

УДК 543.068.8, 543.9

Н.М. Городня, Д.О. Макаров, Н.В. Максимчук

## Кондуктометричні перетворювачі для визначення концентрації біологічних речовин

Здешевлено технологію виготовлення, удосконалена конструкція планарних кондуктометричних перетворювачів, досягнута хороша ідентичність електричних параметрів диференціальної пари та відтворюваність характеристик серії зразків. Досліджено розкид електричних параметрів в межах диференційної пари та серії перетворювачів на основі нікелю у порівнянні з перетворювачами на основі золота. Отримано перспективні зразки кондуктометричних електродних для реалізації недорогих одноразових біосенсорних чіпів визначення концентрації біологічних речовин.

The manufacturing technique became cheaper, the design of planar conductometric transducers was improved, good identity of electrical parameters of the differential pair and reproducibility characteristics of a series of samples were obtained. The variation of electrical parameters within the differential pair and a series of transducers based on nickel in comparison with transducers based on gold were investigated. The samples of conductometric electrode chip is promising to realize low-cost disposable biosensor chip for determining the concentration of biological substances.

**Ключові слова:** кондуктометричні біосенсори, мікроелектронні перетворювачі, глюкоза, сахароза

### Вступ

На сьогодні в світі зростає необхідність діагностики захворювань, контролю біотехнологічних процесів, перевірки якості харчових продуктів і питної води. Здійснення цих операцій має реалізовуватись з допомогою високочутливих, селективних, швидких та економічних методів аналізу. Серед них велику увагу приділяють приладам нового покоління - біосенсорам [1].

Для реалізації біосенсорів найчастіше використовують електрохімічні перетворювачі біохімічного сигналу в електричний (потенціометричні, вольтамперометричні, амперометричні, кулонометричні) [2], функціонування яких відбувається завдяки протіканню електродних електрохімічних реакцій. На відміну від них, в кондуктометричних перетворювачах електродні електрохімічні реакції не відбуваються взагалі або є до-

поміжними і не враховуються. В кондуктометричному методі велике значення має один з параметрів розчинів електролітів — питома провідність, зміну якої може спричинювати широкий спектр ферментативних реакцій. Кондуктометричні перетворювачі мають ряд значних переваг, а саме: відсутність електродів порівняння, використання при роботі змінної напруги малої амплітуди, що дозволяє уникнути фарадеївських процесів на електродах, відсутність світлочутливості, малі розміри та можливість високого рівня інтеграції при застосуванні недорогої тонкоплівкової стандартної технології.

Проте вважається, що завдяки значній фоновій провідності більшості аналізованих рідин, яка легко змінюється під дією різноманітних чинників, селективність, а отже, й можливість використання кондуктометричного методу реєстрування мала [3]. Однак, у разі використання інтегральних мікробіосенсорів більшості з цих труднощів можна запобігти використанням диференціальної схеми вимірювань, яка дає змогу компенсувати зміну фонові провідності, вплив коливань температури та інші чинники [4].

Як правило, для реалізації кондуктометричних біосенсорів застосовуються диференційні пари чутливих елементів із зустрічно – гребінчастою топологією електродів [5], які включають до мостового вимірювального кола. Диференціальний метод передбачає нанесення біомембрани на один такий чутливий елемент. Проте строк служби таких біологічних мембран обмежений і складає від тижня до місяця. Тому виникає необхідність заміни біомембрани. Однак при цьому погіршується надійність та зростають похибки перетворювача. Такий кондуктометричний чіп не може бути метрологічно атестованим і стає непридатним для подальших вимірювань, що особливо невигідно при використанні дорогих електродних систем на основі благородних металів.

Інша проблема використання благородних металів для виготовлення електродних систем пов'язана з технологічними труднощами, складністю утилізації відходів, трудомісткістю, проблемами постійного переналаштування апаратури в умовах малосерійного виробництва різноманітних за призначенням сенсорів. Замість благородних металів можна застосовувати гра-

фіт, проте графітові електроди, характеризуються нестабільністю характеристик [6]. Все це є причиною того, що кондуктометричні перетворювачі серійно не випускаються.

В цих умовах, для практичної реалізації кондуктометричних перетворювачів, перспективним виглядає створення недорогих одноразових планарних кондуктометричних чіпів. При цьому потрібно підібрати матеріал для виготовлення електродів, який є дешевим, та характеризується необхідними електрохімічними властивостями та біосумісністю. За своєю конструкцією такий чіп повинен забезпечувати надійну інтеграцію з біохімічною мембраною. До того ж, для зменшення впливу неінформативних факторів середовища необхідно забезпечити ідентичність електричних параметрів чутливих елементів в межах диференційної пари (з точністю не нижче  $(3 \pm 5\%)$ ), а також в межах всієї партії робочих зразків.

Метою даної роботи є здешевлення технології виготовлення та вдосконалення конструкції планарних кондуктометричних перетворювачів для забезпечення ідентичності електричних параметрів в межах диференційної пари та серії зразків.

### Технологія виготовлення та конструкція кондуктометричного перетворювача

Для кондуктометричного перетворювача нами була вибрана конструкція, що складається з двох ідентичних кондуктометричних перетворювачів, кожен з яких являє собою зустрічно-штирьову гребінку з площею активної області  $1,45 \text{ мм} \times 1,95 \text{ мм}$  (Рис.1). Крок зустрічно-штирьової гребінки складає  $100 \text{ мкм}$ , ширина –  $50 \text{ мкм}$  при міжелектродній відстані  $50 \text{ мкм}$ . Такі геометричні параметри вибирались із розрахунку забезпечення повного і стабільного передавання ефекту біохімічної реакції з селективної мембрани на чутливий електрод сенсора.

Поверхневий опір струмопровідних шин складає  $0,13 - 0,15 \text{ Ом/кв}$ , що забезпечує опір доріжки від контактної області до активної зони не більше  $30 \text{ Ом}$ . Струмопровідні шини за виключенням активної області та зони контактів покриті захисним шаром, в якості якого використовується фоторезист ФП383 з товщиною  $1,5 - 2 \text{ мкм}$ , задублений при температурі  $150^\circ\text{C}$  протягом  $30 \text{ хв}$ .

В якості підкладки використано ситал односторонньої поліровки марки СТ-50-І-0,6 з класом поліровки робочої поверхні – 13-14. Підкладки СТ-50-І-0,6 очищено від жирового та іншого органічного забруднення шляхом кип'ятіння в перекисно-аміачній суміші наступного складу:

$\text{H}_2\text{O}_2 : \text{NH}_4 : 3\text{H}_2\text{O}$  ( $T = 80^\circ\text{C}$ ,  $t = 10 \text{ хв.}$ ) з наступним промиванням в проточній дистильованій воді з питомим опором не менше  $800 \text{ кОм/см}$ . Сушка підкладок проведено шляхом скидання вологи на центрифугі.

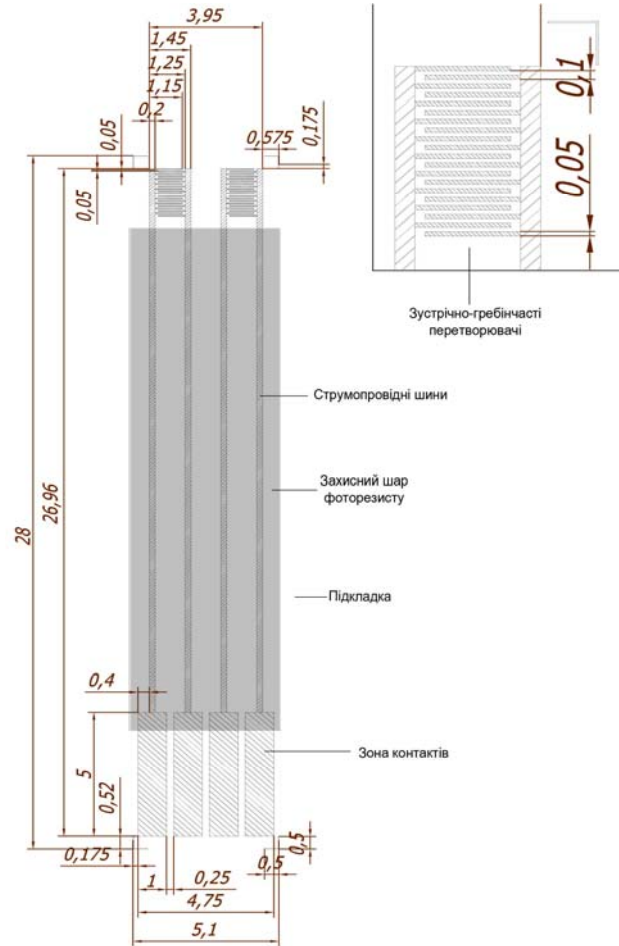


Рис. 1. Конструкція кондуктометричного перетворювача

Контроль якості помилки пластин проведено шляхом короточасного занурення підкладки в дистильовану воду, при цьому контролювався час утримання плівки води на поверхні підкладки. У випадку, коли час утримання плівки води на поверхні підкладки складав менше  $30 \text{ с}$ , партія підкладок відправлялась на промивання.

Металізація пластин проводилась методом магнетронного розпилення на установці вакуумного напылення «Катод-1М». В якості провідної системи використано плівки Ti-Ni. Для формування адгезійного підшару Ti використано мішень марки ВТ1-00. Поверхневий опір плівки підшару складає  $150 \dots 200 \text{ Ом/кв}$ . Плівки підшару сформувано при наступних технологічних параметрах: температура підкладки –  $200^\circ\text{C}$ , тиск робочого газу Ar –  $8 \cdot 10^{-3} \text{ мм. рт. ст.}$ , напруга на мішені –  $450 \text{ В}$ , струм –  $2 \text{ А}$ , час формування плівки –  $45 \text{ с}$ .

В якості основного провідного шару використано плівки Ni марки НВК, які сформовано при тиску робочого газу  $8 \cdot 10^{-3}$  мм рт. ст., температура підкладки –  $200^{\circ}\text{C}$ ,  $U_{роб} = 500\text{ В}$ ,  $I = 1,5\text{ А}$  час формування плівки – 25 хв. Поверхневий опір плівки Ni складає  $R_s \leq 0.15\text{ Ом/кв}$ .

Для формування рисунку сенсора та захисту струмопровідних шин використано 2 процеси фотолітографії. Травлення шарів металізації здійснено в селективних травниках Ti та Ni. Шар Ni травився в травнику наступного складу: 144 мл  $\text{H}_2\text{O}$ , 112 мл  $\text{HNO}_3$ , 68 мл  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , 68 мл  $\text{CH}_3\text{COOH}$ . Після травлення плівки Ni фоторезист змивався, після чого проведено травлення шару Ti. Плівка Ni служила маскуючим металом для травника Ti (9 ч. 30% KOH, 1 ч. 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $= 40^{\circ}\text{C}$ ).

Другу фотолітографію використано для формування захисної плівки струмопроводів.

### Дослідження частотних характеристик планарних тонкоплівчастих кондуктометричних перетворювачів

Для зменшення впливу побічних чинників, необхідно забезпечити якомога більшу ідентичність характеристик диференційних пар гребінок. Для товщини мембрани 20-50 мкм оптимальна ширина зубців гребінки й відстань між ними має становити від 20 до 50 мкм. Технологічно реалізувати максимально близьку ідентичність характеристик електродів можна при ширині зубців й відстані між ними  $50 \times 50$  мкм, тому нами виготовлено та досліджено характеристики кондуктометричних перетворювачів саме з такими геометричними параметрами.

Було проведено дослідження електричних характеристик 10 зразків кондуктометричних перетворювачів з нікелевими електродами (ширина зубців гребінки й відстань між ними  $50 \times 50$  мкм). Для порівняння досліджено 10 зразків перетворювачів із золотими електродами з іншою геометрією електродів (ширина зубців гребінки й відстань між зубцями  $20 \times 20$  мкм). Дослідження проведено з допомогою універсального моста змінного струму P5083 при тестових сигналах, що не перевищують 0,5 В. Перетворювачі занурювалися в буферний розчин з концентрацією 5 мМ та  $\text{pH} = 6,5$ . Розчин інтенсивно перемішувався з допомогою електромагнітної мішалки. Під час експериментів в приміщенні підтримувалась температура в межах  $22 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ .

Для експериментальних досліджень кондуктометричних перетворювачів був зібраний вимірювальний комплекс, розроблений в Інституті електродинаміки НАНУ [7] до складу якого входили: стенд для виконання вимірювань і стандартне обладнання - міст змінного струму P5083

і магнітна мішалка ММ. Головною частиною стенда був сенсорний блок.

Стенд підключався до універсального моста змінного струму P5083, що забезпечує вимірювання параметрів комплексного опору кондуктометричних перетворювачів, поміщених у взірцевий розчин. Основні характеристики моста P5083:

1) вимірювані параметри: активний опір ( $R$ ), ємність ( $C$ ), тангенс фазового кута ( $\text{tg}\phi$ );

2) схеми заміщення об'єкта вимірювання: послідовна ( $S$ ), паралельна ( $P$ ). При послідовній схемі заміщення  $\text{tg}\phi$  визначається за форму-

лою:  $\text{tg}\phi_S = \frac{1}{R2\pi fC}$ , де  $f$  - робоча частота. При

паралельній схемі заміщення  $\text{tg}\phi$  визначається по формулі:  $\text{tg}\phi_P = 2\pi fCR$ ;

3) діапазон робочих частот моста P5083 від 100 Гц до 100 кГц. Діапазон вимірюваних величин: по  $C$ : від  $10^{-14}$  Ф до  $10^{-3}$  Ф (у діапазоні частот 10–100 кГц); по  $R$ : від 0,1 ом до  $10^7$  Ом; по  $\text{tg}\phi$ : від  $10^{-4}$  до  $10^4$ .

4) частотні характеристики параметрів послідовної двохелементної RC-схеми заміщення  $R(f)$ ,  $C(f)$ ,  $\text{tg}\phi(f)$  знаходяться в діапазоні частот від 1 до 100 кГц кожного зі спарених перетворювачів диференціального датчика.

Результати вимірювання електричних параметрів у графічній формі представлені на рис. 2. Очевидно, що нікелеві кондуктометричні перетворювачі не поступаються за електричними параметрами золотим, при цьому їх собівартість значно нижча. Експериментально встановлено, що для кондуктометричних перетворювачів як із золотими, так і з нікелевими електродами, розкид їх найважливішого параметра – різниці опорів послідовної схеми заміщення в діапазоні частот 30 – 100 кГц знаходиться в межах 3 – 5%. Наявність такого розкиду пов'язана з технологічними обмеженнями, якістю застосовуваних матеріалів, недоліками конструкції і технології процесу виготовлення датчиків.

Визначенно похибки вимірювання, що обумовлені нестабільністю електричних характеристик датчиків з використанням їхніх електричних еквівалентів. Встановлено, що електронний канал біосенсорної системи забезпечує відтворюваність результатів вимірювань провідності електричних еквівалентів датчиків не гірше 1% при варіаціях розкиду параметрів датчиків у межах 10% по обох складових комплексної провідності. При умові застосування технології точного нанесення мембран, похибка відтворюваності результатів за рахунок варіацій електричних параметрів біосенсора не повинна перевищувати 1 – 2%.

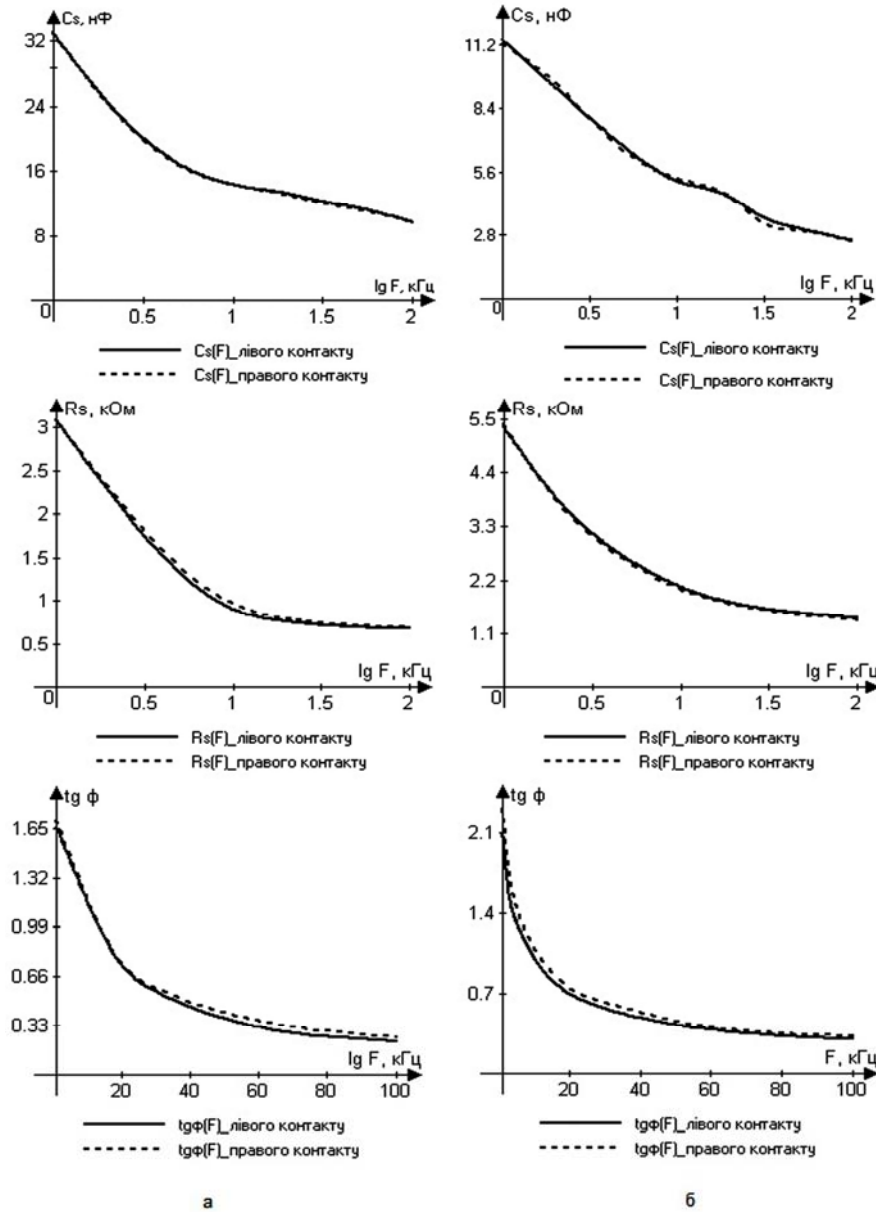


Рис. 2. Частотні характеристики кондуктометричних перетворювачів з різними матеріалами електродів: а – золото, б – нікель

## Висновки

Завдяки запропонованому вибору геометричних розмірів електродних систем та технології виготовлення кондуктометричних перетворювачів з нікелевими електродами вдалося досягнути розкиду різниці опорів послідовної схеми заміщення не більше 3-5% в діапазоні частот 30 – 100 кГц, що задовольняє необхідним вимогам до реалізації кондуктометричних біосенсорів.

На основі електричних еквівалентів диференційних кондуктометричних перетворювачів показано, що розкид електричних параметрів, який може бути забезпечений технологією виготовлення датчиків, не приводить до похибок електронного вимірювального каналу більше 1 – 2 %.

Нікелеві кондуктометричні перетворювачі не поступаються за електричними параметрами золотим, при цьому їх собівартість значно нижча.

Виготовлені перетворювачі можуть бути використані для створення недорогих портативних біосенсорних систем для вимірювання концентрації важливих складових харчових продуктів, зокрема таких, як сахароза, глюкоза та ін. що буде поставлено за мету подальших досліджень та розробок.

Роботу виконано в рамках проекту "Кондуктометрична біосенсорна система для аналізу сахаридів у харчовій промисловості. Розробка та реалізація експериментального зразку біосенсорної кондуктометричної системи", № держреєстрації 0107U003158.

**Література**

1. Coulet P. R. What is a biosensor? // Biosensor principles and application / Eds L. J. Blum, P. R. Coulet.—New York: Marcel Dekker Inc., 1991.—P. 1—6.
2. Bartlett P.N., Whitaker R.G. Strategies for the development of an) perometric enzyme electrodes // Biosensors. — 1987/88. — 3. — P. 359—379.
3. Дорохова Е.Н., Прохорова Г.В. Аналитическая химия. Физико-химические методы анализа. — М.: Высш. шк., 1991. — 256 с.
4. Gopel W., Jones T.A., Kleitz M. et al. // Sensors A Comprehensive Survey / Ed. W. Gopel, J. Hesse, J. N. Zemel. — Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft, 1991. - 2, pt 1. - P. 314-337.
5. Дзядевич С.В., Солдаткін О.П. Наукові та технологічні засади створення мініатюрних електрохімічних біосенсорів. // К.:Наукова думка, 2006. – 255 с.
6. В.Г. Мельник, А.А. Михаль, М.П. Рубанчук. Измерительные цепи для кондуктометрических преобразователей с дифференциальными двухэлектродными датчиками // Технічна електродинаміка.- 2008.- № 2.- С. 58 – 64.
7. В.Г. Мельник. Исследование чувствительности мостовой измерительной цепи с дифференциальным кондуктометрическим датчиком // Праці Інституту електродинаміки НАНУ. – Збірник наукових праць . - Вип. 22. - 2009. – С. 115 – 118.