора на базі плівки золота товщиною 50 нм з додатковим шаром суцільного Al₂O₃ та Nb₂O₅ до біосенсорних вимірювань

Оптимальне значення товщини суцільного оксиду ніобію на золоті 14 нм, чутливість при цьому сягає 28,9 град/ОПЗ – майже втричі більше, ніж на плівці золота без покриття (рис. 5, б).

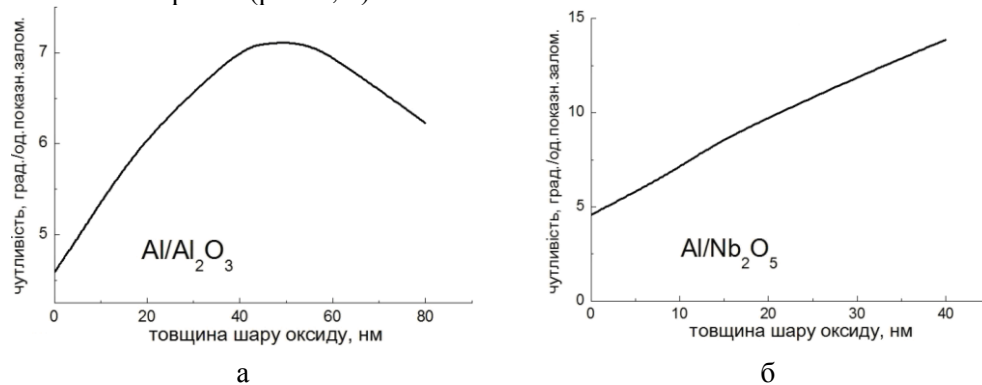


РИС. 5. Залежність чутливості для біосенсорних вимірювань ППР-сенсора на базі плівки алюмінію товщиною 15 нм з додатковими шарами Al₂O₃ та Nb₂O₅

З рис. 5, а бачимо, що для системи Al/Al₂O₃ існує оптимальне значення товщини оксидного шару (50 нм), при якому чутливість ППР-біосенсора для цієї системи сягає максимального значення 7,1 град/ОПЗ. Чутливість сенсора на базі алюмінію з шаром оксиду ніобію товщиною до 40 нм збільшується зі збільшенням товщини оксиду і сягає величини 13,89 град/ОПЗ. Зазначимо, що це перевищує чутливість ППР-сенсора на золоті без покриття. Це дуже цікавий результат, бо систему Al/Nb₂O₅ досить легко практично реалізувати, і з'являється альтернатива сенсорним підкладкам із застосуванням золота.

На базі проведених розрахунків для тонкоплівкових систем, що включають металеві шари алюмінію та золота, а також діелектричні шари оксидних плівок оксиду алюмінію та оксиду ніобію, була складена діаграма – рис. 6.

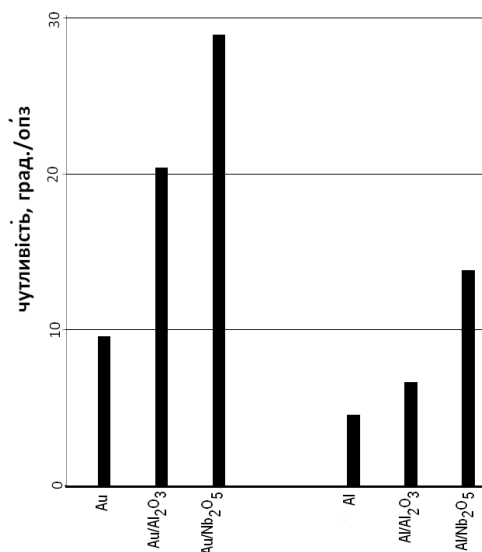


РИС. 6. Максимальні значення кутової чутливості для різних типів ППР-сенсорів для біосенсорних вимірювань, отримані при теоретичних розрахунках

З наведених даних бачимо, що чутливість стандартного золотого ППР-сенсора можна підвищити шляхом осадження додаткового оксидного шару на поверхню металу. Більше підсилення чутливості досягається при використанні матеріалів з високим показником заломлення.

Розробка технології, виготовлення та дослідження ППР-сенсорів з тонким діелектричним шаром на поверхні.

Було розроблено тонкоплівкову технологію виготовлення сенсорних підкладок з тонким діелектричним шаром Nb₂O₅ на поверхні. Технологічний цикл включає методи вакуумного осадження плівок ніобію (за допомогою магнетрона постійного струму) та золота (за допомогою термічного випаровування), а також термічне окислення.

Для виготовлення сенсорних підкладок Au/Nb₂O₅ на поверхню скляної пластини магнетроном постійного струму осаджувався адгезивний шар з ніобію товщиною 1–2 нм, після чого в тому ж вакуумному циклі термічним випаровуванням формувалася плівка золота товщиною 50 нм (осадження плівки золота контролювалась кварцевим вимірювачем товщини). На поверхню золота були нанесені плівки ніобію товщиною 2–10 нм, з яких потім формувалася оксидний шар. Товщина ніобію підбиралась виходячи з результатів розрахунків, описаних вище, з урахуванням об'ємного розширення при окисненні. Для формування оксидного шару Nb₂O₅ структури Au/Nb відпалювались при температурі 400 °C протягом 20 хв в термошафі. Внаслідок відпалу відбувалась реакція окислення і були отримані сенсорні структури Au/Nb₂O₅.

Проведені експериментальні дослідження сенсорів Au/Nb₂O₅. Дослідження чутливості сенсорних структур до зміни показника заломлення проводилися у ді-

апазоні значень 1,33 (вода) – 1,36 (етиловий спирт) по зсуву ППР-мінімуму на лабораторному ППР-пристрої. Експериментально отримане значення чутливості системи скло ($n = 1,61$)/Au складало 97,68 град/ОПЗ, що менше теоретично розрахованого значення 112,8 град/ОПЗ. Експериментальне значення чутливості системи Au(50 нм)/Nb₂O₅ складало 110 град/ОПЗ, (теоретичне значення 125 град/ОПЗ). Бачимо, що у відповідності до теоретичного моделювання, рефрактометрична чутливість ППР сенсора зросла при осадженні на поверхню золота шару Nb₂O₅. Відхилення величини експериментально отриманої чутливості від результатів розрахунків може бути пов'язане з відмінністю між реальними показниками заломлення плівок сенсорної структури, та використаними при моделюванні.

Висновки. Теоретичні розрахунки за допомогою розробленої нами програми показали можливість підвищення чутливості ППР-сенсорів шляхом нанесення тонкого діелектричного шару як при рефрактометричних, так і при біосенсорних вимірюваннях. Розроблено тонкоплівкову технологію виготовлення підкладок для ППР-сенсорів складу Au/Nb₂O₅ та експериментально показане підвищення їх чутливості порівняно з підкладками з Au.

1. *Войтович И.Д., Корсунский В.М.* Сенсоры на основе поверхностного плазмонного резонанса: принципы, технологии, применение. Киев: «Сталь», 2011. 538 с.
2. *Shalabney A., Abdulhalim I.* Sensitivity-enhancement methods for Surface Plasmon sensors. *Lasers and Photonics Rev.* 2011. V. 5. P. 571–606.
3. *Сотников В., Жердев А., Дзантиев Б.* Детекция межмолекулярных взаимодействий, основанная на регистрации поверхностного плазмонного резонанса. *Успехи биологической химии.* 2015. Т. 55. С. 391–420.
4. *Huang Y., Ho H., Wu S., Kong S.* Detecting phase shifts in surface plasmon resonance: A review. *Adv. in Opt. Technol.* 2012. ID 471957. doi:10.1155/2012/471957.
5. *Homola J.* Surface Plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species. *Chem. Rev.* 2008. V. 108. P. 462–493.
6. *Situ C., Buijs J., Mooney M.H., Elliott C.T.* Advances in surface plasmon resonance biosensor technology towards high-throughput, food-safety analysis. *Trends in Anal. Chem.* 2010. V. 29. P. 1305–1315.
7. *Будник М.М., Лебедева Т.С., Орленко О. Б., Ткаченко В.Г., Шпильовий П.Б.* Метрологічна атестація сенсорного приладу «Плазмонтест». *Матер. щорічн. Наук.-техн. школи-семінару «Біологічна і медична інформатика та кібернетика».* Київ. 2013. ч. 1. С. 21–35.
8. *Starodub N., Ogorodniichuk I., Lebedeva T., Shpylovyu P.* Optical Immune Biosensors for Salmonella Typhimurium Detection. *Adv. Biosens. Bioel.* V. 2, Iss. 3. P. 39–46.
9. *Огороднійчук Ю.О., Лебедева Т.С., Стародуб М.Ф.* Оптичний імунний біосенсор «Plasmonotest» для визначення Salmonella typhimurium. *Сенсорна електроніка і мікросистемні технології (СЕМСТ).* 2013. № 1. С. 106–113.
10. *Voitovich I.D., Lebyedyeva T.S., Rachkov O.E. et al.* Anodic Alumina-Based Nanoporous Coatings for Sensory Applications. *Springer Proc. In Phys. 167. Nanoplasmonics, Nano-Optics, Nanocomposites, and Surface Studies.* 2015. P. 423–431.
11. *Беднов М.В., Лебедева Т.С., Шпильовий П.Б.* Моделювання оптичних сенсорів з наноструктурованими покриттями. *Зб. наук. праць «Комп'ютерні засоби, мережі та системи».* Київ. 2014. № 13. С. 23–32.

Одержано 11.10.2016