

**«Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет
«ЛЭТИ» им. В.И.Ульянова (Ленина)»
(СПбГЭТУ «ЛЭТИ»)**

Направление	11.03.04 - Электроника и микроэлектроника	
Профиль	Микроэлектроника и твердотельная электроника	
Факультет	электроники	
Кафедра	Микро- и микроэлектроники	
<i>К защите допустить</i>		
Зав. кафедрой	д.т.н., проф.	Лучинин В. В.

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
БАКАЛАВРА**

**Тема: РАЗРАБОТКА ПОРТАТИВНОЙ
ЭЛЕКТРОАНАЛИТИЧЕСКОЙ ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ БИМЕДИЦИН-
СКОГО ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА**

Студент	_____	Шедченко И. В.
	<i>подпись</i>	
Руководитель	асс. каф. МНЭ	Ситков Н. О.
	(Уч. степень, уч. звание)	

	<i>подпись</i>	
Консультанты	к.т.н., доц.	Буканин В. А.
	(Уч. степень, уч. звание)	

	<i>подпись</i>	
	к.т.н.	Райская Е. К.
	(Уч. степень, уч. звание)	

	<i>подпись</i>	

Санкт-Петербург

2021

ЗАДАНИЕ НА ВЫПУСКНУЮ КВАЛИФИКАЦИОННУЮ РАБОТУ

Утверждаю

Зав. кафедрой МНЭ

д.т.н., проф. _____ Лучинин В. В.

«___» _____ 20__ г.

Студент Шедченко И. В.

Группа 7206

Тема работы: Разработка портативной электроаналитической платформы для биомедицинского экспресс-анализа

Место выполнения ВКР: ИЦ ЦМИД

Исходные данные (технические требования): Разработать портативную электроаналитическую платформу для биомедицинского экспресс-анализа на базе микроконтроллера. Провести эксперименты по установлению работоспособности устройства.

Содержание ВКР: Обзор научной литературы по тематике электрохимических сенсоров, функционала портативных диагностических приборов, описание экспериментов: проектирование и сборка устройства, разработка программного обеспечения, установление работоспособности устройства, обработка.

Перечень отчетных материалов: пояснительная записка, иллюстративный материал.

Дополнительные разделы: Безопасность жизнедеятельности

Дата выдачи задания

Дата представления ВКР к защите

«___» _____ 20__ г.

«___» _____ 20__ г.

Студентка

Шедченко И. В.

Руководитель асс. каф. МНЭ
(Уч. степень, уч. звание)

Ситков Н.О.

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН ВЫПОЛНЕНИЯ ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Утверждаю

Зав. кафедрой МНЭ

д.т.н., проф. _____ Лучинин В. В.

« ____ » _____ 20 ____ г.

Студент Шедченко И. В.

Группа 7206

Тема работы: Разработка портативной электроаналитической платформы для биомедицинского экспресс-анализа

№ п/п	Наименование работ	Срок вы- полнения
1	Ознакомление с информационными источниками	11.02.2020- 19.03.2020
2	Проектирование устройства	20.03.2020- 28.03.2020
3	Сборка устройства	29.03.2020- 02.04.2021
4	Отладка устройства	03.04.2021- 17.04.2021
5	Выполнение раздела БЖД	02.06.2021
6	Оформление ВКР	06.06.2021
7	Проверка ВКР на оригинальность и соответствие нормативным документам	07.06.2021
8	Предварительная защита ВКР	10.06.2021
9	Представление ВКР к защите	15.06.2021

Студент _____

Шедченко И. В.

Руководитель асс. каф. МНЭ
(Уч. степень, уч. звание)

Ситков Н.О.

РЕФЕРАТ

Пояснительная записка 82 страниц, 52 рисунка, 2 таблицы, 27 источников, 3 приложения.

Портативный электрохимический датчик, вольтамперометрические методы анализа, трехэлектродная система, программное обеспечение.

Целью данной работы является разработка портативной электроаналитической платформы для биомедицинского экспресс анализа. Для регистрации выходных данных, а также для подачи контролируемого напряжения использовалась платформа Arduino Uno. После сборки устройства проведены технические испытания и отладка прибора.

При выполнении дипломного проекта рассмотрены различные методы анализа веществ, на основе проанализированных данных, был выбран вольтамперометрический метод анализа и на его основе разработан прототип электроаналитической платформы для биомедицинского экспресс анализа. Также спроектировано программное обеспечение для разработанного устройства и компьютера. В конце работы проведены испытания устройства на различных образцах.

ABSTRACT

The aim of this work is to develop a portable electroanalytic platform for biomedical express analysis. The Arduino Uno platform was used to register the output data, as well as to supply a controlled voltage. After assembling the device, technical tests and debugging of the device are performed.

When performing the diploma project, various methods of substance analysis were considered, based on the analyzed data, a voltammetric method of analysis was selected and a prototype of an electroanalytic platform for biomedical express analysis was developed on its basis. Software for the developed device and computer is also designed. At the end of the work, the device was tested on various samples.

СОДЕРЖАНИЕ

	СПИСОК ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ	8
	ВВЕДЕНИЕ	9
1.	ОБЗОР ИНФОРМАЦИОННЫХ ИСТОЧНИКОВ	10
1.1.	Электрохимические сенсоры	10
1.2.	Методы электрохимического анализа	10
1.2.1.	Потенциометрия	13
1.2.2.	Вольтамперометрия	15
1.2.3.	Электрогравиметрия	19
1.2.4.	Кулонометрия	19
1.3.	Электрохимическое обнаружение болезней сердца	24
1.3.1.	С-реактивный белок (СРБ)	26
1.3.2.	Сердечный тропонин (сTnI)	27
1.3.3.	Электрохимические биосенсоры для СРБ и сTnI	28
1.4.	Области применения электрохимических сенсоров	32
1.5.	Фотолиитография	34
1.6.	Выводы по главе и постановка задачи	37
2.	РАЗРАБОТКА УСТРОЙСТВА	38
2.1.	Схема устройства	38
2.1.1.	Система автоматического проектирования	41
2.1.2.	Схема питания вольтамперметра	41
2.1.3.	Подача контролируемого напряжения с Arduino на электроды	44
2.1.4.	Регистрация напряжений	45
2.1.5.	Регистрация токов	47
2.2.	Изготовление электродов и печатной платы	50
2.3.	Проектирование и изготовление корпуса	53
3.	ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ	55
3.1.	Программа для Arduino	55

3.2.	Программа для работы с устройством	57
4.	ОТЛАДКА И ТЕХНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ УСТРОЙСТВА	59
4.1.	Отладка устройства	59
4.2.	Технические испытания устройства	
5.	БЕЗОПАСНОСТЬ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ	64
5.1.	Безопасность медицинских приборов	65
5.2.	Безопасность медицинского программного обеспечения	66
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	68
	СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	70
	ПРИЛОЖЕНИЕ 1	73
	ПРИЛОЖЕНИЕ 2	74
	ПРИЛОЖЕНИЕ 3	80

СПИСОК ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей пояснительной записке применяют следующие термины с соответствующими определениями:

АЦП – аналого-цифровой преобразователь

БСА – бычий сывороточный альбумин

ВЭ – вспомогательный электрод

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

КПД – коэффициент полезного действия

ОИМ – острый инфаркт миокарда

ОУ – операционный усилитель

РНК – рибонуклеиновая кислота

РЭ – рабочий электрод

СРБ – С-реактивный белок

УФ – ультрафиолет

ШИМ – широтно-импульсная модуляция

ЭДС – электродвижущая сила

ЭС – электрод сравнения

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время информацию о составе сложных органических объектов получают с помощью различных химических методов [1]. Для проведения такого анализа обычно требуется дорогостоящее оборудование, которое обладает значительными габаритами и весом. Проведение исследований на таком оборудовании является достаточно трудо- и времязатратным, что значительно осложняет возможность реализации оперативной диагностики для оказания своевременной медицинской помощи. Поэтому существует необходимость создания доступных средств и методов для биомедицинской экспресс-диагностики.

Разработка таких средств может быть реализована с помощью электрохимических методов анализа, которые обладают достаточно высокой чувствительностью, селективностью, простотой и доступностью технологической реализации. Электрохимические методы исследования нашли применение в различных областях науки и техники, таких как биосенсорика, материаловедение, аналитическая химия и т.д. Применение программируемых микроконтроллеров позволяет оптимизировать процесс измерений под конкретные аналитические задачи. Многообразие материалов электродов позволяет создавать на их основе различные биосенсорные системы для обнаружения широкого спектра аналитов.

1. ОБЗОР ИНФОРМАЦИОННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1.1. Электрохимические сенсоры

Электрохимические датчики можно разделить на 2 основных типа: первый тип основан на равновесных методах анализа, то есть в данном типе датчиков идет преобразование какого-либо параметра электрохимической ячейки (чаще всего концентрации) в пропорциональный электрический ток. Этот электрический ток поступает в микропроцессор и преобразуется с помощью АЦП в число равное отслеживаемому параметру. Второй тип датчиков основан на не равновесных методах анализа. В данном типе датчиков рассматривается влияние тока или приложенного потенциала к электрохимической ячейке. В зависимости от того, что подается на электрохимическую ячейку можно измерить разные параметры вещества (таблица 1).

В основе электрохимического анализа лежат реакции окисления и восстановления на границе твёрдого вещества (электрода) и электролита (он может быть, как расплавом, содержащим ионы, а также обычным раствором). Задача электрохимического датчика – собрать информацию внутри электрохимической ячейки и представить ее человеку. Применение у электрохимических датчиков очень обширное, так как они могут определять состав воздуха, жидкости и твердого вещества. Актуальность использования электрохимических сенсоров в различных областях науки и техники, таких как экология, ядерная энергетика, медицина и др., обусловила развитие конструкторско-технологических решений, применяемых для их создания.

В пример использования электрохимических датчиков можно привести:

- Нефтяную промышленность (для контроля загрязнения окружающей среды).
- Ядерную энергетику (для определения урана и плутония).

- Медицина (для определения различных соединений, которые могут сигнализировать о болезни).

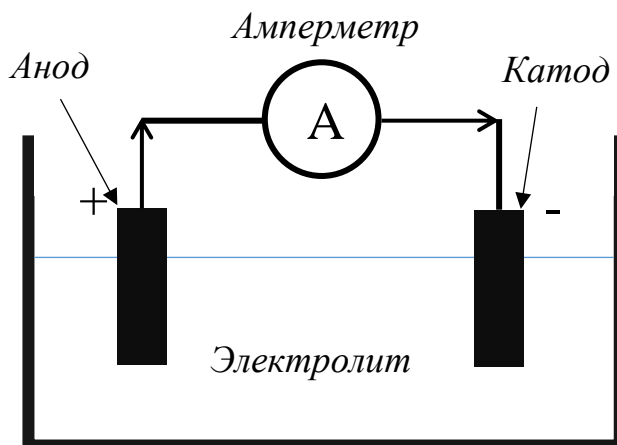


Рисунок 1 – Базовая конструкция электрохимического сенсора.

На рисунке 1 представлено базовое понятие о конструкции электрохимического датчика: к двум электродам подключен амперметр [2]. Данный датчик относится к датчикам равновесного электрохимического анализа.

1.2. Методы электрохимического анализа

Выше говорилось, что электрохимические датчики можно разделить на 2 типа: по методу используемого анализа. В равновесных методах электрохимического анализа значение тока, которое задается внешней электрической цепью стремится к нулю. То есть в основе равновесных методов анализа лежит исследование системы без влияния на равновесие между электродом и раствором [3]. В неравновесных методах, наоборот, значение тока задается и рассматриваются процессы, которые происходят при протекании этого тока [4].

На полученный сигнал в электрохимических методах могут влиять различные факторы: электропроводность анализируемого вещества, ЭДС между электродами и электролитом, количество электричества, пошедшего на электролиз и др.

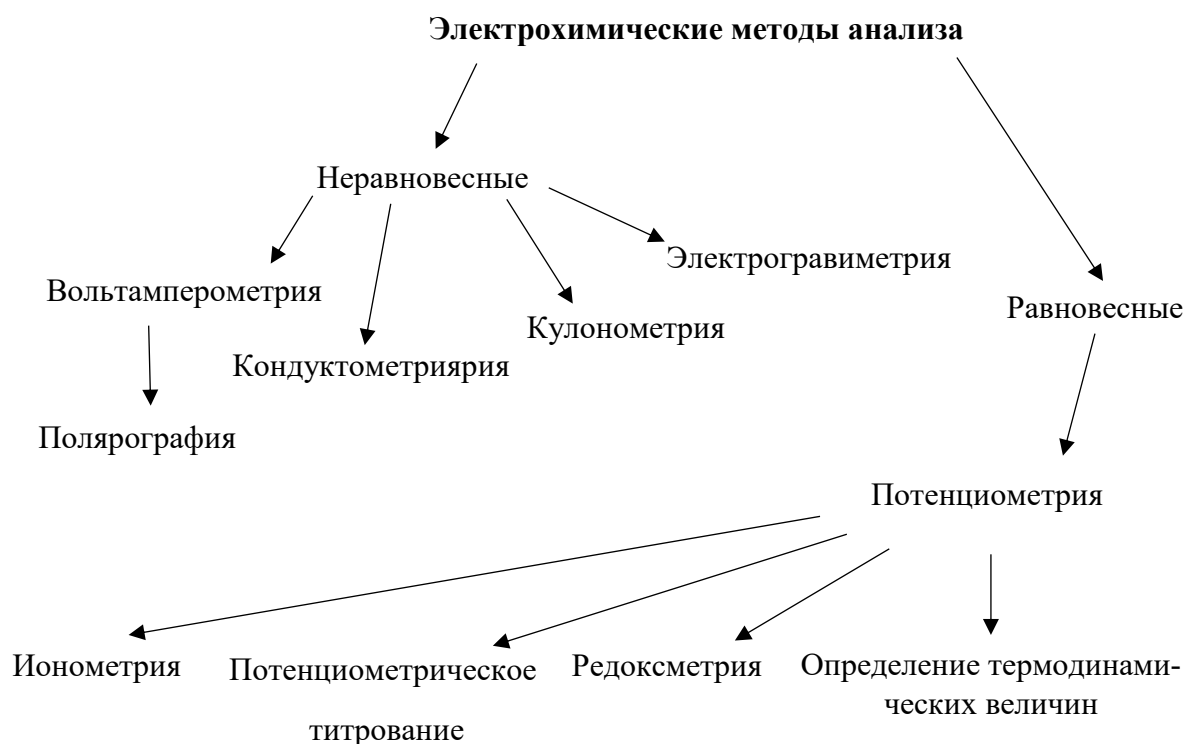


Рисунок 2 – Методы электрохимического анализа.

Тип электрохимического сенсора всегда зависит от того, какое вещество, а также какие его параметры нужно исследовать. Основные методы электрохимического анализа приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Виды электрохимических анализов [2].

Метод	Условия измерений	Измеряемый параметр (единицы измерения)
Потенциометрия	$I = 0$	Потенциал U (В)
Вольтамперометрия	$I = f(U)$	Ток I (А)
Кондуктометрия	$L(\approx 1000 \text{ Гц})$	Удельная электропроводность σ (См·см ⁻¹)
Кулонометрия	$I = \text{const}$ или $U = \text{const}$	Количество электричества Q (Кл)
Электрогравиметрия	$I = \text{const}$ или $U = \text{const}$	Масса m (г)

1.2.1. Потенциометрия

В основе потенциометрии лежит уравнение Нернста. Оно показывает зависимость между потенциалом и ионной концентрацией:

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \cdot \ln \prod a_i^{v_i}, \quad (1.1)$$

где:

E – электродный потенциал, E^0 – стандартный электродный потенциал, R – универсальная газовая постоянная, T – абсолютная температура, F – постоянная Фарадея, n – число электронов, участвующих в процессе, a_i – активности участников полуреакции, v_i – стехиометрические коэффициенты (положительны для продуктов полуреакции (окисленной формы), отрицательны для реагентов (восстановленной формы)).

В случае, когда восстановитель отдает электрон окислителю, полуреакция имеет вид:



Уравнение Нернста сводится к виду:

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \cdot \ln \frac{a_{ox}}{a_{red}}, \quad (1.3)$$

де:

a_{ox} – активность окислительного вещества, a_{red} – активность восстановительного вещества. Данное уравнение связывает активности окислителя и восстановителя с приложенным потенциалом.

Потенциометрию разделяют на 4 основных класса:

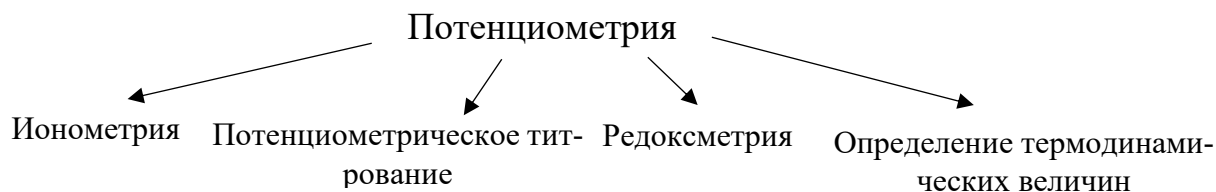


Рисунок 3 – Частные случаи потенциометрии.

Основным примером **прямой потенциометрии (ионометрии)** является рН-метр. В общем случае рН-метр сравнивает активность H^+ ионов с обеих сторон стеклянных электродов, для которых известна внутренняя активность (концентрация), и измеряется внешняя активность (аналитический раствор). Отклики получаются в разности потенциалов ΔU раствора по обе стороны мембраны и преобразуются в шкалу рН, основанную на уравнении Нернста, которое связывает потенциал и концентрацию.



Рисунок 4 – Пример рН-метра и стеклянного электрода.

Потенциометрическое титрование используют тогда, когда нужно следить за ходом реакции, в частности для определения точки эквивалентности.

Редоксметрия используется для анализа окислительно-восстановительных реакций.

Определение термодинамических величин таких, как изменение свободной энергии Гиббса, энтропии, энтальпии, константы равновесия, а также концентрации и активности в растворах и расплавах используется в физической химии.

1.2.2. Вольтамперометрия

Исторически вольтамперометрические методы были разработаны после открытия полярографии в 1922 году чешским химиком Ярославом Гейровским, получившим Нобелевскую премию по химии в 1959 году. [6].

Полярография является частным случаем вольтамперометрии, только в качестве рабочего электрода в полярографии обычно используют обновляющейся (капающий) ртутный электрод. Общей характеристикой всех вольтамперометрических методов является то, что они включают изменение потенциала (U) на электроде и контроль результирующего тока (I), протекающего через электрохимическую ячейку. Таким образом, все методы вольтамперометрии можно описать как функцию потенциала, тока и времени (U , I , а также t). [4]

Аналитические преимущества многих вольтамперометрических методов включают следующее: высокая чувствительность с обнаруживаемым диапазоном концентраций органических и неорганических веществ; большое количество полезных растворителей и электролитов; широкий диапазон температур; быстрое время анализа (секунды); одновременное определение нескольких аналитов; возможность определять кинетические параметры и оценивать неизвестные параметры; легкость, с которой могут быть созданы различные формы потенциальных длин волн; и измерение малых токов. [6]



Рисунок 5 – Виды вольтамперометрии.

В *прямой вольтамперометрии* отслеживается изменение тока при подаче линейно-изменяющегося напряжения. В данном методе используются любые электроды, кроме ртутного обновляющегося. Обычно этим методом изучают вещества у которых происходят окислительно-восстановительные реакции при напряжениях поляризации электрода. [4]

Косвенная вольтамперометрия или амперометрическое титрование – это электрохимический метод анализа, в котором изменяется концентрация вещества в электрохимической ячейке и результирующий ток является функцией этой концентрации $I = f(C)$ [5].

Потенциал рабочего электрода устанавливается равным потенциалу предельного диффузионного тока вещества, которое может образовываться или удаляться из системы в результате реакции титранта и исследуемого вещества. Диффузионный ток при увеличении концентрации исследуемого вещества может как понижаться, так и повышаться. Это говорит нам об электроактивности образовавшегося вещества [4].

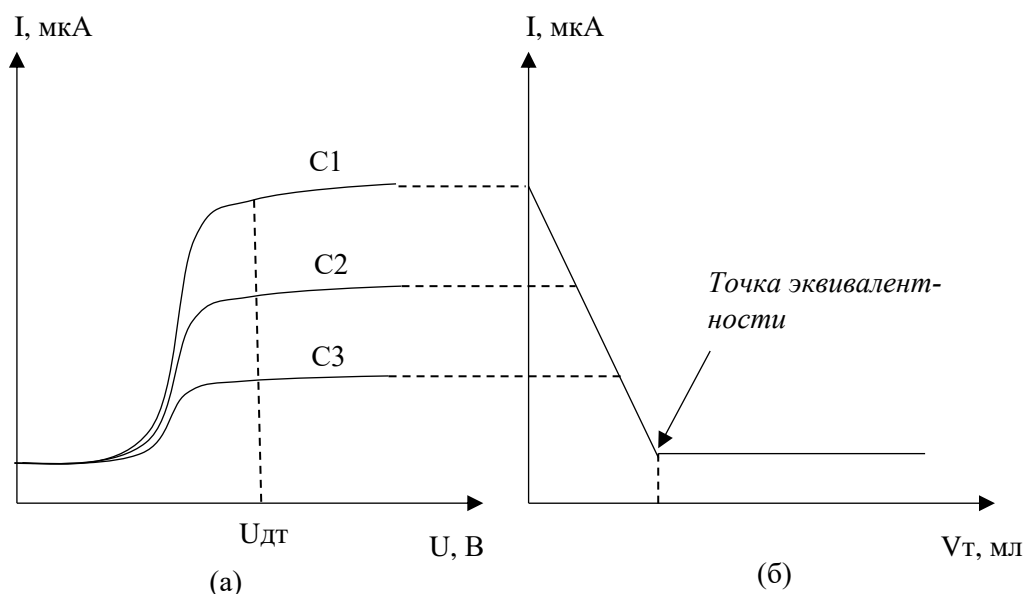


Рисунок 6 – Амперометрическое титрование.

(а) – Вольтамперограммы системы с разной концентрацией исследуемого вещества ($C1 > C2 > C3$), (б) – Изменение тока, проходящего через систему при изменении объема, вливаемого титранта.

В зависимости от электроактивности веществ, входящих в реакцию при титровании можно увидеть разные кривые титрования, показанные на рисунке 7.

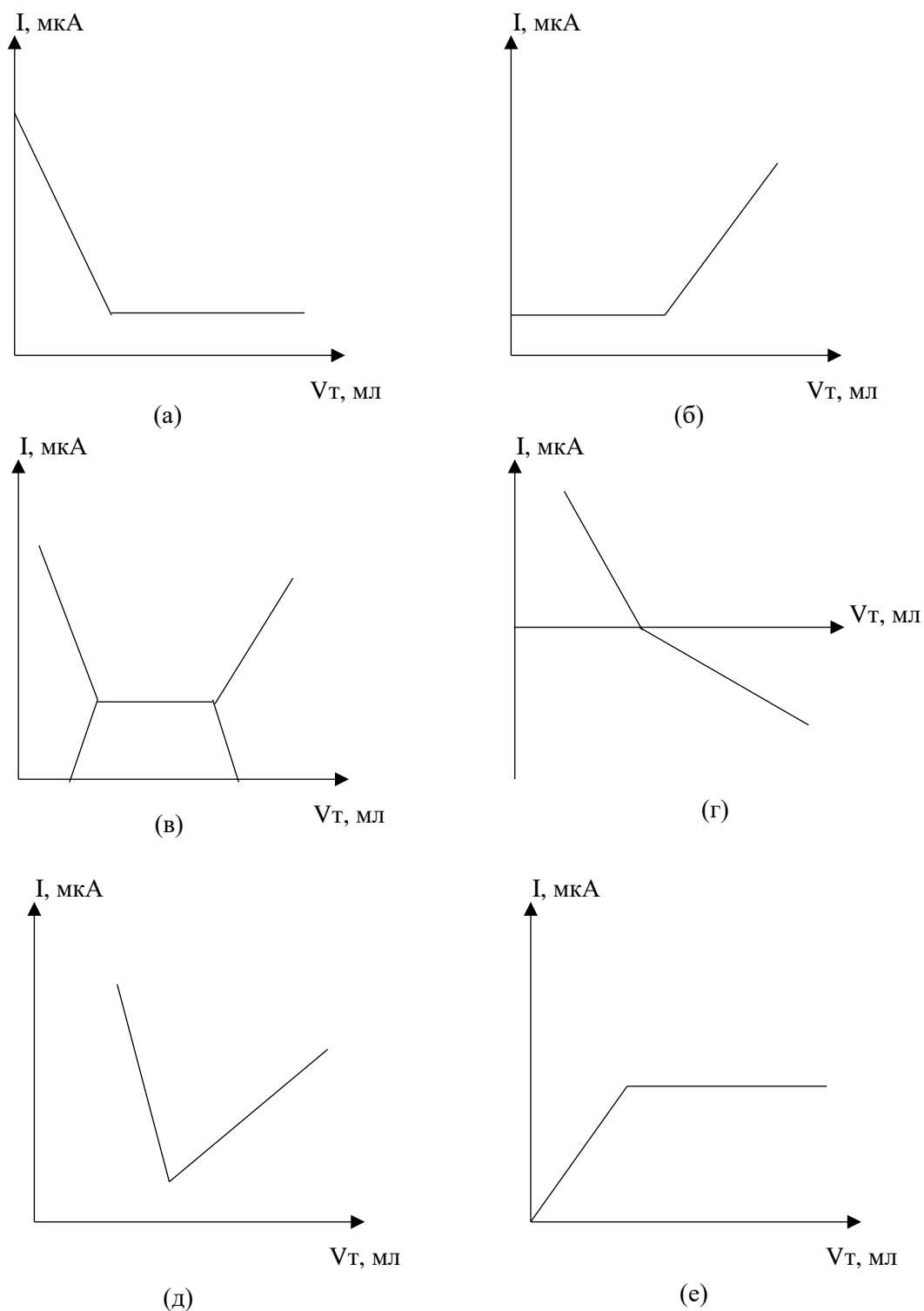


Рисунок 7 – Виды кривых титрования [4].

(а) – исследуемое вещество является электроактивным, б – исследуемое вещество не электроактивно, в – в исследуемом веществе есть разные ионы, которые вступают в реакцию с электроактивным титрантом, г – титрант окисляется, а титруемое вещество восстанавливается, д – оба вещества электроактивны, е – продукт реакции является электроактивным.

Виды полученных зависимостей можно объяснить следующим образом [4]:

- а) При реакции с титрантом образуется не электроактивное вещество.
- б) После точки эквивалентности остается остаток электроактивного титранта.
- в) Одно из веществ электроактивно при заданном потенциале, а другое нет. Вследствие этого на графике появляются две точки эквивалентности.
- г) При заданном потенциале одно из веществ (титрант или исследуемое вещество) будет восстанавливаться, а другое окисляться.
- д) Потенциала, приложенного к электродам достаточно, чтобы вызвать у титранта и исследуемого вещества диффузионный ток. При этом у этих веществ эти токи различаются, это характеризуется разным наклоном кривых титрования.
- е) Титрант и исследуемое вещество не электроактивны, а вот вещество, которое образуется в результате их реакции является электроактивным

Инверсионная вольтамперометрия используется как очень точный метод определения примесей в сверхчистых веществах. Пределы обнаружения составляют от 10^{-9} до 10^{-12} М. [4]

Данный метод основан на предварительном электрохимическом (электролитическом, адсорбционном) концентрировании исследуемого вещества на электроде в виде металла (труднорастворимого соединения ртути, амальгамы на поверхности ртутного электрода или адсорбента в виде комплексного соединения). Далее идет регистрация вольтамперограммы на которой видна реакция восстановления или окисления.

Инверсионную вольтамперометрию используют в атомной промышленности, а также в производстве полупроводников.

Следует сказать, что инверсионную вольтамперометрию в случае электролитического концентрирования и в зависимости от характера инверсионного процесса (окисление или восстановление) разделяют на анодную и катодную, а в случае адсорбционного концентрирования исследуемого вещества метод будет называться адсорбционной инверсионной вольтамперометрией. [4]

1.2.3. Электрогравиметрия

Электрогравиметрический метод является одним из ранних физико-химических методов по анализу содержания металлов. Сутью этого метода является определение массы осажденного металла или оксида металла на электроде под действием электрического тока.

Электрогравиметрию разделяют на электролиз с наложением и без наложения электрического потенциала. В первом случае к исследуемому веществу прикладывают потенциал и под его действием через электрохимическую ячейку начинает течь ток, вследствие этого на электроде начинают выделяться вещества. Во втором случае в исследуемый раствор помещают гальваническую пару [4]. Гальваническая пара представляет собой два металлических электрода, которые соединены между собой проводником. Металлические электроды имеют разные величины стандартного электродного потенциала. Чем выше разница в стандартных электродных потенциалах, тем больше будет ЭДС у гальванической пары.

Достоинством электрогравиметрических методов является простота и относительно неплохая точность. Также данные методы не требуют введения в раствор дополнительных веществ. К минусам данных методов можно отнести невозможность определения многих элементов.

1.2.4. Кулонометрия

Кулонометрия - это электрохимический метод, при котором измеряется общий заряд (количество кулонов), потребляемый при окислительно-восста-

новительном преобразовании аналита на электроде [8]. Кулонометрия отличается от вольтамперометрических и амперометрических методов тем, что не полагается на ток, ограниченный диффузией, для получения зависимости сигнала от концентрации. Кулонометрия - это абсолютный метод, что означает, что калибровка обычно не требуется, поскольку электрический заряд можно измерить с высокой точностью. Это преимущество, присущее гравиметрии. Еще одним преимуществом является присущая ему простота и, следовательно, ограниченная стоимость. Этот метод был очень популярен примерно в середине двадцатого века, но во многих приложениях был заменен вольтамперометрическими методами, такими как дифференциальная импульсная полярография или недавними неэлектрохимическими аналитическими методами, такими как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Однако некоторые приложения все еще актуальны, в первую очередь важное определение содержания воды по методу Карла Фишера. Также произошли интересные относительно новые разработки в отношении миниатюризации и чувствительности.

Полный заряд, прошедший между двумя электродами в окислительно-восстановительной реакции аналита, определяется уравнением Фарадея [8]:

$$Q(t) = \int_0^c i(t)dt = zFn = zFeV, \quad (1.4)$$

где:

Q – электрический заряд в кулонах, i – ток в амперах, t – время в секундах, z – количество электронов, обмениваемых на одну молекулу аналита, F – постоянная Фарадея ($96,487 \text{ Кл моль}^{-1}$), n – число молей, c – молярная концентрация, и V – объем. В кулонометрии аналит в объеме пробы полностью истощается. Это отличает метод от амперометрии или вольтамперометрии, где измеряется уровень тока, который контролируется концентрацией через ее влияние на скорость диффузии. Это означает, что в кулонометрии, в отличие от большинства аналитических методов, определяется не концентрация, а общее

количество аналита. Однако, зная объем, можно, конечно, определить концентрацию. Поскольку электрический заряд можно измерить с высокой точностью и по точности, этот метод является абсолютным, то есть калибровка стандартными растворами не требуется. Это общий аспект кулонометрии с электрогравиметрией. Однако, в отличие от электрогравиметрии, в другом электрохимическом насыпном методе продукт окислительно-восстановительной реакции не должен образовывать взвешенный твердый осадок на электроде. Это делает кулонометрию гораздо более универсальным методом [8].

Есть два основных подхода. Кулонометрию можно проводить в режимах постоянного тока и постоянного потенциала. Первый по своей сути проще, так как в этом случае полный заряд получается непосредственно от измеренного времени до завершения реакции. Однако его можно успешно использовать только в том случае, если в образце присутствует только один редоксоактивный элемент, или если, по крайней мере, окислительно-восстановительные потенциалы присутствующих элементов резко различаются [8]. В кулонометрии постоянного тока потенциал электрода должен соответствовать уменьшению концентрации аналита согласно уравнению Нернста (для окисления):

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \cdot \ln \frac{x}{1-x} , \quad (1.5)$$

где x – доля окисленного аналита.

Из уравнения выше следует, что для завершения реакции на 99,9% приложенный потенциал должен быть на 180 мВ более положительным, чем в начале (для $n = 1$). Чтобы продолжать пропускать ток через элемент, в конечном итоге должна начаться альтернативная реакция, такая как разложение растворителя или материала электрода. Это приводит к потенциальному поведению, показанному на рисунке 6.

Кулонометрия с постоянным потенциалом позволяет лучше контролировать ход реакции, поскольку электродные реакции всегда регулируются электродным потенциалом. Побочные реакции, которые возникают при наложении потенциала, можно отфильтровать, если эти реакции имеют отличный от основной реакции окислительно-восстановительный потенциал. Также возможно количественно удалить мешающие частицы перед определением аналита, процесс, называемый электросепарацией.

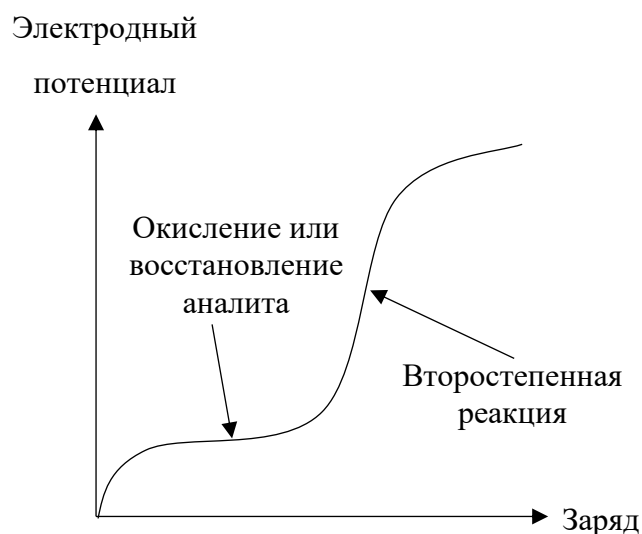


Рисунок 8 – Возможный исход при кулонометрии на постоянном токе. (Вторичная реакция происходит из-за окисления или восстановления других электроактивных частиц в образце или разложения электрода, или растворителя) [8].

В кулонометрии постоянного потенциала ток, i_t , распадается со временем в соответствии с формулой:

$$i_t = i_0 \cdot 10^{-kt}, \quad (1.6)$$

где:

i_0 – начальный ток, t – время и k – константа, зависящая от таких параметров, как размер электрода и коэффициент диффузии анализируемых частиц (рисунок 7).

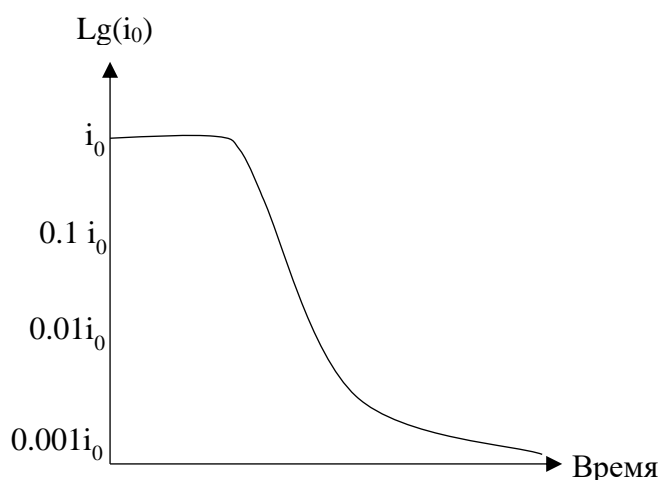


Рисунок 9 – Спад тока в логарифмическом масштабе при кулонометрии постоянного потенциала [8].

Для того чтобы получить заряд нужно найти площадь под кривой на рисунке 7. На сегодняшний день это легко делается с помощью электронно-вычислительных машин. Погрешность таких вычислений составляет меньше 0.1% [8].

Возможной побочной реакцией, которую следует избегать, является разложение растворителя, которым в большинстве случаев является вода. Следовательно, необходимо убедиться, что границы потенциальной стабильности воды, зависящие от pH, не превышаются, чтобы гарантировать 100%-ный КПД по току для аналитического процесса. Для восстановления часто, как и в других электрохимических методах, полезно использовать ртутные электроды, потому что восстановление воды, то есть выделение водорода, кинетически затруднено на этом материале. Следовательно, восстановление таких веществ, как металлы, с окислительно-восстановительным потенциалом более отрицательным, чем у водорода, возможно. Однако из-за токсичности ртути использование таких электродов проблематично. Для анодных процессов, то есть окисления, растворение материала электрода также является потенциально мешающей реакцией. Для таких применений обычно используется стеклоуглерод. При восстановлении растворенный в растворе пробы окружающий кис-

лород будет мешать его восстановлению до перекиси водорода. Следовательно, может потребоваться дезоксигенация путем пропускания потока азота или другого инертного газа через раствор перед определением. Следует также обратить внимание на возможные вторичные мешающие реакции. Например, можно уменьшить Cr^{3+} до Cr^{2+} , но Cr^{2+} будет реагировать с протонами в кислых растворах, снова давая Cr^{3+} в качестве продукта реакции, что снижает эффективность Фарадея до уровня ниже 100%. Для очень малых аналитических концентраций нефарадеевские емкостные зарядные токи на рабочем электроде не будут незначительными и ограничат наименьшее количество заряда, измеряемое с достаточной точностью, до 10 мкКл. Это соответствует предельному пределу обнаружения массы 0,1 нмоль или 1 нг аналита.

1.3. Электрохимическое обнаружение болезней сердца

Сердечно-сосудистые заболевания - причина смерти номер один во всем мире. По оценкам, сердечно-сосудистые заболевания уносят жизни 17,9 миллиона человек в 2016 г., что составляет 31% всех смертей в мире [9]. Сердечно-сосудистые заболевания – это совокупность заболеваний сердца и кровеносных сосудов, которые в основном подразделяются на шесть типов расстройств / заболеваний, которые включают [9]:

- 1) ишемическую болезнь сердца (заболевание сосудов, доставляющих кровь к сердцу)
- 2) цереброваскулярные заболевания. (заболевание сосудов, снабжающих кровью головной мозг)
- 3) заболевание периферических артерий (заболевание сосудов, снабжающих кровью руки и ноги)
- 4) ревматическая болезнь сердца (повреждение сердечной мышцы и сердечных клапанов из-за ревматической лихорадки, вызвано инфекцией со стрептококковыми бактериями)

5) врожденный порок сердца (пороки структуры сердца, существующие при рождении)

6) тромбоз глубоких вен и тромбоэмболия легочной артерии (сгустки крови в венах ног, которые могут сместиться и перейти в сердце и легкие)

Сердечные приступы или инфаркт миокарда обычно вызваны ишемической болезнью сердца, а сердечные инсульты - цереброваскулярными заболеваниями. Оба явления обычно являются острыми и в основном вызваны закупоркой артерии, которая препятствует притоку крови к сердцу или мозгу. Наиболее частой причиной этого является атеросклероз, накопление жировых и клеточных отложений на внутренних стенках артерий. В большинстве случаев сердечно-сосудистые заболевания можно предотвратить, решив проблему отсутствия физической активности и поведенческих факторов риска. Люди с сердечно-сосудистыми заболеваниями или с одним, или несколькими факторами высокого риска, такими как гипертония, гиперлипидемия, диабет и т.д. нуждаются в раннем выявлении и хороших стратегиях лечения. Поэтому сердечно-сосудистые заболевания рассматриваются как глобальная проблема здравоохранения, требующая строгого подхода к профилактике, раннему выявлению и мониторингу прогрессирования заболевания.

На данный момент было выявлено несколько физиологических биомаркеров на основе липидов сыворотки крови, гормональном профиле и глюкозе. Все они связаны с повышенным сердечно-сосудистым риском. Некоторые из них являются простыми традиционными биомаркерами, основанными на липидном профиле и факторах риска. Чаще всего уровни плазмы, сыворотки в крови оказываются лучшими биомаркерами сердечно-сосудистого риска. Сердечный тропонин (сTn), киназные мышца и мозг (СК-МВ) и миоглобин известны как определяющие биомаркеры, и их повышенная концентрация в крови поддерживается от нескольких часов до нескольких дней при возникно-

влении острого инфаркта миокарда. Важно знать, что биомаркеры (С-реактивный белок (СРБ), Р-селектин, миелопероксидазу (МПО), сТп и т.д.) появляются задолго до некроза миокарда. [10].

В качестве диагностически ясных биомаркеров можно выбрать сТпI и СРБ. Они обеспечивают наиболее широкое диагностическое окно для выявления инфаркта миокарда.

1.3.1. С-реактивный белок (СРБ)

Повышенный уровень СРБ в сыворотке будет использоваться для определения риска конкретных заболеваний, таких как воспаление сосудов, болезнь коронарной артерии, диабет, рак и повреждение тканей. [10]. СРБ представляет собой индуцированный цитокинами классический белок острой фазы, продуцируемый в печени. СРБ - это первичный рецептор распознавания образов, когда-либо характеризованный, который управляет иммунным ответом хозяина против патогенов и поврежденных тканей. СРБ играет важную физиологическую роль в защите хозяина, связываясь с большим сродством с фосфохолином, присутствующим на микроорганизмах, мертвых и поврежденных клетках, чтобы инициировать процесс удаления. У здоровых людей СРБ присутствует в виде следовых белков плазмы со средней концентрацией 0,8 мг / л. Для разделения на уровни риска развития сердечно сосудистых заболеваний было предложено три диапазона концентрации СРБ: низкий уровень - ниже 1,0 мг/л, средний - между 1,0 и 3,0 мг/л, высокий - выше 3,0 мг/л [11]. В течении 48 ч после возникновения острой фазы заболевания уровень СРБ повышается до 300-500 мг/л. Период полувыведения СРБ составляет 19 часов и после выздоровления показатели СРБ приходят в норму.

Таким образом, надежные средства обнаружения и количественной оценки концентрации СРБ становятся важными при возникновении сердечно-сосудистых заболеваний для мониторинга состояния пациентов с сердечно-со-

судистыми заболеваниями. Для определения СРБ применяются различные методы определения, включая радиоиммуноанализ, иммунонефелометрия, имунотурбидиметрия, иммуно-флуоресценция, иммунохемилюминесценция, ИФА, масс-спектрометрии, электрохимические методы, пьезоэлектрический микрокантилеверный метод, кварцевый микробаланс а также поверхностный плазмонный резонанс.

1.3.2. Сердечный тропонин (сTnI)

Тропонин принадлежит к группе сократительных белков, части тонкого филаментного регуляторного комплекса миоцитов, который передает чувствительность кальция к активности аденозинтрифосфатазы (АТФазы) актин-миозинового комплекса поперечнополосатой мышцы. Тропонин подразделяется на типы: тропонин С (сTnC), тропонин I (сTnI) и тропонин Т (сTnT). сTnI, сTnT и сTnC - это три разные взрослые изоформы, и они являются специфическими биомаркерами повреждения сердечной мышцы и скелетной мышцы соответственно. сTnT находится в скелетных мышцах, изоформы сTnC идентичны в скелетных и сердечных мышцах, а сTnI обнаруживается исключительно в сердечной мышце и явно отличается от других форм. сTnI экспрессируется только в миокарде, и не выявлено случаев экспрессии сTnI в здоровых или поврежденных скелетных мышцах и в других типах тканей [12]. Таким образом, сTnI является высокоселективным и чувствительным биомаркером ОИМ и позволяет прогнозировать повышенный риск смертности, ишемического повреждения сердца и повторного инфаркта миокарда у пациентов, страдающих острым коронарным синдромом. ОИМ характеризуется повреждением сердечных миоцитов, в результате чего тропонины (как сTnT, так и сTnI) попадают в кровоток, где их можно обнаружить с помощью различных иммунологических тестов. Действительно, сообщается, что сTnT также повышается у пациентов с хронической почечной недостаточностью. Уровни сTnI могут повыситься в течение 3–4 часов после повреждения миокарда и могут сохраняться на высоком уровне до 10 дней. Концентрация сTnI составляет около 30

пг / мл в кровотоке здоровых контрольных субъектов. Однако она начинает быстро расти после начала ОИМ и достигает пика в 195,9 нг / мл примерно через 11,2 часа. В следствии этого возникает необходимость установить пороги для диагностических уровней сTnI, а также разработать процедуры высокочувствительного и селективного обнаружения сTnI, потому что в следствии протекания ОИМ в ряду с сTnI в кровь выделяется миоглобин и СК-МВ.

Существует несколько методов количественного определения сTnI, таких как хемилюминесцентный иммуноанализ., ELISA, иммуноферментный электрохемилюминесцентный (ECL) анализ, анализ поверхностного плазмонного резонанса (ППР) и оптические датчики на основе аптамеров и т. д. [10]. Ожидается, что эти методы проложат путь повышения чувствительности, но спрос на чрезвычайно дорогие устройства и сложные операционные процедуры значительно ограничивают их применимость. Кроме того, традиционные методы тестирования требовали большего объема образца, квалифицированных операторов, а это также отнимает много времени.

1.3.3. Электрохимические биосенсоры для СРБ и сTnI

Биосенсоры/химические сенсоры состоят из двух основных частей, таких как преобразователь и распознающий элемент. Как правило, в биосенсорах химический или физический сигнал генерируется, когда представляющий интерес аналит связывается с распознающим элементом. Затем преобразователь преобразует этот сигнал в измеряемый выходной сигнал. Концентрации анализируемых веществ могут быть измерены на основе изменений электрохимических свойств в ходе исследования.

Для обнаружения CRP и сTnI были разработаны различные электрохимические биосенсоры. Молекула распознавания является ключевым элементом биосенсора, поскольку ее селективность и чувствительность играют важную роль для получения хороших характеристик сенсора. Биосенсоры CRP и сTnI можно разделить на два типа в зависимости от чувствительного элемента

[10]: аптамеры (одноцепочечные олигонуклеотиды, такие как РНК и ДНК) [13] и антитела [14].

1.3.3.1. Сенсоры на основе антител (иммуносенсоры)

Антитела - это гликопротеины, принадлежащие к семейству иммуноглобулинов. Большой белок Y-образной формы, продуцируемый β -клетками, который используется иммунной системой для идентификации и нейтрализации посторонних объектов, таких как бактерии и вирусы. Каждый кончик буквы «Y» антитела содержит паратоп, который специфичен для одного конкретного эпитопа на антигене, что позволяет этим двум структурам точно связываться друг с другом. Обычно они состоят из структурных единиц - каждая с двумя большими тяжелыми цепями и двумя меньшими легкими цепями. Антитела могут существовать в двух физических формах: растворимой форме, которая секретируется клетками, и связанной с мембраной формой, которая прикрепляется к поверхности β -клетки и называется рецептором β -клетки [10]. Иммуноанализы - это количественные методы анализа, в которых антитела являются первичными связывающими агентами для интересующего антигена. Таким образом, чистые результаты иммуноанализа часто представляют собой исследование связывания между антителом и его антигеном и дифференциации между связанным и несвязанным антигеном. Иммуносенсоры подразделяются на два класса: меточные и безметочные.

Безметочные системы очень просты и удобны в использовании, а также экономичны. В случае безметочных иммуносенсоров вторичное антитело отсутствует, и действие окислительно-восстановительных медиаторов или электроактивных частиц, присутствующих на поверхности электрода, используется для обнаружения цели [10]. Обзор литературы показывает, что одними из лучших иммуносенсоров для обнаружения сердечных биомаркеров являются безметочные иммуно-датчики.

В меточных иммуносенсорах захватывающие антитела расположены на поверхности, они связывают антиген, за которым следует вторичное антитело, с маркированными электроактивными материалами. Чувствительность таких иммуносенсоров - важный вопрос, который необходимо учитывать при оценке работы датчиков. Электрохимически меточные иммуносенсоры обычно получают путем иммобилизации захватывающего антитела на поверхности электрода, а затем антигена.

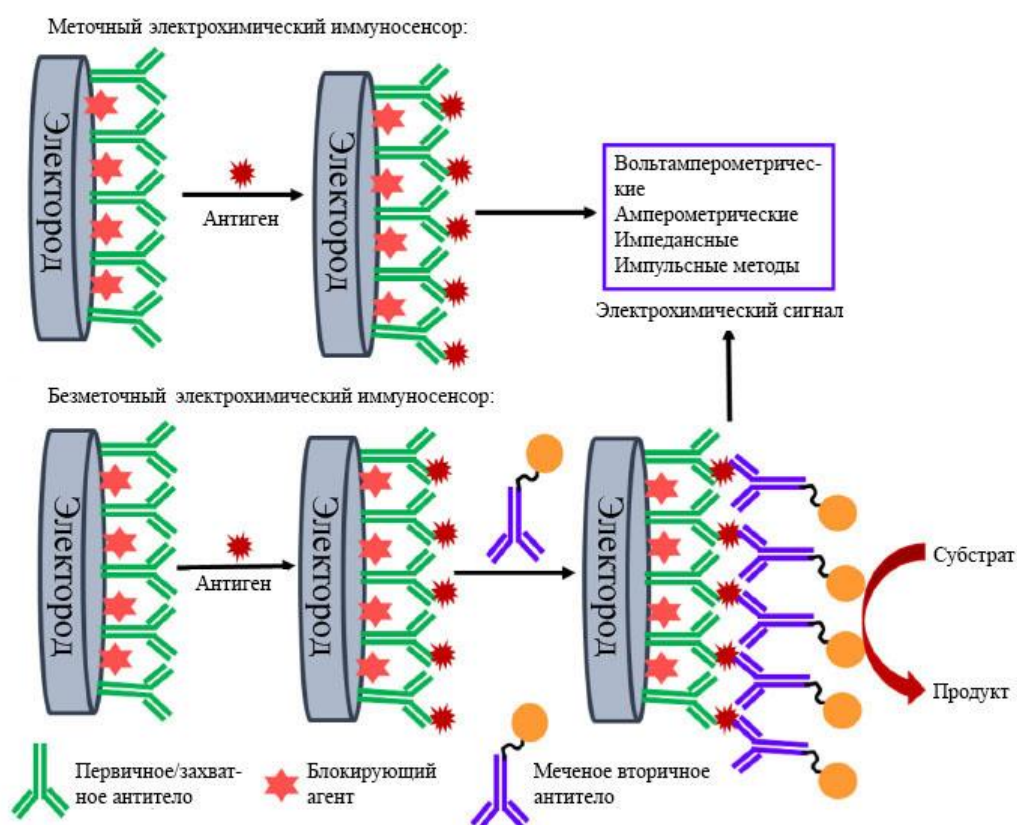


Рисунок 10 – Схематическое изображение меточных и безметочных иммуносенсоров [10].

Стадии иммуноанализа часто завершаются иммобилизацией вторичного меченого антитела после добавления подходящего субстрата. В электрохимической установке реакция, катализируемая меточным материалом, приводит к образованию электроактивной молекулы.

1.3.3.2. Датчики на основе аптамеров (аптасенсоры)

Аптамеры представляют собой одноцепочечные функциональные нуклеиновые кислоты или пептиды, обладающие высокими каталитическими или рецепторными свойствами. Обычно их выделяют из комбинаторных одноцепочечных библиотек путем применения метода систематической эволюции лигандов методом экспоненциального обогащения (SELEX) и используют для связывания различных мишеней [15].

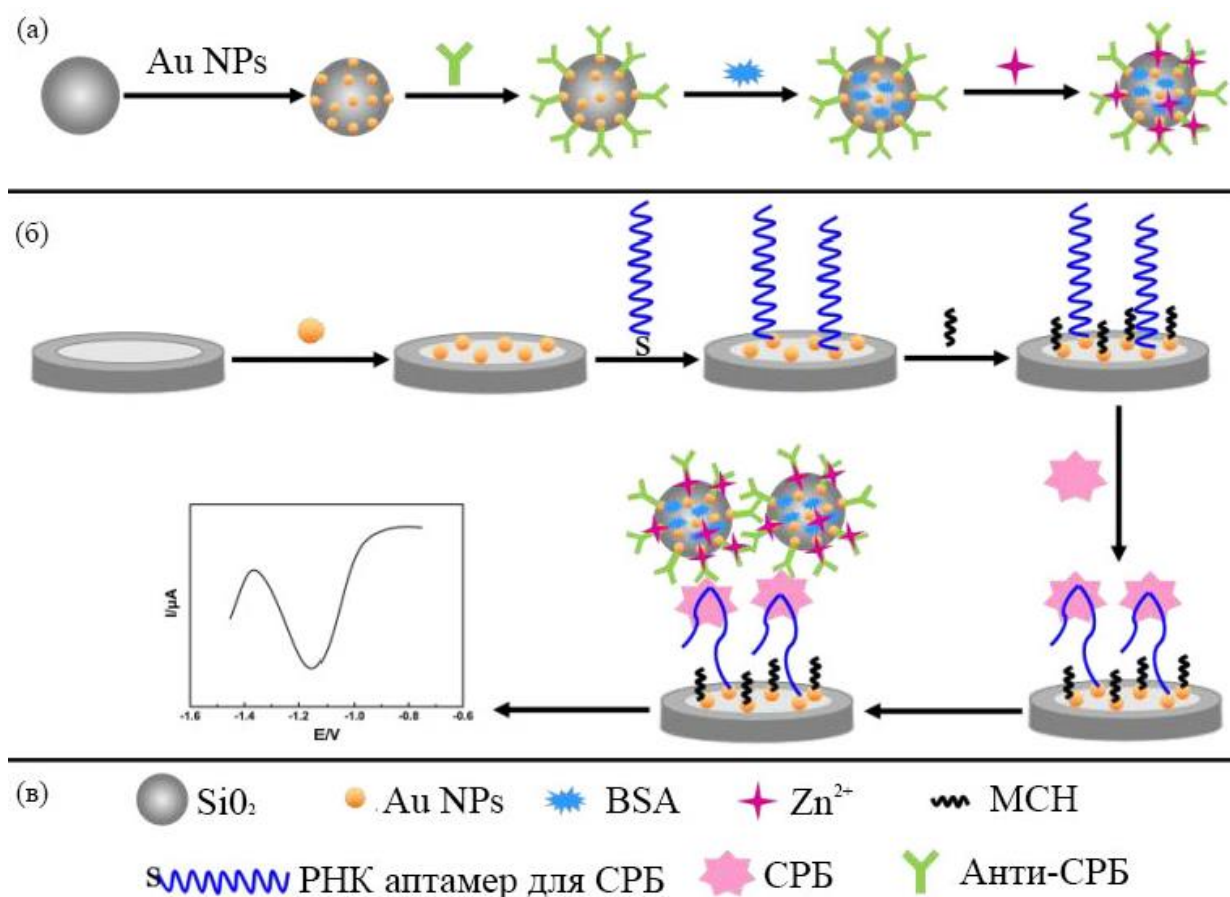


Рисунок 11 – Схематическое изображение этапов изготовления аптасенсора СРБ [16].

Биосенсоры на основе аптамеров обладают беспрецедентными преимуществами перед естественными рецепторами, такими как антитела и ферменты [10]:

- аптамеры с высокой аффинностью и селективностью, могут быть выделены искусственно для лекарственных препаратов, малых молекул (органических или неорганических), больших белков, а также для целых клеток,
- аптамеры могут быть синтезированы с высокой чистотой и воспроизводимостью из коммерческих источников. ДНК-аптамеры обладают относительно высокой химической стабильностью по сравнению с другими аналогами.
- аптамеры часто претерпевают существенные конформационные изменения при связывании с мишенью, могут быть соответствующим образом связаны с различными сигнальными механизмами для легкого мониторинга событий молекулярного распознавания.
- аптамеры способны перестраиваться в свою нативную конформацию, в результате чего один раунд зондирования, следовательно, представляет собой многократные устройства.
- аптамеры могут быть легко функционализированы с помощью флуоресцентных меток.

1.4. Области применения электрохимических сенсоров

Электрохимические сенсоры являются наиболее распространённым видом химических датчиков. Это связано с относительной простотой и достаточной точностью анализа, также обширный спектр различных методик и механизмов позволяет использовать электрохимические сенсоры во многих отраслях. Как пример можно привести следующие отрасли:

- Аналитическая химия и материаловедение;
- Фармацевтическая промышленность;
- Медицинская диагностика;
- Экологический контроль;

- Контроль качества продуктов питания;
- Биологическое/химическое вооружение;

Самым распространенным электрохимическим датчиком является измеритель глюкозы в крови человека. Данный датчик используется для помощи людям, страдающим от сахарного диабета.



Рисунок 12 – Пример глюкометра [18].

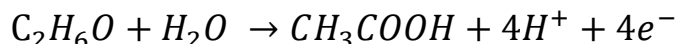


Рисунок 13 – Пример электрохимического датчика 3E-HCN для определения синильной кислоты [19].

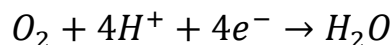
Электрохимический датчик для определения цианистого водорода представлен на рисунке 9. Данный датчик представляет собой трехэлектродную систему в которой идет преобразование массовой концентрации угарного газа в пропорциональную величину постоянного тока [19].

Еще одним примером электрохимического датчика является алкотестер. При выдыхании в анализатор на аноде устройства происходит окислительная

реакция. Этанол входит в реакцию с водой из воздуха и окисляется до уксусной кислоты [17]:



На катоде кислород, который присутствует в воздухе, переходит в воду [17]:



В ходе этих двух реакций выделяется электрический ток, который пропорционален прореагировавшему этанолу. Получившийся ток обрабатывается микроконтроллером и выводится на экран устройства.



Рисунок 14 – Алкотестер [20].

В эпоху перехода аналогового мира в цифровой растет спрос на электрохимические датчики. Это связано с постоянно растущей потребностью человека контролировать происходящие вокруг процессы. Таким образом на сегодняшний день в связи с высоким спросом на электрохимические датчики возникла высокая конкуренция среди исследователей и предпринимателей.

1.5. Фотолитография

Оптическая литография или фотолитография - это процесс формирования рисунка в слое энергозависимого полимера (фоторезиста), который может быть перенесен путем селективного травления на нижележащую пленку [21]. Наиболее широко используемая сегодня техника литографии - это оптическая

литография, в которой используется ультрафиолетовый свет; однако есть и другие технологии, такие как электронно-лучевая и рентгеновская литографии, которые могут обеспечить более хорошее разрешение.

Современные инструменты оптической литографии состоят из нескольких взаимосвязанных подсистем, спроектированных для обеспечения повторяемости, рентабельности и надежности производственного процесса. Пример одного такого инструмента показан на рисунке 13.



Рисунок 15 – Оптический путь в современном экспонирующем инструменте от эксимерного лазера слева до системы линз объектива справа. Полупроводниковая пластина будет расположена в нижней левой части [21].

Источник излучения. Освещение для инструментов литографии можно разделить на две группы: системы на основе ламп и системы на основе лазеров [21]. В ламповых системах используется ртутная дуговая лампа высокого давления, которая находится внутри корпуса инструмента. В то время как в большинстве производственных систем сегодня используются ртутные дуговые лампы для засветки, стремление к более высокому разрешению привело к движению в сторону лазерных источников засветки фоторезиста.

В УФ спектрах излучения есть три различных спектральных области, используемых в производстве полупроводников и печатных плат: G-линия

(длина волны 436 нм), H-линия (405 нм) и I-линия (365 нм) [21]. Данные области обеспечивают достаточную мощность для поддержания высокой точности. Однако ниже среднего УФ-диапазона ртутная дуговая лампа не может обеспечивать достаточную энергию фотона и поэтому не может использоваться для засветки фоторезиста. Из-за этого на производствах стали внедряться эксимерные лазеры. Эксимерные лазеры используются для создания необходимой мощности и узкой спектральной полосы. Они работают в импульсном режиме с использованием газов KrF (для длины волны 248 нм), ArF (для длины волны 193 нм) или F (для длины волны 157 нм) [21]. Они намного больше и сложнее, чем лампы, и расположены за пределами корпуса литографического инструмента.

Фоторезист – это светочувствительный материал, который используется для формирования рисунка на поверхности обрабатываемого материала. Существует несколько видов фоторезиста: позитивный, негативный и обратимый.

Позитивный фоторезист представляет собой структуру, в которой проэкспонированная часть становится растворимой. Негативный фоторезист, наоборот, представляет собой структуру, в которой проэкспонированная часть становится не растворимой. Обратимый фоторезист является особым видом фоторезиста: при первом экспонировании он ведет себя как позитивный фоторезист, но после термической обработки и последующего экспонирования всего фоторезиста ультрафиолетовым излучением начинает вести себя как негативный.

Практическое применение фоторезистов определило перечень предъявляемых требований:

- Высокая спектральная чувствительность.
- Высокая разрешение при экспонировании.
- Однородность по всей поверхности.

- Высокая адгезия к материалу подложки.
- Высокая химическая устойчивость ко всем соединениям, кроме проявителя.
- Доступность, надежность, простота использования и безопасность применения.

Засветка фоторезиста. Существует два способа, которые используют для экспонирования рисунков: метод пошагового повторения и пошаговое сканирование. Оба способа используют идентичные фотошаблоны пропускающего типа. Из-за того, что стекло непрозрачно для коротких длин волн сегодня для литографических систем в глубоком ультрафиолете используют фотошаблон, сделанный из кварцевой подложки с рисунком схемы из хрома [21].

Проявление фоторезиста и травление подложки. Проявление – это процесс удаления не засвеченных участков в случае негативного фоторезиста, или засвеченных в случае позитивного фоторезиста. Из-за разной природы полимерных материалов, входящих в состав негативных и позитивных фоторезистов, в качестве проявителя будут использоваться разные соединения: для позитивных таковыми будут слабые щелочные растворы (KOH, NaOH), для негативных фоторезистов – органические растворители (бензол, толуол и др.)

Далее для получения печатной платы необходимо провести процесс травления. В качестве раствора для травления можно использовать: хлорное железо, медный купорос с хлоридом натрия, персульфат аммония, персульфат натрия, смесь пероксида водорода и соляной кислоты, смесь пероксида водорода и лимонной кислоты.

1.6. Выводы по главе и постановка задачи

Проанализировав написанное выше, можно сделать вывод, что наиболее привлекательным направлением для реализации темы дипломной работы будет вольтамперометрические методы анализа. Это связано с относительной

простотой реализации, допустимой точностью анализа, а также, возможностью дополнительной модернизации для расширения спектра методов анализа.

Целью данной работы является разработка портативной электроаналитической платформы для биохимического анализа. В связи с этим можно сформулировать следующие задачи:

- Разработка принципиальной схемы для отслеживания токов и напряжений в электрохимической ячейке.
- Разработка программного обеспечения для улучшения взаимодействия с устройством.
- Проектирование защитного корпуса для разработанного устройства.
- Изготовление электродов для измерений.
- Отладка устройства для дальнейшего использования.

2. РАЗРАБОТКА УСТРОЙСТВА

2.1. Схема устройства

В качестве электрохимической ячейки была выбрана трехэлектродная система. Это связано с более точной регистрацией напряжения на рабочем электроде.

При прохождении электрического тока через электролит на границе электролита и электрода происходят окислительно-восстановительные реакции, поэтому в зависимости от реакции материал для электродов может быть разный.

В трехэлектродной системе все реакции происходят на поверхности рабочего электрода (РЭ), поэтому материал для него выбирается на основе происходящей реакции [7]. При этом рабочий электрод имеет очень малую площадь поверхности. Это делается для обеспечения поляризации, которая происходит в связи с увеличением плотности тока [2].

Электрод сравнения (ЭС) должен обеспечивать опорное напряжение, поэтому материал выбирается с известным параметром электродного потенциала, т.е. с известным потенциалом между электролитом и электродом [7]. Площадь поверхности данного электрода во много раз больше, чем у рабочего электрода, в следствии этого плотность тока на нем также меньше, поэтому можно считать, что данный электрод не поляризован и его потенциал не изменяется при прохождении электрического тока через электрохимическую ячейку [2].

Вспомогательный электрод (ВЭ) выбирается исходя из химической прочности и проводимости материала, чем выше эти два показателя, тем лучше [7]. Данный электрод нужен для протекания электрического тока через электрохимическую ячейку.

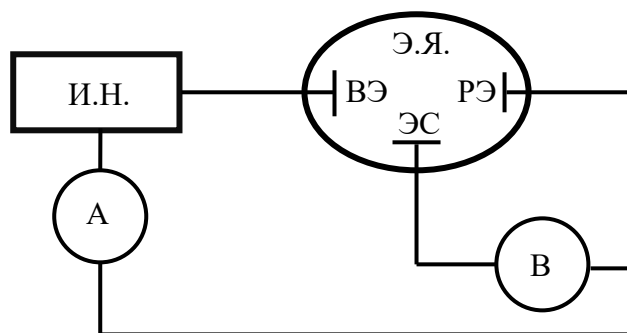


Рисунок 16 – Принципиальная схема разработанного вольтамперметра.
(И.Н. – источник напряжения, Э.Я. – электрохимическая ячейка, В – вольтметр, А – амперметр, ВЭ – вспомогательный электрод, ЭС – электрод сравнения, РЭ – рабочий электрод)

В качестве анализатора приходящих токов и напряжений с электродов, а также для подачи контролируемого электродного потенциала будет использоваться платформа Arduino.

Arduino – это аппаратно-программируемая платформа для построения различных электронных систем. Данная платформа позволяет разработчикам легко создавать прототипы для робототехники, различных автономных систем, а также систем, работающих в паре с компьютером.

Из всего модельного ряда устройств Arduino была выбрана модель Uno, из-за подходящих размеров к разрабатываемой плате.



Рисунок 17 – Микроконтроллер Arduino Uno.

К плюсам платформы Arduino можно отнести наличие огромного количества разрабатываемых устройств с открытым исходным кодом, а также наличие различных документаций, связанных с программированием микро-

контроллера ATmega 328. Еще одним преимуществом является наличие удобного и простого программного обеспечения, в котором для написания прошивок используется измененный язык программирования C++.

На основе полученных знаний в СПбГЭТУ «ЛЭТИ», анализа работы Arduino, а также поставленной цели можно определить несколько основных требований к разрабатываемому устройству:

- 1) Стабильное питание 5В для схемы вольтамперметра.
- 2) Датчик должен регистрировать прямые и обратные токи.
- 3) Должны быть различные диапазоны усиления токов и напряжений.

2.1.1. Система автоматизированного проектирования

В качестве САПР была выбрана кроссплатформенная вебориентированная среда EasyEDA, включающая в себя редактор принципиальных схем, SPICE-симулятор, редактор топологии печатных плат, а также множество различных инструментов для разработки и проектирования в команде. Очень важным достоинством является бесплатность САПР, а также наличие огромной библиотеки компонентов. Интерфейс программы показан на рисунке 18.

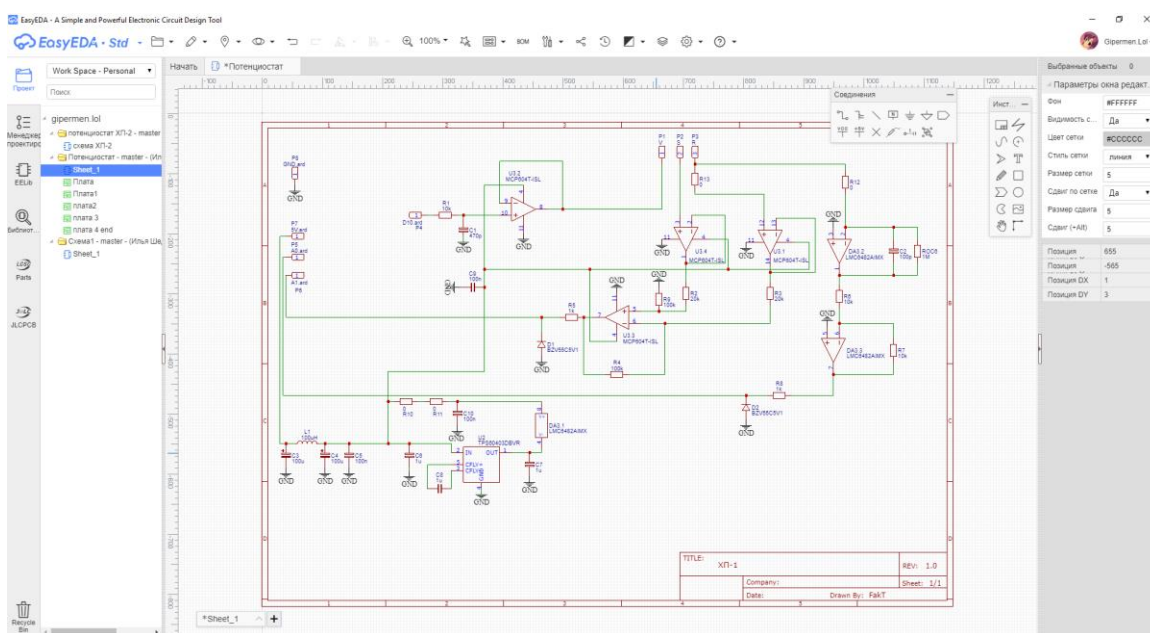


Рисунок 18 – Интерфейс программы EasyEDA.

Также, в EasyEDA интегрированы средства для заказа печатных плат.

2.1.2. Схема питания вольтамперметра

Для выполнения первой задачи в разрабатываемое устройство необходимо добавить собственную схему фильтрации и стабилизации напряжения. Это связано с тем, что на порт питания 5V в Arduino напряжение подается напрямую через USB. Это, в свою очередь, ведет к существенным искажениям получаемых данных с датчика. Еще одной причиной может служить вторая задача, для реализации которой необходимо включить в схему устройства операционные усилители с биполярным питанием, то есть в схеме Arduino должны быть, как положительные, так и отрицательные источники питания. Но так как Arduino не может давать и регистрировать отрицательные напряжения, для выполнения обеих задач необходимо разработать дополнительную биполярную схему питания.

Было решено, что для схемы питания вольтамперметра будут использоваться стабилизаторы напряжений MIC5205-5.0 для +5 В и ADP7182 для -5 В. На входы данных стабилизаторов должны поступать большие напряжения (для MIC5205-5.0 – +7 В, для ADP7182 – -7 В), поэтому перед ними нужно поставить повышающие DC/DC преобразователи (для +7 В – LM27313, а для -7 В – LMC7660).

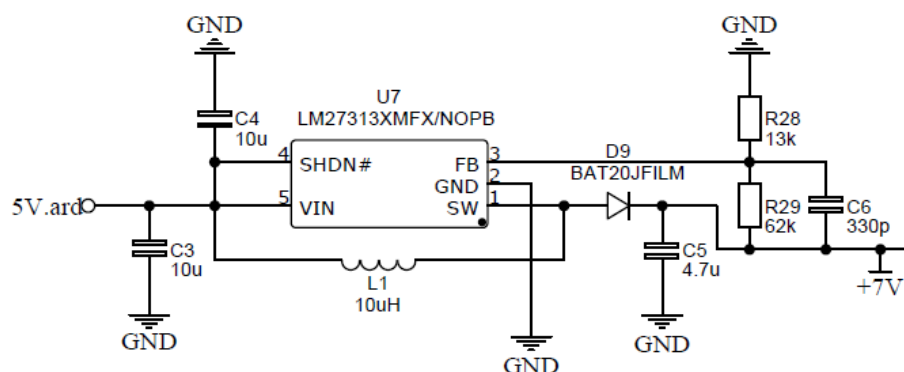


Рисунок 19 – Схема повышающего DC/DC преобразователя LM27313.

Из документации к LM27313 были взяты формулы для резистора R29 и конденсатора C6 (рисунок 19). Номиналы остальных компонентов были уже рекомендованы производителем.

$$R29 = R28 \cdot \left(\frac{V_{out}}{V_{fb}} - 1 \right) \quad (2.1)$$

V_{fb} задано в документации и равно 1.23 В.

$$R29 = 13 \cdot 10^3 \cdot \left(\frac{7}{1.23} - 1 \right) = 61 \cdot 10^3 \text{ Ом}$$

Ближайший номинал к полученному будет 62 кОм.

$$C6 = \frac{1}{2 \cdot \pi \cdot R29 \cdot f_z} \quad (2.1)$$

С учетом указанной в документации частоты f_z , которая равна 8 кГц, емкость конденсатора $C6$ равна:

$$C6 = \frac{1}{2 \cdot \pi \cdot 62 \cdot 10^3 \cdot 8 \cdot 10^3} = 321 \text{ пФ}$$

Ближайший номинал 330 пФ.

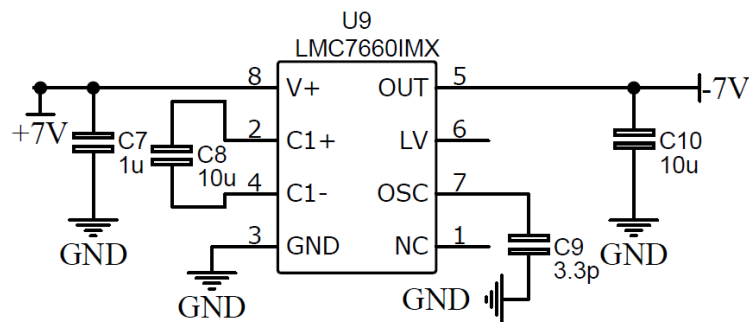


Рисунок 20 – Схема включения инвертирующего и повышающего DC/DC преобразователя LMC7660.

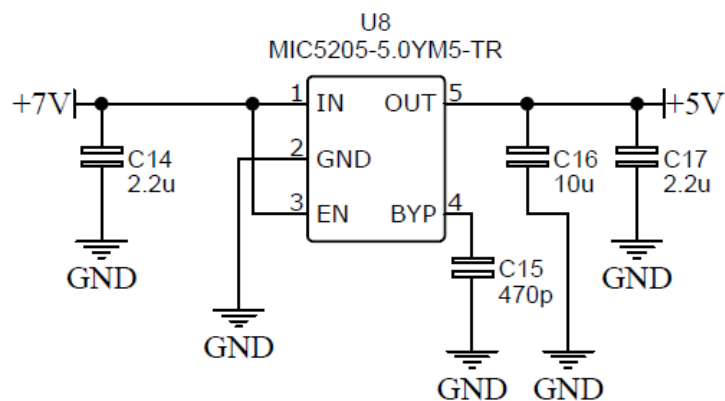


Рисунок 21 – Схема включения MIC5205-5.0.

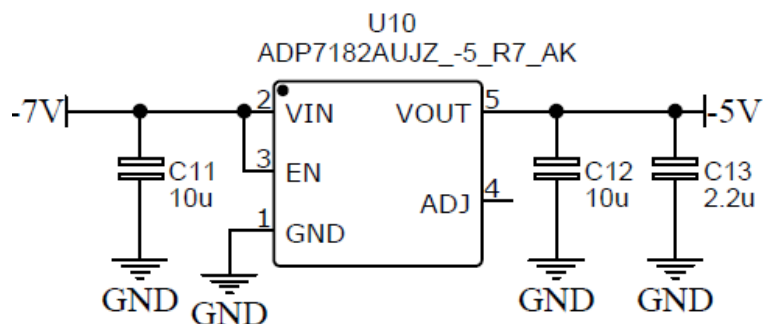


Рисунок 22 – Схема включения ADP7182.

Все конденсаторы, подключенные к стабилизаторам (рисунок 21 и 22), рекомендованы производителями в документации.

2.1.3. Подача контролируемого напряжения с Arduino на электроды

Для реализации вольтамперометрических методов нужен линейно возрастающий потенциал. Но из-за того, что Arduino может давать на свои выходы только ШИМ и постоянные 5В, возникает необходимость преобразования ШИМ-сигнала в постоянный потенциал. Данное преобразование можно сделать с помощью RC-цепи, у которой постоянная времени намного больше чем время импульса ШИМ.

Частота ШИМ у Arduino составляет 15.6 кГц, следовательно, время импульса равно 64 мкс. Тогда $t = RC \gg 64 \text{ мкс}$. В качестве номинала резистора и конденсатора были выбраны 10 кОм и 100 нФ ($t = 1000 \text{ мкс}$)

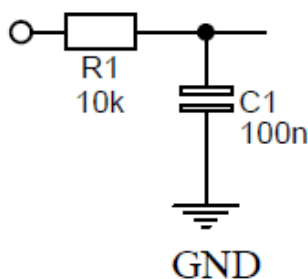


Рисунок 23 – Схема RC-цепи.

Для реализации второй задачи необходимо полученное линейно возрастающее напряжение сместить с помощью ОУ на -5 В, чтобы получить область

снятия от -5 до +5 В. В качестве ОУ был выбран rail-to-rail TLC2274 с биполярным питанием.

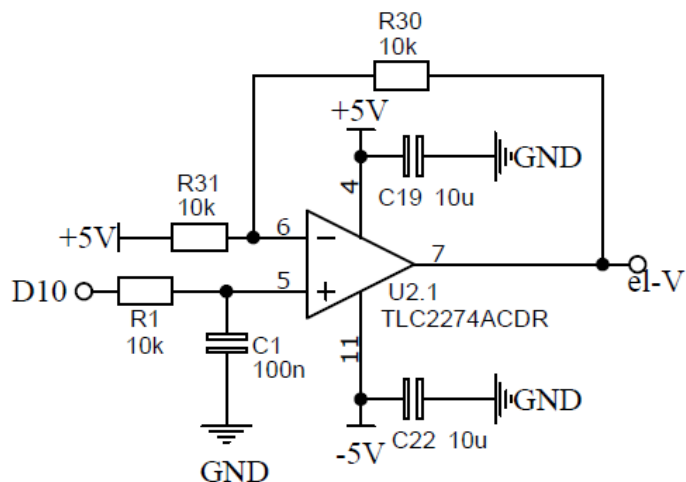


Рисунок 24 – Схема ОУ со смещением на -5 В.

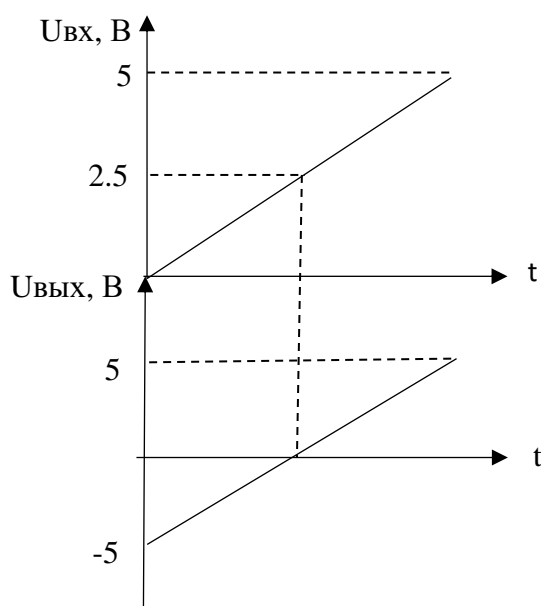


Рисунок 25 – Графики изменения напряжения на входе и выходе схемы на рисунке 24.

Следует уточнить, что из-за использования схему, изображенной на рисунке 24, становится невозможным подача чисто нулевого потенциала на электроды. Это связано с дискретностью напряжения на выходе D10 у Arduino.

2.1.4. Регистрация напряжений

Выше упоминалась проблема регистрации отрицательных напряжений у Arduino. Решением данной проблемы является инвертирование отрицательных напряжений и подача их на отдельный аналоговый вход Arduino. То есть, когда к цепи приложены положительные потенциалы, регистрация происходит на одном аналоговом входе, когда приложены отрицательные напряжения, регистрация происходит уже на другом аналоговом входе.

Коэффициенты усиления (2.3) и (2.4) будут контролироваться синхронным переключением переключателей SW1 и SW2. В качестве переключателей SW1 и SW2 будут выступать мультиплексоры DG409DY-E3. Резистор $R1 = R9$, $R2 = R8$ и т.д.

$$K_{y(-)u} = \frac{R_{14}}{R_{1,2,3,4}} \quad (2.3)$$

$$K_{y(+)u} = \frac{R_{15}}{R_{9,8,7,6}} \quad (2.3)$$

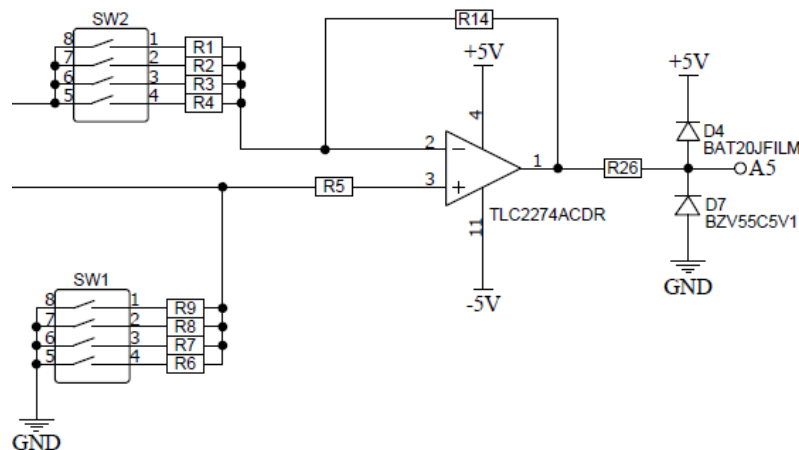


Рисунок 26 – Схема для определения разности потенциалов между рабочим электродом и электродом сравнения (т.е. напряжения падающего на исследуемом объекте).

Схему на рисунке 26 следует подключать к электродам через ОУ с обратной отрицательной связью, как показано на рисунке 27.

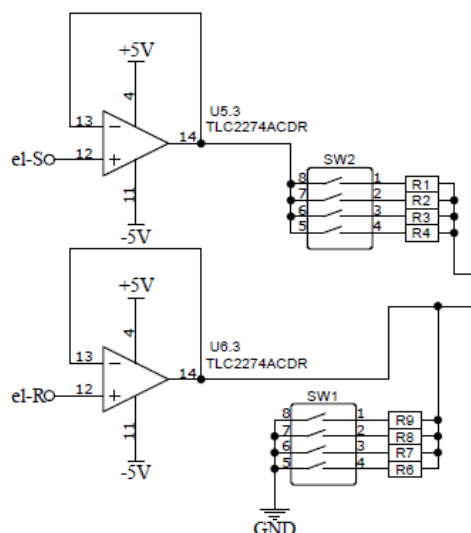


Рисунок 27 – ОУ с отрицательной обратной связью.

Для регистрации напряжений другой полярности в приложении 1 будет продублирована схема, которая изображена на рисунках 26 и 27, но контакты, идущие от электродов, поменяются между собой местами.

2.1.5. Регистрация токов

Регистрация тока с рабочего электрода будет происходить с помощью трансимпедансного усилителя. Трансимпедансный усилитель позволяет узнать входной ток, зная выходное напряжение, т.е. преобразует входной ток в напряжение [22].

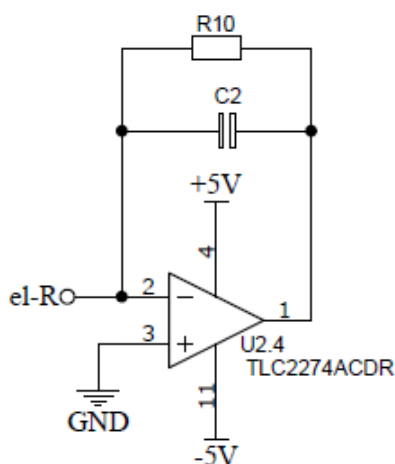


Рисунок 28 – Схема трансимпедансного усилителя [22].

$$U_{\text{ВЫХ}} = I_{\text{ВХ}} \cdot R_{10} \quad (2.5)$$

Таким образом увеличивая сопротивление R10 мы увеличиваем выходное напряжение, из этого следует, что номинал резистора выступает в качестве коэффициента усиления $K_{yi} = R_{10}$. Переключение сопротивлений будет происходить с помощью мультиплексора DG408DY-E3.

Далее схема на рисунке 13 подключается к инвертирующему входу ОУ с коэффициентом усиления 1 для случая отрицательных токов (рисунок 14), а также к не инвертирующему входу ОУ с отрицательной обратной связью для случая положительных токов (рисунок 15).

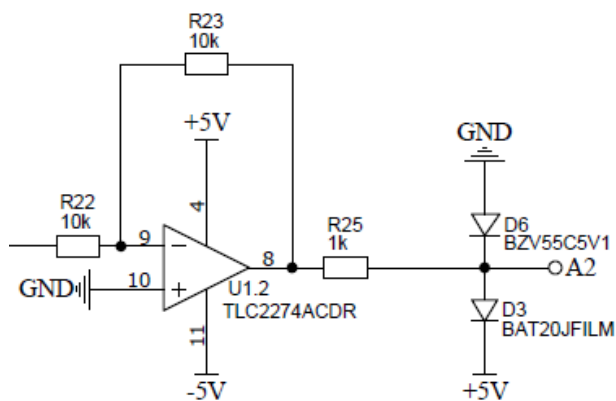


Рисунок 29 – ОУ с коэффициентом усиления 1.

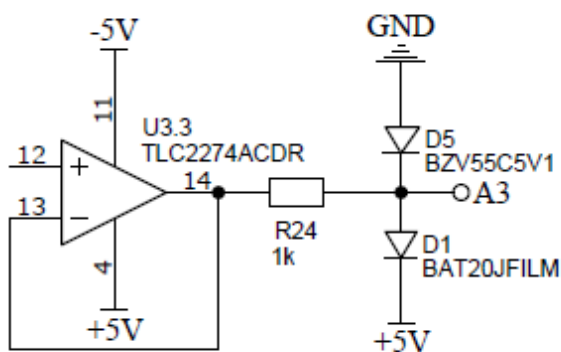
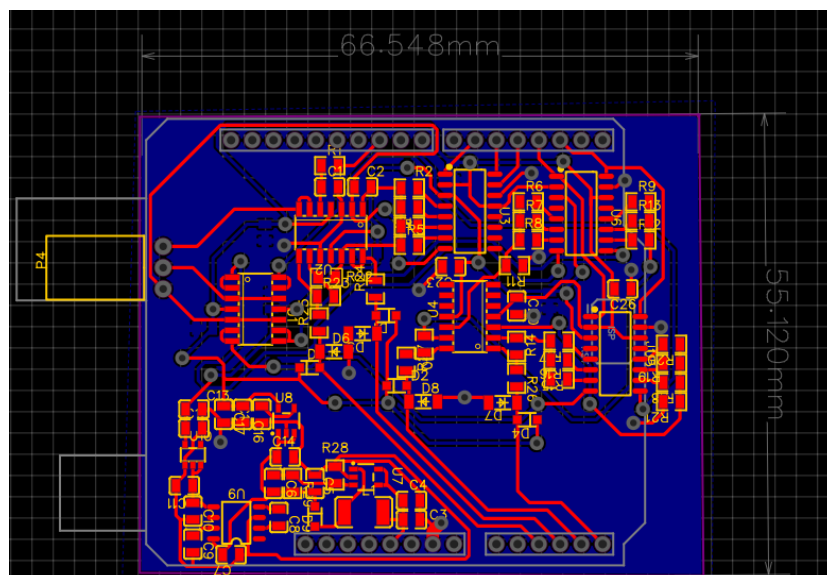
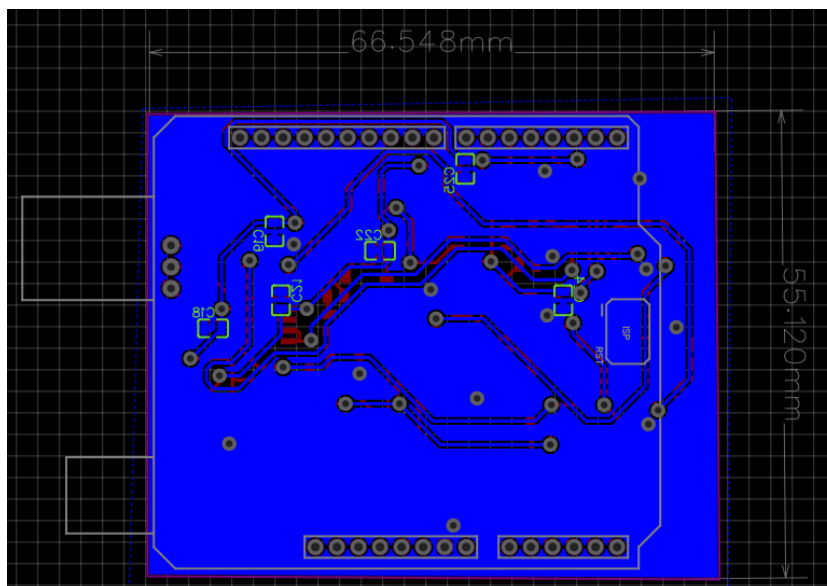


Рисунок 30 – ОУ с отрицательной обратной связью.

После разработки принципиальной схемы, изображенной в приложении 1, была подготовлена двухсторонняя топология рисунка для изготовления фототаблона (рисунок 31). Список всех компонентов приведён в таблице 2.



(a)



(б)

Рисунок 31 – Верхний (а) и нижний (б) слой платы

Таблица 2 – Список компонентов.

Компонент	Обозначение	Количество
100n	C1	1
100p	C2	1
10u	C3, C4, C8, C10, C11, C12, C16, C18, C19, C20, C21, C22, C23, C24, C25, C26	16
4.7u	C5	1
330p	C6	1
1u	C7	1
3.3p	C9	1
2.2u	C13,C14,C17	3
470p	C15	1
BZV55C5V1	D5,D6,D7,D8	4

BAT20JFILM	D1,D2,D3,D4,D9	5
10uH	L1	1
10k	R1,R5,R23,R30,R31	5
10M	R2	1
1M	R3	1
100k	R4,R6,R9,R10,R11,R14,R17,R20,R21	9
20k	R8,R12,R15,R18	4
50k	R7,R13,R16,R19	4
10k	R22	1
1k	R24,R25,R26,R27	4
13k	R28	1
62k	R29	1
TLC2274ACDR	U1,U2,U4	3
DG408DY-E3	U3	1
DG409DY-E3	U5,U6	2
LM27313XMF/NOPB	U7	1
MIC5205-5.0YM5-TR	U8	1
LMC7660IMX	U9	1
ADP7182AUJZ_-5_R7_AK	U10	1

2.2. Изготовление электродов и печатной платы

В качестве метода для изготовления электродов и печатной платы использовалась фотолитография. За основу платы взят двухсторонний медный текстолит. После обработки обеих сторон которого был нанесен индикаторный негативный фоторезист. Экспонирование производилось с помощью фотошаблона, изображённого на рисунке 32. При этом время экспонирования было выяснено экспериментальным путем и составило 25 секунд.

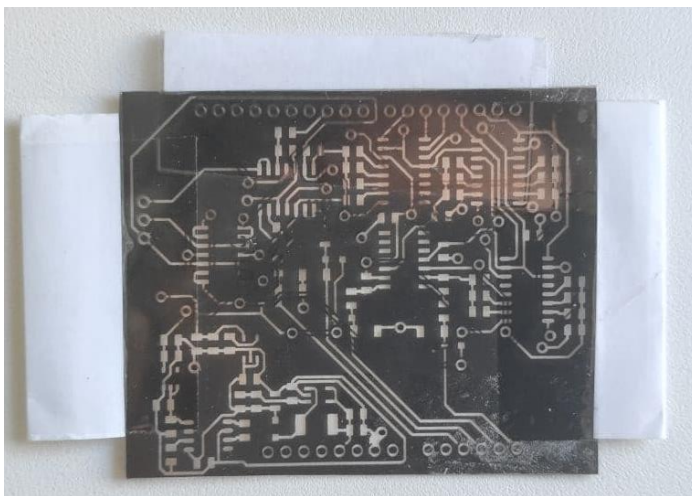
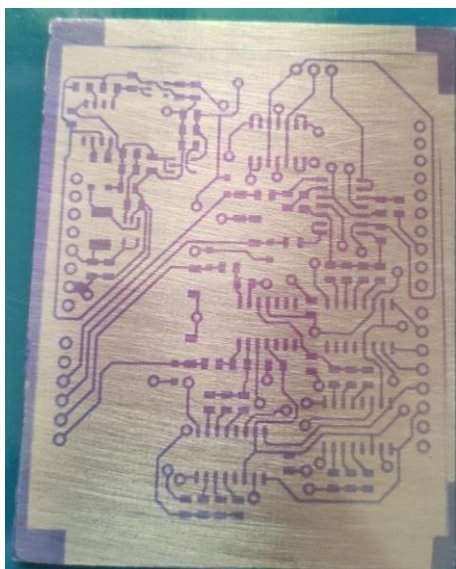
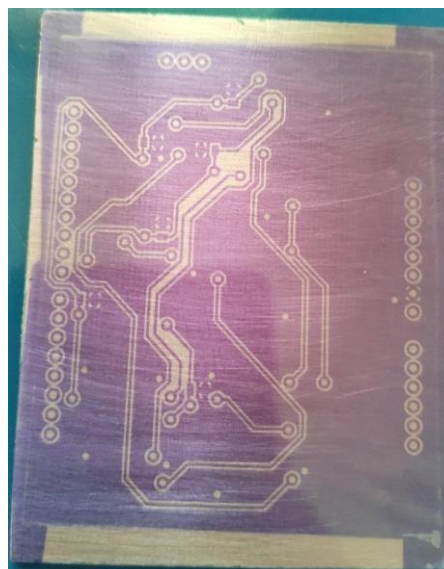


Рисунок 32 – Фотошаблон для печатной платы.



(a)

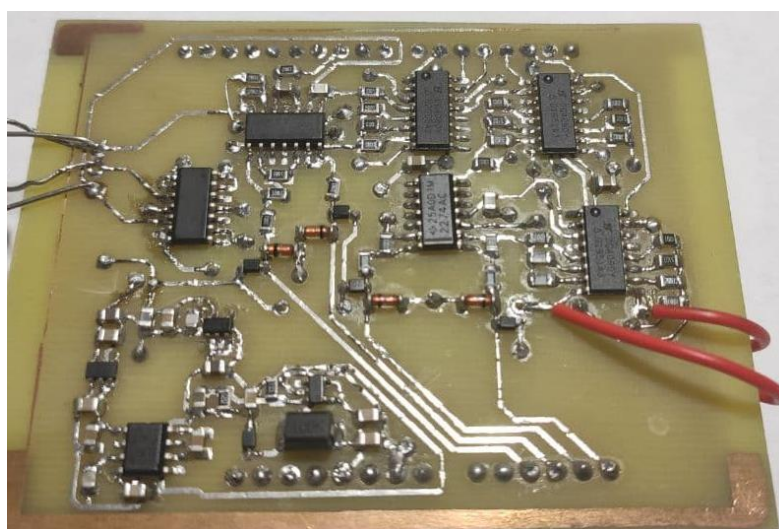


(б)

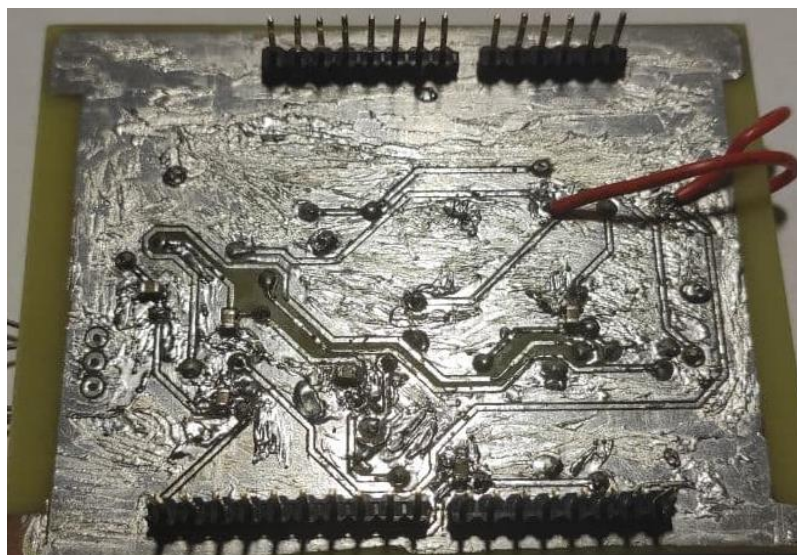
Рисунок 33 – Прозэкспонированный верхний (a) и нижний (б) слой платы.

Проявление фоторезиста осуществлялось с помощью раствора карбоната натрия. После проявления был проведен процесс травления. В качестве раствора для травления была выбрана смесь пероксида водорода, лимонной кислоты и хлорида натрия из-за быстрой скорости травления.

После процесса травления и снятия остатков фоторезиста были просверлены переходные отверстия и распаяны компоненты схемы. Результат показан на рисунке 34.



(a)



(б)

Рисунок 34 – Результат верхнего (а) и нижнего (б) слоя.

Для изготовления электродов необходимо выбрать материал, который удовлетворяет следующим требованиям:

- Хорошая химическая прочность в различных средах.
- Не образовывать гальванический элемент с исследуемым раствором.
- Высокое перенапряжение.
- Возможность многократного использования.

Так как целью данной работы является разработка и технические испытания электроаналитической платформы, то оптимальным материалом для электродов будет медь. Это связано с тем, что медь обладает хорошим потенциалом для прототипирования, а также низким удельным сопротивлением. Но для более серьёзных исследований с определением белковых соединений необходимо использовать электроды на основе золота, платины и серебра.

Для изготовления электродов, изображенных на рисунке 35 б, использовался эскиз (рисунок 35, а), разработанный в программе EasyEDA.

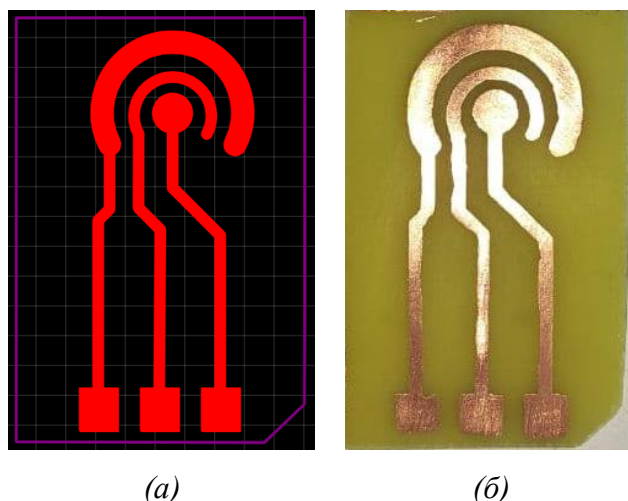
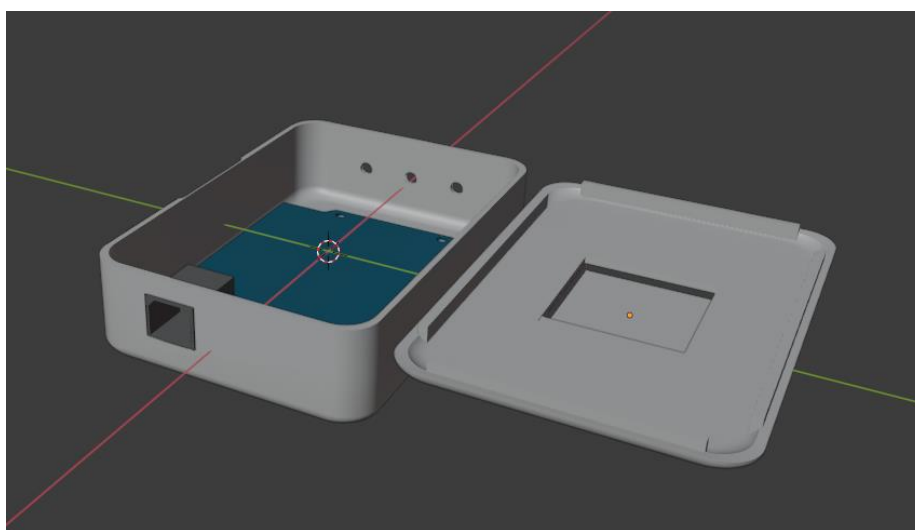


Рисунок 35 – Прототип электродов.
а – эскиз, *б* – готовый образец.

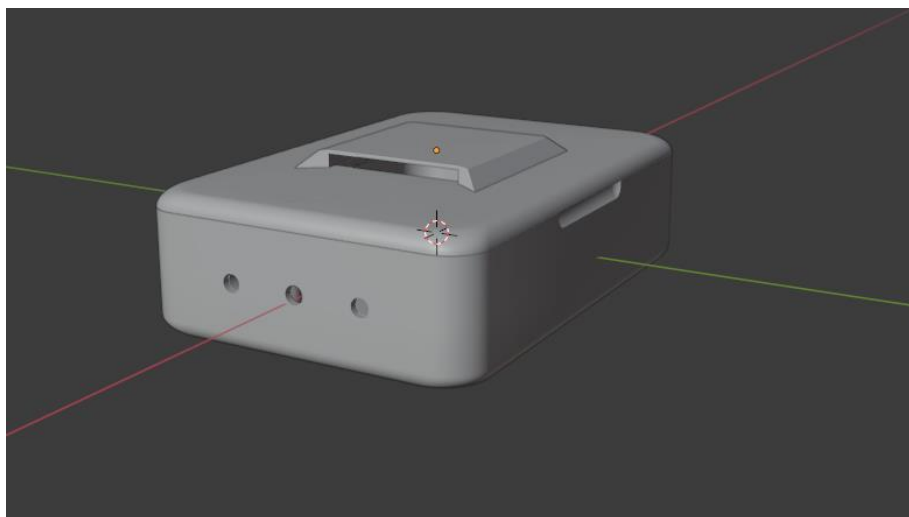
За основу конструкции электродов взят двухсторонний медный текстолит, в качестве раствора для травления использовалась смесь пероксида водорода, лимонной кислоты и хлорида натрия в пропорции 100:30:3.

2.3. Изготовление корпуса

В качестве САПР для разработки 3D корпуса использовалась программа Blender. Blender представляет собой профессиональное и открытое программное обеспечение, включающее в себя огромный арсенал инструментов для работы с 3D графикой. На рисунке 36 показана готовая 3D модель корпуса: *а* – в разобранном состоянии, *б* – в собранном состоянии. Крепление разработанного устройства внутри производится с помощью винтов М3.



(*а*)



(б)

Рисунок 36 – Готовая 3D модель корпуса.
а – в разобранном состоянии, *б* – в собранном состоянии.

Далее разработанная 3D модель в формате stl пошла на 3D печать в ИЦ ЦМИД. Полученный результат показан на рисунке 37.

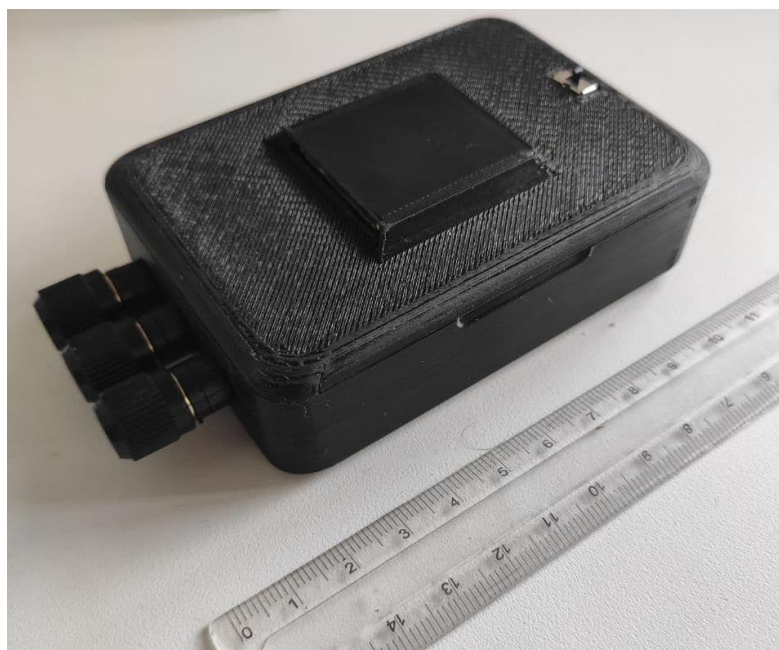


Рисунок 37 – Готовый корпус в сборе.

Также для исследования жидкостей в больших объемах разработана и напечатана 3D модель кюветы из полиэтилентерефталат-гликоля (ПЭТГ) объемом 33 мл. Результат показан на рисунке 38.

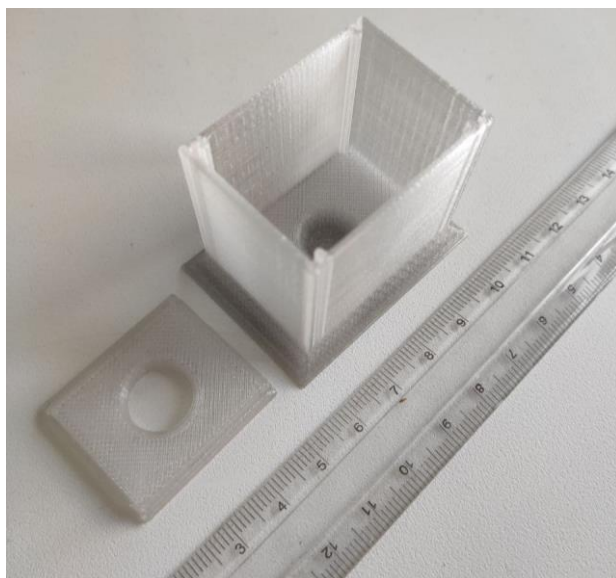


Рисунок 38 – Кювета.

Для полученной кюветы будут использоваться электроды размерами 27 мм:1.2 мм:65 мм.

3. ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ

3.1. Программа для Arduino

Для написания программ для Arduino используют программную среду Arduino IDE. Интерфейс Arduino IDE показан на рисунке 39. В написанной программе для Arduino происходит: автоматический сбор информации с аналоговых входов, контроль поступающего на электрохимическую ячейку напряжения, а также контроль различных параметров схемы (коэффициента усиления по току и напряжению, задержки перед снятием, количество точек для усреднения и др.). Код программы представлен в приложении 2.

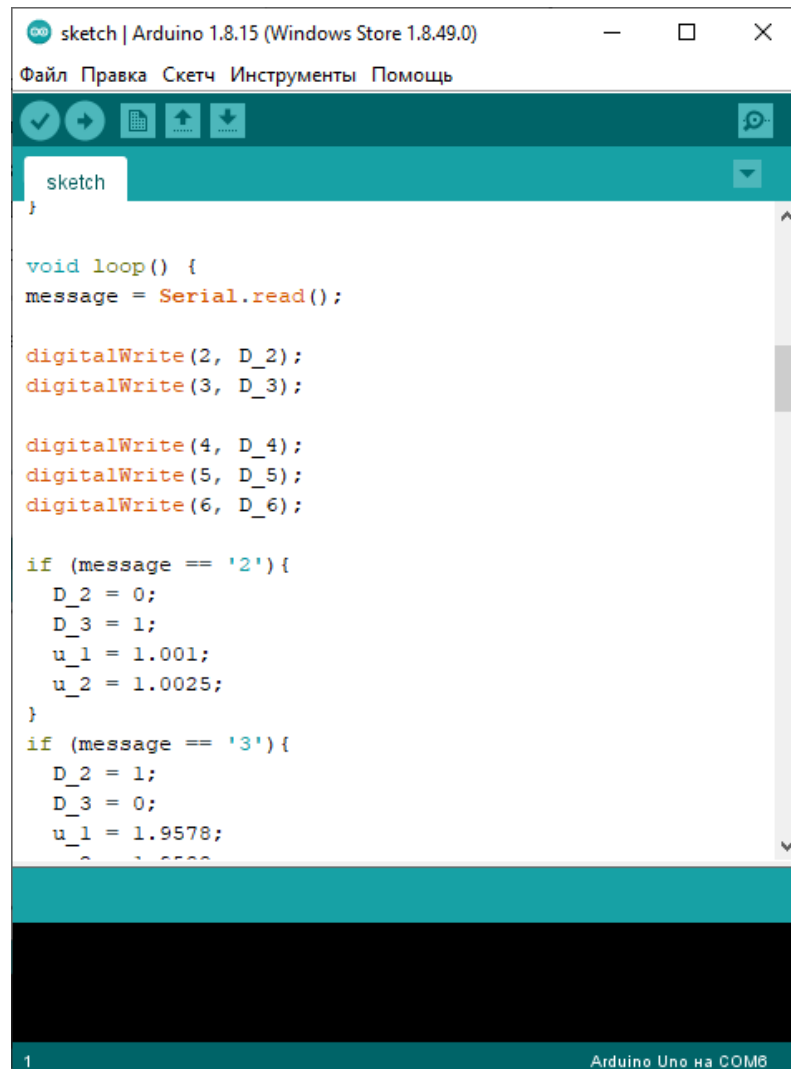


Рисунок 39 – Интерфейс Arduino IDE.

На рисунке 40 показан упрощенный алгоритм работы программы для Arduino.



Рисунок 40 – Упрощенный алгоритм работы программы для Arduino.

Пояснения к рисунку 40:

- 1) Запуск Arduino происходит при подключении к компьютеру через соединительный кабель USB – USB B.
- 2) Установка параметров осуществляется через разработанную программу.
- 3) Напряжение и ток регистрируются на аналоговых входах A2, A3, A4, A5 и переводятся в значение от 0 до 1023 с помощью 10 битного АЦП.
- 4) Преобразование цифровых значений токов и напряжений происходит с помощью формул (3.1) и (3.2) соответственно.

$$I = \frac{\frac{5}{1023} \cdot I(0 - 1023)}{K_{yi}} \quad (3.1)$$

$$I = \frac{\frac{5}{1023} \cdot U(0 - 1023)}{K_{yu}} \quad (3.2)$$

5) Значения токов и напряжений отправляются в [мкА] и [В] соответственно.

3.2. Программа для работы с устройством.

Для взаимодействия пользователя с разработанным устройством было разработано программное обеспечение, написанное на языке программирования Python. Основной задачей программы является упрощение работы с вольтамперметром. При написании программы использовались такие библиотеки, как tkinter для создания графического интерфейса, pySerial для работы с COM портами и NumPy для работы с приходящими с Arduino массивами. Интерфейс написанной программы представлен на рисунке 41.

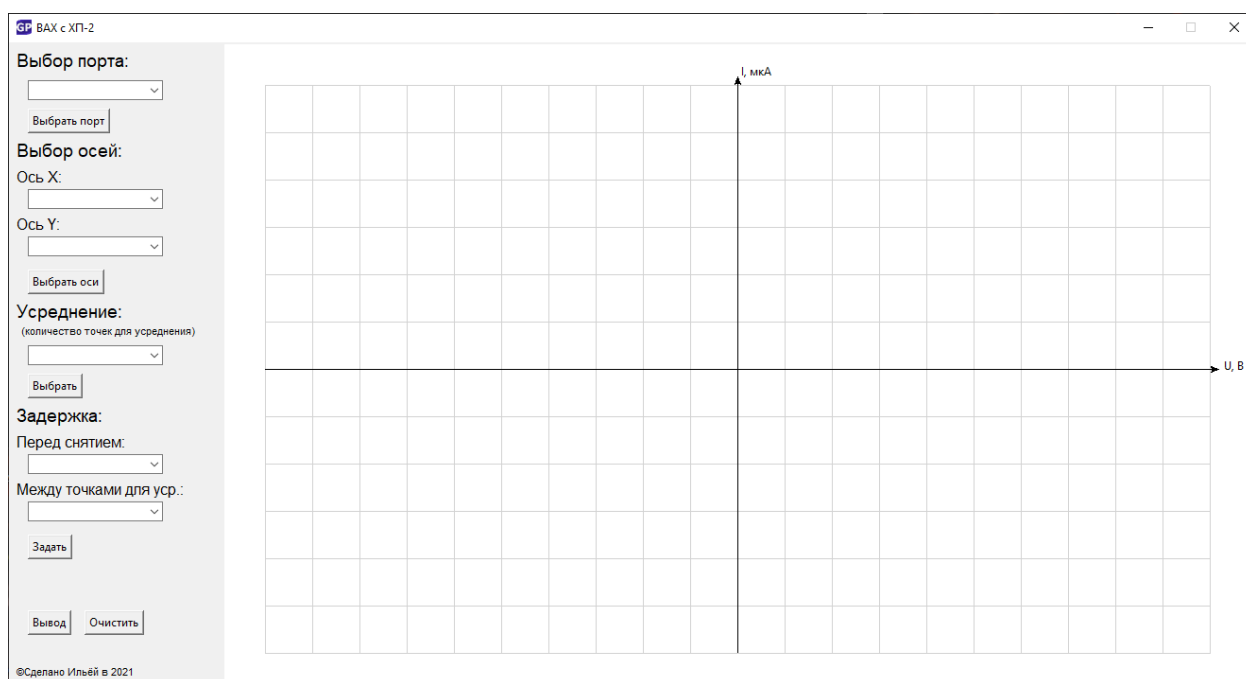


Рисунок 41 – Интерфейс разработанной программы.

На рисунке 42 представлен упрощенный алгоритм работы программы.



Рисунок 42 – Упрощенный алгоритм работы.

Пояснения к рисунку 42:

- 1) При запуске, программа сканирует подключенные COM-порты и отображает их в выпадающем списке .
- 2) Выбрав порт и остальные параметры исследования программа устанавливает соединение и выбранные параметры через USB.
- 3) После нажатия кнопки “Вывод” программа начинает получать данные. После того как цикл снятия окончен формируется длинный список с данными.
- 4) Полученный список состоит из байтовых строк, содержащих в себе числовые значения токов и напряжений. В обработке данных происходит перевод байтовых строк в числа с плавающей точкой. Далее происходит слияние положительных и отрицательных токов, а также напряжений, полученных с разных аналоговых входов. После обработки данных происходит их перевод в пиксели для вывода на экран.

В качестве примера работоспособности прибора и программы можно привести вольтамперограмму 96.3% этилового спирта, которая изображена в приложении 3. Для лучшего восприятия в дальнейшем все графики будут

переведены в Excel, но числовые значения для них будут получены с помощью разработанной программы.

4. ОТЛАДКА И ТЕХНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ УСТРОЙСТВА

4.1. Отладка устройства

Для проверки работоспособности устройства вместо электрохимической ячейки были подключены резисторы номиналом 100 кОм, как это показано на рисунке 43. При данном подключении резисторов в результате должна получаться вольтамперограмма резистора номиналом 100 кОм, но на рисунке 44 видно, что полученная вольтамперограмма представляет собой кривую. Такое искажение полученных данных происходит из-за непостоянности выходного сигнала на выходе D10, а также неточности регистрации напряжений на аналоговых входах. Разброс получаемых данных показана на рисунке 45

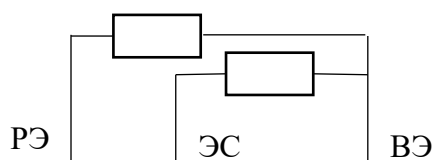


Рисунок 43 – Подключение резисторов для проверки работоспособности устройства.

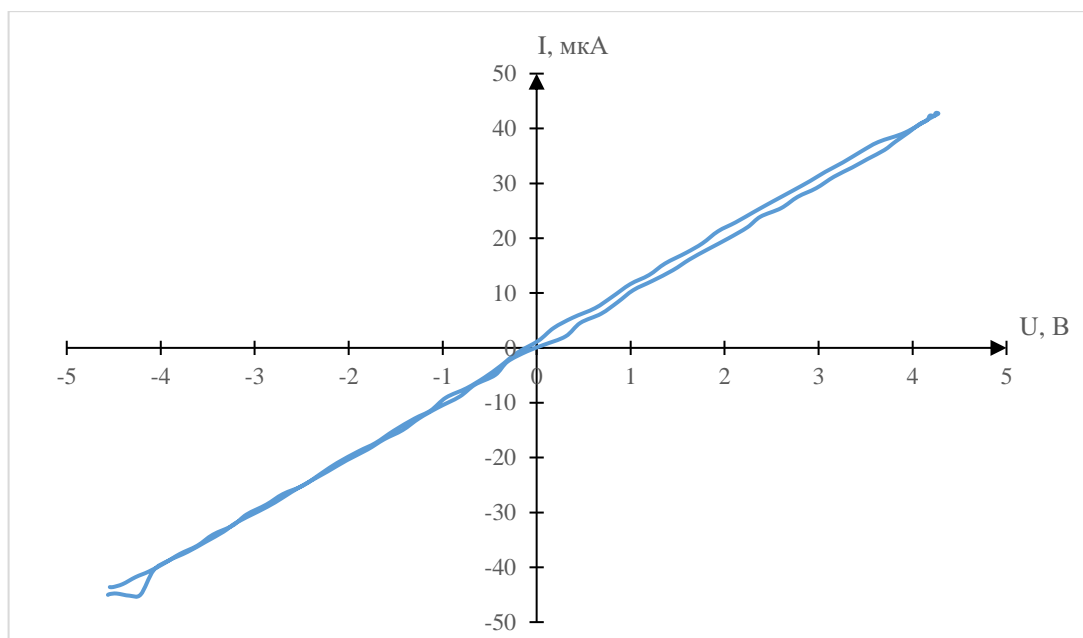


Рисунок 44 – Результат проверки.

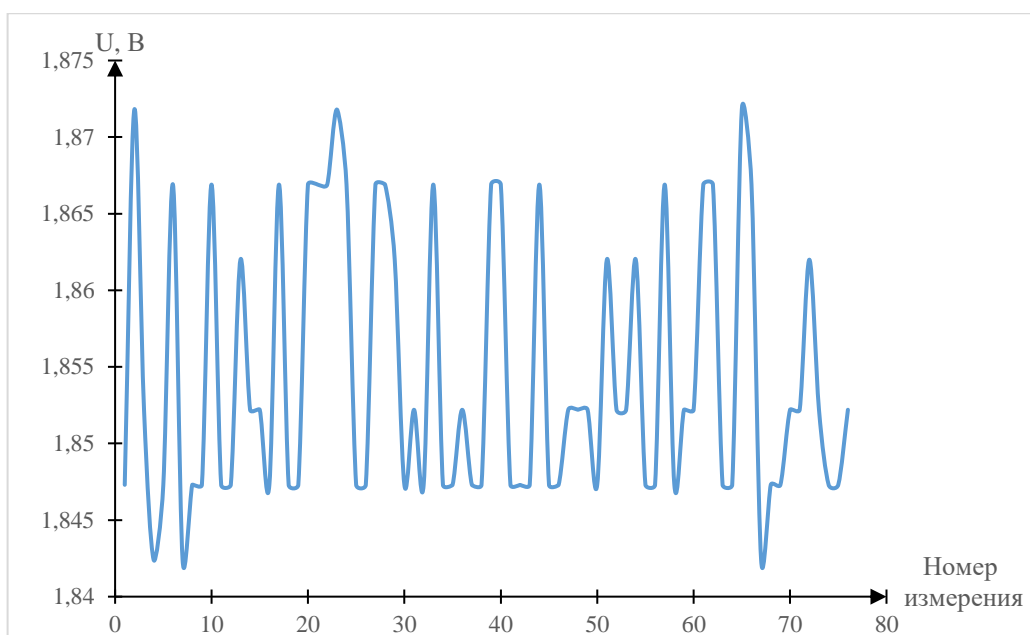


Рисунок 45 – Шумы приходящего сигнала.

Для решения проблемы, показанной на рисунке 44, использовался цикл в коде для Arduino, который позволяет регистрировать несколько приходящих значений при одном потенциале и рассчитывать их среднее арифметическое. Результат внедрения цикла показан на рисунке 46.

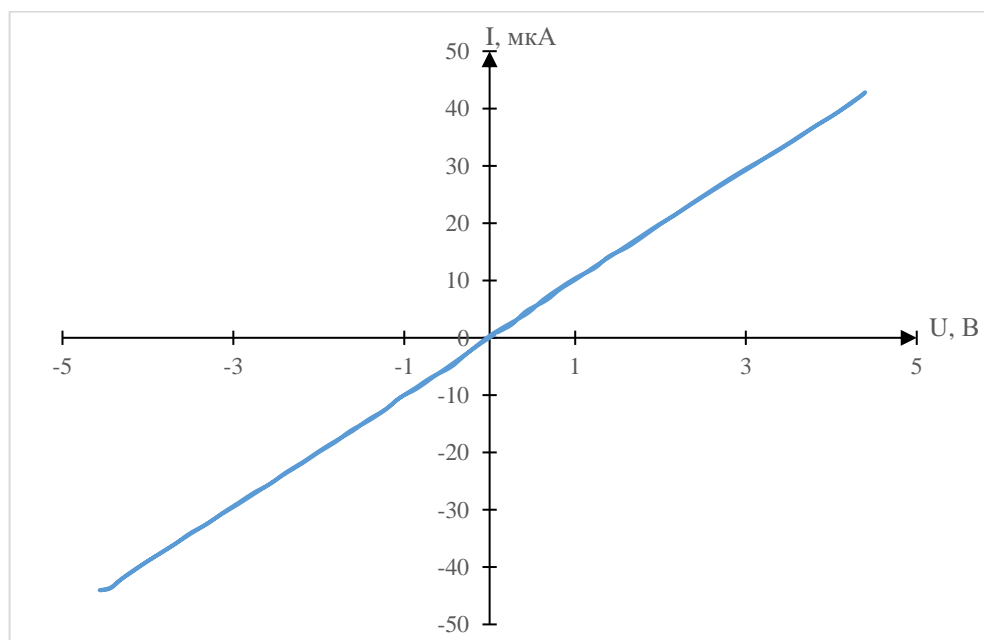


Рисунок 46 – Вольтамперограмма резистора номиналом 100 кОм.

Из рисунка 46 видно, что внедрение цикла с расчетом среднего арифметического для нескольких значений положительно сказалось на разбросе приходящих данных.

4.2. Технические испытания устройства

Основной задачей технических испытаний является проверка работоспособности прибора, а именно способность отслеживать изменения электрического тока при изменении концентрации исследуемого вещества. Для технических испытаний взяты растворы веществ: хлорида натрия, бычьего сывороточного альбумина (БСА) и этанола с различной концентрацией. Измерения проводились в лабораторных условиях с применением точных приборов для контроля концентраций.

На рисунке 47 изображены вольтамперные зависимости для различных концентраций хлорида натрия в растворе. На основе полученных вольтамперных характеристик построена концентрационная кривая, изображенная на рисунке 48. Токи для данной зависимости взяты при напряжении $-0,5$ В.

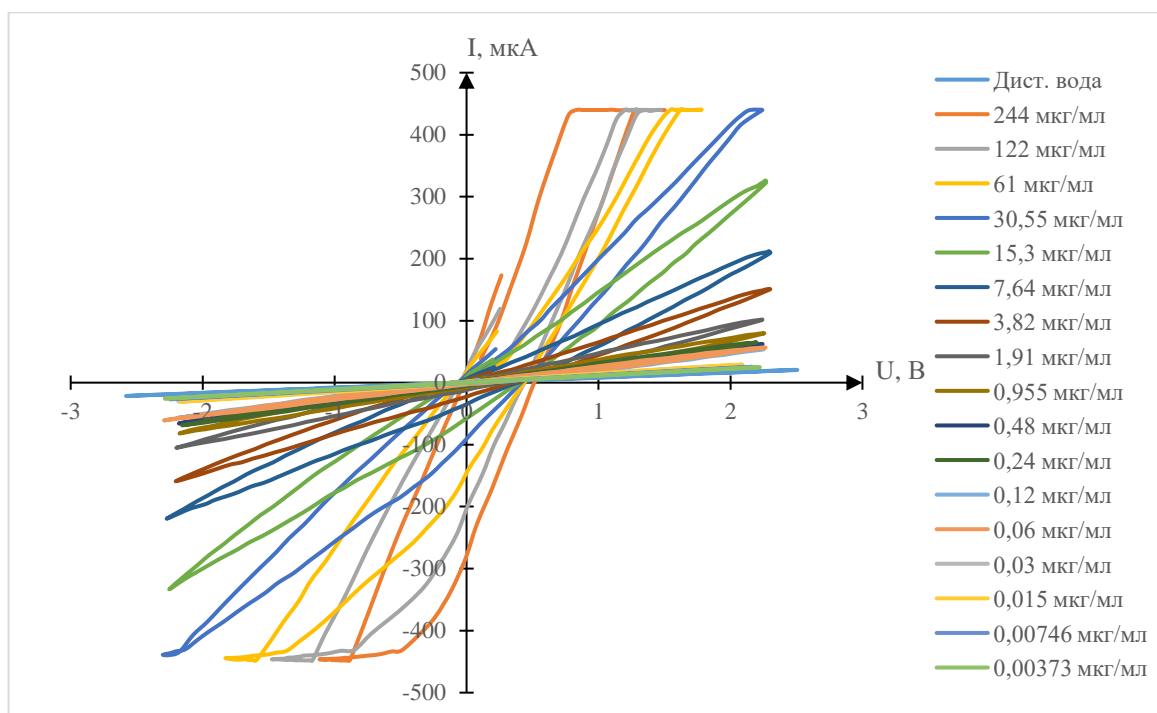


Рисунок 47 – Семейство ВАХ для раствора хлорида натрия с различной концентрацией. Вольтамперограммы были получены с применением кюветы, изображенной на рисунке 39, в качестве материала для РЭ и ВЭ была выбрана медь. В качестве ЭС использовался хлорсеребряный электрод.

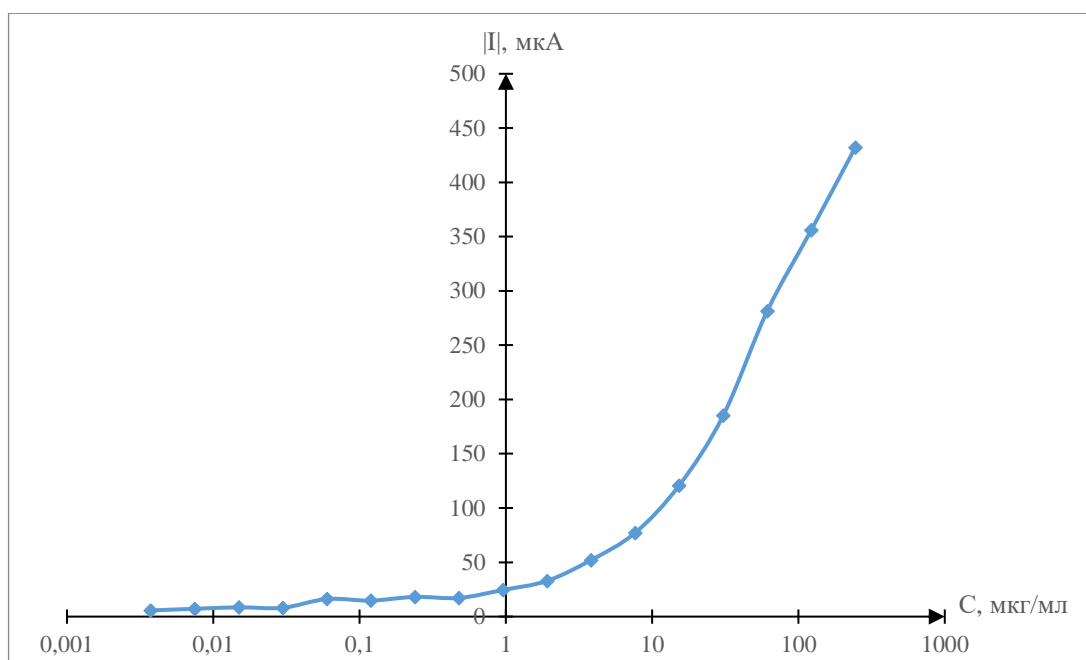


Рисунок 48 – Концентрационная кривая для раствора хлорида натрия при напряжении -0,5 В.

Проанализировав полученные зависимости можно сделать вывод, что увеличение концентрации хлорида натрия, а также других солей ведет к увеличению проводимости раствора.

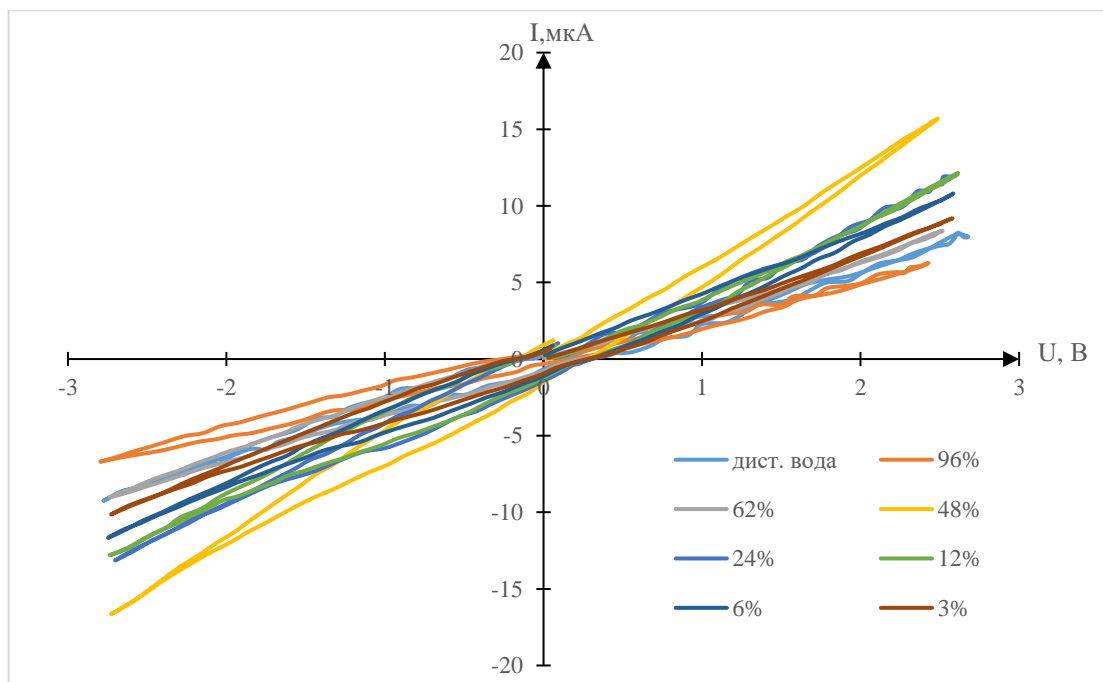


Рисунок 49 – Семейство ВАХ для раствора этанола с различной концентрацией. Вольтамперограммы были получены с помощью электродов, изображенных на рисунке 35, б.

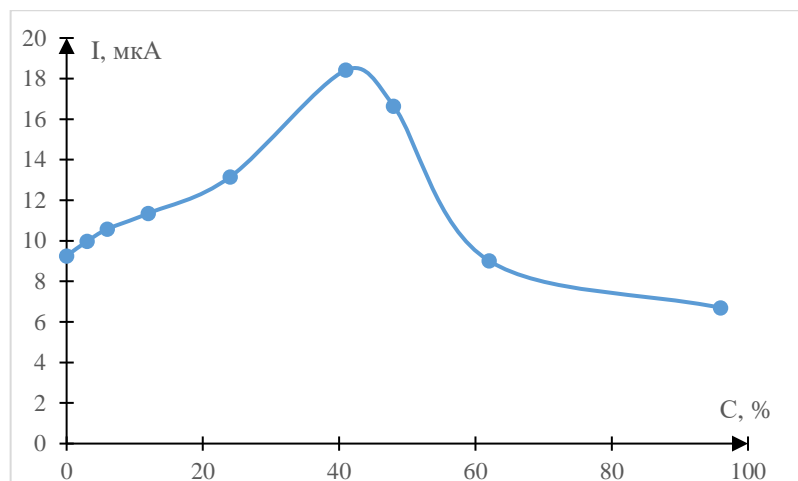


Рисунок 50 – Концентрационная кривая для раствора этанола.

Можно увидеть, что на рисунке 50 с ростом концентрации спирта до ≈ 40 % в растворе, ток возрастает, но после начинает падать. На основе анализа [23] можно предположить, что эффект возрастания тока до 40 % возникает из-за того, что энтропия системы уменьшается за счет сольватации молекул спирта водой. Это приводит к уменьшению энергии связи О-Н и как следствие к снижению активационного барьера спонтанной диссоциации. Также при увеличении концентрации спирта увеличивается протонная подвижность, из-за более выгодного расположения молекул. После 40 % начинается перенасыщение раствора спиртом и это ведет к обратному эффекту.

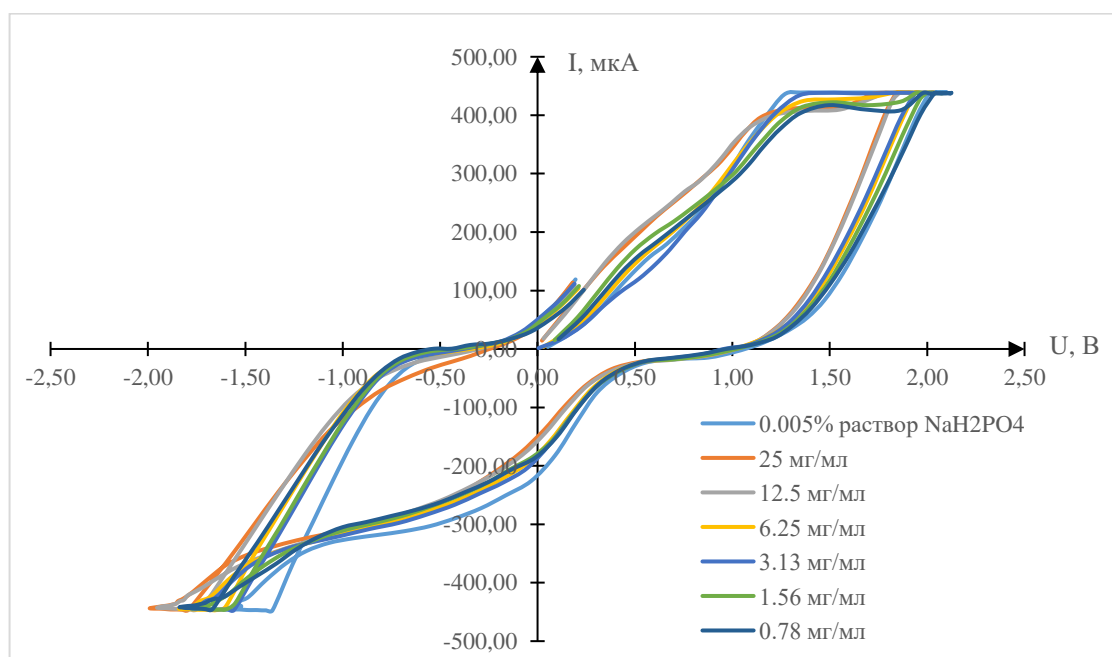


Рисунок 51 – Семейство ВАХ для раствора БСА в 0.005% NaH_2PO_4 . Вольтамперограммы были получены с помощью электродов, изображенных на рисунке 35, б.

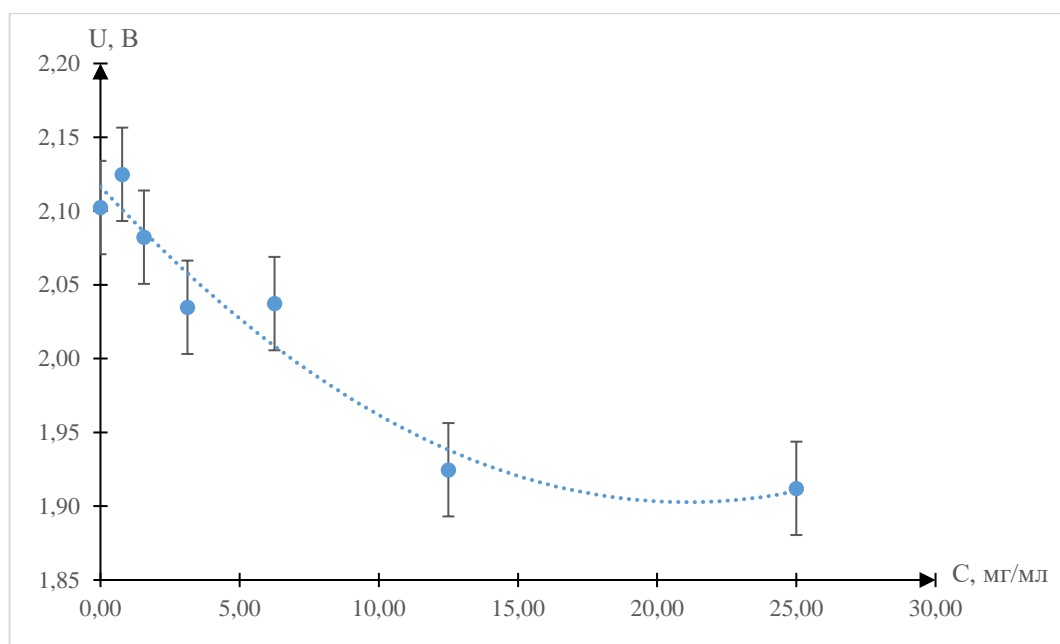


Рисунок 52 - Концентрационная кривая для раствора БСА.

Из рисунков 51 и 52 можно сделать вывод, что при увеличении концентрации бычьего сывороточного альбумина в 0.005% растворе фосфатного буфера общая проводимость раствора падает.

5. БЕЗОПАСНОСТЬ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ

В данной работе рассмотрен процесс проектирования и сборки электроаналитического устройства для биомедицинского экспресс анализа. В качестве метода исследования был выбран вольтамперометрический метод, основанный на анализе токов и напряжений в электрохимической ячейке. Предел измерения напряжений и токов составляет ± 5 В и ± 500 мкА соответственно. Как говорилось в п. 2.1.1: принципиальная схема устройства разработана в веб-ориентированной среде для проектирования EasyEDA. Программное обеспечение для работы с устройством написано в редакторе исходного кода Visual Studio Code. Код программного обеспечения для Arduino создан в программной среде Arduino IDE. Сборка устройства проводилась в домашних условиях с соблюдением всех требований техники безопасности. Тестирование проходило в лаборатории.

Разрабатываемое устройство и программное обеспечение должны быть безопасны на всех этапах их жизненного цикла вплоть до утилизации. На первых и последующих этапах разработчик должен выявить опасные и вредные факторы согласно ГОСТ 12.0.003-2015 и предусмотреть необходимые решения по защите от них. Из всего выше написанного можно сделать вывод, что разработанный прибор и программное обеспечение должны соответствовать требованиям безопасности медицинских стандартов и других нормативных документов, которые будут приведены далее.

5.1. Безопасность медицинских приборов

Разработанное устройство является устройством, которое может предоставлять информацию для медицинских, а также диагностических целей путем лабораторных исследований. На основании ГОСТ Р 56849-2015 и написанного выше можно сделать вывод, что разработанное устройство принадлежит к классу медицинских приборов. Это значит, что спроектированное устройство

должно быть изготовлено таким образом, чтобы его использование соответствовало его назначению, определенному производителем. Так же основополагающим свойством является безопасность для пользователя и третьих лиц, при условии, что риск применения является приемлемым при сопоставлении с пользой.

На основе [25] при проектировании и изготовлении медицинских изделий особое внимание должно уделяться:

- 1) выбору используемых материалов, особенно в отношении токсичности и воспламеняемости;
- 2) совместимости используемых материалов и биологических клеток, тканей, жидкостей, веществ и их производных (далее — биологические материалы) с учетом назначения медицинского изделия;
- 3) выбору используемых материалов с учетом таких показателей, как твердость, износостойкость и усталостная прочность.

Корпус устройства изготовлен из полиэтилентерефталат-гликоля (ПЭТГ). ПЭТГ — это аморфный материал, он имеет высокую жесткость и твердость, а также устойчив к растворам большинства химических соединений. Учитывая это, можно сказать, что написанные выше требования соблюдены.

Медицинские изделия должны быть спроектированы и изготовлены так, чтобы максимально снизить риск случайного поражения пациента, пользователя или третьего лица электрическим током как в нормальных условиях эксплуатации изделия, так и в условиях единичной неисправности, при условии, что медицинское изделие установлено и обслуживается в соответствии с указаниями производителя [26]. Учитывая [27], где указаны пределы значений токов и напряжений (постоянное напряжение и ток не должны превышать 8 В и 1 мА соответственно), протекающих через тело человека при нормальном (неаварийном) режиме электроустановки можно сделать вывод, что устройство является полностью безопасным для использования.

5.2. Безопасность медицинского программного обеспечения

Из [23] можно сделать вывод, что сделанное программное обеспечение относится к системе, которая разработана с целью включения в медицинский прибор. Выше упоминалось что прибор, к которому привязывается программное обеспечение, используется в лабораторных исследованиях, поэтому при создании медицинского программного обеспечения, связанного с лабораторными исследованиями, необходимо избегать следующих инцидентов [24]:

- ошибки отображения названия препарата и другие ошибки, связанные с клинической терминологией, особенно в тех случаях, когда данные интегрированы из различных лечебных учреждений, информационных систем или организаций;
- дозы лекарственного препарата, которые были рассчитаны, представлены либо неправильно сообщены в связи с расчетом или ошибкой при переводе единиц измерения;
- неправильная интерпретация врачами клинических данных, представленных им через интерфейс другой системы без предоставления полного контекста этих данных;
- потеря данных из профилей пациентов без уведомления врачей из-за недоступности или неправильной технической поддержкой исходных систем или интерфейсов;
- ошибки миграции данных при приведении в действие новых систем или обновлении основных систем;
- ошибки технической поддержки программного обеспечения, приводящие к изменению идентификации пациента, что впоследствии приводит к тому, что результаты лабораторных обследований направляются не к тем врачам;
- нарушения безопасности, которые повреждают целостность или доступность системы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате данного дипломного проекта была разработана платформа для биомедицинского экспресс анализа. По окончанию всех работ можно отметить, что все задачи, которые были поставлены в пункте 1.6. выполнены:

- 1) Разработана принципиальная схема (п. 2.1., приложение 1).
- 2) Разработано программное обеспечения для взаимодействия с прибором (глава 3).
- 3) Спроектирован защитный корпус (п. 2.3.).
- 4) Изготовлены медные электроды (п. 2.2.).
- 5) Проведена отладка, а также технические испытания разработанного устройства (глава 4).

Сконструированное устройство имеет характеристики:

- Высота – 30 мм.
- Длина – 115 мм.
- Ширина – 65 мм.
- Пределы измерения напряжения – (-5 В; +5 В), (-2.5 В; +2.5 В), (-1 В; +1 В).
- Пределы измерения тока – (-500 мкА; +500 мкА), (-50 мкА; +50 мкА), (-5 мкА; +5 мкА), (-0.5 мкА; +0.5 мкА).
- Минимальный шаг прикладываемого напряжения – 0.0049 В.

К недостаткам разработанного прибора можно отнести:

- Платформа не способна регистрировать чисто нулевой потенциал.
- Малое количество диапазонов измерения. Данный недостаток хорошо виден на рисунках 48 и 53, где достигнут лимит регистрации токов.

Дальнейший вектор развития платформы должен быть сосредоточен на:

- Улучшении качества программного обеспечения (добавлении возможности автоматического переноса значений в Excel, автоматизации определения предела измерения, оптимизации рабочего интерфейса, оптимизации общения между устройством и компьютером).
- Разработке биосенсорных электродов, для селективного обнаружения органических веществ.
- Расширению диапазонов измерения.
- Большей миниатюризации устройства.
- Улучшению надежности устройства
- Добавлению возможности передачи данных по воздуху.

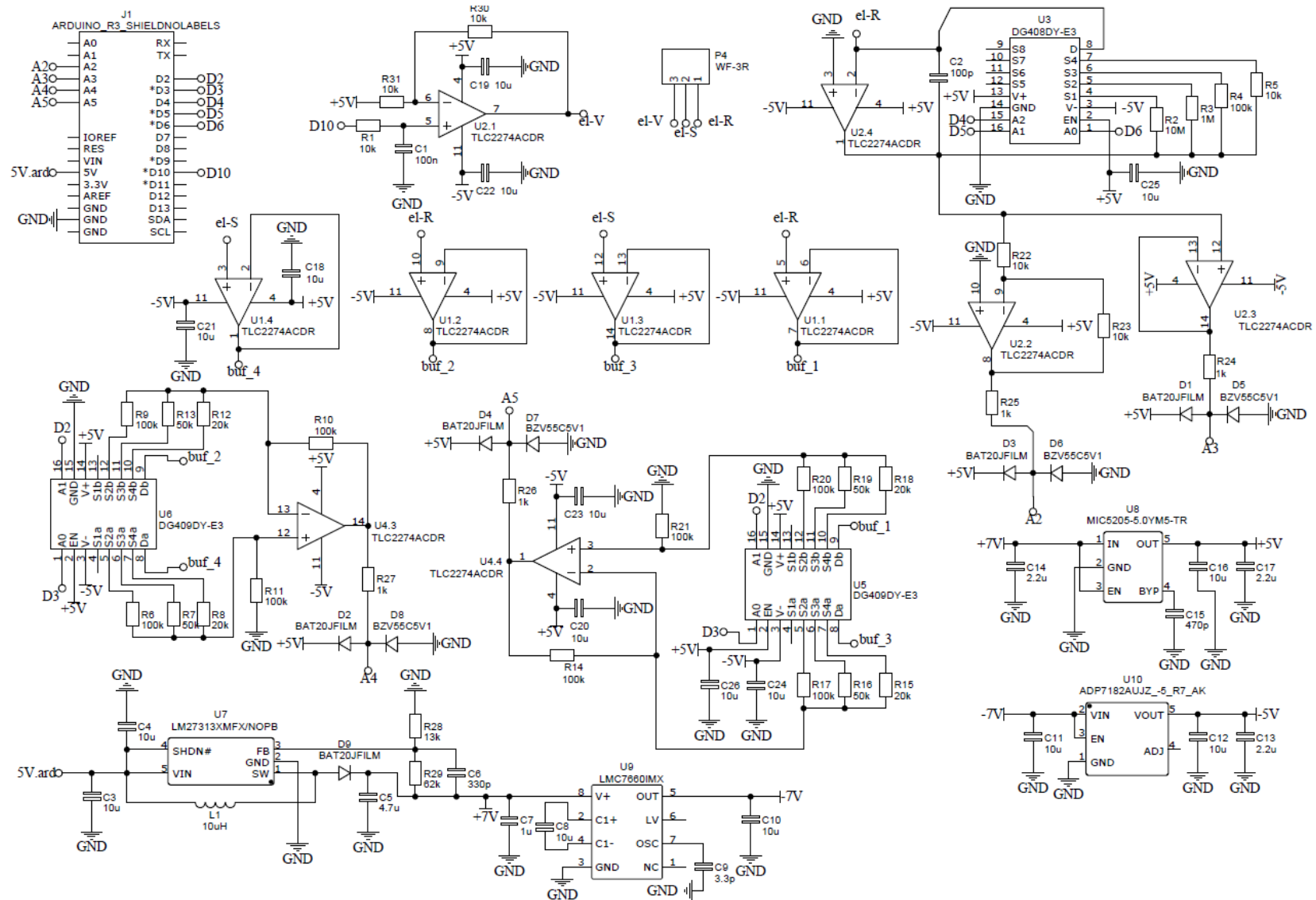
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Будников Г. К., Евтюгин Г. А. Некоторые вопросы органического электроанализа в биомедицине: от работ Я. Гейровского до микрочипов //Бутлеровские сообщения. 2011. Т. 25. № 8. С. 1.
2. Жебентяев А. И., Жерносек А. К., Талуть И. Е. Электрохимические методы анализа. Пособие //Витебск: ВГМУ. 2015.
3. И.И. Жерин, Г.Н. Амелина, А.Н. Страшко, Ф.А. Ворошилов. Основы электрохимических методов анализа: учебное пособие. Часть 1 //Томск: Изд-во Томского политехнического университета. 2013.
4. И.И. Жерин, Г.Н. Амелина, А.Н. Страшко, Ф.А. Ворошилов. Основы электрохимических методов анализа: учебное пособие. Часть 2 //Томск: Изд-во Томского политехнического университета. 2013.
5. Simões F. R., Xavier M. G. Electrochemical sensors //Nanoscience and its Applications. 2017. С. 155-178.
6. Skoog D. A., Holler F. J., Crouch S. R. Principles of instrumental analysis. – Cengage learning, 2017.
7. ИНВЕРСИОННАЯ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЯ: учебно-методическое пособие по курсу «Аналитическая химия и физико-химические методы анализа» / В. И. Кочеров, А. Н. Козицина, А. В. Иванова, Т. С. Митрофанова, А. И. Матерн. Екатеринбург: УрФУ, 2010 110 с.
8. Hauser, P. C. Coulometry ☆ // Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. 2018. С. 234–240,
9. Сердечно-сосудистые заболевания // Всемирная организация здравоохранения [Электронный ресурс] URL: [https://www.who.int/ru/news-room/factsheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/ru/news-room/factsheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)).

10. Dhara K., Mahapatra D. R. Review on electrochemical sensing strategies for C-reactive protein and cardiac troponin I detection //Microchemical Journal. 2020. C. 104857.
11. Lee W. B. et al. An integrated microfluidic system for fast, automatic detection of C-reactive protein //Sensors and Actuators B: Chemical. 2011. T. 157. № 2. C. 710-721.
12. Maynard S. J., Menown I. B. A., Adgey A. A. J. Troponin T or troponin I as cardiac markers in ischaemic heart disease. 2000.
13. Bini A. et al. Development of an optical RNA-based aptasensor for C-reactive protein //Analytical and bioanalytical chemistry. 2008. T. 390. № 4. C. 1077-1086.
14. Hu J. et al. Quantitation of femtomolar protein levels via direct readout with the electrochemical proximity assay //Journal of the American Chemical Society. 2012. T. 134. № 16. C. 7066-7072.
15. Mokhtarzadeh A. et al. Nanomaterial-based cocaine aptasensors //Biosensors and Bioelectronics. 2015. T. 68. C. 95-106.
16. Wang J. et al. RNA aptamer-based electrochemical aptasensor for C-reactive protein detection using functionalized silica microspheres as immunoprobes //Biosensors and Bioelectronics. 2017. T. 95. C. 100-105.
17. From Bottle to Blood to Breath: How Breathalyzers Work // Office for Science and Society - McGill University [Электронный ресурс] URL: <https://www.mcgill.ca/oss/article/did-you-know/did-you-know-breathalyzers-dont-directly-measure-your-blood-alcohol-concentration> (дата обращения: 15.04.2021).
18. Глюкометры - Рейтинг 2021 года // Выборовед [Электронный ресурс] URL: <https://vyboroved.ru/rejting/luchshie-glyukometry> (дата обращения: 24.05.2021).

19. 3E-HCN сенсор (датчик) синильной кислоты электрохимический // Мегаконтроль [Электронный ресурс] URL: <https://megakontrol.ru/gazoanalizatory/sensory-chuvstvitelnye-elementy/3e-hcn-sensor-datchik-sinilnoi-kisloty-ele/> (дата обращения: 25.04.2021).
20. Алкотестер Drivesafe 2 // Alcotest.ru [Электронный ресурс] URL: <https://www.alkotest.ru/alkotester-drivesafe-2.php> (дата обращения: 25.05.2021).
21. Cirelli, R. A., Watson, G. P., & Nalamasu, O. Optical Lithography // Encyclopedia of Materials: Science and Technology, 2001. P. 6441–6448.
22. Что такое трансимпедансный усилитель и как он работает // digitrode.ru. [Электронный ресурс]. URL: <http://digitrode.ru/articles/2182-что-такое-трансимпедансный-усилитель-и-как-он-работает.html> (дата обращения: 26.05.2021).
23. Смирнова Л. Г., Смирнов А. К., Кузнецова О. Н. К вопросу об электропроводности в системе «Многоатомный спирт-вода» // Вестник Казанского технологического университета. 2017. Т. 20. № 15.
24. ГОСТ Р 56849-2015. Руководство по стандартам безопасности медицинского программного обеспечения, 2015. С. 5-13.
25. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 12 февраля 2016 года №27 «Об утверждении Общих требований безопасности и эффективности медицинских изделий, требований к их маркировке и эксплуатационной документации на них»// Совет Евразийской экономической комиссии. 2016. С 23-18.
26. ГОСТ 30324.0-95. Изделия медицинские электрические. Часть 1. Общие требования безопасности, 1992. С. 2-31.
27. ГОСТ 12.1.038-82. Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Электробезопасность. Предельно допустимые значения напряжений прикосновения и токов (с Изменением N 1), 2001.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1



Принципиальная электрическая схема устройства

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

```
char message;
int Vstep = 5;
int V0 = 130;
int D_2 = 0;
int D_3 = 1;
int D_4 = 0;
int D_5 = 1;
int D_6 = 1;
float t_1 = 10.0705;
float t_2 = 10.0503;
float u_1 = 1.001;
float u_2 = 1.0025;
int Del_1 = 100;
int Del_2 = 20;
int kol = 10;

void setup() {
  Serial.begin(9600);
  TCCR1A = 0b00000001;
  TCCR1B = 0b00001001;
  pinMode(A2,INPUT);
  pinMode(A3,INPUT);
  pinMode(A4,INPUT);
  pinMode(A5,INPUT);
  pinMode(2,OUTPUT);
  pinMode(3,OUTPUT);
  pinMode(4,OUTPUT);
```

```
pinMode(5,OUTPUT);  
pinMode(5,OUTPUT);  
pinMode(10,OUTPUT);  
}
```

```
void loop() {  
message = Serial.read();
```

```
digitalWrite(2, D_2);  
digitalWrite(3, D_3);  
digitalWrite(4, D_4);  
digitalWrite(5, D_5);  
digitalWrite(6, D_6);
```

```
if (message == '2'){  
    D_2 = 0;  
    D_3 = 1;  
    u_1 = 1.001;  
    u_2 = 1.0025;  
}
```

```
if (message == '3'){  
    D_2 = 1;  
    D_3 = 0;  
    u_1 = 1.9578;  
    u_2 = 1.9588;  
}
```

```
if (message == '4'){  
    D_2 = 1;
```

```

D_3 = 1;
u_1 = 4.9875;
u_2 = 4.9850;
}
if (message == '5'){
    D_5 = 1;
    D_6 = 1;
    t_1 = 100.4018;
    t_2 = 100.2004;
}
if (message == '6'){
    D_5 = 1;
    D_6 = 0;
    t_1 = 10.0705;
    t_2 = 10.0503;
}
if (message == '7'){
    D_5 = 0;
    D_6 = 1;
    t_1 = 1.007;
    t_2 = 1.0050;
}
if (message == '8'){
    D_5 = 0;
    D_6 = 0;
    t_1 = 0.1;
    t_2 = 0.1;
}

```

```
if (message == '9'){  
    kol = 1;  
}  
if (message == 'A'){  
    kol = 5;  
}  
if (message == 'B'){  
    kol = 10;  
}  
if (message == 'C'){  
    kol = 15;  
}  
if (message == 'D'){  
    kol = 20;  
}  
if (message == 'E'){  
    kol = 40;  
}  
if (message == 'F'){  
    Del_1 = 50;  
}  
if (message == 'G'){  
    Del_1 = 100;  
}  
if (message == 'H'){  
    Del_1 = 150;  
}  
if (message == 'T'){
```

```

    Del_1 = 200;
}
if (message == 'J'){
    Del_2 = 10;
}
if (message == 'K'){
    Del_1 = 15;
}
if (message == 'L'){
    Del_1 = 20;
}
if (message == 'M'){
    Del_1 = 30;
}
if (message == '1'){
    V0 = 130;
    for (int i = 0; i<=102; i++){
        analogWrite(10, V0);
        V0 = V0 + Vstep;
        if (V0 == 0 || V0 == 255) {
            Vstep = -Vstep ;
        }
    }
    int sum = 0;
    int sum_I1 = 0;
    int sum_I2 = 0;
    int sum_V1 = 0;
    int sum_V2 = 0;
    delay(Del_1);

```



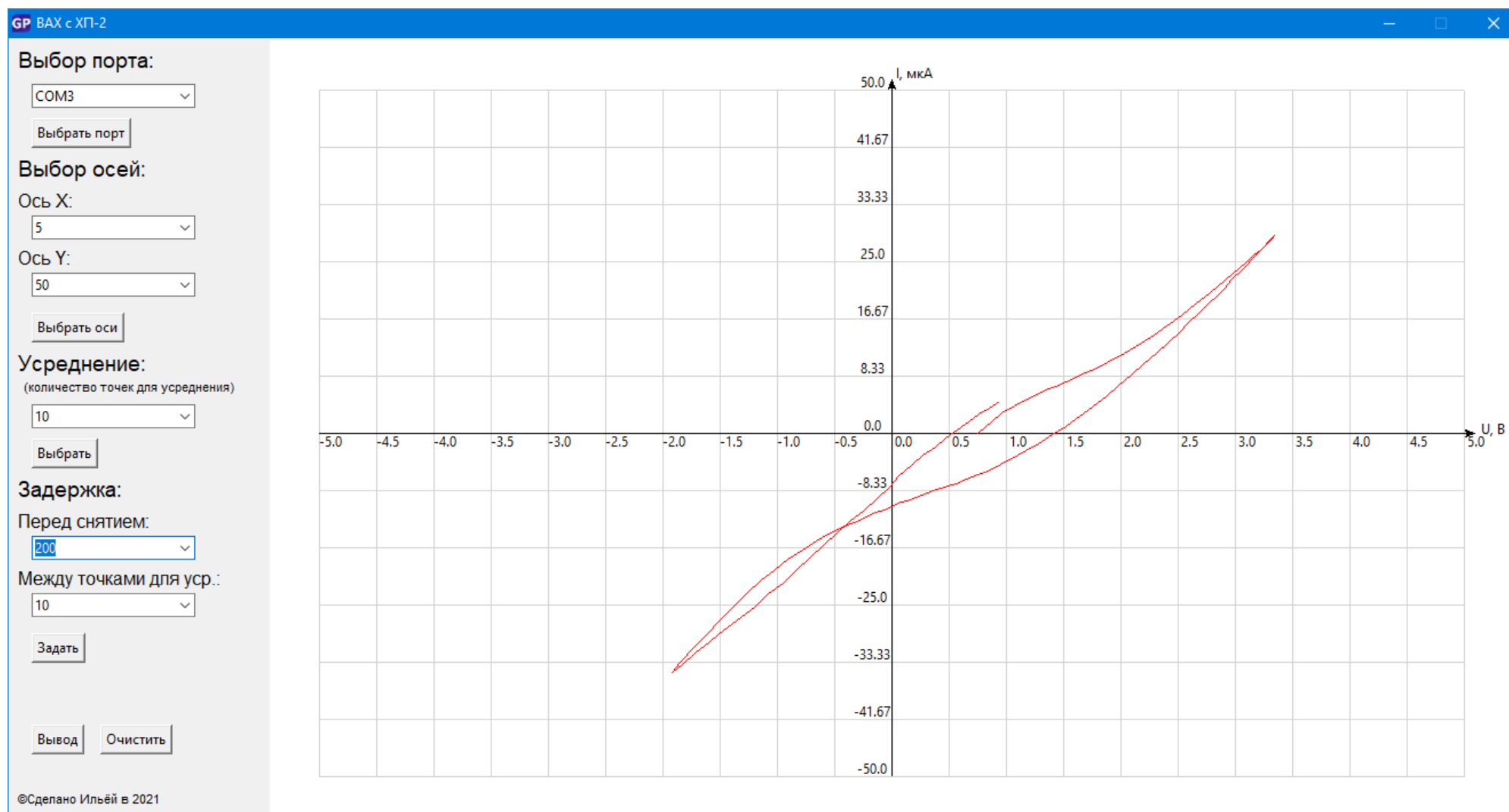
```

while(sum < kol){
    int I_1 = analogRead(A2);
    int I_2 = analogRead(A3);
    int V_1 = analogRead(A4);
    int V_2 = analogRead(A5);
    sum_I1 += I_1;
    sum_I2 += I_2;
    sum_V1 += V_1;
    sum_V2 += V_2;
    sum++;
    delay(Del_2);
}

float I1 = sum_I1/kol;
float I2 = sum_I2/kol;
float V1 = sum_V1/kol;
float V2 = sum_V2/kol;
float I_11 = I1*0.0049*t_1;
Serial.println(I_11,4);
float I_22 = I2*0.0049*t_2;
Serial.println(I_22,4);
float V_11 = V1*0.0049/u_1;
Serial.println(V_11,4);
float V_22 = V2*0.0049/u_2;
Serial.println(V_22,4);
delay(20);
}
}
}

```

ПРИЛОЖЕНИЕ 3



Пример полученной вольтамперограммы 30 мл 96.3% этилового спирта. В качестве материала для РЭ и ВЭ использовался алюминий, а для ЭС хлорсеребряный электрод.