



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΚΑΙ  
ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΩΝ, ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΚΑΙ  
ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ

## ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΙΣΘΗΤΗΡΑ ΤΡΟΠΟΝΙΝΗΣ Ι

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Αγγελική Δ. Βασιλοπούλου**

**Επιβλέπων :** Ευάγγελος Χριστοφόρου

Καθηγητής ΕΜΠ

**Αθήνα, Οκτώβριος 2021**





ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΚΑΙ  
ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΩΝ, ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΚΑΙ  
ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ

## ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΙΣΘΗΤΗΡΑ ΤΡΟΠΟΝΙΝΗΣ Ι

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Αγγελική Δ. Βασιλοπούλου**

**Επιβλέπων :** Ευάγγελος Χριστοφόρου

Καθηγητής ΕΜΠ

Εγκρίθηκε από την τριμελή εξεταστική επιτροπή την 8<sup>η</sup> Νοεμβρίου 2021:

.....  
**Ε. Χριστοφόρου**  
Καθηγητής ΕΜΠ

.....  
**Γ. Ματσόπουλος**  
Καθηγητής ΕΜΠ

.....  
**Π. Τσαραμπάρης**  
Επ. Καθηγητής ΕΜΠ

**Αθήνα, Οκτώβριος 2021**

.....  
Αγγελική Δ. Βασιλοπούλου  
Διπλωματούχος Ηλεκτρολόγος Μηχανικός και Μηχανικός Υπολογιστών Ε.Μ.Π.

Copyright © Αγγελική Δ. Βασιλοπούλου, 2021.  
Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα.

Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

## Περίληψη

Στη σημερινή εποχή, τα προβλήματα στον τομέα της υγείας φαίνονται πιο κρίσιμα από ποτέ. Μεταξύ αυτών, σημαντική θέση κατέχουν οι καρδιαγγειακές παθήσεις, οι οποίες μάλιστα αποτελούν εδώ και χρόνια την μεγαλύτερη απειλή για την ανθρώπινη υγεία παγκοσμίως.

Σε μια προσπάθεια περιορισμού των θανάτων που οφείλονται στα καρδιακά νοσήματα μέσω της λήψης προληπτικών μέτρων, η επιστήμη έχει στραφεί στην ανάπτυξη βιοαισθητήρων που επιχειρούν να προσφέρουν τη δυνατότητα πρώιμης διάγνωσης μιας καρδιακής επιπλοκής. Στην παρούσα εργασία, λοιπόν, γίνεται μια προσπάθεια σχεδιασμού και κατασκευής ενός τέτοιου βιοαισθητήρα που βασίζεται στην ανίχνευση τροπονίνης I. Η τροπονίνη είναι ένα σύμπλοκο πρωτεϊνών που βρίσκεται στα λεπτά νημάτια των ραβδωτών μυών και αποτελείται από τρεις πρωτεϊνικές υπομονάδες, τις I, C και T. Σε περίπτωση δυσλειτουργίας του μυοκαρδίου η τροπονίνη απελευθερώνεται στο αίμα. Επομένως, ο εντοπισμός αυξημένων επιπέδων τροπονίνης σε πρώιμο στάδιο στον ανθρώπινο ορό συνιστά ένδειξη υψηλού κινδύνου για καρδιαγγειακό επεισόδιο και δίνει την δυνατότητα για έγκαιρη ιατρική παρέμβαση και θεραπεία. Ο εν λόγω αισθητήρας ανιχνεύει την τροπονίνη I μέσω μιας αλλαγής στη χωρητικότητα ενός πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων.

Αφού, λοιπόν, γίνει μια αναφορά στα καρδιακά νοσήματα, στις ήδη υπάρχουσες εξετάσεις τροπονίνης αλλά και στις μεθόδους ανίχνευσης των βιοαισθητήρων, παρουσιάζεται η διάταξη που δημιουργήθηκε στα πλαίσια της εργασίας και τα αποτελέσματα που ελήφθησαν από τις μετρήσεις. Η εργασία ολοκληρώνεται με μια σύνοψη των δυνατοτήτων για την πρακτική εφαρμογή της διάταξης και με προτάσεις για περαιτέρω βελτιώσεις που επιδέχεται ώστε η συσκευή να αντεπεξέλθει ακόμα καλύτερα στο κρίσιμο έργο της πρόληψης καρδιακών παθήσεων που καλείται να επιτελέσει.

## Λέξεις Κλειδιά

Καρδιαγγειακές παθήσεις, Τροπονίνη, Πρόβλεψη καρδιακής προσβολής, Τεχνικές ανίχνευσης βιομορίων, Βιοαισθητήρες, Χωρητικός αισθητήρας, Μεταβολή Χωρητικότητας, Αισθητήρας ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων, Arduino



## **Abstract**

Nowadays, problems in health sector seem to be more crucial than ever. Among these, cardiovascular diseases play an important role, being for years a major threat to human health worldwide.

In a bid to reduce the number of deaths due to heart diseases by taking precautions, science has turned to the development of biosensors that offer the possibility of early diagnosis of a complication of heart disease. Therefore, in the present thesis, an attempt is made to design and construct such a biosensor based on troponin I detection. Troponin is a complex of proteins found in the thin filaments of striated muscles and consists of three protein subunits, I, C and T. In case of myocardial malfunction, troponin is released into the blood. Consequently, the detection of elevated troponin levels at an early stage, in human serum is an indication of a high risk of cardiovascular event giving us the opportunity for early medical intervention and treatment. This sensor detects troponin I through a change in the capacitance of an interdigitated electrodes capacitor.

After referring to heart diseases, to the already existing troponin tests and also to the biosensors' detection methods, the device created here and the results obtained from the measurements are presented. This work is completed with a summary of the possibilities for the practical application of the device and some suggestions for further improvements that can be made so that the device can cope even better with the significant task of preventing heart diseases.

## **Keywords**

Cardiovascular diseases, Troponin, Heart attack prediction, Biomolecule detection techniques, Biosensors, Capacitive Sensor, Change in capacitance, Interdigitated electrode sensor, Arduino





## Ευχαριστίες

Θα ήθελα αρχικά, να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα της παρούσας διπλωματικής εργασίας, κύριο Ευάγγελο Χριστοφόρου για την δυνατότητα που μου έδωσε και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε να ασχοληθώ με αυτό το ιδιαίτερο και σημαντικό θέμα, καθώς και για την κατανόηση και την καθοδήγησή του καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές κύριο Γεώργιο Ματσόπουλο και κύριο Παναγιώτη Τσαραμπάρη για τη συμμετοχή τους στην τριμελή επιτροπή εξέτασης καθώς και για τις πολύτιμες συμβουλές τους.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον υποψήφιο διδάκτορα Αντώνη Γεωργά για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε και για τις υποδείξεις του που με καθοδήγησαν κατά την πραγματοποίηση αυτής της εργασίας.

Ευχαριστώ την οικογένειά μου για την στήριξη που μου παρέχει σε όλους τους τομείς, σε κάθε μου προσπάθεια και ιδιαίτερα τον θείο μου που με παρακίνησε να ασχοληθώ με τον τομέα των βιοαισθητήρων.

Τέλος, ευχαριστώ τους φίλους μου, τόσο τους παιδικούς όσο και αυτούς που απέκτησα κατά τη διάρκεια των σπουδών μου για την συμπαράσταση και την ενθάρρυνσή τους όλα αυτά τα χρόνια.



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ – ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ</b> .....	13
<b>ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ</b> .....	14
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	15
1.1 Κίνητρο και στόχος της εργασίας .....	15
1.2 Δομή της εργασίας.....	17
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	19
2.1 Τεχνικές ανίχνευσης καρδιακών παθήσεων.....	19
2.1.1 Κοινές παθήσεις και τεχνικές ανίχνευσης .....	19
2.1.2 Ο ρόλος των μυοκαρδιακών ενζύμων και κυρίως των τροπονινών.....	21
2.1.3 Εξετάσεις τροπονίνης – ισχαιμική και μη ισχαιμική αύξηση τροπονίνης.....	23
2.1.4 Διάγνωση μυοκαρδιακής βλάβης.....	32
2.1.5 Προγνωστική αξία.....	34
2.1.6 Αντιμετώπιση και καθοδήγηση αντιθρομβωτικής αγωγής.....	36
2.2 Τεχνικές Μέτρησης και Ανίχνευσης Ουσιών – Βιομορίων .....	36
2.2.1 Οπτικές Τεχνικές .....	36
2.2.2 Μαγνητικές Τεχνικές.....	43
2.2.3 Χωρητικές Τεχνικές .....	50
2.2.4 Ωμικές και Αμπερομετρικές Τεχνικές .....	57
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΑΙΣΘΗΤΗΡΑ</b> .....	65
3.1 Αισθητήριο στοιχείο – Αρχές λειτουργίας.....	65
3.2 Ηλεκτρονικά και συσκευασία .....	67
3.2.1 Λίγα λόγια για το Arduino.....	68
3.2.2 Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης .....	70
3.2.3 Πειραματική διάταξη .....	72
3.2.4 Συνδέσεις ηλεκτρικού μέρους .....	72
3.2.5 Κώδικας.....	74
3.2.6 Δοκιμές ορθής λειτουργίας .....	74
3.3 Μετρήσεις με νερό και με υδατικό διάλυμα.....	75
3.3.1 Μετρήσεις με νερό .....	76
3.3.2 Μετρήσεις με υδατικό διάλυμα πολυβινυλικής αλκοόλης.....	88
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΤΡΟΠΟΝΙΝΗΣ</b> .....	91
4.1 Μετρήσεις σε διαλύματα τροπονίνης .....	91
4.1.1 Χωρητικότητα διαλύματος τροπονίνης στον χρόνο – Sensitivity measurement .....	91

4.1.2 Χωρητικότητα με αύξηση περιεκτικότητας διαλύματος – Calibration .....	94
4.2 Πλεονεκτήματα – δυνατότητες διάταξης .....	95
4.3 Δυνατότητα χρήσης αισθητήρα για μέτρηση άλλων ουσιών .....	98
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ.....</b>	<b>101</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>105</b>
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ .....</b>	<b>111</b>
Κώδικας.....	111

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ – ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Εικόνα 1. Χρονική απελευθέρωση τροπονινών T και I, CK-MB, AST, LDH. ....	22
Εικόνα 2. Σύμπλοκο της καρδιακής τροπονίνης. ....	23
Εικόνα 3. Απελευθέρωση καρδιακής τροπονίνης μετά από καρδιακή ισχαιμική βλάβη. ....	26
Εικόνα 4. Παροδική αύξηση της καρδιακής τροπονίνης σε ασθενή που παρουσιάζει πόνο στο στήθος. Αναστρέψιμη βλάβη. ....	27
Εικόνα 5. Παροδική αύξηση της καρδιακής τροπονίνης σε ασθενή που παρουσιάζει πόνο στο στήθος. Μη αναστρέψιμος τραυματισμός. ....	27
Εικόνα 6. (A) Απελευθέρωση τροπονίνης μέσω μη αναστρέψιμης βλάβης μυοκυττάρων. (B) Απελευθέρωση τροπονίνης μετά από αναστρέψιμη κάκωση μυοκυττάρων. ....	28
Εικόνα 7. Πρακτικός αλγόριθμος τροπονινών. ....	34
Εικόνα 8. Σχηματικό διάγραμμα οπτικού βιοαισθητήρα. ....	37
Εικόνα 9. Η αρχή λειτουργίας του οργάνου SPR (αριστερά) και το τυπικό διάγραμμα αισθητήρα SPR με τα βήματα ενός αναλυτικού κύκλου (δεξιά). ....	38
Εικόνα 10. Σχηματική απεικόνιση της διάταξης SPRi. ....	39
Εικόνα 11. Σχηματικά διαγράμματα που δείχνουν την αρχή ανίχνευσης των πλασμονικών βιοαισθητήρων με βάση την απεικόνιση (A) SPR και (B) LSPR. ....	40
Εικόνα 12. Σχηματικό διάγραμμα ανοσοπροσδιορισμού με σύνδεση αντιγόνου/αντισώματος (Σύστημα 1) και δέσμευση αβιδίνης/βιοτίνης (Σύστημα 2) στο FMGC. Το ζεύγος αβιδίνης/βιοτίνης χρησιμοποιείται για ενίσχυση του σήματος. ....	41
Εικόνα 13. Σχηματικό διάγραμμα ενός οπτικού κυματοδηγού εξερχόμενου πεδίου. ....	41
Εικόνα 14. Σχηματική απεικόνιση της κατασκευής βιοαισθητήρα ECL χωρίς ετικέτα. ....	42
Εικόνα 15. Σχηματικό διάγραμμα ρεύματος στη δομή GMR όπου η μαγνήτιση των σιδηρομαγνητικών στρωμάτων: (A) συνδέεται αντίθετα (κατάσταση υψηλής αντίστασης), (B & Γ) είναι προσανατολισμένη σε μία κατεύθυνση (καταστάσεις χαμηλής αντίστασης). ....	45
Εικόνα 16. Σχηματική αναπαράσταση μαγνητικού βιοαισθητήρα (αριστερά). Εξωτερικό πεδίο ευθυγραμμίζει τη μαγνητική ροπή του σφαιριδίου και το μαγνητικό πεδίο μπορεί να ανιχνευθεί από τον αισθητήρα GMR (δεξιά). ....	46
Εικόνα 17. Σχηματικό διάγραμμα της δομής της βαλβίδας περιστροφής σε παράλληλη κατάσταση (αριστερά) και (Γ) αντιπαράλληλη κατάσταση (δεξιά). ....	46
Εικόνα 18. Μαγνητικός βιοαισθητήρας πλευρικής ροής με συμβατική μαγνητική ταινία. ....	47
Εικόνα 19. (A) Αρχική μαγνήτιση των σιδηρομαγνητικών ηλεκτροδίων, (B) Μαγνητικό πεδίο στο επίπεδο σφαιριδίου παράλληλο με τον άξονα γ, (C) Ανίχνευση μεμονωμένων υπερπαραμαγνητικών σφαιριδίων σε σχέση με τον προσανατολισμό τους προς τον αισθητήρα. ....	48
Εικόνα 20. Πτώση του σήματος κατά την εφαρμογή του στατικού πεδίου λόγω παρουσίας του σφαιριδίου. Φαίνονται οι εντός (Vx) και εκτός (Vy) φάσης συνιστώσες της τάσης Hall σε άδεια συσκευή (αριστερά) και σε συσκευή με σφαιρίδιο (δεξιά). ....	49
Εικόνα 21. Ηλεκτρικό πεδίο σε πυκνωτή παράλληλης πλάκας. ....	51
Εικόνα 22. Τοπολογίες χωρητικού αισθητήρα: παράλληλης πλάκας (αριστερά) και παράλληλων δακτύλων (δεξιά). ....	51
Εικόνα 23. Σχηματική αναπαράσταση ενός χωρητικού βιοαισθητήρα, όπου η συνολική χωρητικότητα περιγράφεται από διάφορους πυκνωτές σε σειρά. ....	53
Εικόνα 24. Από τον πυκνωτή παράλληλης πλάκας στον IDE πυκνωτή. ....	54
Εικόνα 25. Αισθητήρας interdigitated ηλεκτροδίων (IDE). ....	54

Εικόνα 26. Χωρητικός βιοαισθητήρας CMOS (αριστερά) και αρχιτεκτονική του συστήματος του αισθητήρα (δεξιά).....	55
Εικόνα 27. (Α) Σχηματικό διάγραμμα της αλλαγής της χωρητικότητας ( $\Delta C$ ) ως συνάρτηση του χρόνου που προκαλείται από τη σύνδεση μεταξύ αντι-IgG και πρωτεΐνης A με επακόλουθη αύξηση του σήματος λόγω διαλύματος. (Β) Ακίνητοποίηση του υποδοχέα στην επιφάνεια του μετατροπέα μέσω μονοστιβάδας αλκυλοθειολών.....	57
Εικόνα 28. Παλμός σταθερού ρεύματος με διαφορετικές κατευθύνσεις (I1, I2 και I3) και η αντίστοιχη δυναμική απόκριση (A – M) από ένα απλό κύκλωμα (RC) με χωρητικότητα $220 \text{ nF} \pm 20\%$ και αντίσταση $3,31 \text{ k}\Omega \pm 1\%$ .....	57
Εικόνα 29. Τυπική διάταξη συσκευής τύπου Coulter, δύο ρευστά κύτταρα χωρισμένα με μονωτική μεμβράνη που περιέχει έναν μόνο πόρο (αριστερά) και η μορφή του ρεύματος σε συμβάντα συνωστισμού σωματιδίων (δεξιά).....	59
Εικόνα 30. Ένα τυπικό πείραμα χρονο-αμπερομετρίας που δείχνει τις χρονικές αποκρίσεις ενός ακίνητοποιημένου ενζύμου σε διαδοχικές προσθήκες του υποστρώματος του και η αντίστοιχη καμπύλη βαθμονόμησης.....	61
Εικόνα 31. Σχηματική αναπαράσταση των τριών διαφορετικών γενεών αμπερομετρικών βιοαισθητήρων: (a) 1η γενιά, (b) 2η γενιά και (c) 3η γενιά.....	61
Εικόνα 32. Τυπικό RC κύκλωμα.....	66
Εικόνα 33. Τυπικό κύκλωμα διαιρέτη τάσης.....	67
Εικόνα 34. Σχηματικό διάγραμμα της διάταξης.....	71
Εικόνα 35. Προσομοίωση της διάταξης στο Tinkercad.....	71
Εικόνα 36. Φωτογραφία της πειραματικής διάταξης.....	72
Εικόνα 37. Σχηματικό διάγραμμα του συγκριτή του Arduino.....	73
Εικόνα 38. Μετρήσεις χωρητικότητας στο Serial monitor του Arduino IDE.....	74
Εικόνα 39. Σύνδεση του interdigitated πυκνωτή στους ακροδέκτες της διάταξης.....	75
Εικόνα 40. Διαγράμματα μεταβολής χωρητικότητας με προσθήκη νερού.....	82
Εικόνα 41. Διάγραμμα μεταβολής χωρητικότητας με προσθήκη διαλύματος τροπονίνης I μικρής περιεκτικότητας.....	93
Εικόνα 42. Διάγραμμα μεταβολής της χωρητικότητας με αύξηση της περιεκτικότητας διαλύματος τροπονίνης.....	95
Εικόνα 43. Σταδιακή τροποποίηση της διάταξης.....	96
Εικόνα 44. Τελική μορφή διάταξης.....	97
Εικόνα 45. Προσομοίωση σύνδεσης Bluetooth HC-05 με Arduino Uno.....	98

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Αλλαγές στο ΗΚΓ που υποδηλώνουν OEM.....	21
Πίνακας 2. Λειτουργία των pins του Arduino.....	69
Πίνακας 3. Σύγκριση μετρήσεων διάταξης και πολυμέτρου.....	75
Πίνακας 4. Μετρήσεις χωρητικότητας με διάλυμα τροπονίνης I μικρής περιεκτικότητας.....	92
Πίνακας 5. Μετρήσεις χωρητικότητας με αύξηση της περιεκτικότητας διαλύματος τροπονίνης.....	95

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Κίνητρο και στόχος της εργασίας

Είναι κοινώς αποδεκτό ότι στη σημερινή εποχή, ο τομέας της υγείας έχει κλονιστεί σε παγκόσμιο επίπεδο. Σε αυτό το πλαίσιο, η επιστήμη και η τεχνολογία καλούνται να βρίσκονται στο πλευρό της ιατρικής και του ανθρώπου και να αξιοποιηθούν για την καταπολέμηση όλων των απειλητικών για τη ζωή ασθενειών και παθήσεων.

Οι καρδιαγγειακές παθήσεις αποτελούν μια από τις μεγαλύτερες απειλές για την ανθρώπινη υγεία. Συγκεκριμένα, σύμφωνα με δεδομένα του Παγκοσμίου Οργανισμού Υγείας, περίπου 18 εκατομμύρια ζωές χάνονται κάθε χρόνο εξαιτίας καρδιαγγειακών νοσημάτων, με πάνω από το 75% αυτών να συμβαίνουν σε χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος, όπου η πρόσβαση στην υγειονομική περίθαλψη είναι περιορισμένη. Προβλέπεται μάλιστα ότι μέχρι το 2030, 7 στους 10 θανάτους σε όλο τον κόσμο θα είναι αποτελέσματα χρόνιων ασθενειών, με τις καρδιαγγειακές παθήσεις να κατέχουν το μεγαλύτερο ποσοστό από αυτές [1]. Η επισκόπηση των στατιστικών της Ευρωπαϊκής Ένωσης και του Κέντρου Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των ΗΠΑ έχουν δείξει ότι τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτέλεσαν την κύρια αιτία θανάτου κατά τα προηγούμενα χρόνια, τόσο στην Ευρώπη όσο και στις ΗΠΑ [2].

Οι παράγοντες κινδύνου για τις καρδιαγγειακές παθήσεις είναι πολλοί και δυστυχώς σε ένα βαθμό αναπόφευκτοι λόγω του σημερινού τρόπου ζωής κυρίως στα μεγάλα αστικά κέντρα. Σχετίζονται με το άγχος, τον γρήγορο ρυθμό ζωής, την έλλειψη σωματικής άσκησης, την κακή διατροφή ή την κατάχρηση ουσιών. Οι επιδράσεις των παραγόντων αυτών εμφανίζονται στα άτομα ως αυξημένη αρτηριακή πίεση, υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα, μεγάλο αριθμό λιπιδίων αίματος ή παχυσαρκία και υποδηλώνουν αυξημένο κίνδυνο καρδιακής προσβολής, καρδιακής ανεπάρκειας και πολλών άλλων επιπλοκών [1].

Οι προβλέψεις για τις καρδιαγγειακές παθήσεις είναι δυσοίωνες τόσο για τον τομέα της υγείας όσο και για την παγκόσμια οικονομία. Ωστόσο, ο έγκαιρος εντοπισμός των ατόμων που διατρέχουν τον

μεγαλύτερο κίνδυνο και η εξασφάλιση της κατάλληλης θεραπείας μπορούν να αποτρέψουν τους πρόωρους θανάτους. Μάλιστα, μια πρόσφατη έκθεση του Κέντρου Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων αναφέρει πως σχεδόν το ένα τέταρτο όλων των θανάτων από καρδιαγγειακές νόσους μπορεί να αποφευχθεί εάν ληφθούν προληπτικά μέτρα [2].

Ως εκ τούτου, υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον και αυξανόμενη ζήτηση για την ανάπτυξη φορητών, γρήγορων και χαμηλού κόστους συσκευών που θα χρησιμοποιηθούν για την πρόληψη καρδιαγγειακών νοσημάτων. Σε αυτές τις συνθήκες, οι βιοαισθητήρες μπορούν να διαδραματίσουν σπουδαίο ρόλο, δίνοντας τη δυνατότητα για πρώιμη διάγνωση χωρίς να είναι απαραίτητη η επίσκεψη στο νοσοκομείο που συνδέεται με δαπανηρές και χρονοβόρες εργαστηριακές εξετάσεις. Με αυτές τις σκέψεις, στόχος της παρούσας εργασίας είναι η κατασκευή και η δοκιμή ενός βιοαισθητήρα ανίχνευσης τροπονίνης, ως πρόταση για έγκαιρη διάγνωση καρδιαγγειακών προβλημάτων και αποφυγή σοβαρών προβλημάτων και επιπλοκών.

Οι τροπονίνες εισήχθησαν στον εργαστηριακό έλεγχο και στη διάγνωση των καρδιοπαθειών ως εξαιρετικά ειδικοί και ευαίσθητοι βιολογικοί δείκτες μυοκαρδιακής βλάβης. Συγκροτούν ένα σύμπλοκο πρωτεΐνης που βρίσκεται στο μυοκάρδιο και αποτελείται από τις υπομονάδες I, C και T. Ο εντοπισμός αυξημένων επιπέδων τροπονίνης στο αίμα αποτελεί την πρώτη και βασική ένδειξη μυοκαρδιακής βλάβης. Σε αυτή την περίπτωση, θα πρέπει να ακολουθήσουν περεταίρω εξετάσεις αλλά και θεραπεία για την πρόληψη και την αποφυγή του κινδύνου για τη ζωή του ασθενούς [3].

Ο βιοαισθητήρας που κατασκευάζεται και δοκιμάζεται στην εν λόγω εργασία, είναι ένας χωρητικός αισθητήρας πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων (interdigitated capacitor- IDC). Επιλέχθηκε η χωρητική τεχνική ανίχνευσης καθώς οι αισθητήρες αυτής της κατηγορίας μπορούν να προσφέρουν άμεσα την πληροφορία με ικανοποιητική ακρίβεια και υψηλή ευαισθησία. Η διάταξη αποτελείται από τον interdigitated πυκνωτή συνδεδεμένο με έναν μικροελεγκτή που δίνει τα αποτελέσματα των μετρήσεων της χωρητικότητας του πυκνωτή. Στον πυκνωτή τοποθετείται διάλυμα αντισωμάτων τροπονίνης I και μετράται η χωρητικότητά του. Με γνωστή αυτή, τοποθετούνται έπειτα στον πυκνωτή υδατικά διαλύματα τροπονίνης I και η χωρητικότητα μετράται ξανά. Η μεταβολή στην χωρητικότητα που παρατηρείται οφείλεται στην αντίδραση της τροπονίνης με τα αντισώματα που προϋπήρχαν στον πυκνωτή και έτσι, υποδεικνύεται η ύπαρξή της. Αντίστοιχα σε ανθρώπινο ορό αίματος, παρουσία ορού αυξημένης τροπονίνης, θα παρατηρείται μεταβολή στην χωρητικότητα σε σχέση με τον ορό φυσιολογικών επιπέδων τροπονίνης.

Η παρούσα εργασία, λοιπόν, φιλοδοξεί να αποτελέσει την αφετηρία για τη δημιουργία μιας εύχρηστης μικροσυσκευής ανίχνευσης τροπονίνης ως μέτρο πρόληψης έναντι των καρδιαγγειακών επεισοδίων. Με τη δυνατότητα πρόβλεψης του κινδύνου καρδιακής προσβολής θα επιτρέπεται η



έγκαιρη ιατρική παρέμβαση και πιθανές επιπλοκές είναι δυνατό να αποφευχθούν. Τέτοιες συσκευές θα μπορούσαν ακόμη και να εμφυτευθούν σε άτομα με ιστορικό καρδιοπαθειών ή σε άτομα που ανήκουν σε ομάδες αυξημένου κινδύνου ώστε να τους προσφέρουν μεγαλύτερη ασφάλεια ή ακόμη και να σώσουν τις ζωές τους.

## 1.2 Δομή της εργασίας

Η παρούσα διπλωματική εργασία αποτελείται από 5 κεφάλαια ακολουθούμενα από τη βιβλιογραφία και το παράρτημα. Το παρόν κεφάλαιο αποτελεί μια εισαγωγή της εργασίας όπου αναφέρονται οι λόγοι για τους οποίους εκπονήθηκε, οι στόχοι που αναμένεται να επιτευχθούν μέσα από αυτήν και παρουσιάζεται μια γενική εικόνα της.

Το 2<sup>ο</sup> κεφάλαιο περιέχει το απαραίτητο θεωρητικό υπόβαθρο για την πλήρη κατανόηση ολόκληρης της εργασίας. Αρχικά, αναλύονται οι καρδιακές παθήσεις, οι ιατρικές εξετάσεις ανίχνευσής τους, η φύση των τροπονινών και ο ρόλος τους στον έλεγχο της υγείας του μυοκαρδίου. Στη συνέχεια, αναλύονται οι διάφορες τεχνικές που χρησιμοποιούνται στους βιοαισθητήρες για ανίχνευση ή μέτρηση ουσιών και βιομορίων.

Το 3<sup>ο</sup> κεφάλαιο αποτελεί παρουσίαση του αισθητήρα που κατασκευάστηκε στα πλαίσια της εργασίας. Επεξηγούνται η αρχή λειτουργίας του, η επιλογή και ο ρόλος των υλικών από τα οποία αποτελείται, ενώ παρουσιάζονται και οι πρώτες δοκιμές που έγιναν για τον έλεγχο της ορθής λειτουργίας του ηλεκτρονικού του μέρους.

Στο 4<sup>ο</sup> κεφάλαιο γίνεται εφαρμογή του αισθητήρα για μέτρηση σε υδατικά διαλύματα τροπονίνης I και μελετώνται τα αποτελέσματα. Αναφέρονται, με βάση αυτά, οι δυνατότητές του να αποτελέσει μια πραγματική και εύχρηστη μικροσυσκευή.

Στο 5<sup>ο</sup> παρουσιάζονται συνοπτικά τα συμπεράσματα που προκύπτουν από την αξιολόγηση του τελικού προϊόντος και προτείνονται μελλοντικές επεκτάσεις και βελτιώσεις.

Ακολουθεί η βιβλιογραφία και τέλος το παράρτημα όπου βρίσκεται ο κώδικας προγραμματισμού του μικροελεγκτή του αισθητήρα.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

#### 2.1 Τεχνικές ανίχνευσης καρδιακών παθήσεων

##### 2.1.1 Κοινές παθήσεις και τεχνικές ανίχνευσης

Η καρδιά είναι το ζωτικότερο όργανο του ανθρώπινου σώματος.

Οι διαταραχές της καρδιάς οδηγούν σε καρδιακές παθήσεις και καρδιαγγειακή νόσο και αποτελούν τη νούμερο ένα αιτία θανάτου στις αναπτυγμένες χώρες. Σε παγκόσμιο επίπεδο, οι καρδιαγγειακές παθήσεις ευθύνονται για περίπου 17,5 εκατομμύρια θανάτους κάθε χρόνο - περίπου ένας στους τρεις. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας εκτιμά ότι μέχρι το 2030 ο αριθμός των θανάτων θα αυξηθεί σε περίπου 24 εκατομμύρια κάθε χρόνο [1].

Πολλές διαταραχές αφορούν την ίδια την καρδιά, ενώ άλλες σχετίζονται με παθολογία των μεγάλων αγγείων που συνδέονται άμεσα με αυτή καθώς και με τη συσχέτιση της με άλλες παθολογικές καταστάσεις.

Μερικές από τις πιο κοινές παθήσεις είναι τα εξής:

- Καρδιακή προσβολή: Διακοπή της παροχής αίματος στον καρδιακό μυ, που προκύπτει από φραγμένες αρτηρίες.
- Στηθάγχη: Πόνος στο στήθος που προκύπτει από την καρδιά η οποία δεν λαμβάνει αρκετό οξυγόνο, ένα κοινό σύμπτωμα της στεφανιαίας νόσου.
- Στεφανιαία νόσος (CAD): Σκλήρυνση των αρτηριών που τροφοδοτούν την καρδιά με αίμα. Τα οξέα στεφανιαία σύνδρομα περιλαμβάνουν:
  - 1) το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (OEM) με ανάσπαση του ST διαστήματος (STEMI),
  - 2) το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (OEM) χωρίς ανάσπαση του ST (NSTEMI),
  - 3) την ασταθή στηθάγχη.
- Αρρυθμία: Οποιαδήποτε αλλαγή στον κανονικό ρυθμό του καρδιακού παλμού.



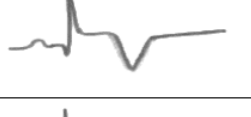

- Χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια: Αδυναμία της καρδιάς να αντλήσει αρκετό αίμα από τον οργανισμό.
- Υπέρταση (υψηλή αρτηριακή πίεση): Εμφανίζεται όταν η αρτηριακή πίεση είναι συνεχώς αυξημένη, πάνω από τα συνιστώμενα όρια.
- Εγκεφαλικό: Βλάβη σε νευρικά κύτταρα στον εγκέφαλο που προκαλείται από έλλειψη οξυγόνου.
- Περιφερική αγγειακή νόσος: Σκλήρυνση των αρτηριών που οδηγούν μακριά από την καρδιά, συνήθως στα πόδια, τους κάτω βραχίονες ή στα χέρια [4].

Ιδιαίτερα το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, αποτελεί την πιο συχνή μορφή καρδιακής πάθησης και την πρώτη αιτία νοσηρότητας και θνητότητας παγκοσμίως. Στις ΗΠΑ περισσότερα από 1.000.000 άτομα ετησίως θα νοσήσουν από ΟΕΜ ενώ στην Ελλάδα εκτιμάται ότι ο ετήσιος αριθμός είναι περίπου 15.000. Παρά τις συνεχείς προσπάθειες για την βελτίωση της φαρμακευτικής και επεμβατικής αντιμετώπισης του εμφράγματος, είναι ευρέως αποδεκτό ότι προϋπόθεση για την επιτυχία κάθε θεραπείας είναι η έγκαιρη αναγνώριση των συμπτωμάτων του και η άμεση έναρξη της θεραπείας. Σε αυτές τις περιπτώσεις, ακόμη και οι λίγες ώρες μπορούν να σώσουν ζωές.

Οι εξετάσεις και οι τεχνικές για την ανίχνευση της καρδιακής πάθησης που ακολουθούνται σε κάθε περίπτωση εξαρτώνται από την κατάσταση του εκάστοτε ασθενούς. Εκτός από τις εξετάσεις αίματος για την ανίχνευση τιμών βιοδεικτών και την ακτινογραφία θώρακος, οι εξετάσεις για τη διάγνωση καρδιακών παθήσεων συχνά περιλαμβάνουν:

- Παρακολούθηση Holter: Η οθόνη Holter είναι μια φορητή συσκευή ΗΚΓ που καταγράφει συνεχώς τον καρδιακό ρυθμό, συνήθως για 24 έως 72 ώρες και χρησιμοποιείται για την ανίχνευση προβλημάτων που δεν εντοπίζονται κατά τη διάρκεια μιας εξέτασης ΗΚΓ.
- Ηχοκαρδιογράφημα: Μη επεμβατική εξέταση που με χρήση ηχητικών κυμάτων παράγει λεπτομερείς εικόνες της δομής της καρδιάς.
- Τεστ κοπώσεως ή Stress Test: Κατά την εκτέλεση καρδιακών εξετάσεων και απεικόνισης προκαλείται αύξηση του καρδιακού ρυθμού με άσκηση ή φάρμακο για τον έλεγχο της ανταπόκρισης της καρδιάς.
- Ηλεκτροκαρδιογράφημα (ΗΚΓ ή ECG ή EKG): Το ΗΚΓ είναι μια γρήγορη και ανώδυνη εξέταση που πραγματοποιείται είτε σε κατάσταση ηρεμίας είτε κατά τη διάρκεια άσκησης και καταγράφει τα ηλεκτρικά δυναμικά που παράγει το μυοκάρδιο κατά τη συστολή του. Τα επάρματα (P, QRS, T) που καταγράφονται σε φυσιολογικές περιπτώσεις και τα αντίστοιχα μεταξύ τους διαστήματα (PQ και ST) μεταβάλλονται με χαρακτηριστικό τρόπο σε εκδήλωση ΟΕΜ. Παρακάτω δίνονται οι αλλαγές στο ΗΚΓ που υποδηλώνουν ΟΕΜ (Πίνακας 1) :

Πίνακας 1. Αλλαγές στο ΗΚΓ που υποδηλώνουν OEM [6].

	Φυσιολογικό
	Ανύψωση ST – Οξύς τραυματισμός
	Αναστροφή κυμάτων T – Ισχαιμία
	Παθολογικό κύμα Q – Νέκρωση

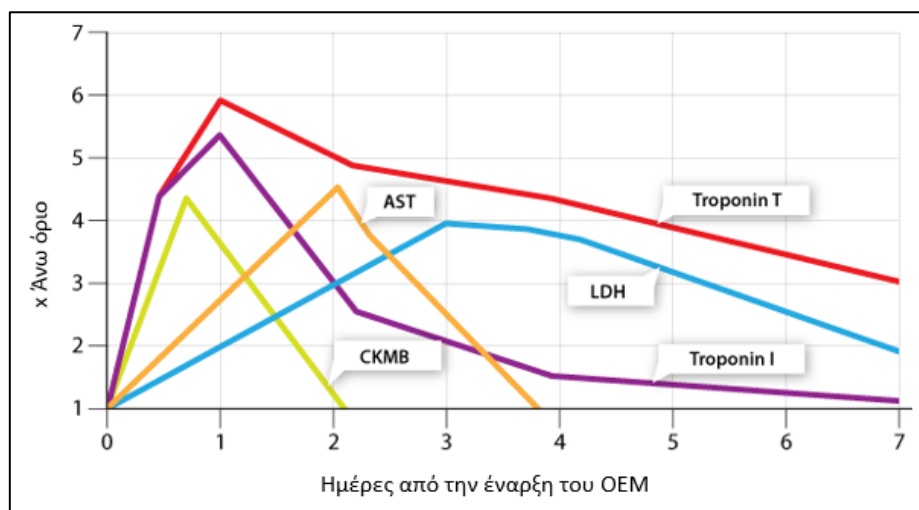
- Καρδιακός καθετηριασμός: Ένας μικρός σωλήνας εισάγεται σε μια φλέβα ή αρτηρία στο πόδι ή στο χέρι και ένας κοίλος, εύκαμπτος και μακρύτερος σωλήνας (καθετήρας οδηγός) εισάγεται στο περίβλημα. Χρησιμοποιώντας εικόνες ακτινών X σε οθόνη, ο γιατρός περνάει προσεκτικά τον καθετήρα μέσω της αρτηρίας μέχρι να φτάσει στην καρδιά. Κατά τη διάρκεια του καθετηριασμού, μπορούν να μετρηθούν οι πιέσεις στους θαλάμους της καρδιάς σας και να εγχυθεί χρωστική που βοηθά τον γιατρό να δει καλύτερα σε ακτινογραφία τη ροή του αίματος, τα αιμοφόρα αγγεία και τις βαλβίδες.
- Καρδιακή αξονική τομογραφία (CT): ο ασθενής ξαπλώνει σε ένα τραπέζι μέσα σε ένα κυλινδρικό μηχάνημα και ένας σωλήνας ακτινών X μέσα στο μηχάνημα περιστρέφεται γύρω από το σώμα συλλέγοντας εικόνες της καρδιάς και του στήθους.
- Καρδιακή μαγνητική τομογραφία (MRI): Με χρήση μαγνητικού πεδίου και ραδιοκυμάτων που δημιουργούνται από υπολογιστή, παράγονται λεπτομερείς εικόνες της καρδιάς [5].

Θα πρέπει να τονιστεί ότι, η ανάπτυξη ολοένα και πιο ευαίσθητων και ιστοειδικών με το έμφραγμα καρδιακών βιοδεικτών και ευαίσθητων τεχνικών απεικόνισης, επιτρέπει την ανίχνευση μυοκαρδιακών βλαβών ακόμη και πολύ μικρής έκτασης [6].

### 2.1.2 Ο ρόλος των μυοκαρδιακών ενζύμων και κυρίως των τροπονινών

Τα καρδιακά ένζυμα έχουν, εδώ και πολλές δεκαετίες, κεντρικό ρόλο στην κλινική αντιμετώπιση των ασθενών με προκάρδιο άλγος. Σε συνδυασμό με κάποια ή κάποιες από τις παραπάνω τεχνικές αλλά και το ιστορικό του ασθενούς θέτουν τη διάγνωση της καρδιακής πάθησης και βοηθούν στην παρακολούθηση της πορείας του ασθενούς [3]. Αυτά τα ένζυμα απελευθερώνονται στην κυκλοφορία

με τη νέκρωση των μυοκαρδιακών ινών. Τα επίπεδά τους στο αίμα αυξάνονται σε μερικές ώρες από την εισβολή του OEM και μειώνονται σταδιακά τις επόμενες ημέρες. (Εικόνα 1) Αυτά που ελέγχονται συνηθέστερα είναι : η κρεατινική κινάση (CK-MB), η I ή T καρδιακή τροπονίνη (cTn), η ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (AST) και η γαλακτική αφυδρογονάση (LDH). Βέβαια μόνο η καρδιακή τροπονίνη έχει χρησιμοποιηθεί για να κατευθύνει θεραπευτικές παρεμβάσεις. Η συγκέντρωσή της αρχίζει να αυξάνεται με ταχείς ρυθμούς μέσα σε 3–4 ώρες μετά την έναρξη του OEM, και παραμένει υψηλά για έως και 14 ημέρες και για τον λόγο αυτό λέγεται ότι η ποσότητά της στον ορό αίματος σχετίζεται πιο στενά με τον βαθμό προόδου της νόσου συγκριτικά με τα υπόλοιπα ένζυμα [7].



Εικόνα 1. Χρονική απελευθέρωση τροπονινών T και I, CK-MB, AST, LDH [7].

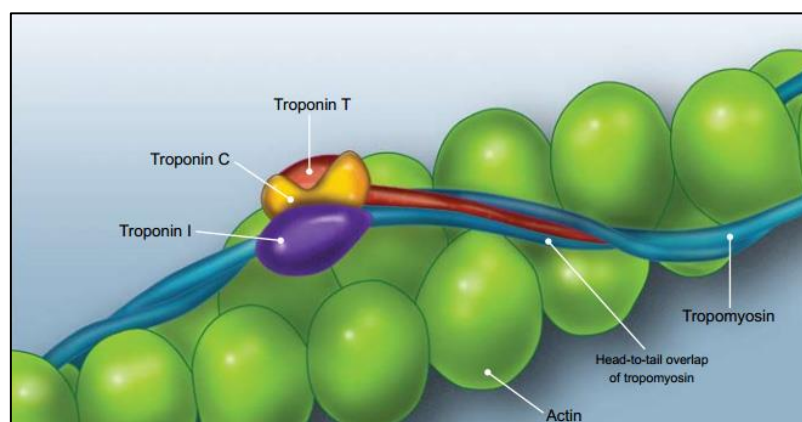
Έτσι, τα τελευταία χρόνια στον εργαστηριακό έλεγχο έχουν προταθεί οι τροπονίνες, ως εξαιρετικά ειδικοί και ευαίσθητοι βιολογικοί δείκτες μυοκαρδιακής βλάβης [3].

Η τροπονίνη είναι ένα σύμπλοκο πρωτεΐνης που βρίσκεται στον μυ της καρδιάς. Συνήθως δεν βρίσκεται στο αίμα. Όταν οι μυοκαρδιακές ίνες καταστραφούν, η τροπονίνη αποστέλλεται στην κυκλοφορία του αίματος. Καθώς η καρδιακή βλάβη αυξάνεται, απελευθερώνονται μεγαλύτερες ποσότητες τροπονίνης στο αίμα. Τα υψηλά επίπεδα τροπονίνης στο αίμα μπορεί να σημαίνουν ότι υπάρχει ή πρόσφατα υπήρξε καρδιακή προσβολή [8].

Το πρωτεϊνικό σύμπλοκο τροπονίνης (cTn) παίζει κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση της συστολής των μυοκυττάρων. Αυτό το σύμπλοκο αποτελείται από τρεις υπομονάδες που ρυθμίζουν την αλληλεπίδραση ακτίνης-μυοσίνης, τις τροπονίνες C, T και I (Εικόνα 2). Η τροπονίνη-I ('Inhibitory') αναστέλλει την αλληλεπίδραση ακτίνης-μυοσίνης. Η τροπονίνη-C ('Calcium-binding') δεσμεύει το ασβέστιο ρυθμίζοντας έτσι την αναστολή της ακτίνης-μυοσίνης. Η τροπονίνη-T ('Troponin-binding') δεσμεύει την τροπομυοσίνη. Οι τροπονίνες εντοπίζονται σε τακτά διαστήματα κατά μήκος των νηματίων ακτίνης. Παρουσία δυναμικού, η συγκέντρωση του ενδοκυτταρικού ασβεστίου

αυξάνεται και το ασβέστιο συνδέεται με την τροπονίνη-C. Αυτό οδηγεί σε μια αλλαγή της διαμόρφωσης της τροπονίνης-I και της τροπομυοσίνης, απομακρύνοντας έτσι την αναχαίτηση της αλληλεπίδρασης ακτίνης-μυοσίνης. Αυτή η διαδικασία συμβαίνει και στον σκελετικό, εκτός από τον καρδιακό μυ, αλλά όχι στον λείο μυ [9] [7].

Οι τροπονίνες, έχουν ισομορφές που βρίσκονται αποκλειστικά στα μυοκαρδιακά κύτταρα (cTnT, cTnI και cTnC) όμως η ομολογία μεταξύ σκελετικής και καρδιακής τροπονίνης είναι 60% για την τροπονίνη I, 90% για την T και πάνω από 90% για την C. Για αυτόν το λόγο, η τροπονίνη C δεν χρησιμοποιείται ως καρδιακός βιοδείκτης, ενώ η τροπονίνη I πλεονεκτεί ως προς την ειδικότητα σε σύγκριση με την T [3].



Εικόνα 2. Σύμπλοκο της καρδιακής τροπονίνης [7].

Ταχύτατα έγιναν δημοφιλείς και άρχισαν να χρησιμοποιούνται ευρέως στην κλινική πράξη. Ωστόσο, πρέπει να τονιστεί ότι τα αυξημένα επίπεδα τροπονίνης δεν επαρκούν ως μοναδικό εύρημα για να τεθεί η διάγνωση μίας καρδιακής πάθησης. Ο γιατρός λαμβάνει επίσης υπόψη τα υπόλοιπα συμπτώματα του ασθενούς, καθώς και τα αποτελέσματα άλλων διαγνωστικών εξετάσεων, όπως η φυσική εξέταση και το ηλεκτροκαρδιογράφημα για να θέσει τη διάγνωση της νόσου. Οι τροπονίνες μπορούν να προσφέρουν κλινική βοήθεια στη διάγνωση της μυοκαρδιακής βλάβης, στην πρόγνωση, στην εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας και στην καθοδήγηση αγωγής [10].

### 2.1.3 Εξετάσεις τροπονίνης – ισχαιμική και μη ισχαιμική αύξηση τροπονίνης

Επειδή, όπως αναφέρθηκε, οι ισομορφές της τροπονίνης T και I είναι ειδικές για τον καρδιακό μυ, αυτό επέτρεψε την ανάπτυξη κλινικών τεστ για την ποσοτική εκτίμηση των cTnT και cTnI. Οι περισσότερες μελέτες τροπονίνης σε καρδιακή ανεπάρκεια περιλάμβαναν τη χρήση πρώιμων συμβατικών τεστ που ανιχνεύουν την τροπονίνη σε επίπεδα μικρογραμμαρίων. Ωστόσο, τα τεστ

έχουν περάσει από πολλές γενιές, με κάθε γενιά να αυξάνει την ευαισθησία για ανίχνευση σε χαμηλότερα επίπεδα. Αυτό οδήγησε στην τελευταία γενιά προσδιορισμών hsTn, με την ικανότητα ανίχνευσης τροπονίνης σε επίπεδα νανογραμμάριου και πικογραμμαρίου [9].

Η εξέταση τροπονίνης αποτελεί μία απλή εξέταση αίματος κατά την οποία λαμβάνεται δείγμα αίματος από το άνω άκρο του ασθενούς. Ο γιατρός μπορεί να ζητήσει περισσότερες μετρήσεις μέσα στις επόμενες ώρες για να παρατηρήσει τις διακυμάνσεις των επιπέδων της τροπονίνης.

Τα επίπεδα της τροπονίνης φυσιολογικά, είναι τόσο χαμηλά που δεν μπορούν να ανιχνευθούν από τις τυπικές εξετάσεις αίματος. Τα σημαντικά αυξημένα επίπεδα τροπονίνης, ιδιαίτερα αν αυτά παρουσιάζουν σημαντικές διακυμάνσεις σε ένα διάστημα ωρών, αποτελούν χαρακτηριστική ένδειξη τραυματισμού της καρδιάς. Τα φυσιολογικά επίπεδα της τροπονίνης διαφέρουν ελαφρώς ανάλογα με το διαγνωστικό εργαστήριο που γίνεται η μέτρηση και συνήθως υπολογίζονται σε ng/ml. Σύμφωνα με το University of Washington's Department of Laboratory Medicine τα επίπεδα της τροπονίνης είναι φυσιολογικά κάτω από 0.04 ng/ml και ενδεικτικά εμφράγματος του μυοκαρδίου πάνω από 0.40 ng/ml. Μία μέτρηση ανάμεσα σε 0.04 και 0.39 ng/ml συχνά συνιστά ένδειξη κάποιου καρδιακού προβλήματος.

Ας επισημανθεί βέβαια ότι ένας πολύ μικρός αριθμός υγιών ατόμων μπορεί να έχει ελαφρώς αυξημένα επίπεδα τροπονίνης. Επομένως, αν τα αποτελέσματα βρίσκονται μέσα στο παραπάνω όριο, ο γιατρός θα ζητήσει επιπλέον εξετάσεις και θα αναζητήσει επιπλέον συμπτώματα πριν θέσει τη διάγνωση.

Ορισμένα συχνά αίτια αύξησης στα επίπεδα της τροπονίνης που θα αναλυθούν παρακάτω, εκτός του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου, είναι τα εξής:

- καρδιακή ή νεφρική ανεπάρκεια,
- πνευμονική εμβολή,
- σήψη, μία σοβαρή και δυνητικά απειλητική για τη ζωή αντίδραση στην είσοδο μίας λοίμωξης στην κυκλοφορία του αίματος,
- βλάβες στην καρδιά από χημειοθεραπεία ή από χρήση ναρκωτικών ουσιών
- μυοκαρδίτιδα, δηλαδή φλεγμονή της καρδιάς. κ.ά. [10].

Επομένως, η αύξηση της τροπονίνης μπορεί να είναι ισχαιμικής (οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου) και μη ισχαιμικής αιτιολογίας.

- Ισχαιμική αύξηση τροπονίνης - οξύ έμφραγμα τού μυοκαρδίου



Το έμφραγμα του μυοκαρδίου ορίζεται ως ο κυτταρικός θάνατος του μυοκαρδίου εξαιτίας παρατεταμένης ελλιπούς αιμάτωσής του (ισχαιμίας). Οφείλεται σε αιφνίδια απόφραξη ενός κλάδου των στεφανιαίων αρτηριών, δηλαδή των αγγείων που τροφοδοτούν την καρδιά με αίμα. Κατά την απόφραξη, δημιουργείται ένα πήγμα αίματος (θρόμβος) σε ένα σημείο του αγγείου λόγω ρήξης ή διάβρωσης της αθηρωματικής πλάκας, η οποία συνήθως προϋπήρχε στο αγγείο. Έτσι, αποφράσσεται πλήρως η υπεύθυνη στεφανιαία αρτηρία με αποτέλεσμα τη διακοπή της κυκλοφορίας του αίματος και την νέκρωση περιοχής του μυοκαρδίου [11]. Με την έναρξη της ισχαιμίας, ο κυτταρικός θάνατος δεν είναι άμεσος, αλλά απαιτεί ένα πεπερασμένο χρονικό διάστημα, περίπου 20 λεπτών. Εντός αυτού του χρονικού διαστήματος (αρχική φάση) η ισχαιμία είναι αναστρέψιμη και με την επαναιμάτωση, το μυοκάρδιο επανέρχεται σε λειτουργία. Οξεία επαναιμάτωση μπορεί να επιτευχθεί είτε με ενδοφλέβια χορήγηση θρομβολυτικής αγωγής είτε μηχανικά με την πρωτογενή αγγειοπλαστική.

Το οξύ έμφραγμα τού μυοκαρδίου διακρίνεται σε 5 τύπους:

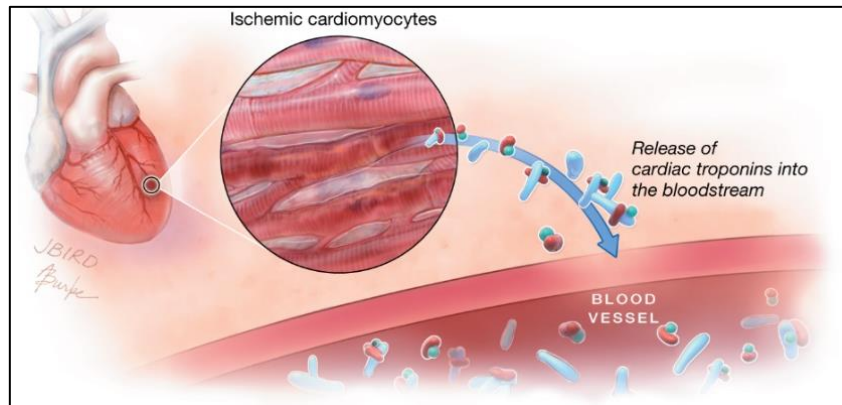
- Τύπος I: οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (μυοκαρδιακή νέκρωση από ρήξη αθηρωματικής πλάκας και σχηματισμό θρόμβου)
- Τύπος II: μυοκαρδιακή νέκρωση από διαταραχή του ισοζυγίου προσφοράς και απαιτήσεων του μυοκαρδίου σε οξυγόνο
- Τύπος III: αιφνίδιος καρδιακός θάνατος με προηγηθέντα ισχαιμικά συμπτώματα
- Τύπος IV: μυοκαρδιακή νέκρωση μετά από αγγειοπλαστική στεφανιαίων αρτηριών ή θρόμβωση stent
- Τύπος V: μυοκαρδιακή νέκρωση μετά από εγχείρηση αορτοστεφανιαίας παράκαμψης [12].

Το OEM ορίζεται από δυναμικές μεταβολές της τροπονίνης σε συνδυασμό με κλινικές ενδείξεις οξείας μυοκαρδιακής ισχαιμίας, όπως πόνος, ανάπτυξη παθολογικών κυμάτων Q στο ηλεκτροκαρδιογράφημα, ανίχνευση ενδοστεφανιαίου θρόμβου κ.ά. Ο ορισμός τού εμφράγματος απαιτεί τουλάχιστον δύο μετρήσεις με τουλάχιστον δύο δείγματα αίματος. Οι διεθνείς κατευθυντήριες γραμμές καρδιολογίας και εργαστηριακής ιατρικής έχουν προτείνει τη χρήση καρδιακής τροπονίνης (cTnT ή cTnI) ως τυπικού βιοδείκτη για τη διάγνωση οξείας μυοκαρδιακής φλεγμονής αλλά επί του παρόντος, αυτοί οι δείκτες δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να ταξινομήσουν τον τύπο OEM [13].

#### Διαδικασία απελευθέρωσης τροπονίνης λόγω ισχαιμίας του μυοκαρδίου

Όταν υπάρξει παρατεταμένα έλλειμμα στην παροχή αίματος στους ιστούς του μυοκαρδίου, είτε λόγω αυξημένης ζήτησης είτε λόγω ρήξης της στεφανιαίας αρτηριακής πλάκας, πυροδοτείται ένας

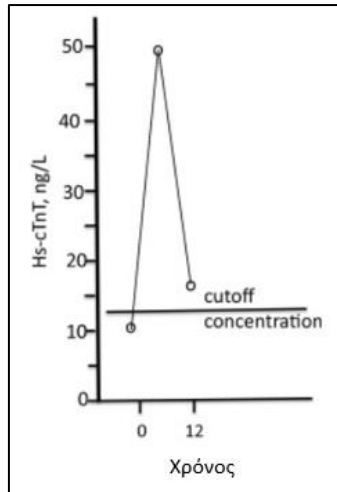
χείμαρρος μοριακών και κυτταρικών γεγονότων (Εικόνα 3). Η τριφωσφορική αδενοσίνη, επίσης γνωστή ως ATP, είναι ένα μόριο που μεταφέρει ενέργεια μέσα στα κύτταρα. Προκειμένου να μειωθεί η χρήση του ATP, το μυοκύτταρο κλείνει την εξαρτώμενη από αυτό αντλία της μεμβράνης. Η μείωση ροής αίματος στη στεφανιαία αρτηρία οδηγεί στη συσσώρευση μεταβολιτών, ουσίες με χαμηλό μοριακό βάρος που μπορούν να περάσουν απευθείας από τον διάμεσο στον αγγειακό χώρο. Παρακάμπτοντας το διάμεσο, αυτά τα ιόντα εμφανίζονται στο αίμα στα πρώτα λεπτά μετά την αναστρέψιμη ισχαιμία. Αντίθετα, πιστεύεται ότι οι πρωτεΐνες δεν απελευθερώνονται στην κυκλοφορία έως ότου υπάρξει μόνιμη ζημιά στα μυοκύτταρα, η οποία μπορεί να μην εμφανίζεται για μια ώρα ή περισσότερο. Μόλις τελικά απελευθερωθούν από τα κύτταρα, τα μακρομόρια-πρωτεΐνες είτε αρχικά αλληλεπιδρούν με το λεμφικό σύστημα και σταδιακά μεταβαίνουν στην κυκλοφορία, είτε εάν υπάρχει αποκατάσταση της ροής του αίματος στη στεφανιαία αρτηρία μέσω επαναδιάχυσης, υπάρχει πιο άμεση πρόσβαση. Όσο μικρότερη είναι η πρωτεΐνη, τόσο νωρίτερα εμφανίζεται στο αίμα. Έτσι, η σειρά εμφάνισης των κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών που χρησιμοποιούνται ως βιοδείκτες είναι: μυοσφαιρίνη, τροπονίνη, κρεατινική κινάση και γαλακτική αφυδρογονάση. Η τροπονίνη έχει τόσο κυτσοσολικές όσο και δομικές κατανομές, επομένως μετά από τραυματισμό, η εμφάνιση στο αίμα παρουσιάζει ένα διφασικό σχήμα απελευθέρωσης (που φαίνεται σε διάγραμμα παρακάτω) [13].



Εικόνα 3. Απελευθέρωση καρδιακής τροπονίνης μετά από καρδιακή ισχαιμική θλάβη [14].

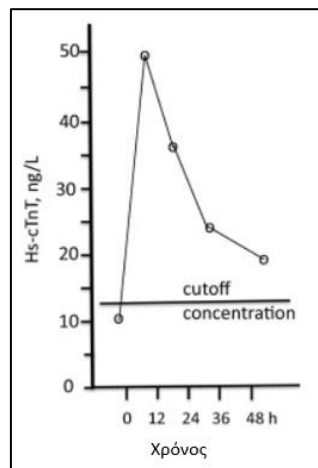
### Στοιχεία για αναστρέψιμη ισχαιμία του μυοκαρδίου

Υπάρχουν περιπτώσεις όπου η αρχική εμφάνιση της τροπονίνης ακολουθείται από μια ταχεία μείωση στις αρχικές συγκεντρώσεις μέσα σε 24 ώρες. Με τα τεστ τροπονίνης υψηλής ευαισθησίας, μπορεί να επιβεβαιωθεί ότι για ασθενείς που εμφανίζουν ταχεία εμφάνιση και μείωση της καρδιακής τροπονίνης, π.χ. σε 24 ώρες, είναι ένδειξη αναστρέψιμης ισχαιμίας του μυοκαρδίου (Εικόνα 4).



Εικόνα 4. Παροδική αύξηση της καρδιακής τροπονίνης σε ασθενή που παρουσιάζει πόνο στο στήθος. Αναστρέψιμη βλάβη[13].

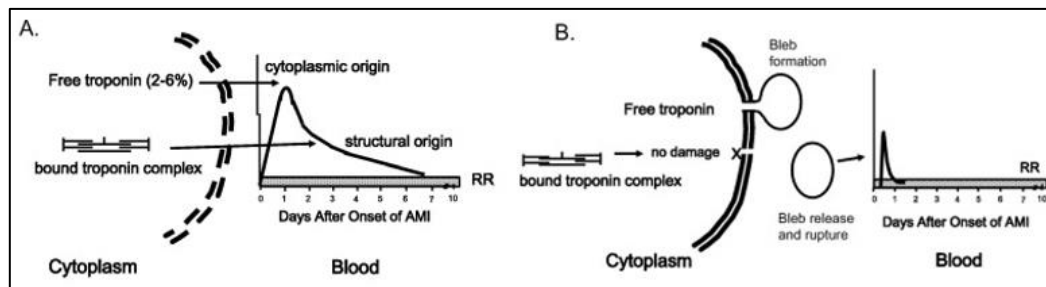
Η μόνιμη, μη αναστρέψιμη ζημιά θα έδειχνε τη διφασική απελευθέρωση (Εικόνα 5):



Εικόνα 5. Παροδική αύξηση της καρδιακής τροπονίνης σε ασθενή που παρουσιάζει πόνο στο στήθος. Μη αναστρέψιμος τραυματισμός [13].

Μελέτες έχουν δείξει ότι κατά τα αρχικά στάδια της ισχαιμίας του μυοκαρδίου, σχηματίζονται κύστες. Αυτές περιέχουν κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες που απελευθερώνονται στο αίμα κατά τη ρήξη τους. Η Εικόνα 6.A δείχνει τη διφασική απελευθέρωση τροπονίνης μετά από μη αναστρέψιμο τραυματισμό. Η αρχική φάση οφείλεται στην απελευθέρωση από την κυτταροπλασματική ομάδα. Αυτό ακολουθείται από την αργή αποδόμηση του σαρκομερούς και την απελευθέρωση συμπλοκοποιημένης τροπονίνης. Η Εικόνα 6.B δείχνει μια μονοφασική απελευθέρωση τροπονίνης μέσω σχηματισμού κυστών. Μόνο κυτταροπλασματικές μορφές τροπονίνης περιέχονται εντός αυτών των κυστών που λύνονται κατά την απελευθέρωσή τους στην κυκλοφορία. Ο σχηματισμός κυστών

μπορεί να εξηγήσει πώς η τροπονίνη μπορεί να εμφανιστεί στο αίμα απουσία νέκρωσης κυττάρων [13].



Εικόνα 6. (Α) Απελευθέρωση τροπονίνης μέσω μη αναστρέψιμης βλάβης μυοκυττάρων. (Β) Απελευθέρωση τροπονίνης μετά από αναστρέψιμη κάκωση μυοκυττάρων [13].

Ακόμη, η σημασία της απόπτωσης ως μηχανισμού απελευθέρωσης τροπονίνης στο αίμα έχει αποδειχθεί από αρκετούς ερευνητές. Η απόπτωση ορίζεται ως προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος και αποτελεί μέρος του φυσιολογικού κύκλου κυττάρων και ιστών. Είναι μια πολύ ρυθμιζόμενη διαδικασία που ξεκινά μέσω της κυτταρικής πίεσης ή των σημάτων που λαμβάνονται από άλλα κύτταρα. Μόλις ξεκινήσει, ενεργοποιούνται ένζυμα που αποικοδομούν τις πρωτεΐνες που απαρτίζουν κάθε κύτταρο. Η μελέτη των Weil κ.ά. [14] κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η απόπτωση είναι ένας μηχανισμός για την απελευθέρωση της τροπονίνης κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας του μυοκαρδίου.

Όσον αφορά τον ρυθμό κάθαρσης και τις συγκεντρώσεις μεταξύ των δύο καρδιακών τροπονινών cTnI και cTnT, είναι γνωστό ότι, αν και σχηματίζουν σύμπλοκο στο ανθρώπινο μυοκάρδιο και συνδέονται με λεπτές ίνες στο σαρκομερές, η cTnI συχνά φθάνει σε υψηλότερες συγκεντρώσεις και επιστρέφει σε κανονικές συγκεντρώσεις γρηγορότερα από τη cTnT σε ασθενείς με OEM. Λόγω της στενής δέσμευσής της σε αδιάλυτα λεπτά νήματα στο καρδιομυοκύτταρο, η cTnT απελευθερώνεται αργά στην κυκλοφορία μετά από καρδιακή βλάβη όπως έμφραγμα του μυοκαρδίου. Επομένως, η cTnT παραμένει συνήθως αυξημένη για τις επόμενες ημέρες έως και εβδομάδες. Η cTnI δεν δεσμεύεται από λεπτό νήμα από μόνη της, αλλά δεσμεύεται με τη cTnT και παραμένει επίσης αυξημένη για παρατεταμένα χρονικά διαστήματα σε ασθενείς με OEM. Μόλις εισέλθουν οι cTnI και cTnT στην κυκλοφορία, δεν φαίνεται να υπάρχει διαφορά στην εκκαθάριση. Ωστόσο, η cTnI αποικοδομείται και απελευθερώνεται γρηγορότερα από τη cTnT και αυτός μπορεί να είναι ο κύριος λόγος για τον οποίο η cTnI φτάνει σε υψηλότερες μέγιστες συγκεντρώσεις και επιστρέφει σε κανονικές συγκεντρώσεις γρηγορότερα σε ασθενείς με OEM [15].

- Μη ισχαιμική αύξηση τροπονίνης

Πρόκειται για μυοκαρδιακή βλάβη, που δεν προκαλείται από καρδιακή προσβολή ή απόφραξη στις αρτηρίες της καρδιάς αλλά από άλλες, δομικές, καρδιακές και μη καρδιακές νόσους και διακρίνεται σε οξεία και χρόνια. Η οξεία μυοκαρδιακή βλάβη ορίζεται ως δυναμική αλλαγή τιμής τροπονίνης σε διαδοχικές μετρήσεις (άνοδος ή πτώση  $\geq 20\%$  σε 3-6 ώρες από την αρχική μέτρηση) και απουσία συμπτωμάτων εμφανούς μυοκαρδιακής ισχαιμίας. Η χρόνια μυοκαρδιακή βλάβη χαρακτηρίζεται ξανά από απουσία συμπτωμάτων εμφανούς μυοκαρδιακής ισχαιμίας αλλά εν αντιθέσει με την οξεία, παρατηρείται σταθερά αυξημένη τιμή τροπονίνης σε διαδοχικές μετρήσεις. Ακολουθούν ορισμένες λεπτομέρειες για επιμέρους περιπτώσεις μη ισχαιμικής αύξησης τροπονίνης.

- Τροπονίνη και καρδιακή ανεπάρκεια

Η αυξημένη τροπονίνη έχει προγνωστική αξία καρδιακής ανεπάρκειας, αλλά από μόνη της, δεν είναι επαρκής για να επιβεβαιώσει την αιτιολογία, δηλαδή πρόκειται για αποτέλεσμα οξέος στεφανιαίου συνδρόμου ή οφείλεται στη χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια. Γι' αυτό, σε ασθενείς με γνωστή στεφανιαία νόσο και καρδιακή ανεπάρκεια, που ήταν προηγουμένως σταθεροποιημένοι, ή σε ασθενείς με έναρξη καρδιακής ανεπάρκειας που παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα τροπονίνης, είναι χρήσιμη η περαιτέρω εκτίμηση για αποφρακτική στεφανιαία νόσο ή οξεία ρήξη πλάκας με στεφανιογραφία [12].

Βέβαια, πρέπει να τονιστεί πως τόσο οι συμβατικοί όσο και οι hsTn προσδιορισμοί έχουν δείξει σημαντική προγνωστική αξία στην οξεία καρδιακή ανεπάρκεια καθώς υπάρχουν πολλά στοιχεία που δείχνουν αυξημένη νοσηρότητα και ποσοστά θνησιμότητας σε ασθενείς με οξεία καρδιακή ανεπάρκεια και αυξημένο επίπεδο τροπονίνης. Έτσι, ένα αποτέλεσμα τεστ με αυξημένα επίπεδα cTn μπορεί να ενεργοποιήσει μία θεραπεία και να βοηθήσει τον κλινικό γιατρό να ενημερώσει τον ασθενή για την πρόγνωση, ή να εξετάσει εάν απαιτείται παραπομπή σε ειδικό για προχωρημένες θεραπείες [9].

- Τροπονίνη και χρόνια νεφρική ανεπάρκεια

Έχουν παρατηρηθεί ποσοστά αυξημένων επιπέδων τροπονίνης σε χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, όμως ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός που τα προκαλεί παραμένει αμφισβητούμενος και δεν οφείλεται αποκλειστικά στη μειωμένη νεφρική κάθαρση. Υπάρχει ξεκάθαρη συσχέτιση της αυξημένης τροπονίνης T με την καρδιακή θνητότητα και για τον λόγο αυτό συνιστάται η μέτρησή της για τη διάγνωση οξέος εμφράγματος μυοκαρδίου σε όλους τους ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, που έχουν συμπτώματα ή ενδείξεις ισχαιμίας από το ΗΚΓ [12].

- Τροπονίνη και πνευμονική εμβολή

Στις περιπτώσεις πνευμονικής εμβολής παρουσιάζεται μια μέση συχνότητα αύξησης τροπονίνης περίπου 39%. Η ακριβής αιτιολογία για την αύξηση της τροπονίνης σε αυτές τις περιπτώσεις είναι άγνωστη, αλλά μπορεί να οφείλεται σε άμεσο τραυματισμό του μυοκαρδίου στις δεξιές κοιλίες λόγω της αυξημένης πίεσης που εμφανίζεται με την απόφραξη της πνευμονικής αρτηρίας ή κάποιου κλάδου της. Η κινητική απελευθέρωση της τροπονίνης που ακολουθεί μπορεί να διαφέρει από αυτή της βλάβης του μυοκαρδίου στην αριστερή κοιλία που αναλύθηκε παραπάνω. Έχει αποδειχθεί ότι η τροπονίνη μπορεί να καθαριστεί εντός 24 ωρών γεγονός που δείχνει ότι η ποσότητα της τροπονίνης που απελευθερώνεται είναι λιγότερη και μπορεί να προέρχεται από την κυτταρική δεξαμενή του μυοκυττάρου. Αυτό οφείλεται εν μέρει στην χαμηλότερη περιεκτικότητα cTnT και cTnI στη δεξιά κοιλία σε σύγκριση με την αριστερή (περίπου 20-30% χαμηλότερα). Βέβαια, η τροπονίνη δεν απελευθερώνεται σε ασθενείς με βαθιά θρόμβωση φλέβας που είναι συχνά η κατάσταση που παράγει την πνευμονική εμβολή. Αυτό συμβαίνει επειδή η καρδιακή τροπονίνη δεν υπάρχει σε μη καρδιακό αγγειακό ιστό. Έτσι, δεν συνιστάται ως εξέταση ρουτίνας για διάγνωση – επιβεβαίωση πνευμονικής εμβολής [13].

#### - Τροπονίνη και σήψη

Η παρουσία φλεγμονής έχει προταθεί ως υποκείμενη αιτιολογία της απελευθέρωσης τροπονίνης από την καρδιά. Αυτό πηγάζει από παρατηρήσεις σε ασθενείς με σήψη που έχουν αυξημένες συγκεντρώσεις τροπονίνης απουσία εμφράγματος του μυοκαρδίου. Η τροπονίνη αυξάνεται ήπια περίπου στο 62% των ασθενών με σήψη και ο πιθανότερος μηχανισμός αύξησης είναι η εμφάνιση μυοκαρδιακής δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας. Η αυξημένη τροπονίνη είναι δείκτης πτωχής λειτουργίας της αριστερής κοιλίας αλλά έχει αμφίβολη σημασία στη διαστρωμάτωση κινδύνου και συσχέτιση με τη θνητότητα. Έτσι δεν συνιστάται ως εξέταση ρουτίνας στη σήψη [12].

#### - Τροπονίνη και χημικοθεραπευτικά

Τα χημικοθεραπευτικά μπορούν να προκαλέσουν πρώιμη παροδική καρδιακή συστολική δυσλειτουργία, μόνιμη καρδιακή συστολική δυσλειτουργία, διαστολική δυσλειτουργία και αρρυθμίες. Η αυξημένη τροπονίνη είναι δείκτης ανίχνευσης καρδιακής βλάβης μετά από χημειοθεραπεία και συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο συστολικής δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας και θανάτου. Ωστόσο, η χορήγηση εναλαπρίλης, σε αύξηση τροπονίνης 72 ώρες μετά από υψηλή δόση χημειοθεραπείας, μείωσε δραματικά τον κίνδυνο δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας [12]. Είναι ακόμη γνωστό, ότι η χρήση ορισμένων χημικοθεραπευτικών παραγόντων όπως η τραστουζουμάμπη και η δοξορουβικίνη σχετίζονται με την ανάπτυξη καρδιακής ανεπάρκειας και την απελευθέρωση καρδιακής τροπονίνης. Αυτό αρχικά σχετίζεται με αναστρέψιμο τραυματισμό του μυοκαρδίου όμως με την πάροδο του χρόνου, εμφανίζεται καρδιακή ανεπάρκεια που μπορεί να

οδηγήσει σε μείωση της ποσότητας του φαρμάκου που μπορεί να ανεχθεί ο ασθενής και, συνεπώς, σε αναποτελεσματικότητα της θεραπείας [13].

- Τροπονίνη και χρήση ναρκωτικών

Μπορεί να υπάρχουν και άλλες ιατρικές καταστάσεις που απελευθερώνουν αδρεναλίνη και νοραδρεναλίνη και σχετίζονται με καρδιακό τραυματισμό και αύξηση των επιπέδων τροπονίνης. Φάρμακα και ναρκωτικές ουσίες όπως η κοκαΐνη μπλοκάρουν την επαναπρόσληψη κατεχολαμινών σε απολήξεις συμπαθητικών νευρικών και είναι τοξικά για την καρδιά. Η κοκαΐνη προκαλεί επίσης αγγειοσπασμό, οπότε εάν ο παραλήπτης έχει κάποια υποκείμενη αθηροσκληρωτική νόσο, μπορεί να προκαλέσει OEM τύπου II [13].

- Τροπονίνη και μυοκαρδίτιδα

Η αυξημένη τροπονίνη φαίνεται να έχει ρόλο στον προσδιορισμό της χρονικής έναρξης της νόσου αφού συνήθως παρουσιάζεται σε χρόνο  $\leq 1$  μήνα από την έναρξη των συμπτωμάτων. Σε μυοπερικαρδίτιδα αυξάνεται συνηθέστερα στην ιδιοπαθή μορφή της και δεν συσχετίζεται με την κλινική έκβαση [12].

- Τροπονίνη και υπέρμετρη άσκηση

Σε περιπτώσεις υπέρμετρης άσκησης έχει παρατηρηθεί ήπια αύξηση τροπονίνης σε διάφορα ποσοστά, που αποκαθίσταται στις 48 ώρες και δεν συσχετίζεται με καρδιακά συμβάντα. Υπάρχει συσχέτιση των επιπέδων με προπόνηση, φυσική κατάσταση, τύπο και διάρκεια της άσκησης. Γενικά δεν συνιστάται ως εξέταση ρουτίνας μετά την άσκηση εκτός αν παρουσιαστούν άλλα ύποπτα συμπτώματα [12].

- Τροπονίνη και εξωκαρδιακή επέμβαση

Αυξημένη τροπονίνη τις πρώτες ημέρες, μετεγχειρητικά, συσχετίστηκε με αυξημένη, μακροπρόθεσμη, συνολική θνητότητα, καρδιαγγειακή θνητότητα και καρδιαγγειακά συμβάντα. Η συσχέτιση υπήρχε ανεξάρτητα από ύπαρξη μυοκαρδιακής βλάβης ή τυπικού οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου [12].

- Τροπονίνη και χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ)

Παρατηρείται αυξημένη τροπονίνη σε ΧΑΠ αλλά η ερμηνεία της είναι δύσκολη. Είναι αρκετοί οι κοινοί παράγοντες κινδύνου σε ΧΑΠ και στεφανιαία νόσο. Πιθανοί μηχανισμοί αύξησης είναι η υποξαιμία, η αναπνευστική οξέωση ή η δευτεροπαθής πνευμονική υπέρταση που προκαλεί υπερτροφία της δεξιάς κοιλίας και ισχαιμία αυτής μέσω αυξημένων αναγκών. Υπάρχουν μελέτες που έχουν δείξει αυξημένη ενδονοσοκομειακή και εντός 2 ετών θνητότητα σε έξαρση ΧΑΠ σε συνδυασμό

με αυξημένη τροπονίνη για αυτό συνιστάται η παρακολούθηση των επιπέδων τροπονίνης σε αυτή τη περίπτωση [12].

- Τροπονίνη και σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ)

Διαβητική κετοξέωση σε ΣΔ τύπου I συνοδεύεται από ήπια αύξηση τροπονίνης I σε ποσοστό 10%. Επανέρχεται σε φυσιολογικά επίπεδα εντός 24 ωρών από την έναρξη θεραπείας [12].

- Τροπονίνη και stress cardiomyopathy (Takotsubo)

Η καρδιομυοπάθεια Takotsubo είναι μια αποδυνάμωση της αριστερής κοιλίας, συνήθως ως αποτέλεσμα σοβαρού συναισθηματικού ή σωματικού στρες, όπως ξαφνική ασθένεια, απώλεια αγαπημένου προσώπου, σοβαρό ατύχημα ή φυσική καταστροφή. Η απελευθέρωση κατεχολαμινών ως αμυντικός μηχανισμός κατά του στρες εμπλέκεται στην έναρξη καρδιακής βλάβης του μυοκαρδίου [13]. Υπάρχει ηπιότερη αύξηση τροπονίνης, σε σύγκριση με εμφράγματα ανάλογης ηλεκτροκαρδιογραφικής έκτασης. Συνήθως η τροπονίνη επανέρχεται στο φυσιολογικό σε 3-4 ημέρες και η αριστερή κοιλία επανακάμπτει πλήρως σε 1-2 εβδομάδες.

- Τροπονίνη και θεραπείες αρρυθμιών

Εμφύτευση ηλεκτροδίων βηματοδότη ή απινιδωτή προκαλούν μικρή αύξηση τροπονίνης ενώ πολλαπλές φορτίσεις απινιδωτή προκαλούν αύξηση τροπονίνης στο 40-90% των περιπτώσεων. Αύξηση τροπονίνης διαπιστώνεται επίσης μετά τη μέθοδο ablation στο 54 έως 100% των περιπτώσεων εντός 24 ωρών, με τη συχνότητα και το εύρος της αύξησης να είναι ανάλογο με το επίπεδο της χορηγούμενης ενέργειας και τη διάρκεια. Ακόμη, σε καρδιοαναπνευστική αναζωογόνηση χωρίς χρήση ρεύματος καταγράφεται αύξηση της τροπονίνης που επανέρχεται στα φυσιολογικά όρια εντός 30 ωρών [12].

#### 2.1.4 Διάγνωση μυοκαρδιακής βλάβης

Όσον αφορά την αιτιολογία των αυξημένων επιπέδων, οι υψηλότερες συγκεντρώσεις στην πρώτη μέτρηση με μεγαλύτερες αλλαγές στη δεύτερη, εμφανίζονται στο OEM και στη μυοκαρδίτιδα. Οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις στην πρώτη μέτρηση με μη σημαντική διακύμανση στη δεύτερη, εμφανίζονται σε καρδιακές αιτίες μη στεφανιαίας αρχής.

Οι τροπονίνες, λοιπόν, εμφανίζονται αυξημένες σε κάθε περίπτωση μυοκαρδιακής βλάβης (π.χ. μυοκαρδίτιδα, καρδιοτοξικότητα από χημειοθεραπευτικά, καρδιακή ανεπάρκεια, πνευμονική



εμβολή) και όχι μόνο σε έμφραγμα στεφανιαίας αιτιολογίας. Σε ποσοστό 20-40% των ασθενών με στηθάγχη, χωρίς ανάσπαση του ST στο ηλεκτροκαρδιογράφημα, θα παρατηρηθεί αύξηση της τροπονίνης. Οι περιπτώσεις αυτές χαρακτηρίζονται σήμερα ως μικροέμφραγμα ή ελαχίστη μυοκαρδιακή βλάβη. Απαιτούνται 4-6 ώρες από την έναρξη των συμπτωμάτων για να υπάρξει ικανοποιητική ευαισθησία για τη διάγνωση μυοκαρδιακής βλάβης με βάση την άνοδο των τροπονινών. Τα επίπεδα των τροπονινών παραμένουν υψηλά επί 10-14 ημέρες [3].

Όπως συμπεραίνεται από τα παραπάνω, οι καρδιακές τροπονίνες είναι ο προτιμώμενος καρδιακός βιοδείκτης στη διάγνωση οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου. Επειδή όμως είναι ανιχνεύσιμες από βλάβη του μυοκαρδίου, ανεξαρτήτως της παθοφυσιολογίας, η ερμηνεία ενός θετικού τεστ είναι δύσκολη. Το 2014 πραγματοποιήθηκε μελέτη με στόχο να εκτιμηθούν τα ποιοτικά κριτήρια του τεστ τροπονίνης και τα κύρια κλινικά συμπτώματα στη διάγνωση του OEM [16]. Στην μελέτη αυτή όλοι οι ασθενείς που εμφανίστηκαν είχαν υποστεί τεστ τροπονίνης-I. Η διάγνωση «οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου» αναφέρεται στο έμφραγμα του μυοκαρδίου τύπου I που έγινε από καρδιολόγο. Οι 1046 ασθενείς χωρίστηκαν σε τέσσερις υποομάδες σύμφωνα με τα κύρια συμπτώματα και υπολογίστηκαν τα ποιοτικά κριτήρια του τεστ.

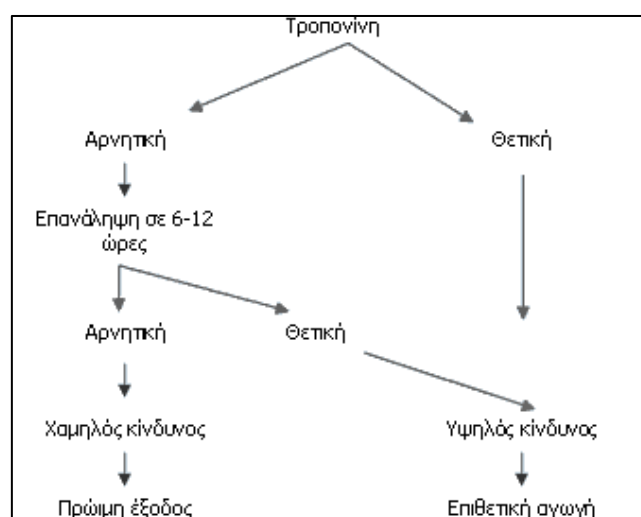
Οι διαγνώσεις «οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου» και «οξεία καρδιακή ανεπάρκεια» ήταν σημαντικά συχνότερες στους ασθενείς με θετικό τεστ τροπονίνης, ενώ οι διαγνώσεις «σταθερή στεφανιαία νόσος» και «υπερτασικός εκτροχιασμός» ήταν σημαντικά πιο συχνές σε ασθενείς με αρνητικό τεστ τροπονίνης. Δεκαπέντε ασθενείς με αρνητικό τεστ τροπονίνης είχαν οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Συνοπτικά, στο 15%, υπήρχε οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, εκ των οποίων το 97% είχε θωρακικό πόνο. Οι ευαισθησίες και οι αρνητικές προγνωστικές τιμές ήταν πάνω από 90%. Οι θετικές προγνωστικές τιμές ήταν μέτριες και καλύτερες στην περίπτωση θωρακικού πόνου 58%. Ο θωρακικός πόνος ήταν το πιο κοινό σύμπτωμα-κλειδί σε αυτή τη μελέτη (650 ασθενείς). Περισσότεροι από το ένα τρίτο των προσβεβλημένων ασθενών είχαν θετικό τεστ τροπονίνης (232 ασθενείς, 36%). Το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου ήταν η πιο κοινή καρδιολογική διάγνωση σε αυτήν την υποομάδα (150 ασθενείς, 23%). Το τεστ τροπονίνης ήταν αρνητικό σε 15 ασθενείς (10%). Έτσι, όλοι οι ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου και αρνητικό τεστ τροπονίνης είχαν το βασικό σύμπτωμα θωρακικού πόνου. Οι περισσότεροι ασθενείς με αρνητικό τεστ τροπονίνης δεν είχαν καρδιακές αιτίες θωρακικού πόνου. Η «οξεία καρδιακή ανεπάρκεια» ήταν η πιο κοινή διάγνωση (60 ασθενείς, 45%) και ήταν πολύ πιο συχνή σε ασθενείς με θετικό τεστ τροπονίνης.

Από αυτή τη μελέτη φάνηκε ότι το τεστ τροπονίνης είχε καλή αρνητική διαγνωστική τιμή για όλα τα κλινικά συμπτώματα. Έτσι, ένα οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου θα μπορούσε να αποκλειστεί με υψηλή ακρίβεια. Ωστόσο, η θετική διαγνωστική τιμή ήταν χαμηλή. Το μόνο άμεσο σύμπτωμα που

πέτυχε αποδεκτά επίπεδα ήταν ο θωρακικός πόνος. Η θετική διαγνωστική αξία, λοιπόν, ήταν ικανοποιητική μόνο σε ασθενείς με θωρακικό άλγος. Πολλές καρδιολογικές ασθένειες μπορούν να οδηγήσουν σε αύξηση της τροπονίνης λόγω τραυματισμού του μυοκαρδίου ή δευτερογενούς ισχαιμίας γεγονός που καθιστά την ερμηνεία και την ειδικότητα ενός θετικού τεστ πιο δύσκολη με αποτέλεσμα να απαιτείται περαιτέρω διάγνωση και θεραπεία. Ωστόσο, πρέπει να τονιστεί ότι τα ποιοτικά κριτήρια του τεστ τροπονίνης στο πλαίσιο αυτής της μελέτης έδειξαν εξαιρετική ευαισθησία και εξαιρετική αρνητική διαγνωστική τιμή σε όλες τις υποομάδες κάνοντάς το κατάλληλο για να αποκλείσει το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου.

### 2.1.5 Προγνωστική αξία

Η ανεύρεση αυξημένων τιμών cTnT ή cTnI σε ασθενείς με κλινική εικόνα ασταθούς στηθάγχης έχει προγνωστική αξία. Σε ασθενείς με ηλεκτροκαρδιογράφημα χωρίς ανάσπαση ST, ακόμα και όταν το καρδιακό ένζυμο της κρεατινικής κινάσης CK-MB παραμένει σε φυσιολογικές τιμές, οι αυξημένες τιμές cTnT ή cTnI σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο θανάτου, εμφράγματος και υποτροπής της ισχαιμίας. Αντίθετα, οι ασθενείς με στηθαγχικό πόνο που έχουν φυσιολογικές τιμές τροπονίνης σε δύο διαδοχικές μετρήσεις με διαφορά 4-6 ωρών (και αφού έχουν παρέλθει τουλάχιστον 6 ώρες από την εμφάνιση των συμπτωμάτων) συνιστούν ομάδα χαμηλού κινδύνου για εμφάνιση υποτροπών [3]. Παρακάτω φαίνεται ένας ενδεικτικός αλγόριθμος που ακολουθείται στις εξετάσεις τροπονίνης, σε περιπτώσεις στηθαγχικού πόνου. (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Πρακτικός αλγόριθμος τροπονινών [3].

Σε μελέτη που δημοσιεύθηκε το 2019 στο επίσημο περιοδικό του Αμερικανικού Κολλεγίου Καρδιολογίας (JACC) δίνεται μια νέα διάσταση στη προγνωστική αξία της τροπονίνης [17]. Υποστηρίζεται ότι η ύπαρξη πόνου στο στήθος σε συνδυασμό με σταθερά αυξημένες τιμές τροπονίνης (ακόμα και στο άνω φυσιολογικό όριο) υποδηλώνουν μεγάλη πιθανότητα εκδήλωσης ενός καρδιαγγειακού επεισοδίου. Στο ίδιο περιοδικό λίγο αργότερα δημοσιεύθηκε μια ακόμη πιο ενδιαφέρουσα μελέτη που αφορά το πως η ποσότητα της τροπονίνης I μπορεί να προσδιορίσει την εξέλιξη του αρρώστου που έρχεται στο νοσοκομείο με ύποπτα συμπτώματα. Αυτή η μελέτη επεδίωκε να εξετάσει την απλή μέτρηση hs-cTnI για την κατάταξη ασθενών σε χαμηλού και υψηλού κινδύνου για οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (OEM).

Διάφορες μελέτες, είχαν ήδη υποδηλώσει ότι ένα μόνο μέτρο hs-cTnI ή hs-cTnT αρκεί για τον αποκλεισμό με ασφάλεια των OEM και την ταυτοποίηση ασθενών σε πολύ χαμηλού κινδύνου για ανεπιθύμητες καρδιακές εκδηλώσεις κατά την παρακολούθηση 30 ημερών [18] [19]. Στη συγκεκριμένη μελέτη, συμμετείχαν 2212 ασθενείς. Μετά από επανεξέταση των σχετικών κλινικών πληροφοριών και των τυπικών αποτελεσμάτων του τεστ cTnI, οι ασθενείς εξετάστηκαν για OEM (τύπου 1 και 2). Τα δεδομένα της μελέτης, τόνισαν τον σύγχρονο ρόλο της cTn ως αντικειμενικού μέτρου της καρδιαγγειακής υγείας, με συγκεντρώσεις hs-cTnI < 5ng/l να εντοπίζονται στους πιο υγιείς ασθενείς που πιθανότατα δεν θα βιώσουν ανεπιθύμητες ενέργειες, σε σύγκριση με εκείνους με υψηλότερες συγκεντρώσεις hs-cTnI που παρουσιάζουν αυξανόμενη πιθανότητα ανεπιθύμητων συμβάντων. Η μελέτη κατέδειξε ότι όσο υψηλότερο είναι το hs-cTnI, τόσο υψηλότερη είναι η πιθανότητα για οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Εξακριβώθηκε ένα ομοιόμορφο, βελτιστοποιημένο όριο συγκέντρωσης < 5ng/L, που προσδιόρισε με ασφάλεια την ομάδα χαμηλού κινδύνου. Στη μελέτη αυτή οι μισοί περίπου ασθενείς ανήκαν σε αυτή την κατηγορία. Αντίθετα οι ασθενείς με τροπονίνη I > 120 ng/L χαρακτηρίζονταν ασθενείς υψηλού κινδύνου για έμφραγμα μυοκαρδίου ή θάνατο μέσα 30 μέρες. Στην κατηγορία αυτή ανήκε το 12% των ασθενών. Οι υπόλοιποι ασθενείς με τροπονίνη I που κυμαινόταν από 5-120ng/L ανήκαν στην ομάδα του ενδιάμεσου κινδύνου [17].

Με βάση αυτά ενδιαφέροντα δεδομένα, είναι φανερή η προγνωστική αξία της τροπονίνης. Ιδιαίτερα με την εφαρμογή των hs-cTn ανιχνεύσεων είναι δυνατή η χρήση αλγορίθμων τεστ (φαίνεται στην εικόνα) που διευκολύνουν την ταχύτερη αξιολόγηση και διαστρωμάτωση κινδύνου ασθενών με ύποπτο OEM. Έτσι μπορούν να αντιμετωπισθούν οι ασθενείς υψηλού κινδύνου άμεσα π.χ. με στεφανιογραφία ή αγγειοπλαστική ενώ η έξοδος των ασθενών χαμηλού κινδύνου από τα τμήματα έκτακτης ανάγκης, μειώνει το συνωστισμό και το κόστος για τα κέντρα υγείας.

### 2.1.6 Αντιμετώπιση και καθοδήγηση αντιθρομβωτικής αγωγής

Καθώς τα υψηλά επίπεδα τροπονίνης αποτελούν σύμπτωμα και όχι διάγνωση, η θεραπεία εστιάζει στην αναζήτηση και αντιμετώπιση της υποκείμενης νόσου. Τα εξαιρετικά υψηλά επίπεδα τροπονίνης είναι συνήθως ένδειξη ότι ο ασθενής υπέστη πρόσφατα έμφραγμα του μυοκαρδίου. Η θεραπεία του εμφράγματος εξαρτάται από τον αποκλεισμό της ροής του αίματος και συγκεκριμένα αν αυτός είναι μερικός ή ολικός. Ορισμένες συνήθεις θεραπείες για το έμφραγμα περιλαμβάνουν θρομβολυτικά φάρμακα, στεφανιαία αγγειοπλαστική, εγχείρηση bypass κ.ά. [10].

Οι ασθενείς που ωφελούνται κατά κύριο λόγο από τις νέες αντιθρομβωτικές θεραπείες είναι όσοι έχουν αυξημένες τιμές τροπονίνης στο αίμα, ενδεικτικές μυοκαρδιακής βλάβης πιθανότατα λόγω περιφερικής εμβολής θρομβωτικού υλικού στο πάσχον στεφανιαίο αγγείο. Επίσης, οι ασθενείς με θετικό τεστ τροπονίνης φαίνεται να ωφελούνται από πρώιμη επεμβατική αντιμετώπιση (στεφανιογραφία-αγγειοπλαστική) [3].

## 2.2 Τεχνικές Μέτρησης και Ανίχνευσης Ουσιών – Βιομορίων

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει παρατηρηθεί μεγάλη πρόοδος στην ανίχνευση και μέτρηση ουσιών κυρίως όσον αφορά τον τομέα ανάπτυξης βιοαισθητήρων. Ένας βιοαισθητήρας είναι μια συσκευή αναγνώρισης κάποιου βιολογικού μορίου-στόχου και περιλαμβάνει δύο στοιχεία: ένα στοιχείο βιολογικής αναγνώρισης και μια μονάδα μετατροπής σήματος, τον φυσικοχημικό μετατροπέα, ο οποίος τελικά παράγει την ανάγνωση. Το στοιχείο βιολογικής αναγνώρισης καθορίζει τον βαθμό επιλεκτικότητας ή ειδικότητας του βιοαισθητήρα, ενώ η ευαισθησία του βιοαισθητήρα επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τον μετατροπέα. Σε αυτό το κεφάλαιο, μελετώνται οι αισθητήρες που βασίζονται σε οπτικές, μαγνητικές, χωρητικές και ωμικές τεχνικές ανίχνευσης.

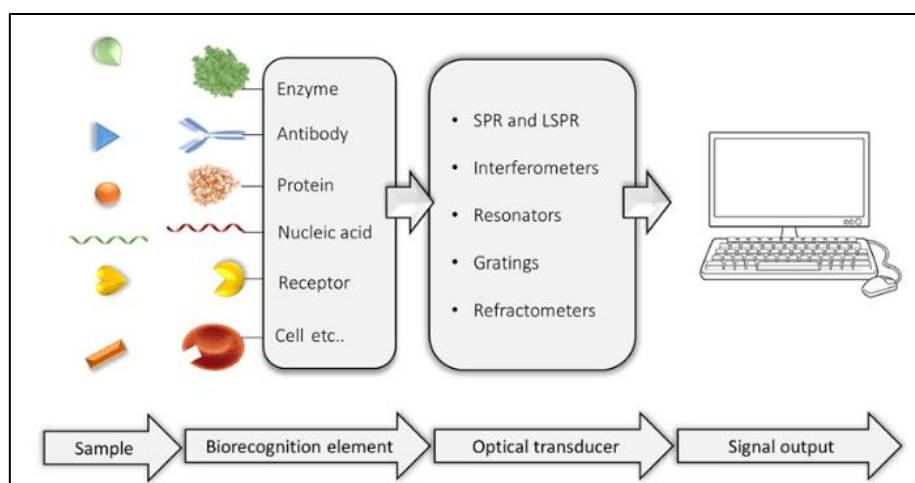
### 2.2.1 Οπτικές Τεχνικές

Οι οπτικές τεχνικές ανίχνευσης και μέτρησης ουσιών έχουν τη δυνατότητα να αποκτήσουν με ακρίβεια όλες τις κλινικές ιδιότητες μεμονωμένων μικροσωματιδίων με υψηλή, μάλιστα, ταχύτητα. Οι οπτικοί βιοαισθητήρες προσφέρουν σημαντικά οφέλη σε σχέση με τις συμβατικές αναλυτικές

τεχνικές καθώς επιτρέπουν την άμεση, σε πραγματικό χρόνο ανίχνευση πολλών βιολογικών και χημικών ουσιών. Τα πλεονεκτήματά τους είναι η υψηλή εξειδίκευση και ευαισθησία, η ταχεία ανίχνευση.

Πολλαπλές προηγμένες έννοιες μικροηλεκτρονικής, μικρο-ηλεκτρομηχανικών συστημάτων (MEMS), μικρο- ή νανο-τεχνολογιών, μοριακής βιολογίας, βιοτεχνολογίας και χημείας εφαρμόζονται στην εφαρμογή νέων οπτικών βιοαισθητήρων. Η έρευνα και η ανάπτυξη οπτικών βιοαισθητήρων έχουν κατευθυνθεί τα τελευταία χρόνια προς την υγειονομική περίθαλψη, τις περιβαλλοντικές εφαρμογές και τη βιοτεχνολογία. Ωστόσο, καθεμία από τις πολυάριθμες αυτές εφαρμογές έχει τις δικές της απαιτήσεις όσον αφορά τις συγκεντρώσεις, την ακρίβεια της παραγωγής, τον χρόνο ολοκλήρωσης και επαναχρησιμοποίησης του βιοαισθητήρα και τον καθαρισμό του συστήματος.

Η οπτική ανίχνευση πραγματοποιείται αξιοποιώντας την αλληλεπίδραση του οπτικού πεδίου με ένα στοιχείο βιοαναγνώρισης. Οι οπτικοί αισθητήρες βασίζονται στην αλλαγή στη φάση, την πόλωση ή τη συχνότητα του φωτός εισόδου και η αλλαγή αυτή, σχετίζεται με τη διαδικασία ανίχνευσης ή μέτρησης. Ένας οπτικός βιοαισθητήρας δηλαδή, είναι μια συμπαγής αναλυτική συσκευή που περιέχει ένα στοιχείο βιοαναγνώρισης ενσωματωμένο σε ένα σύστημα οπτικού μετατροπέα (transducer). Ο βασικός στόχος του αισθητήρα είναι να προκαλέσει ένα σήμα ανάλογο της συγκέντρωσης μιας μετρούμενης ουσίας που ονομάζεται αναλυτής (analyte). Μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορα βιολογικά υλικά, όπως ένζυμα, αντισώματα, αντιγόνα, υποδοχείς, νουκλεϊκά οξέα, ή ολόκληρα κύτταρα και ιστοί ως στοιχεία βιοαναγνώρισης (Εικόνα 8) [19].



Εικόνα 8. Σχηματικό διάγραμμα οπτικού βιοαισθητήρα [19].

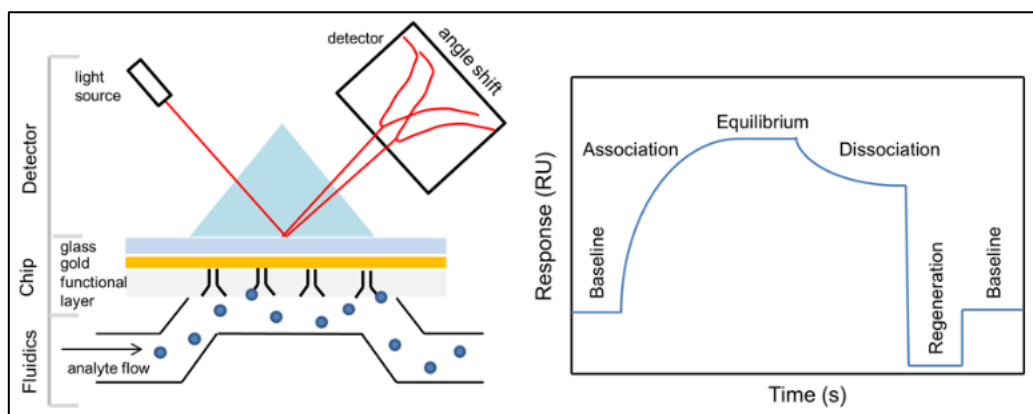
Οι οπτικές τεχνικές μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες: χωρίς επισήμανση (label-free) και με επισήμανση (label-based). Στις πρώτες, το ανιχνευμένο σήμα δημιουργείται απευθείας από την αλληλεπίδραση του αναλυθέντος υλικού με τον μετατροπέα. Αντίθετα, η δεύτερη κατηγορία

περιλαμβάνει τη χρήση μιας ετικέτας και το οπτικό σήμα παράγεται στη συνέχεια με μια χρωματομετρική, φθορίζουσα ή φωτεινή μέθοδο. Ωστόσο, σε ορισμένες καταστάσεις αν μια ετικέτα κάνει σύζευξη με ένα από τα αντιδρώντα, η επισήμανση μπορεί να αλλάξει τις ιδιότητες και να εισάγει συστηματικό σφάλμα στην ανάλυση του βιοαισθητήρα [20].

Ακολουθεί μια συνοπτική ταξινόμηση και περιγραφή των βασικών αρχών λειτουργίας και των εφαρμογών των πιο ευρέως χρησιμοποιούμενων οπτικών βιοαισθητήρων.

### Βιοαισθητήρες επιφανειακού συντονισμού πλασμονίων-Surface plasmon resonance biosensors (SPR)

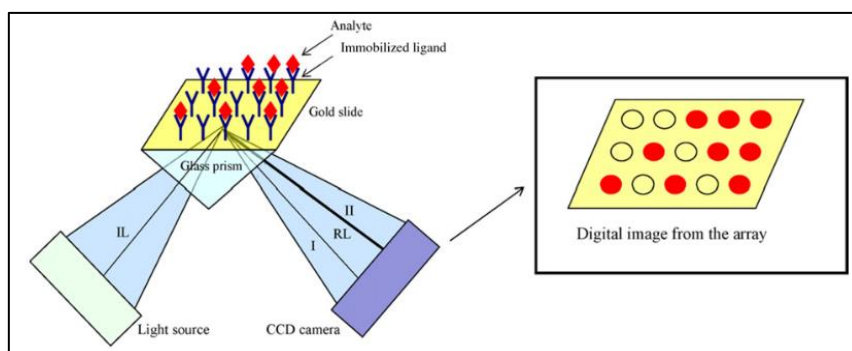
Ένα πλασμόνιο είναι ένα κβάντο ταλαντώσεων στο πλάσμα. Το φαινόμενο SPR, δηλαδή ο επιφανειακός συντονισμός πλασμονίων εμφανίζεται στην επιφάνεια ενός αγωγίμου υλικού (συνήθως μετάλλου) στη διεπαφή δύο μέσων (π.χ. γυαλιού και υγρού) όταν αυτό φωτίζεται με πολωμένο φως υπό συγκεκριμένη γωνία. Έτσι δημιουργούνται επιφανειακά πλασμόνια (και ταλαντώσεις) και κατά συνέπεια παρατηρείται μείωση της έντασης του ανακλώμενου φωτός υπό μια συγκεκριμένη γωνία γνωστή ως γωνία συντονισμού. Μετρώντας τη μεταβολή της ανακλαστικότητας, της γωνίας ή των μηκών κύματος στο χρόνο, είναι δυνατό να ληφθεί το διάγραμμα του αισθητήρα. Οι SPR διατάξεις παρέχουν άμεσες, σε πραγματικό χρόνο και χωρίς επισήμανση μεταβολές του δείκτη διάθλασης στην επιφάνεια του αισθητήρα που είναι ανάλογες με τη συγκέντρωση του βιομορίου. Σε ένα πρακτικό πείραμα το ένα συστατικό αλληλεπίδρασης, π.χ. ο συνδέτης (ligand) συνδέεται μόνιμα με την επιφάνεια του τσιπ και το άλλο συστατικό που αλληλεπιδρά, π.χ. ο αναλυτής (analyte) ή ουσία-στόχος, καθώς ρέει πάνω από την επιφάνεια, συνδέεται με τον συνδέτη. Μια διάταξη SPR συνδυάζει ένα τμήμα οπτικού ανιχνευτή, που συνήθως μετρά τη μεταβολή της έντασης, ένα τσιπ αισθητήρα με χρυσή επιφάνεια και ένα στρώμα που επιτρέπει την ακινητοποίηση του συνδέτη, το οποίο είναι ενσωματωμένο με ένα σύστημα ρευστότητας που επιτρέπει τη ροή. Η αρχή λειτουργίας ενός τυπικού οργάνου SPR παρουσιάζεται στην παρακάτω Εικόνα 9 [20].



Εικόνα 9. Η αρχή λειτουργίας του οργάνου SPR (αριστερά) και το τυπικό διάγραμμα αισθητήρα SPR με τα βήματα ενός αναλυτικού κύκλου (δεξιά) [20].

### A) Απεικόνιση SPR (SPR imaging - SPRi)

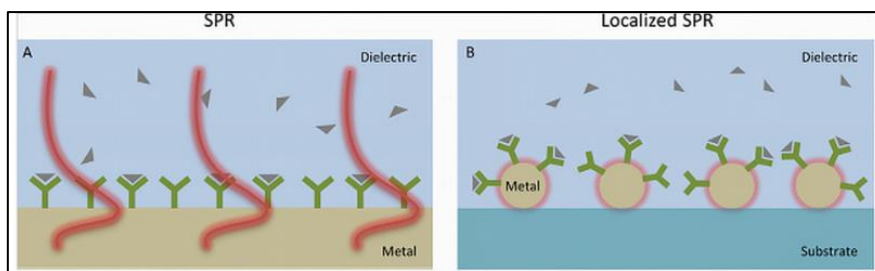
Η απεικόνιση SPR (SPRi) εξελίσσει τη τεχνική SPR, συνδυάζοντας την ευαισθησία του SPR και τη χωρική απεικόνιση σε μορφή μικροσυστοιχίας και επιτρέποντας την ταυτόχρονη μελέτη πολλαπλών διαφορετικών αλληλεπιδράσεων σε μια σειρά μορίων σε ακριβές μοτίβο (Εικόνα 10). Η υψηλή ευαισθησία στην παραγωγή και η λήψη των εικόνων των βιολογικών επιδράσεων αναλυμένων στο χώρο ανοίγει ένα μεγάλο μέλλον για το SPRi ώστε να εφαρμοστεί στην κλινική χημεία και την ιατρική για τον έλεγχο βιοδεικτών και θεραπευτικούς στόχους.



Εικόνα 10. Σχηματική απεικόνιση της διάταξης SPRi [20].

### B) Τοπικός SPR (Localized SPR - LSPR)

Ο LSPR βασίζεται σε μεταλλικές νανοδομές (metallic nanoparticles - MNPs) που λόγω των διαστάσεών τους παρουσιάζουν μοναδικές οπτικές ιδιότητες. Το οπτικό φαινόμενο του LSPR συμβαίνει όταν το προσπίπτον φως αλληλεπιδρά με τα MNPs που είναι μικρότερα από το προσπίπτον μήκος κύματος. Το ηλεκτρομαγνητικό πεδίο του φωτός προκαλεί συλλογικές ταλαντώσεις ηλεκτρικού φορτίου και την επακόλουθη απορρόφηση του φωτός εντός της υπεριώδους-ορατής (UV-VIS) ζώνης. Έτσι, η κύρια διαφορά μεταξύ SPR και LSPR είναι ότι τα επαγόμενα πλάσμονια ταλαντεύονται τοπικά στη νανοδομή και όχι κατά μήκος της διεπαφής μετάλλου/ διηλεκτρικού (Εικόνα 11). Επειδή η συχνότητα των ταλαντώσεων επηρεάζεται από τη σύνθεση, το μέγεθος, τη γεωμετρία, το διηλεκτρικό περιβάλλον και την απόσταση διαχωρισμού των νανοδομών, οι ιδιότητες του LSPR εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από αυτούς τους παράγοντες. Οι παράγοντες αυτοί αντικατοπτρίζονται ως αλλαγή χρώματος και μετατόπιση της κορυφής απορρόφησης που είναι οι παράμετροι κατασκευής των αισθητήρων. Έτσι, προσαρμόζοντας αυτές τις παραμέτρους, είναι δυνατό να ελεγχθούν ή και να βελτιστοποιηθούν οι ιδιότητες του αισθητήρα LSPR όπως η ευαισθησία [20].



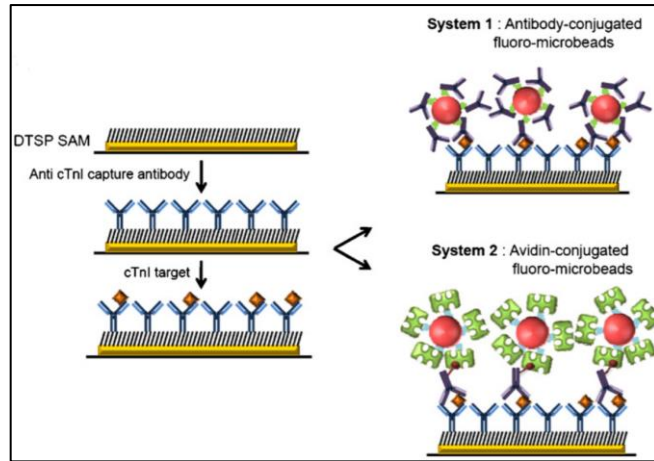
Εικόνα 11. Σχηματικά διαγράμματα που δείχνουν την αρχή ανίχνευσης των πλασμονικών βιοαισθητήρων με βάση την απεικόνιση (Α) SPR και (Β) LSPR [20].

Αξίζει να τονιστεί ότι οι βιοαισθητήρες SPR έχουν προταθεί για ευαίσθητη και γρήγορη ανίχνευση ανθρώπινης τροπονίνης. Το 2007, οι Dutra και Kubo [21] πρότειναν έναν αισθητήρα SPR στον οποίο η στρεπταβιδίνη ακινητοποιήθηκε και χρησιμοποιήθηκε για τη σύνδεση αντισωμάτων αντι-τροπονίνης T για τον εντοπισμό ανθρώπινης καρδιακής τροπονίνης T. Ένα γραμμικό εύρος ανίχνευσης ήταν από 0,03 έως 6,5 ng/ml. Το σύστημα που παρουσιάστηκε ήταν δυνατό να μετρήσει τη cTnT χωρίς αραίωση του ανθρώπινου ορού και με καλή εξειδίκευση.

#### Χρωματομετρικοί βιοαισθητήρες ή βιοαισθητήρες ανίχνευσης φθορισμού

Σε αυτό το είδος των αισθητήρων, ο στόχος ή τα βιολογικά στοιχεία επισημαίνονται με ετικέτες φθορισμού ή βαφές και η παρουσία μορίων-στόχων προσδιορίζεται όταν συμβαίνει αλλαγή στην ένταση του φθορισμού ή του χρώματος. Η χρωματομετρική μέτρηση είναι άμεσα ορατή και βολική, αλλά η ευαισθησία και η αποδοτικότητα κόστους είναι πολύ χαμηλότερες. Βιοαισθητήρας φθορισμού και συγκεκριμένα το τσιπ καθορισμού φθορο-μικροσφαιριδίων (FMGC) έχει αναπτυχθεί και για την ανίχνευση της τροπονίνης I. Το 2011, ο Song και οι συνεργάτες του [22] χρησιμοποίησαν φθορο-μικροσφαιρίδια με ετικέτα αντισώματος (Εικόνα 12). Το αντιγόνο-στόχος cTnI προστέθηκε στο αντίσωμα σύλληψης cTnI που ήταν ακινητοποιημένο στην επιφάνεια του τσιπ και στη συνέχεια δεσμεύτηκε το αντίσωμα αντιγόνου. Το ακινητοποιημένο cTnI συνδέθηκε με το αντίσωμα που ήταν συζευγμένο με τα φθορο-μικροσφαιρίδια και τα συνδεδεμένα προϊόντα σύζευξης φθορο-μικροσφαιριδίων μετρήθηκαν απευθείας χρησιμοποιώντας ένα συμβατικό μικροσκόπιο φθορισμού.

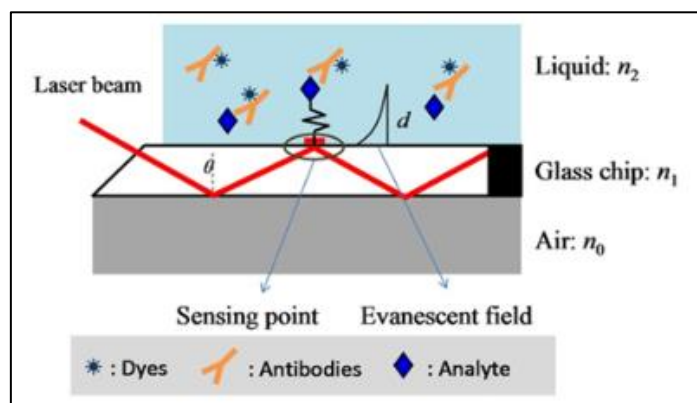




Εικόνα 12. Σχηματικό διάγραμμα ανοσοπροσδιορισμού με σύνδεση αντιγόνου/αντισώματος (Σύστημα 1) και δέσμευση αβιδίνης/βιοτινής (Σύστημα 2) στο FMGC. Το ζεύγος αβιδίνης/βιοτινής χρησιμοποιείται για ενίσχυση του σήματος [22].

### Βιοαισθητήρες φθορισμού εξερχόμενου πεδίου - Evanescent wave fluorescence biosensors

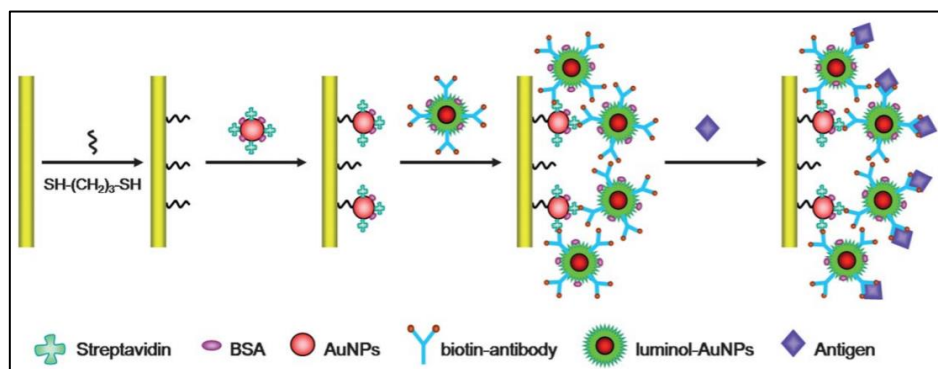
Εξερχόμενο πεδίο ή evanescent κύμα είναι ένα ταλαντευόμενο ηλεκτρικό ή και μαγνητικό πεδίο που δεν διαδίδεται ως ηλεκτρομαγνητικό κύμα αλλά του οποίου η ενέργεια συγκεντρώνεται χωρικά κοντά στην πηγή. Σε αυτούς τους βιοαισθητήρες, το καθοδηγούμενο φως ανακλάται ολικά εσωτερικά όταν συναντά τη διεπαφή του κυματοδηγού ή της ίνας και ενός περιβάλλοντος μέσου με χαμηλότερο δείκτη διάθλασης, με αποτέλεσμα ένα εξερχόμενο πεδίο να εκτείνεται από τη διεπαφή στο μέσο χαμηλότερου δείκτη και να φθίνει εκθετικά με την απόσταση από την επιφάνεια (Εικόνα 13). Έτσι, η ανίχνευση που χρησιμοποιεί διέγερση κύματος για να δημιουργήσει το σήμα φθορισμού είναι ευαίσθητη στην επιφάνεια, πράγμα που σημαίνει ότι διεγείρονται μόνο μόρια φθορισμού κοντά στην επιφάνεια. Αυτός ο γεωμετρικός περιορισμός μπορεί να βοηθήσει στην ελαχιστοποίηση του ανεπιθύμητου σήματος υποβάθρου από ένα μαζικό δείγμα, ενώ παράλληλα να ενισχύσει το σήμα από τα φθοροφόρα της επιφάνειας. Ποικιλία βιοαισθητήρων αναπτύχθηκε με βάση αυτήν την αρχή με ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών που κυμαίνονται από κλινική διάγνωση έως δοκιμές τροφίμων [20].



Εικόνα 13. Σχηματικό διάγραμμα ενός οπτικού κυματοδηγού εξερχόμενου πεδίου [20].

## Βιοαισθητήρες φωταύγειας

Πρόσφατα, βιοαισθητήρες βασισμένοι σε μεθόδους φωταύγειας έχουν αναπτυχθεί και για την ανίχνευση καρδιακών βιοδεικτών και έχουν κατηγοριοποιηθεί σε δύο τύπους, δηλαδή τη χημειοφωταύγεια (CL) και τον ηλεκτροφωταύγεια (ECL). Ηλεκτροχημειοφωταύγεια θεωρείται η παραγωγή φωταύγειας κατά τη διάρκεια της ηλεκτροχημικής αντίδρασης. Το 2013, ο Li και οι συνεργάτες του ανέφεραν τη δυνατότητα ενός ευαίσθητου βιοαισθητήρα ECL, χωρίς επισήμηση, με χρήση νανοσωματιδίων χρυσού που λειτουργούσαν με φωτεινό φως ως φορείς αντισωμάτων για την ανίχνευση της cTnI (Εικόνα 14) [23]. Αντισώματα έναντι cTnI συζευγμένα με τα νανοσωματίδια, συγκεντρώθηκαν σε τροποποιημένο ηλεκτρόδιο επικαλυμμένο με στρεπταβιδίνη. Τα μόρια ενεργοποίησαν την επιφάνεια του ηλεκτροδίου για τη δημιουργία σημάτων ECL και συνδέθηκαν με το τροποποιημένο ηλεκτρόδιο για αναγνώριση του στόχου cTnI. Η αντίδραση ECL σχημάτισε αλληλεπιδράσεις ηλεκτρομεταφοράς και η ένταση της ECL εξαρτόταν από τη συγκέντρωση της cTnI.



Εικόνα 14. Σχηματική απεικόνιση της κατασκευής βιοαισθητήρα ECL χωρίς ετικέτα[23].

## Βιοαισθητήρες σκέδασης Raman με ενίσχυση επιφάνειας - Surface-enhanced Raman scattering biosensors (SERS)

Πρόκειται για μια τεχνική που ενισχύει την ένταση των φασμάτων δονήσεως ενός μορίου κατά αρκετές τάξεις μεγέθους. Η ενίσχυση συμβαίνει σε μια μεταλλική επιφάνεια που έχει τραχύτητα νανοκλίμακας και τα μόρια που προσροφώνται σε αυτήν την επιφάνεια μπορούν να υποστούν ενίσχυση. Τα τυπικά μέταλλα που χρησιμοποιούνται είναι ο χρυσός και το ασήμι. Η προετοιμασία της επιφάνειας μπορεί να παρέχεται μέσω ηλεκτροχημικής σκλήρυνσης, μεταλλικής επικάλυψης νανοδομημένου υποστρώματος ή εναπόθεσης μεταλλικών νανοσωματιδίων. Το 2014, ο Chon και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν έναν αισθητήρα SERS για ανίχνευση cTnI και CK-MB [24].

## Ελλειψομετρικοί βιοαισθητήρες - Ellipsometric biosensors

Ένας ελλειψομετρικός βιοαισθητήρας μετρά τις αλλαγές στην πόλωση του φωτός όταν αυτό ανακλάται από μια επιφάνεια. Τέτοια μορφή πλατφόρμας εφαρμόστηκε για την ανίχνευση της

σύνδεσης στελεχών του ιού της γρίπης Α με μια ομάδα γλυκανών διαφορετικών δομών και οι φαινομενικές σταθερές διάστασης σε ισορροπία χρησιμοποιήθηκαν ως χαρακτηριστικές παράμετροι των ιικών υποδοχέων [20].

### Βιοαισθητήρες φασματοσκοπίας ανακλαστομετρικής παρεμβολής - Reflectometric interference spectroscopy biosensors

Η φασματοσκοπία ανακλαστομετρικής παρεμβολής (RIFS) είναι μια μέθοδος χωρίς ετικέτα και επιλυμένη στο χρόνο, όπου η απλή οπτική ανίχνευση βασίζεται σε παρεμβολές λευκού φωτός σε λεπτά στρώματα. Οι αλλαγές στη φάση και το εύρος του πολωμένου φωτός παρέχουν πληροφορίες σχετικά με το πάχος και τον δείκτη διάθλασης της στοιβάδας μιας προσροφημένης πρωτεΐνης [20].

Συμπερασματικά, οι οπτικοί βιοαισθητήρες αναμένεται να παίξουν σημαντικό ρόλο στον τομέα της υγειονομικής περίθαλψης, των βιοϊατρικών και των βιοφαρμακευτικών προϊόντων. Διάφορες τεχνικές ενίσχυσης ευαισθησίας για οπτικούς βιοαισθητήρες έχουν αναπτυχθεί για βελτίωση της αναλογίας σήματος προς θόρυβο και οι οπτικοί βιοαισθητήρες έχουν δοκιμαστεί με επιτυχία σε πολλούς τομείς όπως στην υγεία, στην ασφάλεια των τροφίμων, στο περιβάλλον ή στη βιοτεχνολογία. κ.λπ. Βέβαια, οι οπτικοί βιοαισθητήρες και κυρίως οι ανιχνευτές καρδιακής τροπονίνης, σε σύγκριση με τους ηλεκτροχημικούς, είναι πιο ογκώδεις και ακριβοί και απαιτούν επίσης δύσκολες διαδικασίες επισήμανσης και αυτός είναι ο λόγος που η ευρεία πρακτική εφαρμογή τους είναι υπό ανάπτυξη και περιορίζεται κυρίως σε ακαδημαϊκά και ερευνητικά περιβάλλοντα. Η κύρια πρόκληση για περαιτέρω έρευνα και καινοτομία στον τομέα των οπτικών βιοαισθητήρων είναι η κατασκευή ευαίσθητων, απλών και φθηνών αναλυτικών συσκευών με μεγάλη ποικιλία πιθανών εφαρμογών.

#### 2.2.2 Μαγνητικές Τεχνικές

Τα τελευταία χρόνια, οι μαγνητικές τεχνικές ανίχνευσης, μέτρησης και ταυτοποίησης ουσιών έχουν αναδειχθεί ως μια πολλά υποσχόμενη νέα πλατφόρμα τεχνολογίας για διάφορους αισθητήρες. Οι μέθοδοι αυτές γενικά βασίζονται στην παρατήρηση του μαγνητικού πεδίου ενός μαγνητικά επισημασμένου βιομορίου που αλληλεπιδρά με ένα συμπληρωματικό βιομόριο που είναι συνδεδεμένο με έναν αισθητήρα. Οι μαγνητικοί βιοαισθητήρες παρουσιάζουν αρκετά πλεονεκτήματα. Διακρίνονται για τη σταθερότητά τους στο χρόνο που είναι εξαιρετικής σημασίας

για τεστ επισημάνσης σε ιστούς και όργανα ενώ ταυτόχρονα δεν παρουσιάζουν φαινόμενα θορύβου [25].

Στην ανάπτυξη μαγνητικών βιοαισθητήρων συνήθως χρησιμοποιούνται τα λεγόμενα μαγνητικά νανοσφαιρίδια (magnetic nanobeads-MNBs ή magnetic nanoparticles-MNPs). Αυτά συντίθενται με τη μέθοδο της συγκαταβύθισης με δομή πυρήνα-κελύφους. Ο μαγνητικός πυρήνας προσδίδει στα MNBs τις υπερ-παραμαγνητικές ιδιότητες, οι οποίες τα οδηγούν να κινούνται κατά μήκος των δυναμικών γραμμών υπό την επίδραση εξωτερικού μαγνητικού πεδίου και να διασκορπίζονται μετά την αφαίρεσή του. Το πολυμερές κέλυφος αποδίδει στα MNBs διάφορες λειτουργίες που τους επιτρέπουν να τροποποιηθούν περαιτέρω με διάφορα επιθυμητά βιοχημικά υλικά για ειδική σύνδεση με βιολογικούς στόχους. Τα μαγνητικά νανοσφαιρίδια χαρακτηρίζονται από εξαιρετική παραμαγνητική ιδιότητα, υψηλής εξειδίκευσης επιφάνεια, ταχείες αντιδράσεις, καλή βιολογική συμβατότητα και ελεγχόμενο φυσικό μέγεθος και τα πλεονεκτήματά τους αυτά είναι ο λόγος που συχνά έχουν αναφερθεί για βιολογική σήμανση, ενίσχυση σήματος ή και τα δύο σε διάφορους βιοαισθητήρες [26].

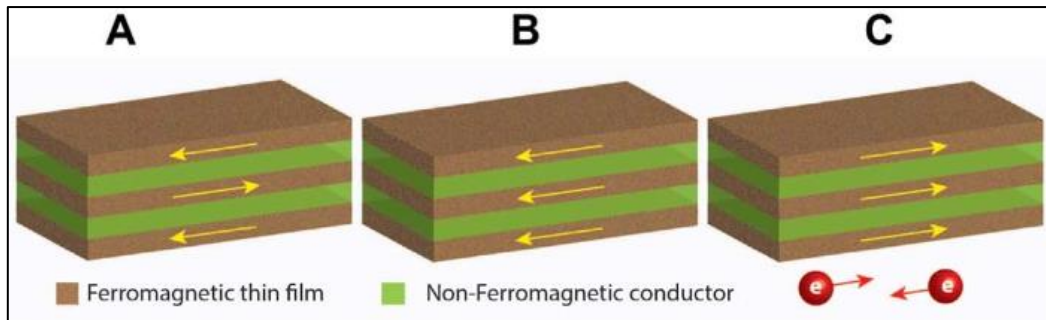
Καθώς η επιστημονική έρευνα τα τελευταία χρόνια έχει στραφεί σε τάση ελαχιστοποίησης των διαστάσεων των συσκευών ανίχνευσης, το ενδιαφέρον στράφηκε στην τεχνολογία των μικρορευστών. Πρόκειται για μια τεχνολογία που μπορεί να περιορίσει και να αναμίξει πολύ μικρούς όγκους υγρών σε συσκευές ενσωματωμένες σε τσιπ τεχνολογίας πυριτίου. Τέτοιοι αισθητήρες είναι ικανοί, με χρήση MNBs σε συνδυασμό με εφαρμογή μαγνητικών πεδίων, να μεταφράζουν άμεσα την παρουσία βιολογικών οντοτήτων σε ένα ηλεκτρονικό σήμα που μπορεί να διαβαστεί με ένα φορητό όργανο [27].

Στη συνέχεια παρουσιάζονται συνοπτικά οι βασικές αρχές λειτουργίας των πιο κοινών βιοαισθητήρων με τεχνολογία ανίχνευσης που βασίζεται στο μαγνητισμό.

#### Αισθητήρες μαγνητικής αντίστασης συζευγμένου πολυστρώματος (Giant magnetoresistance coupled multilayer - GMR) και βαλβίδα περιστροφής GMR

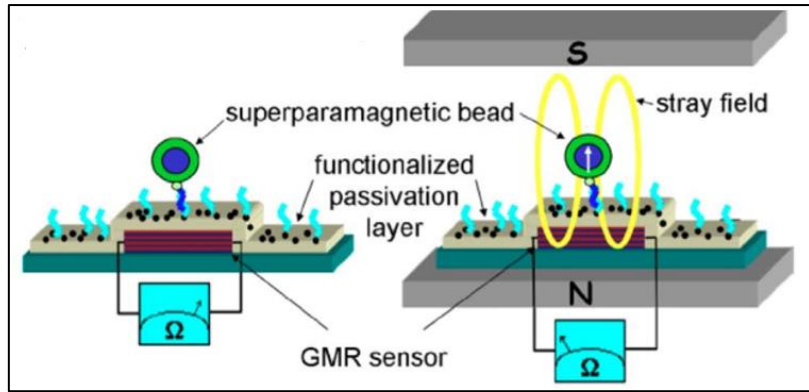
Το φαινόμενο της «γιγαντιαίας» μαγνητικής αντίστασης (GMR) συμβαίνει σε μια πολυστρωματική δομή στην οποία εναποτίθενται εναλλάξ λεπτές μαγνητικές και μη μαγνητικές μεμβράνες. Όταν δεν υπάρχει εξωτερικό μαγνητικό πεδίο, η μαγνήτιση όλων των σιδηρομαγνητικών στρωμάτων γίνεται αντίθετη με αυτή των γειτόνων τους. Σε αυτήν την κατάσταση, οι περιστροφές όλων των ηλεκτρονίων βρίσκονται σε χαμηλά κανάλια αγωγιμότητας, λόγω της σύγκρουσης περιστροφών στις διεπαφές μεταξύ των μαγνητικών και των μη μαγνητικών στρωμάτων. Αυτή η κατάσταση ονομάζεται κατάσταση υψηλής αντίστασης (Εικόνα 15.Α). Όταν εφαρμόζεται ένα εξωτερικό μαγνητικό πεδίο, όλη

η μαγνήτιση του σιδηρομαγνητικού στρώματος είναι κορεσμένη στην κατεύθυνση του πεδίου. Σε αυτήν την κατάσταση, τα ηλεκτρόνια περιστρέφονται με τον προσανατολισμό στην ίδια κατεύθυνση, καθώς το εξωτερικό μαγνητικό πεδίο δεν έχει συγκρούσεις περιστροφής στις διεπαφές, επομένως βρίσκονται σε ένα κανάλι υψηλής αγωγιμότητας και αυτή η κατάσταση ονομάζεται κατάσταση χαμηλής αντίστασης (Εικόνα 15.Β και Εικόνα 15.Γ) [25].



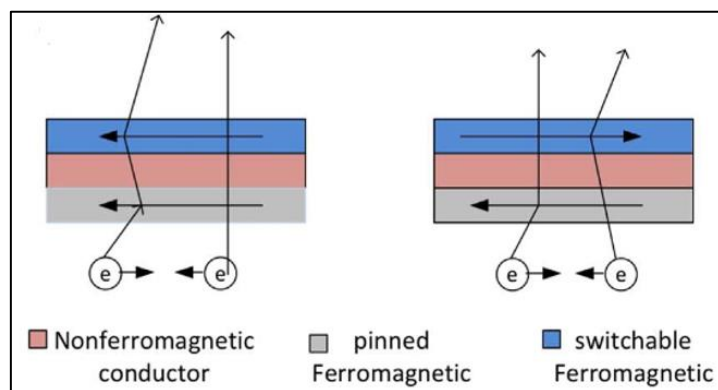
Εικόνα 15. Σχηματικό διάγραμμα ρεύματος στη δομή GMR όπου η μαγνήτιση των σιδηρομαγνητικών στρωμάτων: (Α) συνδέεται αντίθετα (κατάσταση υψηλής αντίστασης), (Β & Γ) είναι προσανατολισμένη σε μία κατεύθυνση (καταστάσεις χαμηλής αντίστασης) [25].

Οι βιοαισθητήρες που βασίζονται στο φαινόμενο αυτό, είναι σε θέση να ανιχνεύσουν πολύ χαμηλά μαγνητικά πεδία. Έχει προταθεί ένα πολυστρωματικό αισθητήριο σύστημα GMR βασισμένο σε ημιαγωγούς, που έγινε γνωστό ως τσιπ μετρητή συστοιχίας. Ειδικά αντιγόνα ακινητοποιούνται στην επιφάνεια του αισθητήρα. Υπερ-παραμαγνητικά νανοσφαιρίδια, συνδεδεμένα με ένα αντίσωμα-στόχο, χρησιμοποιούνται για ανίχνευση. Σε ένα στάδιο πλώσης, αφαιρούνται τα μη δεσμευμένα μαγνητικά σφαιρίδια και μετρούνται τα σφαιρίδια που συνδέονται με μόρια αντιγόνου. Η υπερ-παραμαγνητική φύση των σφαιριδίων επιτρέπει τον έλεγχο τους από ένα ομοιογενές εξωτερικό μαγνητικό πεδίο προσανατολισμένο κάθετα στην επιφάνεια του αισθητήρα (Εικόνα 16). Ως εκ τούτου, η ανίχνευση μπορεί να επιτευχθεί με την παρατήρηση της πτώσης της ηλεκτρικής αντίστασης του αισθητήρα GMR. Εφαρμογή ενός τέτοιου συστήματος έχει γίνει στον βιοαισθητήρα ανίχνευσης της ιντερλευκίνης-6 (IL-6), πιθανού βιοδείκτη καρκίνου, σε μη επεξεργασμένο ανθρώπινο ορό. Ο αισθητήρας GMR προσφέρει ανίχνευση IL-6 έως 125 fM μέσα σε 5 λεπτά απαιτώντας μόνο 4μL δείγματος ορού για ανάλυση [28].



Εικόνα 16. Σχηματική αναπαράσταση μαγνητικού βιοαισθητήρα (αριστερά). Εξωτερικό πεδίο ευθυγραμμίζει τη μαγνητική ροπή του σφαιριδίου και το μαγνητικό πεδίο μπορεί να ανιχνευθεί από τον αισθητήρα GMR (δεξιά) [25].

Μια παραλλαγή του αισθητήριου συστήματος GMR είναι η λεγόμενη «βαλβίδα περιστροφής» όπου το ρεύμα είναι κάθετο στο επίπεδο του φιλμ. Ένα στερεοποιημένο στρώμα, του οποίου η μαγνήτιση δεν αλλάζει με το εξωτερικό πεδίο, συνήθως στερεώνεται με ένα αντι-σιδηρομαγνητικό υπόστρωμα και ένα ελεύθερο στρώμα λειτουργεί ως διακόπτης της βαλβίδας περιστροφής (Εικόνα 17). Όταν το ελεύθερο στρώμα είναι παράλληλο με το σταθερό στρώμα, τα ηλεκτρόνια, των οποίων οι περιστροφές έχουν τον ίδιο προσανατολισμό με τα στρώματα ταξιδεύουν σε ένα ευρύ κανάλι περιστροφής, ενώ οι αντίθετα προσανατολισμένες περιστροφές ηλεκτρονίων έχουν ένα στενό κανάλι. Όταν τα δύο στρώματα είναι αντιπαράλληλα, οι περιστροφές ηλεκτρονίων σε οποιοδήποτε προσανατολισμό έχουν στενό κανάλι στο στρώμα με την αντίθετη μαγνήτιση. Επομένως, η αντίσταση μιας παράλληλης κατάστασης είναι μικρότερη από την αντί-παράλληλη κατάσταση [25].

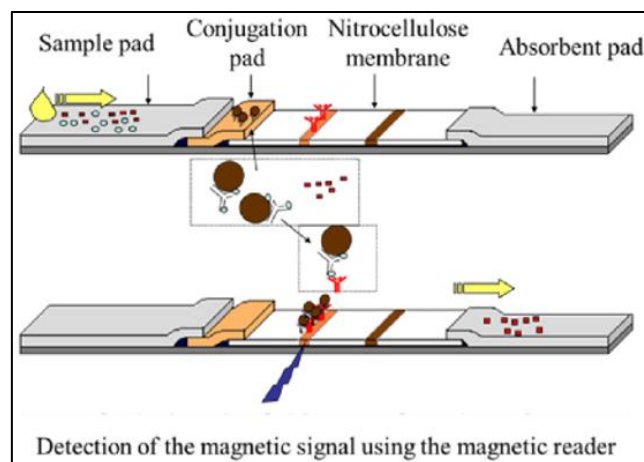


Εικόνα 17. Σχηματικό διάγραμμα της δομής της βαλβίδας περιστροφής σε παράλληλη κατάσταση (αριστερά) και (G) αντιπαράλληλη κατάσταση (δεξιά) [25].

### Αισθητήρες μαγνητικής πλευρικής ροής

Ένας τυπικός μαγνητικός βιοαισθητήρας πλευρικής ροής περιλαμβάνει τη μαγνητική λωρίδα και το μαγνητικό αναγνώστη. Όταν ένα δείγμα πέφτει πάνω στο μαξιλάρι δείγματος της μαγνητικής ταινίας

και ρέει μέσα από το μαξιλάρι σύζευξης που έχει φορτωθεί με τροποποιημένα MNBs σύλληψης αντισωμάτων, οι στόχοι συνδέονται με τα MNBs σχηματίζοντας τους μαγνητικούς στόχους. Οι μαγνητικοί στόχοι συλλαμβάνονται στη συνέχεια από αντισώματα ανίχνευσης που είναι ακινητοποιημένα στην γραμμή δοκιμής, ενώ οι μη στόχοι ρέουν μέσω της μεμβράνης και απορροφώνται από το απορροφητικό στρώμα (Εικόνα 18). Η ποσοτικοποίηση γίνεται με τη μαγνητική συσκευή ανάγνωσης που αποτελείται από ένα πηνίο ενεργοποίησης, ένα πηνίο διαφορικής ανίχνευσης και έναν μικροελεγκτή. Οι βιοαισθητήρες μαγνητικής πλευρικής ροής έχουν αναφερθεί για την ανίχνευση ιών, βακτηρίων και βιοδεικτών καθώς διακρίνονται για τη γρήγορη ανίχνευση, την εύκολη λειτουργία και το χαμηλό τους κόστος [26].



Εικόνα 18. Μαγνητικός βιοαισθητήρας πλευρικής ροής με συμβατική μαγνητική ταινία [26].

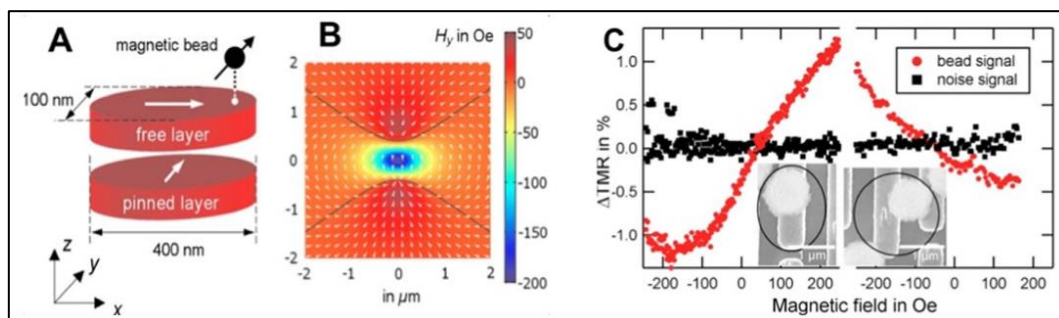
Ένα ενδιαφέρον παράδειγμα αποτελεί ο αισθητήρας πλευρικής ροής με χρήση συστήματος GMR για τη μέτρηση της μαγνήτισης των MNBs στη γραμμή δοκιμής υπό την επίδραση ταλαντευόμενου μαγνητικού πεδίου[29]. Αυτός ο βιοαισθητήρας συνδυάστηκε με τη τεχνολογία μικρορευστών και μπόρεσε να εντοπίσει ταυτόχρονα δώδεκα είδη δεικτών όγκων σε 15 λεπτά .

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθεί ότι έχει μελετηθεί επίσης η ευαισθησία ενός τεστ πλευρικής ροής για ανίχνευση της τροπονίνης I με ακινητοποίηση αντισωμάτων σε μαγνητικά σφαιρίδια και χρήση συστήματος GMR σε βελτιστοποιημένες συνθήκες[30]. Για την κατασκευή των μαγνητικών ετικετών, επιχειρήθηκε προσανατολισμένη ακινητοποίηση αντισωμάτων αντι-τροπονίνης I σε μαγνητικά σφαιρίδια που είχαν αρχικά συζευχθεί με την πρωτεΐνη G. Διερευνήθηκαν οι παράγοντες που επηρεάζουν την ευαισθησία ανίχνευσης στο σύστημα αυτό και φάνηκε ότι ήταν δυνατή η ανίχνευση της cTnI έως 0,01 ng/mL.

#### Μαγνητικές συνδέσεις σήραγγας (Magnetic tunnel junctions)



Η μαγνητική αντίσταση σήραγγας (TMR) είναι παρόμοια με την GMR αλλά έχει μη μαγνητικό μονωτικό στρώμα αντί για αγώγιμο με πάχος 1-2 nm που λέγεται φράγμα σήραγγας, έτσι ώστε τα ηλεκτρόνια να κυλούν μέσω καναλιού (Εικόνα 19.A). Οι αισθητήρες αυτής της τεχνολογίας είναι επίσης γνωστοί ως μαγνητικές συνδέσεις σήραγγας (MTJ) και έχουν την ικανότητα να ανιχνεύουν μαγνητικά μικρο- ή νανο- σφαιρίδια αποτελώντας αποδεδειγμένα τους πιο ευαίσθητους αισθητήρες μαγνητικής αντίστασης ιδίως όταν χρησιμοποιούν φράγμα σήραγγας MgO, το πάχος του οποίου μπορεί ποικίλει ρυθμίζοντας την ευαισθησία της συσκευής. Επιπλέον, το ρεύμα κατευθύνεται κάθετα στην επιφάνεια στρώσεων των MTJ και όχι στο επίπεδο του αισθητήρα όπως στις δομές GMR. Συστοιχίες αισθητήρων MTJ ελλειπτικού σχήματος έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση μαγνητικών μικροσφαιριδίων που γίνεται εφαρμόζοντας ένα dc μαγνητικό πεδίο παράλληλα με τον άξονα y (Εικόνα 19.B). Το ληφθέν σήμα εξαρτάται από τη θέση του σφαιριδίου σε σχέση με τον αισθητήρα (Εικόνα 19.Γ) [25].



Εικόνα 19. (A) Αρχική μαγνήτιση των σιδηρομαγνητικών ηλεκτροδίων, (B) Μαγνητικό πεδίο στο επίπεδο σφαιριδίου παράλληλο με τον άξονα y, (C) Ανίχνευση μεμονωμένων υπερπαραμαγνητικών σφαιριδίων σε σχέση με τον προσανατολισμό τους προς τον αισθητήρα [25].

### Αισθητήρες με βάση την ανισοτροπική μαγνητική αντίσταση (AMR)

Το φαινόμενο της ανισοτροπικής μαγνητικής αντίστασης (AMR) διατυπώθηκε παρατηρώντας αύξηση 0,033% στην ηλεκτρική αντίσταση του σιδήρου όταν αυτός υποβλήθηκε σε μαγνητικό πεδίο. Αιτία αποτελεί η διακύμανση της μέσης ελεύθερης διαδρομής των ηλεκτρονίων συναρτήσει της γωνίας της ταχύτητας τους σε σχέση με τη μαγνήτιση του υλικού. Φάνηκε έτσι η τοπική εξάρτηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας και αντίστασης από τον προσανατολισμό των διανυσμάτων της μαγνήτισης και της πυκνότητας ρεύματος. Η αντίσταση είναι υψηλή όταν η κατεύθυνση μαγνήτισης είναι παράλληλη με το ρεύμα και χαμηλή όταν είναι κάθετες. Η τεχνολογία AMR έχει εφαρμοστεί σε αισθητήρα δακτυλίου, όπου κατασκευάζεται ένα μονοστρωματικό στοιχείο ανίχνευσης σχήματος δακτυλίου και το υλικό AMR διαμορφώνεται από το ακτινικό πεδίο ενός μαγνητικού σφαιριδίου. Όταν το σφαιρίδιο είναι κεντραρισμένο πάνω από το δακτύλιο, η μαγνήτιση περιστρέφεται προς μια ακτινική προς τα έξω κατεύθυνση και αυτή η περιστροφή προκαλεί μείωση της απόστασης και ένα μετρήσιμο σήμα



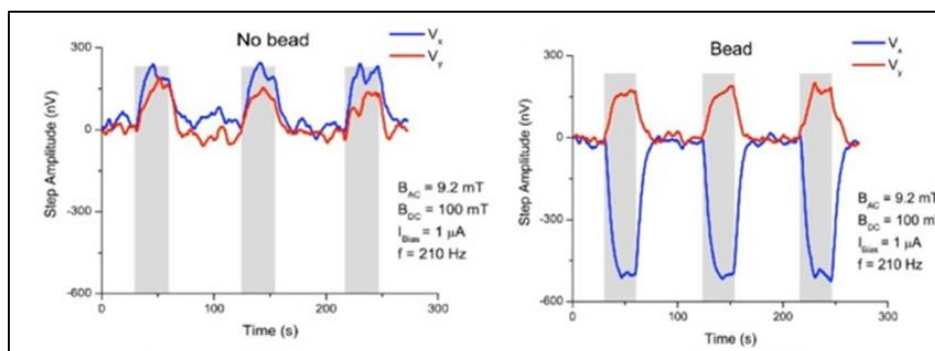
τάσης. Πρόσφατα, νανοδομές AMR με διαφορετικά σχήματα όπως σχήμα L, τετράγωνο και ζιγκ-ζαγκ έχουν χρησιμοποιηθεί σε αισθητήρες [25].

### Αισθητήρας υπεραγωγικής κβαντικής παρεμβολής (SQUID)

Αποτελεί έναν από τους πιο ευαίσθητους αισθητήρες χαμηλού πεδίου, όπου ένα εξωτερικά εφαρμοσμένο μαγνητικό πεδίο μαγνητίζει υπερπαραμαγνητικά νανοσφαιρίδια έτσι ώστε να ευθυγραμμίζονται κατά μήκος των δυναμικών γραμμών. Όταν αφαιρεθεί το μαγνητικό πεδίο, τα σωματίδια παραμένουν ευθυγραμμισμένα για μια σύντομη περίοδο (μαγνητική υπολειπόμενη κατάσταση) πριν τυχαιοποιηθούν ξανά. Ένα SQUID μετρά την μείωση του υπολειμματικού μαγνητισμού υπερπαραμαγνητικών νανοσωματιδίων που συνδέονται με στόχους [25].

### Αισθητήρες με βάση το φαινόμενο Hall

Το φαινόμενο Hall παρατηρείται όταν ρεύμα διαρρέει έναν αγωγό ή έναν ημιαγωγό ενώ ταυτοχρόνως εφαρμόζεται μαγνητικό πεδίο κάθετο στη διεύθυνση του ρεύματος. Τότε κατά μήκος του υλικού εμφανίζεται μια τάση η οποία είναι κάθετη και στο ρεύμα και στο μαγνητικό πεδίο και ονομάζεται τάση Hall. Οι αισθητήρες Hall παρουσιάζουν υψηλή μαγνητική ευαισθησία, μειωμένο θόρυβο σε συνθήκες θερμοκρασίας δωματίου και γραμμική απόκριση. Έχουν υιοθετηθεί για την ανίχνευση και τη καταμέτρηση μεμονωμένων μαγνητικών νανοσφαιριδίων που χρησιμοποιούνται ως βιολογικές ετικέτες. Η ανίχνευση και ο μαγνητικός χαρακτηρισμός των σφαιριδίων πραγματοποιείται με βάση μια σταδιακή αλλαγή του dc μαγνητικού πεδίου, ενώ για τις μετρήσεις απαιτείται μόνο η συνολική τάση εναλλασσόμενου ρεύματος (Εικόνα 20).



Εικόνα 20. Πτώση του σήματος κατά την εφαρμογή του στατικού πεδίου λόγω παρουσίας του σφαιριδίου. Φαίνονται οι εντός ( $V_x$ ) και εκτός ( $V_y$ ) φάσης συνιστώσες της τάσης Hall σε άδεια συσκευή (αριστερά) και σε συσκευή με σφαιρίδιο (δεξιά) [25].

### Αισθητήρες μαγνητικής χαλάρωσης (Magnetic relaxation switching-MRS)

Οι συσκευές ανίχνευσης MRS βασίζουν τη μέτρησή τους είτε στη διαμήκη ( $T_1$ ) είτε στην εγκάρσια ( $T_2$ ) χαλάρωση και έχουν αναφερθεί ότι ανιχνεύουν DNA, RNA, βακτήρια, ιούς και βιοδείκτες

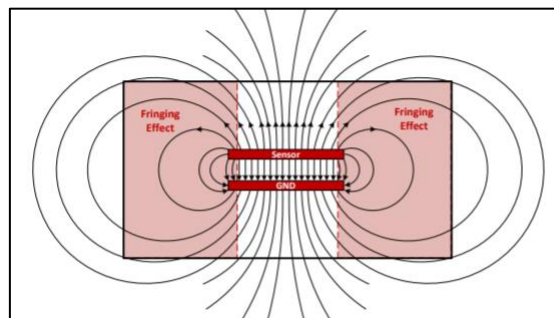
πρωτεΐνης. Οι βιοαισθητήρες MRS-T1 μετρούν την αλλαγή του T1 σε μια εναλλαγή της κατάστασης σθένους των παραμαγνητικών ιόντων. Η τιμή T1 μπορεί να επηρεαστεί από τη χημεία συντονισμού μεταξύ των ιόντων αυτών και διαφόρων παραγόντων. Οι βιοαισθητήρες MRS - T2 μετρούν την αλλαγή του T2 που προκαλείται από την κατάσταση των MNBs στο διάλυμα. Όταν δεν υπάρχει στόχος στο διάλυμα, τα MNBs παραμένουν διασκορπισμένα, με αποτέλεσμα υψηλότερο T2, ενώ όταν υπάρχουν στόχοι, τα MNBs κάνουν συζεύξεις με αυτούς, με αποτέλεσμα τη συγκέντρωση των MNBs και συνεπώς χαμηλότερο T2. Οι αισθητήρες MRS πλεονεκτούν έναντι των άλλων καθώς χρειάζονται απλή δειγματοληπτική επεξεργασία και έχουν μικρό χρόνο ανίχνευσης. Ωστόσο, η έλλειψη ενίσχυσης σήματος οδηγεί σε σχετικά χαμηλή ευαισθησία ενώ η επιφανειακή τροποποίηση και η μη ειδική προσρόφηση των MNBs μπορεί να μειώσουν την ακρίβεια και τη σταθερότητα [26].

### 2.2.3 Χωρητικές Τεχνικές

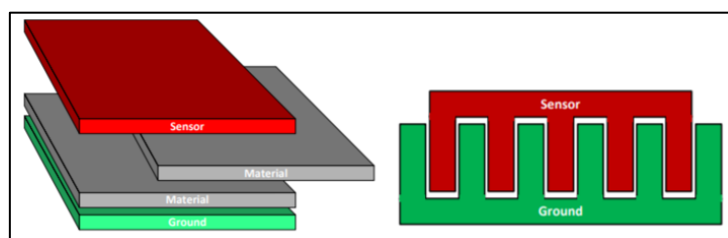
Η ιδιότητα της χωρητικότητας εμφανίζεται στον πυκνωτή, ένα ηλεκτρικό στοιχείο που αποτελείται από δύο αγωγούς που ονομάζονται οπλισμοί, μεταξύ των οποίων υπάρχει ένα διηλεκτρικό υλικό. Γενικά η έννοια αυτή περιγράφει πώς δύο αγωγά αντικείμενα με κενό μεταξύ τους ανταποκρίνονται σε μια διαφορά τάσης που εφαρμόζεται σε αυτά. Οι αισθητήρες χωρητικότητας λειτουργούν με βάση τις αλλαγές στις διηλεκτρικές ιδιότητες, την κατανομή φορτίου, τη διάσταση ή το σχήμα, όταν ο στόχος (π.χ. σύμπλοκο αντιγόνου/ αντισώματος) σχηματίζεται στην επιφάνεια ενός ηλεκτροδίου [31]. Στους αισθητήρες χωρητικότητας ανίχνευσης ουσιών, όταν ένα μόριο-στόχος συνδέεται με τον υποδοχέα, η μετατόπιση των αντίθετων ιόντων γύρω από το ηλεκτρόδιο οδηγεί σε μείωση της χωρητικότητας. Όσο μεγαλύτερη είναι η ποσότητα των στόχων που συνδέονται με τον υποδοχέα, τόσο μεγαλύτερη είναι και η μείωση της χωρητικότητας [32]. Αλλαγές μπορεί επίσης να προκληθούν όταν ένα μεγάλο μόριο υποδοχέα μετατοπιστεί από ένα μικρότερο μόριο-στόχο ή αν αλλάξει τη διαμόρφωσή του μετά τη σύνδεσή τους. Οι βιοαισθητήρες που μπορούν να ανιχνεύσουν βιομόρια μέσω των ιδιοτήτων αντιγόνων ή αντισωμάτων ονομάζονται βιοαισθητήρες συγγένειας (affinity). Οι χωρητικοί βιοαισθητήρες, λοιπόν, μπορούν να αποτελέσουν βιοαισθητήρες συγγένειας που λειτουργούν καταγράφοντας άμεση σύνδεση μεταξύ της επιφάνειας του αισθητήρα και του μορίου στόχου.

Υπάρχουν διάφορες τοπολογίες χωρητικού αισθητήρα που χρησιμοποιούνται ανάλογα με την εφαρμογή. Δύο από τις βασικές τοπολογίες που χρησιμοποιούνται για ανίχνευση είναι η «παράλληλης πλάκας» και η «παράλληλων δακτύλων» (Εικόνα 22) [33]. Η τοπολογία της παράλληλης πλάκας λειτουργεί ακριβώς όπως ένας κοινός πυκνωτής. Η χωρητικότητα μετριέται σε Farad και

δίνεται από τη σχέση  $C = (\epsilon_0 \epsilon_r A)/d$  (1), όπου  $A$  το εμβαδόν επιφάνειας των οπλισμών του πυκνωτή,  $\epsilon_0$  η απόλυτη διηλεκτρική σταθερά του κενού χώρου,  $\epsilon_r$  η ηλεκτρική διαπερατότητα του διηλεκτρικού (ή διηλεκτρική σταθερά του μέσου) και  $d$  η απόσταση μεταξύ των οπλισμών. Οι πλάκες ενός φορτισμένου πυκνωτή παράλληλης πλάκας φέρουν ίσο αλλά αντίθετο φορτίο απλωμένο ομοιόμορφα πάνω στις επιφάνειες των πλακών και οποιαδήποτε αλλαγή στα  $A$ ,  $d$  ή  $\epsilon_r$  προκαλεί αλλαγή στη χωρητικότητα. Οι δυναμικές γραμμές ηλεκτρικού πεδίου ξεκινούν από τη φορτισμένη πλάκα δυναμικού υψηλότερης τάσης και τελειώνουν στη φορτισμένη πλάκα δυναμικού χαμηλότερης τάσης (Εικόνα 21). Η υψηλή πυκνότητα των δυναμικών γραμμών μεταξύ των δύο πλακών επιτρέπει υψηλή ευαισθησία. Οι αισθητήρες αυτής της τοπολογίας παρέχουν καλή προσέγγιση εάν η απόσταση ( $d$ ) μεταξύ των πλακών είναι μικρή σε σύγκριση με τις άλλες διαστάσεις των πλακών. Η τοπολογία των παράλληλων δακτύλων λειτουργεί σύμφωνα με την αρχή της περιθωριακής (fringing) χωρητικότητας. Οι υπολογισμοί χωρητικότητας δεν είναι τόσο απλοί όσο η απλή μορφή παράλληλης πλάκας, αλλά η ευαισθησία των αισθητήρων αυξάνεται καθώς αυξάνεται το μέγεθος του αισθητήρα (μη γραμμικά).



Εικόνα 21. Ηλεκτρικό πεδίο σε πυκνωτή παράλληλης πλάκας [33].



Εικόνα 22. Τοπολογίες χωρητικού αισθητήρα: παράλληλης πλάκας (αριστερά) και παράλληλων δακτύλων (δεξιά) [33].

Ένα βασικό πλεονέκτημα των χωρητικών αισθητήρων έναντι άλλων προσεγγίσεων ανίχνευσης είναι η ικανότητά τους να ανιχνεύουν διαφορετικά είδη υλικών χωρίς φθορά. Ακόμη, παρουσιάζουν μεγάλη ευαισθησία και διακριτική ικανότητα και για αυτόν το λόγο έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία στον τομέα ανίχνευσης ουσιών ως βιοαισθητήρες ανίχνευσης πρωτεϊνών, νουκλεοτιδίων, σακχαριτών, μικρών οργανικών μορίων και μικροβιακών κυττάρων. Ωστόσο, επηρεάζονται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες και απαιτούν κατάλληλα για κάθε εφαρμογή ηλεκτρονικά κυκλώματα

ανάγνωσης και επεξεργασίας σήματος. Το ειδικό μειονέκτημά τους σε σύγκριση με άλλους τύπους άμεσων βιοαισθητήρων είναι ότι η ακινητοποίηση του στρώματος βιοαναγνώρισης είναι πιο κρίσιμη. Εάν δεν είναι επαρκώς μονωμένο, τα ιόντα μπορούν να κινούνται μέσω του στρώματος προκαλώντας βραχυκύκλωμα του συστήματος, οδηγώντας σε μείωση ή απουσία του σήματος.

### Τύποι χωρητικών αισθητήρων ανίχνευσης

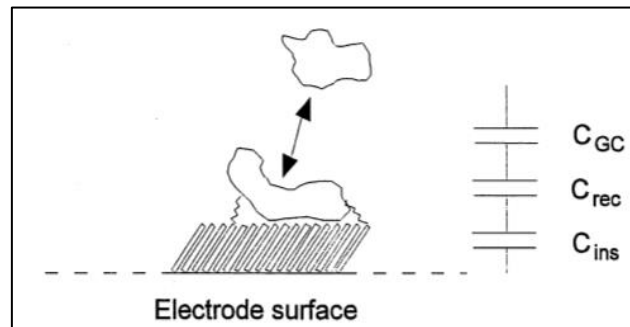
Υπάρχουν διάφορες προσεγγίσεις που έχουν εφαρμοστεί για μετρήσεις χωρητικότητας. Ακολουθούν συνοπτικά οι βασικές αρχές λειτουργίας των πιο κοινών χωρητικών βιοαισθητήρων ανίχνευσης.

- Αισθητήρες διεπαφής ηλεκτροδίων-διαλυμάτων

Αυτός ο τύπος αισθητήρων βασίζεται στη θεωρία του ηλεκτρικού διπλού στρώματος. Ένα ζεύγος κατάλληλα διαμορφωμένων ηλεκτροδίων, βυθισμένο σε διάλυμα ηλεκτρολύτη μοιάζει γενικά με πυκνωτή στην ικανότητά του να αποθηκεύει φορτίο. Για ένα δεδομένο δυναμικό, το ηλεκτρόδιο θα έχει ένα φορτίο  $q_m$  και το διάλυμα ένα άλλο φορτίο  $q_s$ , με  $q_m = -q_s$ . Τα δίπολα θα προσανατολίζονται στη διεπαφή ηλεκτροδίου-διαλύματος, αποτελώντας έτσι το ηλεκτρικό διπλό στρώμα. Πιο κοντά στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου, τα ειδικά προσροφημένα είδη αποτελούν το συμπαγές επίπεδο Helmholtz ή στρώμα Stern και έτσι τα διαλυμένα ιόντα μπορούν να προσεγγίσουν μόνο την επιφάνεια του ηλεκτροδίου σε απόσταση μιας μονοστιβάδας προσανατολισμένων μορίων διαλυτών. Κατά την κατασκευή ενός τέτοιου χωρητικού βιοαισθητήρα, η επιφάνεια του ηλεκτροδίου καλύπτεται συνήθως με ένα μονωτικό στρώμα και το στοιχείο βιοαναγνώρισης ακινητοποιείται πάνω από αυτό το στρώμα. Σε αυτή την περίπτωση, τα διαλυόμενα ιόντα και τα μόρια του νερού ωθούνται πιο έξω από την επιφάνεια του ηλεκτροδίου, προκαλώντας έτσι μια αλλαγή στην χωρητικότητα. Η χωρητικότητα σε μια διεπαφή ηλεκτροδίου-διαλύματος μπορεί να αποτελείται από πολλούς πυκνωτές σε σειρά, σύμφωνα με την Εικόνα 23. Η πρώτη χωρητικότητα,  $C_{ins}$  αποτελεί το μονωτικό στρώμα στην επιφάνεια. Η δεύτερη  $C_{rec}$ , περιλαμβάνει το συνδεδεμένο στοιχείο αναγνώρισης και οποιαδήποτε συμβολή από το στρώμα Stern. Η τρίτη, CGC περιγράφεται από το εξαρτώμενο από τη συγκέντρωση διάχυτο στρώμα, που εκτείνεται προς το μεγαλύτερο μέρος του διαλύματος. Η δέσμευση του μορίου-στόχου θα δώσει μια αλλαγή στην χωρητικότητα του στρώματος αναγνώρισης  $C_{rec}$  και η συνολική χωρητικότητα  $C_{tot}$  θα δοθεί από την εξίσωση:  $\frac{1}{C_{tot}} = \frac{1}{C_{ins}} + \frac{1}{C_{rec}} + \frac{1}{CGC}$  (2). Όπως φαίνεται, η χαμηλότερη χωρητικότητα θα κυριαρχήσει στη συνολική χωρητικότητα. Είναι επομένως σημαντικό να σχεδιαστεί η επιφάνεια έτσι ώστε η χωρητικότητα στο μονωτικό στρώμα να είναι όσο το δυνατόν μεγαλύτερη, διαφορετικά θα κυριαρχήσει και οι αλλαγές δε θα είναι ανιχνεύσιμες [31].

Στους βιοαισθητήρες αυτού του είδους, τα αντισώματα έχουν συζευχθεί με ημιαγωγούς (κυρίως πυρίτιο), οξείδια μετάλλων και με αυτοσυναρμολογημένες μονοστιβάδες (SAM) ενώσεων θείου σε

χρυσό. Η εισαγωγή των τελευταίων ήταν θεμελιώδης στην ανάπτυξη βιοαισθητήρων άμεσης σύνδεσης. Είναι γνωστό ότι οι αλκανοθειόλες μακράς αλυσίδας σχηματίζουν μονωμένες και καλά οργανωμένες δομές πάνω σε χρυσό και έτσι, η σύνδεση που σχηματίζεται μεταξύ του ατόμου θείου και του χρυσού είναι πολύ ισχυρή με αποτέλεσμα οι σχηματισμένες SAMs να είναι σταθερές σε αέρα, νερό ή αιθανόλη σε θερμοκρασία δωματίου. Με την τεχνολογία SAM, χρησιμοποιήθηκαν χρυσές επιφάνειες επικαλυμμένες με αλκανοθειόλες, μερικές από τις οποίες είχαν αντιδραστικές ομάδες όπου θα μπορούσαν να ακινητοποιηθούν αντισώματα ή άλλοι συνδέτες [34].



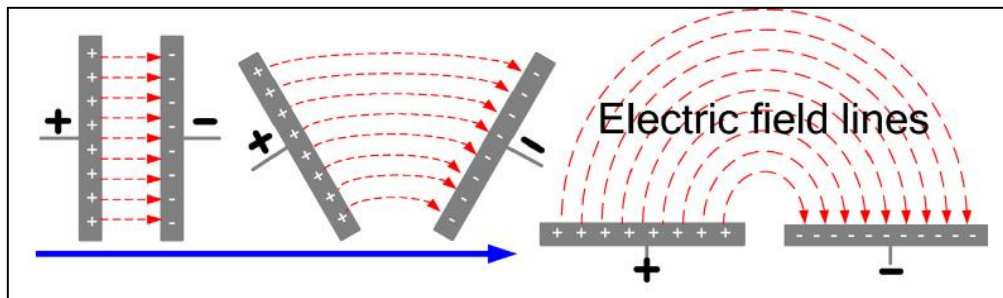
Εικόνα 23. Σχηματική αναπαράσταση ενός χωρητικού βιοαισθητήρα, όπου η συνολική χωρητικότητα περιγράφεται από διάφορους πυκνωτές σε σειρά [31].

- Αισθητήρες ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων (interdigitated electrodes - IDE)

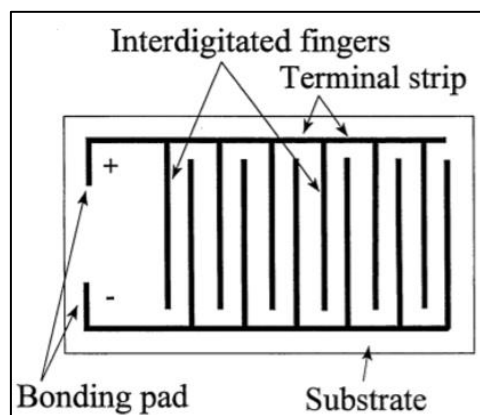
Για την παροχή μιας μεγαλύτερης επιφάνειας από αυτή των σπλισμών του κοινού πυκνωτή, σε ίδιες διαστάσεις αισθητήρα, τα ηλεκτρόδια πήραν τη μορφή τοπολογίας χτενιού. Οι αισθητήρες αυτοί είναι γνωστοί με το όνομα “interdigitated” ή ισοδύναμα με τους όρους “periodic”, “microstrip”, “comb”, “interdigital”. Ένας χωρητικός αισθητήρας με πολλαπλά διεισδυτικά ηλεκτρόδια χτένας (IDE sensor) έχει παρόμοια αρχή λειτουργίας με εκείνη του πυκνωτή παράλληλων πλακών. Η Εικόνα 24 δείχνει τη μετατροπή του πυκνωτή παράλληλης πλάκας σε έναν ενδιάμεσο χωρητικό αισθητήρα. Η χωρητικότητα ενός αισθητήρα IDE δίνεται από την εξίσωση  $C = (\eta \cdot \epsilon \cdot l \cdot t) / d$  (3), όπου  $\eta$  ο αριθμός των δακτύλων,  $\epsilon$  η διαπερατότητα της ευαίσθητης μεμβράνης επίστρωσης,  $l$  το μήκος των ηλεκτροδίων,  $t$  το πάχος των ηλεκτροδίων και  $d$  είναι η απόσταση μεταξύ τους. Βέβαια, αυτός ο υπολογισμός της χωρητικότητας δεν μπορεί να εφαρμοστεί όταν χρησιμοποιούνται ηλεκτρόδια νανοκλίμακας.

Εφαρμόζοντας διαφορετικά δυναμικά στα ηλεκτρόδια του χτενιού, δημιουργούνται τα “Fringing” (περιθωριακά) πεδία μεταξύ των θετικών και αρνητικών ηλεκτροδίων. Αυτά τα πεδία ταξιδεύουν από θετικό στο αρνητικό ηλεκτρόδιο περνώντας από το υλικό ανίχνευσης που έρχεται σε επαφή με τα ηλεκτρόδια. Η γεωμετρία του ηλεκτροδίου και του υλικού καθώς και οι διηλεκτρικές ιδιότητες του υλικού επηρεάζουν την χωρητικότητα και την αγωγιμότητα μεταξύ των ηλεκτροδίων. Η έξοδος (σύνθετη αντίσταση και χωρητικότητα) μπορεί να ρυθμιστεί με επιλεκτικό σχεδιασμό του πλάτους,

του διαστήματος και της ενεργού περιοχής των ηλεκτροδίων σε έναν IDE αισθητήρα με αποτέλεσμα την παροχή ιδιαίτερα υψηλής ευαισθησίας (Εικόνα 25). Ως εκ τούτου, οι εφαρμογές του interdigitated χωρητικού αισθητήρα χρησιμοποιήθηκαν ευρέως σε επιθεώρηση τροφίμων, αισθητήρες υγρασίας, εφαρμογές βιοαισθητήρων (άμεση ανίχνευση νευροδιαβιβαστών, γλυκόζης, αντισωμάτων HIV) κ.λπ. καθώς ξεχωρίζουν για την εύκολη και χαμηλού κόστους κατασκευή τους αλλά και για την υψηλή ευαισθησία τους [35].



Εικόνα 24. Από τον πυκνωτή παράλληλης πλάκας στον IDE πυκνωτή [35].

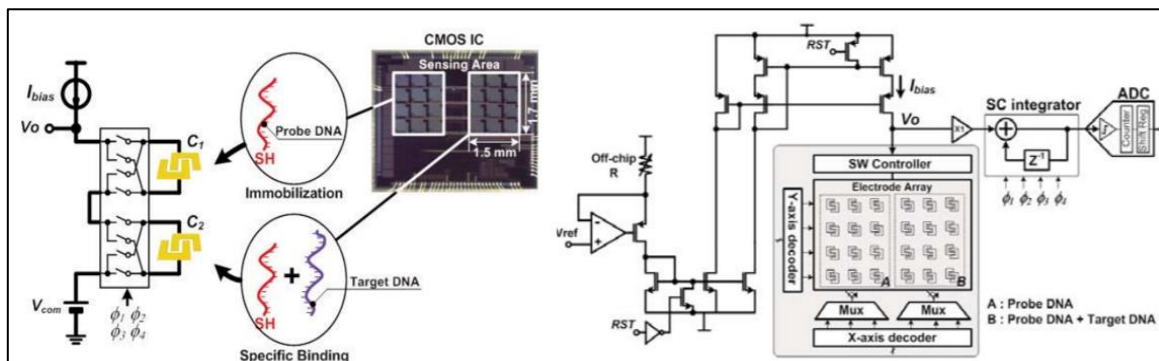


Εικόνα 25. Αισθητήρας interdigitated ηλεκτροδίων (IDE) [31].

Σε αυτό το σημείο, θα πρέπει να αναφερθεί πως έχει κατασκευαστεί τοιπ αισθητήρα από αποτελείται από συστοιχίες interdigitated πυκνωτών για ανίχνευση της καρδιακής τροπονίνης-I (cTn-I). Το τοιπ κατασκευάστηκε σε υπόστρωμα βόριο-πυριτικού γυαλιού χρησιμοποιώντας φωτολιθογραφία αντιστροφής εικόνας (για μεταφορά μοτίβου) και DC sputtering (για εναπόθεση χρυσού). Η επιφάνεια IDC ενεργοποιήθηκε χρησιμοποιώντας GPTMS για ακινητοποίηση αντισωμάτων. Η δέσμευση αντισώματος-αντιγόνου στην επιφάνεια IDC οδήγησε σε αλλαγή της χωρητικότητας του αισθητήρα IDC. Αυτή η αλλαγή σχετίζεται άμεσα με τη συγκέντρωση του αντιγόνου που δεσμεύεται στην επιφάνεια και βοηθά στον ποσοτικό προσδιορισμό. Καταγράφηκε εξαιρετικά ειδική και ευαίσθητη ανίχνευση της cTn-I σε πραγματικό ανθρώπινο ορό με αντίσωμα anti-cTn-I ακινητοποιημένο στην επιφάνεια IDC με εύρος ανίχνευσης 50pg-1500 pg/ml αντίστοιχα [36].

- Αισθητήρες CMOS

Έχει σχεδιαστεί ένας πλήρως ενσωματωμένος βιοαισθητήρας χωρητικότητας σε τεχνολογία CMOS. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 26, το σύστημα ανίχνευσης αποτελείται από τα ακόλουθα στοιχεία: μία πηγή ρεύματος ( $I_{bias}$ ), διαφορικά ζεύγη ηλεκτροδίων ( $C1$  και  $C2$ ), μια κοινή τάση ( $V_{com}$ ) και ένα χειριστήριο διακοπών. Η διαφορική αρχιτεκτονική σε αυτή τη συσκευή ανιχνεύει τη σχετική διαφορά στην χωρητικότητα ( $\Delta C = |C1 - C2|$ ) μεταξύ των ηλεκτροδίων. Επίσης εξαιρεί τις παρεμβολές πηγών θορύβου, επιτρέποντας έτσι ακριβείς μετρήσεις. Το εύρος μοριακής ανίχνευσης είναι διαμορφώσιμο, καθώς το ρεύμα που ρέει μέσα από τα ηλεκτρόδια ρυθμίζεται χρησιμοποιώντας εξωτερική μεταβλητή αντίσταση. Η διαφορά μεταξύ των μετρημένων χωρητικοτήτων των ηλεκτροδίων συσσωρεύεται από έναν πυκνωτή μεταγωγής διακριτού χρόνου. Το τσιπ περιλαμβάνει ένα συμπαγές στοιχείο ADC, το οποίο αποτελείται από έναν συγκριτή, μετρητές και έναν καταχωρητή, που διασυνδέουν το συσσωρευμένο σήμα με εξωτερικές ψηφιακές συσκευές. Έχει αποδειχθεί ότι αυτή η συσκευή μπορεί να κάνει διάκριση μεταξύ πλήρως αντιστοιχισμένων συμπληρωματικών και μη αλληλουχιών DNA, ικανοποιώντας τις απαιτήσεις της εξατομικευμένης ιατρικής [37].



Εικόνα 26. Χωρητικός βιοαισθητήρας CMOS (αριστερά) και αρχιτεκτονική του συστήματος του αισθητήρα (δεξιά) [37].

### Τρόποι μέτρησης χωρητικότητας

Υπάρχουν αρκετές διαφορετικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό της χωρητικότητας. Η πρόταση ενός κατάλληλου μοντέλου απαιτεί γνώση της φυσικής αλλά και της ανάγκης προσαρμογής των παραμέτρων του συστήματος. Κάποιες από αυτές είναι η μέθοδος συντονισμού, η μέθοδος γέφυρας εναλλασσόμενου ρεύματος (AC), η μέθοδος μετατροπής χωρητικότητας σε συχνότητα (C-F), η μέθοδος φόρτισης και εκφόρτισης και η μέθοδος χωρητικότητας-τάσης (C-V). Δύο ακόμη κοινές μέθοδοι που θα αναλυθούν παρακάτω είναι η μέτρηση σύνθετης αντίστασης και η βηματική μέτρηση. Η μέθοδος συντονισμού απαιτεί να βρεθεί η συχνότητα συντονισμού του κυκλώματος και επομένως δεν είναι κατάλληλη για εφαρμογές με υψηλές μεταβολές. Η μέθοδος AC χρησιμοποιείται

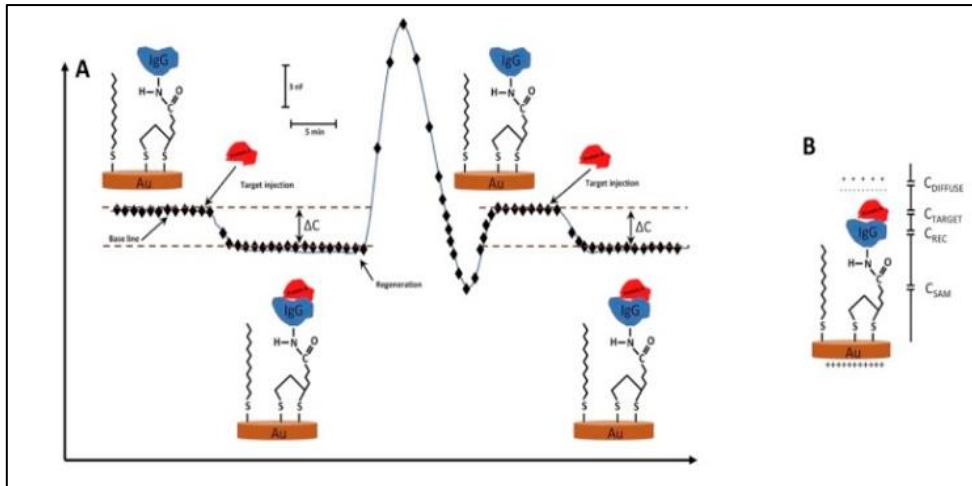


για μέτρηση μικρής χωρητικότητας. Αυτή η προσέγγιση παρέχει υψηλή ακρίβεια και ανάλυση αλλά συνήθως χρειάζεται πειραματική ρύθμιση των παραμέτρων και έτσι δεν είναι κατάλληλη για συνεχείς και γρήγορες μετρήσεις. Η μέθοδος C-F μετατρέπει την χωρητικότητα σε σήμα συχνότητας. Αυτά τα συστήματα είναι απλά στην κατασκευή, αλλά εμφανίζουν χαμηλή ακρίβεια, ασταθή συχνότητα και ευαισθησία σε αλλαγές θερμοκρασίας. Η μέθοδος φόρτισης και εκφόρτισης ρεύματος μπορεί να μετρήσει την χωρητικότητα σε επίπεδο pF, αλλά χρησιμοποιεί DC ρεύμα για την ενίσχυση των σημάτων, οδηγώντας σε DC σφάλμα. Η μέθοδος μετατροπής C-V παρουσιάζει ανοχή σε θορύβους, γρήγορη χρονική απόκριση και υψηλή ανάλυση [38].

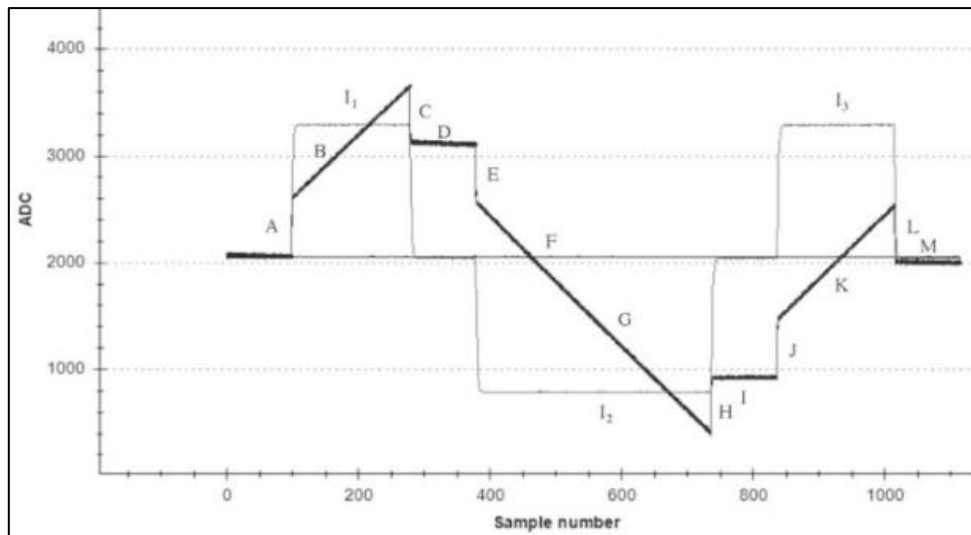
Όσον αφορά τη μέτρηση σύνθετης αντίστασης, μια τάση εναλλασσόμενου ρεύματος, εφαρμόζεται στο σύστημα. Σε ένα κύκλωμα αντίστασης-πυκνωτή RC η σύνθετη αντίσταση μπορεί να περιγραφεί από την εξίσωση  $Z = \sqrt{R^2 + (1/2\pi fC)^2}$  (4), όπου Z είναι η σύνθετη αντίσταση, R η αντίσταση, f η συχνότητα και C η χωρητικότητα. Συγκεκριμένα, η χωρητικότητα συμβάλλει στην σύνθετη αντίσταση που εξαρτάται από τη συχνότητα ( $z_1 = 1/2\pi fC$ ) και μάλιστα είναι μεταξύ τους αντίστροφα μεγέθη και η αντίσταση συμβάλλει στην σύνθετη αντίσταση που είναι ανεξάρτητη από τη συχνότητα ( $z_2 = R$ ). Όπως φαίνεται, η σύνθετη αντίσταση εξαρτάται από τη συχνότητα και στις υψηλές συχνότητες θα κυριαρχεί ο όρος αντίστασης. Κατά τη μελέτη ενός άγνωστου συστήματος χρησιμοποιούνται τα φάσματα σύνθετης αντίστασης που μπορούν να ληφθούν με μετρήσεις σε διαφορετικές συχνότητες. Για την αξιολόγηση της χωρητικότητας και της αντίστασης στο σύστημα χρησιμοποιείται η διαφορά φάσης μεταξύ της τάσης και του ρεύματος μαζί με την παραπάνω εξίσωση [31].

Ένας άλλος τρόπος για να εκτιμηθεί η χωρητικότητα είναι να διεγερθεί το σύστημα με βηματική συνάρτηση. Όταν χρησιμοποιείται ένας μικρός παλμός δυναμικού, λαμβάνεται μια απόκριση ρεύματος από την οποία μπορεί να υπολογιστεί η χωρητικότητα. Βέβαια, στις βηματικές μετρήσεις απαιτούνται σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις ηλεκτρολυτών καθώς το πόσο γρήγορα φθίνει το ρεύμα εξαρτάται από τη σταθερά χρόνου του συστήματος, με αποτέλεσμα σε υψηλές συγκεντρώσεις ηλεκτρολυτών να επιτευχθεί χαμηλή αντίσταση διαλύματος και άρα μόνο λίγες τιμές ρεύματος να δειγματοληφθούν πριν το ρεύμα φτάσει στο μηδέν. Οι χωρητικοί αισθητήρες που λειτουργούν με παλμούς δυναμικού είναι ευαίσθητοι σε εξωτερικές ηλεκτρονικές διαταραχές που μπορεί να οδηγήσουν σε ανακριβείς μετρήσεις ενώ οι παλμοί δυναμικού μπορεί ακόμη και να καταστρέψουν το στρώμα στο τσιπ του αισθητήρα. Αντιθέτως, μέθοδοι που χρησιμοποιούν παλμούς ρεύματος και καταγράφουν την απόκριση δυναμικού είναι πιο ισχυρές ηλεκτρονικά και παρέχουν μια πιο ακριβή ανάγνωση (Εικόνα 27, Εικόνα 28) [34].





Εικόνα 27. (Α) Σχηματικό διάγραμμα της αλλαγής της χωρητικότητας ( $\Delta C$ ) ως συνάρτηση του χρόνου που προκαλείται από τη σύνδεση μεταξύ αντι-IgG και πρωτεΐνης A με επακόλουθη αύξηση του σήματος λόγω διαλύματος. (Β) Ακτινοποίηση του υποδοχέα στην επιφάνεια του μετατροπέα μέσω μονοστιβάδας αλκυλοθειολών [34].



Εικόνα 28. Παλμός σταθερού ρεύματος με διαφορετικές κατευθύνσεις (I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub> και I<sub>3</sub>) και η αντίστοιχη δυναμική απόκριση (A – M) από ένα απλό κύκλωμα (RC) με χωρητικότητα  $220 \text{ nF} \pm 20\%$  και αντίσταση  $3,31 \text{ k}\Omega \pm 1\%$  [34].

## 2.2.4 Ωμικές και Αμπερομετρικές Τεχνικές

Ωμικές ονομάζονται οι τεχνικές ανίχνευσης ουσιών που βασίζονται στη μεταβολή της αντίστασης ενός στοιχείου του συστήματος. Η ηλεκτρική αντίσταση είναι η δυσκολία που παρουσιάζεται στη διέλευση ηλεκτρικού ρεύματος δια μέσου ενός αγωγού. Έχουν αναπτυχθεί αρκετοί αισθητήρες που βασίζουν τη λειτουργία τους στη μεταβολή αυτού του μεγέθους. Μια αλλαγή αντίστασης μπορεί επίσης να μετρηθεί ως αλλαγή τάσης ή ρεύματος καθώς αυτά τα σήματα ανάγνωσης σχετίζονται

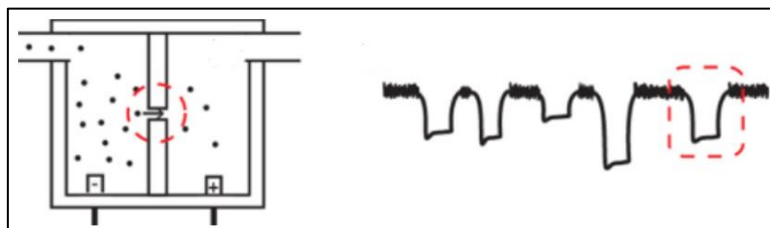
μεταξύ τους με τον νόμο του Ohm. Παρακάτω, παρουσιάζεται μια περιγραφή των βασικών αρχών λειτουργίας και των εφαρμογών των πιο κοινών βιοαισθητήρων αντίστασης αλλά και των αμπερομετρικών βιοαισθητήρων. Οι μέθοδοι αυτές είναι γενικά ευαίσθητες, επιλεκτικές, εύκολες και γρήγορες, καθιστώντας τους αντίστοιχους βιοαισθητήρες κατάλληλους για ποικίλες εφαρμογές ανίχνευσης ή και μέτρησης ουσιών.

#### Βιοαισθητήρες παλμών αντίστασης-RPS

Οι αισθητήρες παλμού αντίστασης (Resistive Pulse Sensors-RPS) που αρχίσαν να αναπτύσσονται ήδη από το 1953, παραμένουν έως σήμερα ο ακρογωνιαίος λίθος των αισθητήρων που βασίζονται σε πόρους. Μέσω της ανάλυσης της προέλευσης του σήματος αντίστασης αυτών των αισθητήρων, μπορούν να εξαχθούν πληροφορίες σχετικά με τις ιδιότητες των σωματιδίων που διέρχονται από τους πόρους. Το κλασικό παράδειγμα ενός αισθητήρα παλμού αντίστασης είναι ο μετρητής Coulter, μια εμπορικά διαθέσιμη συσκευή που χρησιμοποιείται για την καταμέτρηση και το μέγεθος βιολογικών κυττάρων και σωματιδίων (Εικόνα 29).

Ένας κοινός αισθητήρας παλμού αντίστασης αποτελείται από δύο δεξαμενές γεμάτες με αγώγιμο διάλυμα ηλεκτρολύτη που συνδέονται με ένα μικρό άνοιγμα ή πόρο. Όταν εφαρμόζεται μια τάση στον πόρο, η αντίσταση στο ιοντικό ρεύμα που προκύπτει είναι συνήθως ανάλογη με το μήκος πόρων και αντιστρόφως ανάλογη με την επιφάνεια της διατομής του πόρου. Αλλαγή στο μέγεθος ή στο σχήμα του πόρου μεταβάλλει τη συνολική αντίσταση και επομένως το ιοντικό ρεύμα και την τάση. Η ανίχνευση σωματιδίων σύμφωνα με τη μέθοδο Coulter βασίζεται στη θεωρία του Maxwell ότι η παρουσία μη αγώγιμων σωματιδιακών αντικειμένων σε ένα αγώγιμο μέσο προκαλεί αυξημένη αντίσταση ανάλογη του όγκου που εξαιρείται από τα σωματίδια. Όταν ένα σωματίδιο εισέρχεται στο άνοιγμα του πόρου, μετατοπίζει ένα στοιχείο όγκου του διαλύματος ηλεκτρολύτη ισοδύναμο με τον όγκο του. Ως αποτέλεσμα, η αντίσταση στο άνοιγμα αυξάνεται κατά τη διάρκεια της παραμονής του σωματιδίου στο άνοιγμα. Αυτή η παροδική αύξηση της αντίστασης ακολουθείται από μια αντίστοιχη αύξηση της πτώσης τάσης. Δημιουργείται, λοιπόν, ένας «παλμός» αντίστασης στο χρόνο για μεμονωμένα σωματίδια που διέρχονται από έναν πόρο, ο οποίος εξαρτάται τόσο από τις ιδιότητες των σωματιδίων όσο και των πόρων. Για παράδειγμα, οι κυλινδρικοί πόροι τυπικά δημιουργούν ένα σήμα σήματος τετραγώνου ενώ οι κωνικοί πόροι γενικά παράγουν σήμα σχήματος αιχμής. Επομένως, η αλλαγή του μεγέθους ή του σχήματος των πόρων αλλάζει την ευαισθησία της μέτρησης [39]. Γενικά, η συχνότητα, το μέγεθος, η διάρκεια και το σχήμα των παλμών μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να προσδιορίσουν το μέγεθος, το σχήμα, το φορτίο και τη συγκέντρωση των σωματιδίων. Αρκετές χιλιάδες σωματίδια ανά δευτερόλεπτο μπορούν να διαστασιοποιηθούν με αυτόν τον τρόπο. Τα εμπορικά όργανα μπορούν να μετρήσουν σωματίδια με διάμετρο που κυμαίνονται από 400 nm έως

και 1 mm. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο τα τελευταία χρόνια, οι RPS έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση μεμονωμένων νανοσωματιδίων [40] καθώς μπορούν να παρέχουν γρήγορα, αξιόπιστα και σε υψηλό επίπεδο ευαισθησίας πληροφορίες για τόσο μικρά σωματίδια.



Εικόνα 29. Τυπική διάταξη συσκευής τύπου Coulter, δύο ρευστά κύτταρα χωρισμένα με μονωτική μεμβράνη που περιέχει έναν μόνο πόρο (αριστερά) και η μορφή του ρεύματος σε συμβάντα συνωστισμού σωματιδίων (δεξιά) [39].

Η συχνότητα και η διάρκεια των παλμών σχετίζονται με τη συγκέντρωση διασποράς σωματιδίων από την εξίσωση Nernst-Planck και περιλαμβάνουν συνεισφορές ταχύτητας από ηλεκτροφορητική και ηλεκτροοσμωτική ροή, τη διάχυση και τις δυνάμεις εξωτερικής πίεσης. Υπό ιδανικές συνθήκες όπου η ηλεκτροφορητική ροή και η πίεση είναι αμελητέες, μπορεί να υπολογιστεί η ηλεκτροφορητική κινητικότητα και ως εκ τούτου το φορτίο των σωματιδίων εάν το ηλεκτρικό πεδίο μέσω του πόρου είναι γνωστό [39].

Οι πρόσφατες εξελίξεις στον τομέα της ανάπτυξης βιοαισθητήρων έχουν δώσει τη δυνατότητα δημιουργίας αισθητήρων παλμών με πολλαπλή αντίσταση. Αυτοί έχουν χρησιμοποιηθεί για την καταμέτρηση αντικειμένων από νανοσωματίδια έως κύτταρα, αναλόγως με το κατασκευασμένο μέγεθος καναλιού. Μάλιστα έχουν δημιουργηθεί αισθητήρες RPS παράλληλων και σε σειρά πόρων. Αυτές οι συσκευές προσφέρουν βελτιωμένη ευαισθησία μέτρησης λόγω της δυνατότητας ανίχνευσης μεγαλύτερου εύρους μεγεθών σωματιδίων και υψηλότερη απόδοση σε σύγκριση με τις κοινές μονές συσκευές [39]. Ο αισθητήρας Coulter χρησιμοποιείται συστηματικά εδώ και 40 χρόνια για το μέγεθος και την καταμέτρηση πολυάριθμων τύπων μικροοργανισμών και άλλων σωματιδίων συμπεριλαμβανομένων των αιμοσφαιρίων (κόκκινα και λευκά), σπερματοζωαρίων, αιμοπεταλίων, κυττάρων καλλιέργειας ιστών κ.λπ. ενώ πολύ πρόσφατα παραδείγματα χρήσης του αισθητήρων RPS τύπου Coulter περιλαμβάνουν εφαρμογές κατά του AIDS και του καρκίνου [41].

#### Βιοαισθητήρες αντίστασης με MW νανοσωλήνες άνθρακα

Οι νανοσωλήνες άνθρακα (CNT) έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως τον τομέα των βιοαισθητήρων λόγω της μεγάλης επιφάνειας και της αναλογίας επιφάνειας/όγκου, της καλής ηλεκτρικής αγωγιμότητας και της σημαντικής μηχανικής αντοχής τους. Οι νανοσωλήνες άνθρακα πολλαπλών τοιχωμάτων (MWNT) παρουσιάζουν επιπλέον μεγάλες αλλαγές στην αντίστασή τους όταν πραγματοποιούνται ανοσοαντιδράσεις. Είναι επίσης χαμηλού κόστους, πιο βιοσυμβατοί από τους νανοσωλήνες άνθρακα

με ένα τοίχωμα, ο εξοπλισμός μέτρησης αντίστασης είναι συνήθως άμεσα διαθέσιμος και για όλους αυτούς τους λόγους μπορούν είναι χρήσιμοι στην κατασκευή βιοαισθητήρων αντίστασης. Οι βιοαισθητήρες αντίστασης αυτής της τεχνολογίας βασίζονται στην ακινητοποίηση ενός αντιγόνου μέσω μιας διαδικασίας σιλανίωσης (κάλυψης επιφάνειας με οργανολειτουργικά μόρια) πάνω από την επιφάνεια των MWNTs. Η αγωγιμότητά τους αυξάνεται με την προσθήκη του αντιγόνου και μειώνεται με την προσθήκη του αντισώματος καθιστώντας τους καλούς υποψήφιους για διάγνωση ασθενειών (ανοσοαισθητήρες).

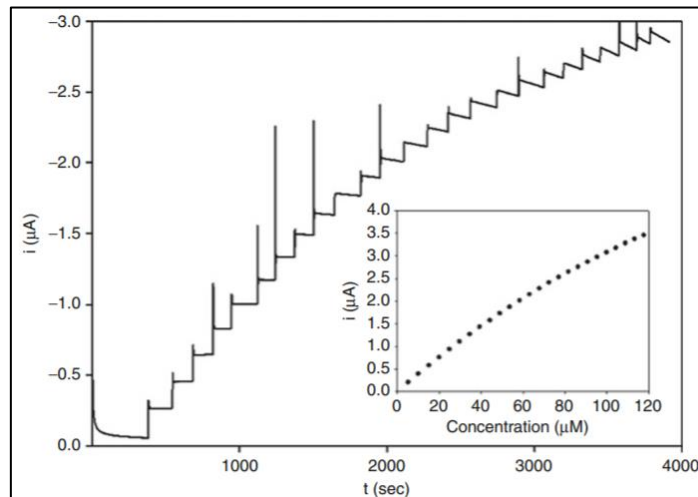
Ειδικότερα, κατά τη δημιουργία ενός τέτοιου ανοσοαισθητήρα, [42] η μέθοδος ακινητοποίησης βασίστηκε στη δημιουργία ενός ομοιοπολικού δεσμού μεταξύ των MWNTs και μιας συγκεκριμένης πρωτεΐνης. Οι δεσμοί δημιουργήθηκαν ακολουθώντας τρία κύρια στάδια: οξείδωση, σιλανίωση και τροποποίηση στρώματος. Δημιουργήθηκαν έτσι λειτουργικές ομάδες στην επιφάνεια των MWNTs, οι οποίες κατέστησαν δυνατή τη σύνδεση μιας πρωτεΐνης με την επιφάνεια του βιοαισθητήρα. Η αλβουμίνη ορού (BSA) είναι ένα σημαντικό τροποποιητικό υλικό λόγω της παρουσίας αμινομάδων στη δομή της. Η BSA και η anti-BSA συνδέθηκαν με τα υποστρώματα. Οι μετρήσεις αντίστασης έδειξαν ότι η συγκέντρωση BSA και anti-BSA επηρέαζε τα ηλεκτρικά χαρακτηριστικά των εναποτιθέμενων δειγμάτων. Παρατηρήθηκε αύξηση της αγωγιμότητας κατά την προσθήκη του BSA και μείωση κατά την προσθήκη του anti-BSA. Αυτά τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα MWNT έχουν τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν ως ανοσοαισθητήρες χαμηλού κόστους για τη διάγνωση ασθενειών.

#### Αμπερομετρικοί αισθητήρες

Αμπερομετρία ονομάζεται η ανίχνευση της παρουσίας ιόντων σε ένα διάλυμα με βάση την μεταβολή του ηλεκτρικού ρεύματος. Για τέτοιου είδους εφαρμογές χρειάζονται συνήθως ένα ηλεκτρόδιο λειτουργίας (μικροηλεκτρόδιο), ένα ηλεκτρόδιο αναφοράς, ένα βοηθητικό ηλεκτρόδιο, μια πηγή τάσης και μια συσκευή για τη μέτρηση του ρεύματος και της τάσης. Η ανάπτυξη των αμπερομετρικών βιοαισθητήρων, ξεκίνησε από τον Clark, ο οποίος το 1956 δημοσίευσε μελέτη για ηλεκτρόδιο οξυγόνου και έκτοτε έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων ενός αναλυτή σε εμπορικές και ερευνητικές εφαρμογές.

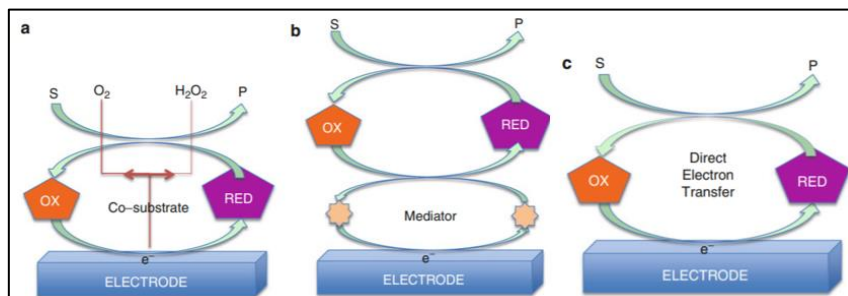
Η αμπερομετρική μέθοδος βασίζεται στις μετρήσεις των αλλαγών του ρεύματος που διέρχεται από το σύστημα των ηλεκτροδίων στο χρόνο, σε σχέση με το δυναμικό που εφαρμόζεται στο ηλεκτρόδιο λειτουργίας. Πιο συγκεκριμένα, οι αμπερομετρικοί βιοαισθητήρες λειτουργούν με την παραγωγή ρεύματος όταν ένα δυναμικό εφαρμόζεται μεταξύ δύο ηλεκτροδίων. Ο αναλυτής εμπλέκεται σε μια οξειδοαναγωγική αντίδραση που ακολουθείται από τη μέτρηση του ρεύματος σε ένα ηλεκτροχημικό κύτταρο. Έχει αποδειχθεί ότι σχεδόν όλες οι βιοχημικές ουσίες μπορούν πλέον να ανιχνευθούν

αμπερομετρικά από την καταλυόμενη από ένζυμο ηλεκτρο-οξείδωση ή ηλεκτρο-αναγωγή τους ή τη συμμετοχή τους σε μια αντίδραση βιοσυγγένειας που επιτρέπει την ηλεκτρο-οξείδωση ή την ηλεκτρο-αναγωγή. Η αναλύόμενη ουσία που μετριέται ή το βιομόριο που εμπλέκεται με αυτήν αλλάζει την κατάσταση οξείδωσης στο ηλεκτρόδιο και το σήμα μεταφοράς ηλεκτρονίων που μετράται στη συνέχεια, είναι ανάλογο με την ποσότητα των οξειδοαναγωγικών ενεργών ειδών στο ηλεκτρόδιο. Στην αμπερομετρία, οι μεταβολές στο ρεύμα παρακολουθούνται άμεσα ως συνάρτηση του χρόνου (χρονο-αμπερομετρία) (Εικόνα 30) [43].



Εικόνα 30. Ένα τυπικό πείραμα χρονο-αμπερομετρίας που δείχνει τις χρονικές αποκρίσεις ενός ακινητοποιημένου ενζύμου σε διαδοχικές προσθήκες του υποστρώματος του και η αντίστοιχη καμπύλη βαθμονόμησης [43].

Οι αμπερομετρικοί βιοαισθητήρες μπορούν να χωριστούν σε τρεις κύριες κατηγορίες σύμφωνα με τον διαφορετικό μηχανισμό της ηλεκτρονικής μεταφοράς όπως φαίνεται στην Εικόνα 31: 1η γενιά: το προϊόν της αντίδρασης διαχέεται στον μετατροπέα και προκαλεί ηλεκτρική απόκριση, 2η γενιά: περιλαμβάνει συγκεκριμένους μεσολαβητές μεταξύ της αντίδρασης και του μετατροπέα για τη δημιουργία βελτιωμένης απόκρισης, 3η γενιά: η ίδια η αντίδραση προκαλεί την απόκριση.



Εικόνα 31. Σχηματική αναπαράσταση των τριών διαφορετικών γενεών αμπερομετρικών βιοαισθητήρων: (a) 1η γενιά, (b) 2η γενιά και (c) 3η γενιά [43].

Οι βιοαισθητήρες αυτής της κατηγορίας παρέχουν πρόσθετη εκλεκτικότητα καθώς οι ιδιότητες οξειδωσης ή αναγωγής που χρησιμοποιούνται για ανίχνευση είναι χαρακτηριστικές του κάθε βιολογικού συστατικού ή του αναλυτή του. Επίσης, το σταθερό δυναμικό κατά την αμπερομετρική ανίχνευση οδηγεί σε ένα αμελητέο ρεύμα φόρτισης (ρεύμα εφαρμογή του δυναμικού στο σύστημα), το οποίο ελαχιστοποιεί το σήμα υποβάθρου. Υπεύθυνο για την επιλεκτικότητα του βιοαισθητήρα βέβαια είναι και το βιολογικό συστατικό. Διαφορετικά βιολογικά συστατικά συμπεριλαμβανομένων ενζύμων, αντισωμάτων, αντιγόνων, μικροοργανισμών και DNA/RNA μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Οι βιοαισθητήρες αυτοί χρησιμοποιούν κυρίως ένζυμα λόγω της αξιοσημείωτης ιδιαιτερότητάς τους στα φυσικά τους υποστρώματα. Στους αμπερομετρικούς βιοαισθητήρες, μπορεί επίσης να επιτευχθεί βελτίωση της σχέσης σήματος προς θόρυβο με αύξηση του αριθμού ηλεκτροενεργών ανιχνεύσιμων ειδών που σχετίζονται με τον αναλυτή και με μείωση των παρεμβολών που φτάνουν στο ηλεκτρόδιο. Για παράδειγμα, μπορεί να γίνει ανακύκλωση του ενεργού ενζύμου, αύξηση του αριθμού των μορίων ενεργών ενζύμων ή χρήση νανοϋλικών. Ακόμη, οι αυτοσυναρμολογούμενες μονοστιβάδες (SAM) έχουν αποδειχθεί χρήσιμες και για τον σχεδιασμό αμπερομετρικών βιοαισθητήρων, παρέχοντας ευνοϊκό προσανατολισμό των πρωτεϊνών στις επιφάνειες των ηλεκτροδίων για τη μεταφορά ηλεκτρονίων [43].

Σημαντική πρόοδος έχει επιτευχθεί κυρίως με τη χρήση νανοϋλικών στο σχεδιασμό αμπερομετρικών αισθητήρων για τη βελτίωση της απόδοσής τους. Η νανοτεχνολογία, που αφορά τη δημιουργία λειτουργικών συστημάτων μέσω του ελέγχου της ύλης στην κλίμακα 1-100 nm, κατέστησε δυνατή τη παρασκευή νανοϋλικών με επιθυμητές ιδιότητες όπως το μέγεθος, το σχήμα, το φορτίο επιφάνειας και τα φυσιοχημικά χαρακτηριστικά. Τα νανοϋλικά μπορούν να συνδεθούν με πολυμερή και βιομόρια για να επιτευχθεί καλύτερη βιοσυμβατότητα και ακριβής στόχευση [44]. Αυτά τα χαρακτηριστικά προσέδωσαν στους βιοαισθητήρες πλήθος επιθυμητών λειτουργιών ενώ επίσης η άμεση σύζευξη νανοϋλικών με βιομόρια μέσω διαφόρων αλληλεπιδράσεων φάνηκε ιδιαίτερα χρήσιμη. Οι κύριες λειτουργίες που επιτυγχάνονται με την ενσωμάτωση νανοϋλικών είναι η δημιουργία πλατφόρμας ακινητοποίησης βιομορίων, η ενίσχυση του αμπερομετρικού σήματος και η χρήση τους ως αισθητήρες παραγωγής σήματος ή ως μίμηση ενζύμων.

Μια χαρακτηριστική επιτυχημένη εφαρμογή αμπερομετρικού βιοαισθητήρα είναι αυτή για μέτρηση γλυκόζης. Σε αυτήν, το ηλεκτρόδιο οξυγόνου Clark διαχωρίζεται από τη γλυκόζη με μια μεμβράνη διαπερατή από οξυγόνο. Ένας βιοκαταλύτης οξειδάσης γλυκόζης (GOD) βρίσκεται μεταξύ αυτής της μεμβράνης και μιας άλλης μεμβράνης που τον χωρίζει από τη γλυκόζη. Η τελευταία είναι διαπερατή τόσο από οξυγόνο όσο και από γλυκόζη. Έτσι ουσιαστικά, το ένζυμο GOD ακινητοποιείται μεταξύ αυτών των δύο μεμβρανών. Η γλυκόζη που εισέρχεται από την πρώτη μεμβράνη οξειδώνεται παρουσία του ενζύμου GOD. Συνεπώς η συγκέντρωση οξυγόνου μειώνεται καθώς κινείται μέσω των

μεμβρανών. Αυτή η μείωση της συγκέντρωσης οξυγόνου αντανακλάται ως μείωση του ρεύματος μεταξύ των ηλεκτροδίων. Εναλλακτικά, η μείωση της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου του υδρογόνου μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί με παρόμοιο τρόπο για να βρεθεί η συγκέντρωση της γλυκόζης, αλλάζοντας την τάση που εφαρμόζεται μεταξύ των ηλεκτροδίων.

Θα πρέπει ακόμα να αναφερθεί ότι αμπερομετρικός αισθητήρας έχει χρησιμοποιηθεί και για ανίχνευση καρδιακής τροπονίνης I χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδια άνθρακα επικαλυμμένα με ένα παράγωγο οξειδίου του γραφενίου ως στοιχείο μεταγωγής [45]. Αυτό νανοϋλικό εμπλουτισμένο με καρβοξυλικό οξύ επέτρεπε την εύκολη και υψηλή ακινητοποίηση των μορίων σύλληψης στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Η διεπαφή βιοαναγνώρισης συναρμολογήθηκε με ομοιοπολική σύνδεση ενός απταμερούς στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Η προσέγγιση ανίχνευσης βασίστηκε στην αναγνώριση της cTnI από το απταμερές. Ο αισθητήρας χρησιμοποιήθηκε για ανίχνευση σε ευρεία κλίμακα από 1,0 pg/mL έως 1,0 μg/ml με όριο ανίχνευσης 0,6 pg/mL. Επέδειξε υψηλή εξειδίκευση, αναπαραγωγικότητα και σταθερότητα ενώ φάνηκε χρήσιμος και για τον ποσοτικό προσδιορισμό cTnI σε δείγματα ανθρώπινου ορού.





## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

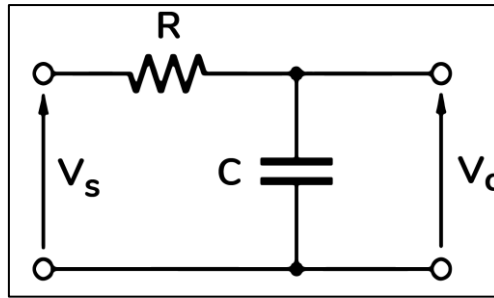
### ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΑΙΣΘΗΤΗΡΑ

#### 3.1 Αισθητήριο στοιχείο – Αρχές λειτουργίας

Ο αισθητήρας αναπτύχθηκε στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικών Αισθητηρίων της Σχολής Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Ανήκει σε μια κατηγορία αισθητήρων του εργαστηρίου που έχουν στόχο την δυνατότητα ανίχνευσης και μέτρησης παραμέτρων του αίματος, όπως είναι η τροπονίνη, για τη δημιουργία εύχρηστων βιοϊατρικών μικροσυσκευών. Η λειτουργία του βασίζεται στη μέθοδο μέτρησης χωρητικότητας που αναπτύσσεται και στην διδακτορική διατριβή του Αντώνη Γεωργά.

Πρόκειται, λοιπόν, για έναν χωρητικό αισθητήρα, βασισμένο σε μικροελεγκτή. Η ανίχνευση της τροπονίνης γίνεται με βάση έναν interdigitated πυκνωτή (πυκνωτή «χτένι»), του οποίου μετράται η χωρητικότητα. Γνωρίζοντας την χωρητικότητα που έχει ένα διάλυμα αντισωμάτων τροπονίνης I, μια μεταβολή στη χωρητικότητα αυτή θα καταδεικνύει την παρουσία τροπονίνης I σε κάποιο διάλυμα ή ακόμα και στο αίμα, αφού καθώς η τροπονίνη θα συνδέεται με τα αντισώματα η χωρητικότητα θα μεταβάλλεται (όπως αναλύεται στο επόμενο κεφάλαιο). Για την μέτρηση της μεταβολής αυτής και επομένως την ανίχνευση αυξημένων επιπέδων τροπονίνης, χρησιμοποιείται ένα ηλεκτρικό κύκλωμα πυκνωτή - αντιστάσεων και ένας μικροελεγκτής που με τον κατάλληλο προγραμματισμό δίνει ως έξοδο την τιμή της χωρητικότητας του πυκνωτή. Ακολουθεί μια αρχική θεωρητική προσέγγιση για τον τρόπο λειτουργίας του αισθητήρα.

Σε ένα ηλεκτρικό κύκλωμα σύνδεσης πυκνωτή C σε σειρά με αντίσταση R (RC κύκλωμα) όπως στην Εικόνα 32, όπου εφαρμόζεται τάση πηγής  $V_s$ , η τάση του πυκνωτή  $V_C$  αυξάνεται εκθετικά ως προς τη  $V_s$ , όπως εξηγείται ακολούθως.



Εικόνα 32. Τυπικό RC κύκλωμα.

Από τον νόμο του Kirchhoff για το ηλεκτρικό ρεύμα ισχύει:

$$C \frac{dV_c}{dt} + \frac{V_c - V_s}{R} = 0 \Rightarrow \frac{dV_c}{dt} = -\frac{(V_c - V_s)}{RC} \Rightarrow \frac{dV_c}{V_c - V_s} = -\frac{dt}{RC} \Rightarrow \ln \frac{V_c(t) - V_s}{V_c(0) - V_s} = -\frac{1}{RC} t$$

Θεωρώντας  $V_c(0) = 0$ :  $V_c(t) = V_s \left( 1 - e^{-\frac{t}{RC}} \right)$  (I)

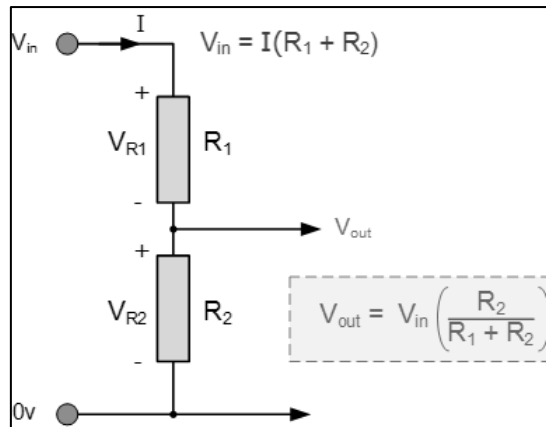
Η αντίσταση R μετράται σε Ohms και η χωρητικότητα C σε Farads. Το γινόμενο RC ονομάζεται σταθερά χρόνου ( $T=RC$ ) και δηλώνει τον χρόνο στον οποίο η τάση του πυκνωτή θα είναι  $V_c=0.632 V_s$  αφού αν λυθεί η εξίσωση (I) για  $t=T=RC$ , λαμβάνεται:

$$V_c = V_s(1 - e^{-1}) \Rightarrow V_c = \frac{V_s(e - 1)}{e} \Rightarrow V_c = 0.632 V_s.$$

Στην παρούσα εργασία, μετράται η χωρητικότητα με τη μέθοδο φόρτισης και εκφόρτισης ρεύματος που αναφέρθηκε στις χωρητικές τεχνικές ανίχνευσης. Αυτή η μέθοδος προσφέρει μεγάλη ακρίβεια ακόμη και για μικρής τάξεως χωρητικότητες.

Χρησιμοποιείται μια τάση αναφοράς σε έναν συγκριτή για να βρεθεί η χρονική στιγμή t, κατά την οποία ο πυκνωτής θα έχει αυτή την τάση, όπως θα εξηγηθεί παρακάτω.

Αυτή η τάση αναφοράς παράγεται με ένα κύκλωμα διαιρέτη τάσης. Σε ένα τέτοιο κύκλωμα, όπως αυτό στην Εικόνα 33 με δύο ίδιες αντιστάσεις ( $R_1=R_2$ ) λαμβάνεται ως έξοδος μια σταθερή τάση με τιμή  $V_{out}=V_{in}/2$  ή εν προκειμένω,  $V = V_s/2$ .



Εικόνα 33. Τυπικό κύκλωμα διαιρέτη τάσης.

Σύμφωνα με την εξίσωση (I), τη στιγμή  $t$  όπου η τάση του πυκνωτή φτάσει στην τάση αναφοράς  $V_s/2$ , δηλαδή όταν  $V_c = V_s/2$ , η χωρητικότητα θα δίνεται από τον τύπο :

$$(I) \Rightarrow \frac{V_s}{2} = V_s \left(1 - e^{-\frac{t}{RC}}\right) \Rightarrow \frac{1}{2} = 1 - \frac{1}{e^{\frac{t}{RC}}} \Rightarrow C = \frac{t}{R \ln\left(\frac{1}{2}\right)}. \quad (II)$$

Επομένως, μετρώντας με κατάλληλο προγραμματισμό του μικροελεγκτή την στιγμή  $t$ , γίνεται εύκολα γνωστή και η τιμή της χωρητικότητας.

Στο επόμενο μέρος, παρουσιάζεται με λεπτομέρειες η κατασκευή του ηλεκτρονικού μέρους του αισθητήρα και ο προγραμματισμός του μικροελεγκτή.

### 3.2 Ηλεκτρονικά και συσκευασία

Το ηλεκτρονικό μέρος του αισθητήρα δεν είναι τίποτα άλλο από ένα κύκλωμα μέτρησης της χωρητικότητας ενός πυκνωτή βασισμένο σε μια πλακέτα μικροελεγκτή τύπου Arduino Uno R3. Η κατασκευή βασίστηκε σε ένα ήδη υπάρχον κύκλωμα για μέτρηση σταθερών πυκνωτών που δημοσιεύτηκε το 2020 στο <https://simple-circuit.com/> [46] και πάνω σε αυτό το κύκλωμα έγιναν οι απαραίτητες αλλαγές.

Συγκεκριμένα, τα στοιχεία της πειραματικής διάταξης που χρησιμοποιήθηκαν, είναι τα παρακάτω:

- Funduino Uno R3 (πλακέτα τύπου Arduino Uno R3) με μικροελεγκτή ATmega328P
- Αντιστάσεις: 2x4.7 kΩ, 1kΩ, 8.2kΩ, 2kΩ (συνδεδεμένες σε σειρά για δημιουργία 10.2kΩ), 100kΩ

- Breadboard και στη συνέχεια Circuit Board PCB - Διάτρητη Πλακέτα
- Καλώδια M/F – Jumper Wires
- Interdigitated πυκνωτής

### 3.2.1 Λίγα λόγια για το Arduino

Το Arduino είναι μια μητρική πλακέτα ανοικτού κώδικα με ενσωματωμένο τον μικροελεγκτή ATmega328P των 8-bit και εισόδους/εξόδους, η οποία μπορεί να προγραμματιστεί με τη γλώσσα Wiring (ουσιαστικά είναι η γλώσσα C++) και λαμβάνοντας δεδομένα από το περιβάλλον ή τις εισόδους να ελέγχει μέσω των εξόδων οθόνες, όργανα και φυσικές εξόδους. Το Arduino μπορεί να επικοινωνεί με υπολογιστή ή κινητό μέσω USB serial ή ασύρματα μέσω Bluetooth, Wifi, Lora κλπ. Περιέχει επίσης και άλλα εξαρτήματα όπως τον κρυσταλλικό ταλαντωτή, τον ενσωματωμένο ρυθμιστή τάσης και τον ενσωματωμένο συγκριτή για την υποστήριξη του μικροελεγκτή, ενώ υπάρχει και μια τεράστια ποικιλία add-ons και modules που συνδέονται εύκολα με αυτό.

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε η πλακέτα τύπου Arduino Uno R3 με τα εξής χαρακτηριστικά [47] :

- Μικροεπεξεργαστής: ATmega328P
- Ταχύτητα ρολογιού: 16 MHz
- Flash Μνήμη: 32 KB
- SRAM Μνήμη: 2 KB
- EEPROM Μνήμη: 1KB
- Τάση Λειτουργίας: 5V
- Τάση Εισόδου: 7-12V
- Αναλογικοί Ακροδέκτες Εισόδου: 6
- Ψηφιακοί Ακροδέκτες Εισόδου-Εξόδου: 12
- Βάρος: 25 g
- Μήκος: 6.8 cm
- Πλάτος: 5.3 cm

Οι συνδέσεις του Arduino γίνονται μέσω των pins, η λειτουργία των οποίων εξηγείται στον

Πίνακας 2:

Πίνακας 2. Λειτουργία των pins του Arduino.

Κατηγορία των Pins	Όνομα Pin	Λειτουργία
<b>Power</b>	Vin, 3.3V, 5V, GND	Vin: Τάση εισόδου στο Arduino όταν χρησιμοποιείται εξωτερική πηγή ενέργειας. 5V: Ρυθμιζόμενη παροχή ρεύματος που χρησιμοποιείται για την τροφοδοσία μικροελεγκτή και άλλων εξαρτημάτων στην πλακέτα. 3.3V: Τροφοδοσία 3.3V που παράγεται από ρυθμιστή τάσης επί του σκάφους. Το μέγιστο ρεύμα εξόδου είναι 50mA. GND: γείωση.
<b>Reset</b>	Reset	Επαναφορά του μικροελεγκτή.
<b>Analog Pins</b>	A0-A5	Χρήση για την παροχή αναλογικής εισόδου στην περιοχή 0-5V.
<b>Input/Output Pins</b>	Digital pins 0-13	Χρήση ως pins εισόδου-εξόδου.
<b>Serial</b>	0(Rx), 1(Tx)	Χρήση για λήψη και μετάδοση σειριακών δεδομένων TTL.
<b>External Interrupts</b>	2, 3	Ενεργοποίηση μιας διακοπής.
<b>PWM</b>	3, 5, 6, 9, 11	Παροχή εξόδου PWM 8-bit.
<b>SPI</b>	10(SS), 11(MOSI),12(MISO), 13(SCK)	Χρήση για SPI επικοινωνία.
<b>Inbuilt LED</b>	13	Ενεργοποίηση του ενσωματωμένου LED.
<b>TWI</b>	A4(SDA), A5 (SCA)	Χρήση για TWI επικοινωνία.
<b>AREF</b>	AREF	Παροχή τάσης αναφοράς για την τάση εισόδου.

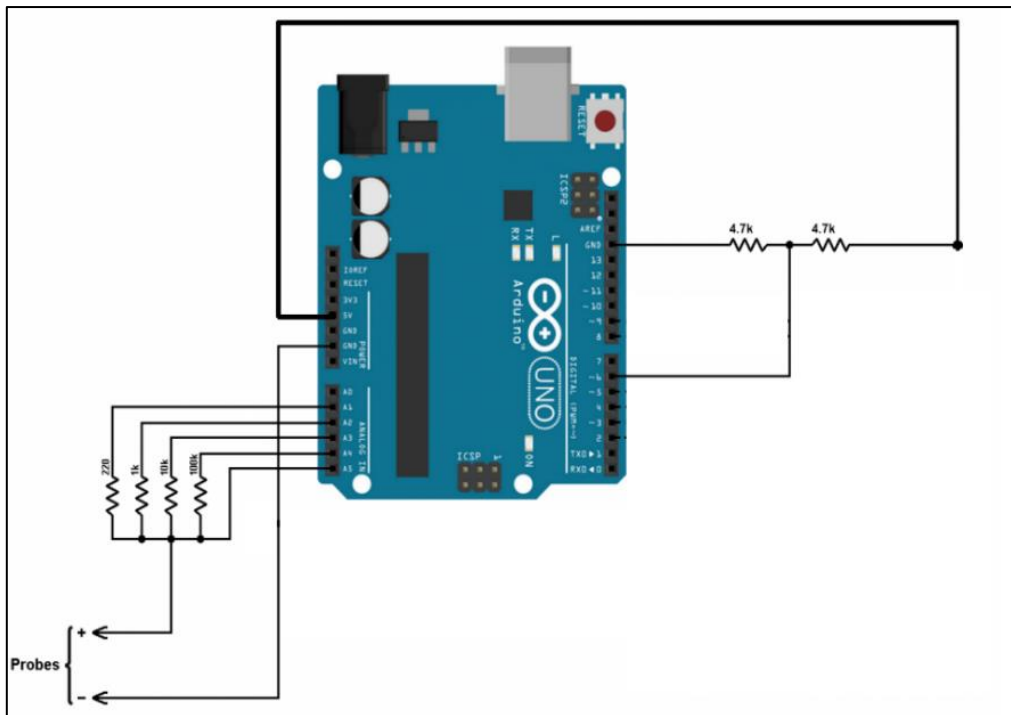
Το περιβάλλον ανάπτυξης Arduino IDE είναι ένα δωρεάν λογισμικό και μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ευκολία αφού απαιτεί τις βασικές γνώσεις προγραμματισμού για ανάπτυξη κώδικα. Κάθε πρόγραμμα αποτελείται από δύο συναρτήσεις-λειτουργίες: την “setup()”, η οποία εκτελείται μία φορά στην αρχή του προγράμματος και κάνει τις απαραίτητες αρχικοποιήσεις και την “loop()”, η οποία εκτελείται όταν η πλακέτα βρίσκεται σε λειτουργία [48].

Λόγω της σχετικής ευκολίας και της ευελιξίας του, το Arduino αποτελεί την πιο κοινή πλακέτα μικροελεγκτή που προσφέρει ικανοποιητικά αποτελέσματα και έχει βρει στη σημερινή εποχή, πλήθος εφαρμογών.

Στην παρούσα εργασία, η χρήση του Funduino Uno R3 (τύπου Arduino Uno R3) ως μικροελεγκτή της διάταξης επιλέχθηκε για τους εξής λόγους. Ο πρώτος λόγος είναι το χαμηλό του κόστος συγκριτικά με άλλους μικροελεγκτές, δεδομένου ότι οι απαιτήσεις σε υπολογιστική δύναμη για την παρούσα εφαρμογή είναι μικρές. Επιλέχθηκε δηλαδή ένας μικροελεγκτής με χαμηλότερη απόδοση συγκριτικά με άλλους, αλλά με πολύ χαμηλότερη τιμή. Ένας άλλος λόγος επιλογής του, είναι η ευελιξία του και η σχετική ευκολία στον προγραμματισμό. Πέρα από τις δυνατότητες διασύνδεσης που ήδη αναφέρθηκε, η ύπαρξη πλήθους παραδειγμάτων εφαρμογών στο διαδίκτυο κάνει αρκετά πιο προσιτή και εύκολη τη χρήση του. Τέλος, το μικρό του μέγεθος επιτρέπει τη κατασκευή μικρών ενσωματωμένων συστημάτων που προσφέρουν ευκολία στην εγκατάσταση και τη μετακίνηση.

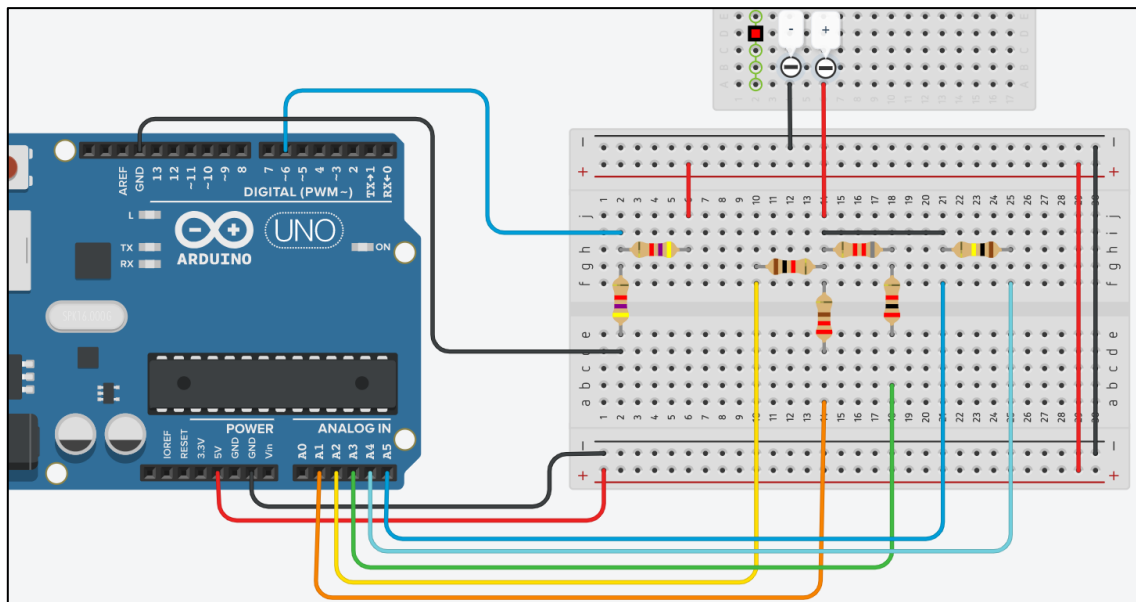
### 3.2.2 Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης

Η σχηματική αναπαράσταση του κυκλώματος (Εικόνα 34) που υλοποιήθηκε και η εικόνα της προσομοίωσης της διάταξης στο πρόγραμμα Tinkercad (Εικόνα 35), φαίνονται στα παρακάτω σχήματα:



Εικόνα 34. Σχηματικό διάγραμμα της διάταξης.

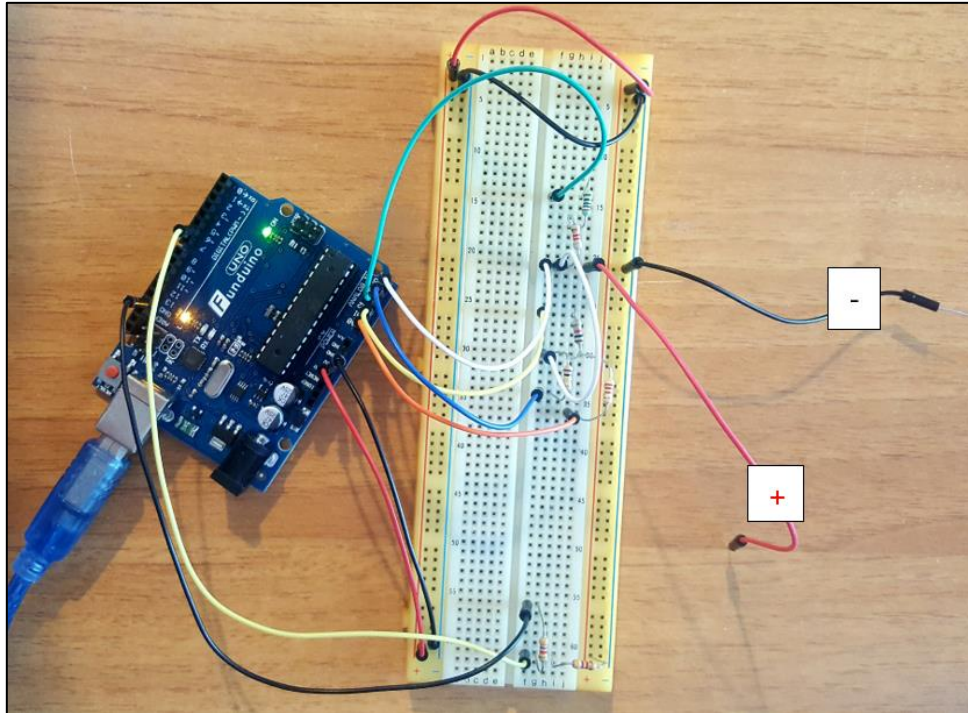
Οι ακροδέκτες “+” και “-” είναι τα σημεία σύνδεσης με τον πυκνωτή του οποίου είναι επιθυμητό να μετρηθεί η χωρητικότητα.



Εικόνα 35. Προσομίωση της διάταξης στο Tinkercad.

### 3.2.3 Πειραματική διάταξη

Η φωτογραφία της πραγματικής διάταξης (Εικόνα 36) φαίνεται παρακάτω:



Εικόνα 36. Φωτογραφία της πειραματικής διάταξης.

### 3.2.4 Συνδέσεις ηλεκτρικού μέρους

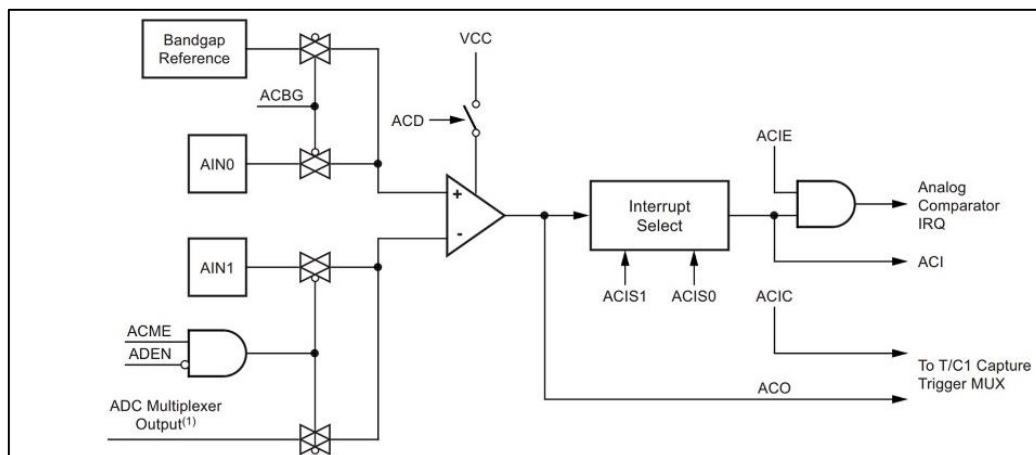
Όπως εξηγήθηκε στην προηγούμενη ενότητα σε ένα RC κύκλωμα όπου εφαρμόστηκε τάση  $V_s$ , η τάση του πυκνωτή  $V_c$  δίνεται από την εξίσωση (1).

Στην εν λόγω διάταξη, χρησιμοποιώντας τον ενσωματωμένο αναλογικό συγκριτή του μικροελεγκτή ATmega328P του Funduino (Εικόνα 37), θα ανιχνεύεται το πότε η τάση του πυκνωτή θα γίνεται μεγαλύτερη από το μισό της τάσης που εφαρμόζεται, δηλ. πότε θα ισχύει  $V_c = V_s/2$ .

Αυτό το επιτυγχάνεται όπως εξηγήθηκε, με τη δημιουργία ενός διαιρέτη τάσης αποτελούμενου από τις δύο ίδιες αντιστάσεις των  $4.7\text{ k}\Omega$  που χρησιμοποιήθηκαν. Στην διάταξη, λοιπόν, συνδέθηκαν οι δύο αντιστάσεις σε σειρά στο breadboard, το ένα άκρο της μίας στην γείωση και το άλλο άκρο της δεύτερης στο  $V_s$ , δηλαδή την τάση των 5V του Funduino του χρησιμοποιείται ως τάση τροφοδοσίας. Το κοινό τους άκρο, η τάση του οποίου θα ισούται με  $V_s/2$  δηλαδή περίπου 2.5V, συνδέεται στο digital pin 6, που αποτελεί την μη αναστρέψουσα είσοδο(+) του αναλογικού συγκριτή (AIN0 pin του



Atmega328) [49]. Στην αναστρέφουσα είσοδο (-) του αναλογικού συγκριτή συνδέεται το θετικό (μη γειωμένο) άκρο του προς μέτρηση πυκνωτή μέσω του analog pin A5 του Funduino (AIN1 pin του Atmega328). Μέσω αυτού του pin επίσης, διαβάζεται και η τάση του πυκνωτή κατά τη διάρκεια της εκφόρτισης. Παρακάτω φαίνεται η σχηματική αναπαράσταση του συγκριτή που είναι ενσωματωμένος στο Funduino. Όπως αναφέρθηκε, από τις δυνατές επιλογές χρησιμοποιήθηκαν οι είσοδοι AIN0 και AIN1 για την μη αναστρέφουσα και την αναστρέφουσα είσοδο, αντίστοιχα.



Εικόνα 37. Σχηματικό διάγραμμα του συγκριτή του Arduino [49].

Ένα χρονόμετρο, το module Timer1 προγραμματίζεται να μετρά το χρόνο από  $V_c=0$  έως  $V_c=V_s/2$ , με βάση την έξοδο του συγκριτή.

Οι αντιστάσεις 1kΩ, 10.2kΩ και 100kΩ χρησιμοποιούνται για να γίνει η φόρτιση του πυκνωτή ανάλογα με την τάξη μεγέθους της χωρητικότητάς του και να εμφανιστεί η ένδειξη με την κατάλληλη μονάδα μεγέθους αντίστοιχα.

Η αντίσταση 220Ω χρησιμοποιείται για να γίνει εκφόρτισή του. Έτσι, κατά τη φόρτιση παρατηρείται ένα μέγιστο ρεύμα του Funduino  $I_c=5V/1k\Omega = 5mA$ , ενώ κατά την εκφόρτιση  $I_d=5V/220\Omega=22.7mA$ .

Το ένα άκρο του πυκνωτή είναι γειωμένο. Για την εκφόρτιση χρησιμοποιείται το analog pin A1 του Funduino που συνδέεται με το μη γειωμένο άκρο του πυκνωτή μέσω της αντίστασης των 220Ω. Για την φόρτισή του χρησιμοποιούνται τα analog pins A2, A3, A4 που συνδέονται με το μη γειωμένο άκρο του πυκνωτή μέσω των αντιστάσεων 1kΩ, 10.2kΩ και 100kΩ, αντίστοιχα.

Το Funduino αρχίζει να αποφορτίζει τον πυκνωτή θέτοντας LOW το pin εκφόρτισης, έως την πλήρη εκφόρτιση του πυκνωτή μέσω της αντίστασης 220 Ohms. Κατά τη διάρκεια αυτή, η μονάδα ADC ελέγχει συνεχώς την τάση του πυκνωτή μέσω του pin A5.

Αφού ο πυκνωτής αποφορτιστεί πλήρως, η μονάδα ADC απενεργοποιείται, ενεργοποιείται η διακοπή (interrupt) του αναλογικού συγκριτή και αρχίζει η διαδικασία φόρτισης του πυκνωτή με εφαρμογή

τάσης μέσω μιας εκ των αντιστάσεων 1k, 10.2k ή 100k. Το module Timer1 [50] αρχίζει να μετρά μέχρι να συμβεί η διακοπή του αναλογικού συγκριτή. Αυτή η διακοπή λέει στον μικροελεγκτή ότι η τάση του πυκνωτή είναι περίπου ίση με την τάση αναφοράς που είναι ίση με 2,5V. Η μονάδα Timer1 έχει ρυθμιστεί ώστε να αυξάνεται κατά 1 κάθε 62,5 μικρο-δευτερόλεπτα (prescaler = 1).

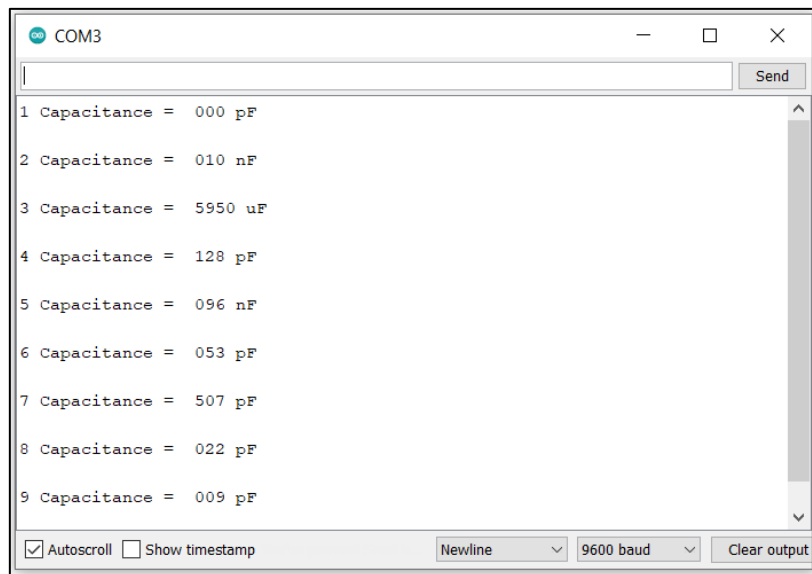
Έτσι, υπολογίζεται η τιμή χωρητικότητας μέσω της εξίσωσης (II), αφού είναι γνωστές οι τιμές της τάσης τροφοδοσίας (5V), της αντίστασης σειράς (1k, 10.2k ή 100k) και του χρόνου t.

### 3.2.5 Κώδικας

Ο κώδικας που χρησιμοποιήθηκε για τον προγραμματισμό του Funduino παρατίθεται και επεξηγείται ολόκληρος στο **ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ - Κώδικας**.

### 3.2.6 Δοκιμές ορθής λειτουργίας

Μετά τη κατασκευή του ηλεκτρονικού μέρους του αισθητήρα, έγινε επαλήθευση της ορθής του λειτουργίας. Συγκεκριμένα, μετρήθηκαν σταθεροί κεραμικοί πυκνωτές με τη βοήθεια πολυμέτρου και στη συνέχεια με την διάταξη που αναπτύχθηκε και φάνηκε ότι τα αποτελέσματα ήταν πολύ κοντά. Η χωρητικότητα τυπώθηκε στο Serial monitor του Arduino IDE όπως φαίνεται στην Εικόνα 38.



Εικόνα 38. Μετρήσεις χωρητικότητας στο Serial monitor του Arduino IDE.

Τα αποτελέσματα για τους σταθερούς πυκνωτές φαίνονται στον παρακάτω Πίνακα 3:

Πίνακας 3. Σύγκριση μετρήσεων διάταξης και πολυμέτρου.

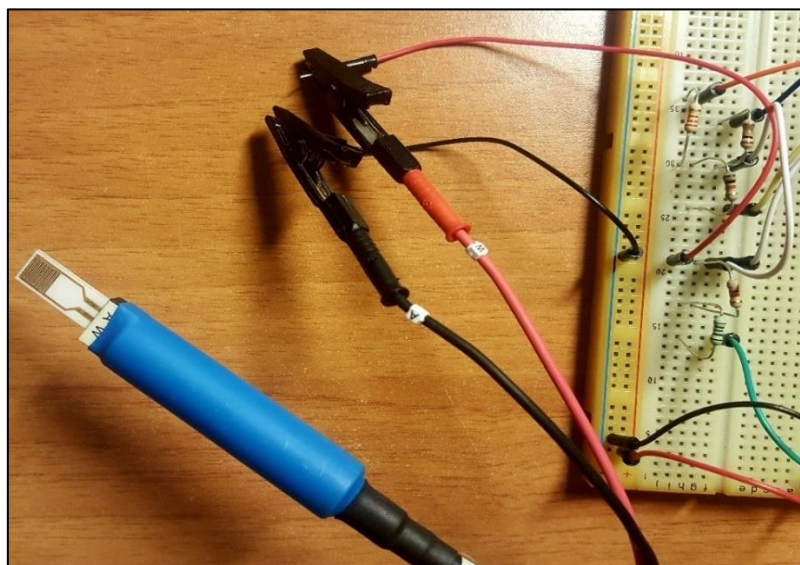
Χωρητικότητα από το πολύμετρο	Χωρητικότητα από τη διάταξη
9 pF	9 pF
505 pF	504 pF
10.6 nF	10 nF
98 nF	96 nF

Από τα παραπάνω, εύκολα συμπεραίνεται ότι πρόκειται για μια διάταξη ικανή να μετρά τη χωρητικότητα έως και την τάξη των pF με ικανοποιητική ακρίβεια. Επομένως, αποτελεί ένα κατάλληλο ηλεκτρονικό μέρος για τον αισθητήρα, αφού στόχος είναι η ανίχνευση μεταβολών μεγαλύτερων από αυτές των λίγων pF που είναι ικανό να ανιχνεύσει.

### 3.3 Μετρήσεις με νερό και με υδατικό διάλυμα

Για να ελεγχθεί η ορθή λειτουργία της διάταξης για τη προσεγγιστική μέτρηση της χωρητικότητας ενός interdigitated και όχι ενός κλασσικού πυκνωτή, ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία.

Στο ήδη υπάρχον κύκλωμα, συνδέθηκαν στους ακροδέκτες (+) και (-) τα άκρα της βάσης του interdigitated πυκνωτή όπως φαίνεται στην Εικόνα 39:



Εικόνα 39. Σύνδεση του interdigitated πυκνωτή στους ακροδέκτες της διάταξης.

Θα πρέπει να τονιστεί ότι για την ανίχνευση μέσω του interdigitated πυκνωτή ενδιαφέρον δεν έχει τόσο η πραγματική τιμή της χωρητικότητας, όσο η μεταβολή της όταν αλλάξει το μέσο όπου βρίσκεται ο πυκνωτής.

Για να δοκιμαστεί η ικανότητα της διάταξης να μετρήσει τη μεταβολή έγινε μέτρηση της χωρητικότητας του πυκνωτή αρχικά στον αέρα και έπειτα τοποθετώντας με τη βοήθεια μιας πιπέτας σταγόνες των 0.5 ml απιονισμένου νερού πάνω στην επιφάνειά του. Σε αυτό το μέρος, η διαδικασία είναι αυτή που ακολουθείται και για την κατασκευή ενός απλού αισθητήρα υγρασίας.

Σε δεύτερη φάση τοποθετήθηκε πάνω στην επιφάνεια σταγόνα 0.5 ml άλλου μέσου και εξετάστηκε η ικανότητα του αισθητήρα να διακρίνει το νερό από αυτό.

### 3.3.1 Μετρήσεις με νερό

Ρίχνοντας σταγόνες νερού στην επιφάνεια του πυκνωτή φάνηκε ότι η χωρητικότητα μεταβαλλόταν και συγκεκριμένα αυξανόταν, όσο περισσότερες σταγόνες τοποθετούνταν. Μετά από έναν αριθμό σταγόνων, η αύξηση αυτή σταμάτησε και η χωρητικότητα έμεινε σχετικά σταθερή παρά την αύξηση της ποσότητας του νερού. Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι, η μεταβολή της χωρητικότητας οφείλεται στη μεταβολή της διηλεκτρικής σταθεράς, η οποία δεν εξαρτάται από τον όγκο του υλικού που βρίσκεται πάνω στον πυκνωτή αλλά από την επιφάνεια που αυτό καλύπτει. Έτσι, όταν έχει καλυφθεί με νερό ολόκληρη η επιφάνεια, προσθέτοντας επιπλέον σταγόνες αυξάνεται ο όγκος του νερού αλλά δεν παρατηρείται αλλαγή στη χωρητικότητα αφού δεν μπορεί να αυξηθεί περαιτέρω η επιφάνεια κάλυψης.

Ελήφθησαν περίπου 30 μετρήσεις για καθεμία από τις εξής περιπτώσεις:

- a) Χωρίς νερό
- b) Με 1 σταγόνα νερού
- c) Με 2 σταγόνες νερού
- d) Με 3 σταγόνες νερού
- e) Με 4 σταγόνες νερού

Τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν στο Serial monitor του Arduino IDE είναι γραμμένα στη μορφή αριθμός μέτρησης, χωρητικότητα, τιμή χωρητικότητας, μονάδα μέτρησης και είναι τα εξής:

- a) Χωρίς νερό

- 1 Capacitance = 091 pF
- 2 Capacitance = 083 pF
- 3 Capacitance = 091 pF
- 4 Capacitance = 091 pF
- 5 Capacitance = 086 pF
- 6 Capacitance = 091 pF
- 7 Capacitance = 085 pF
- 8 Capacitance = 085 pF
- 9 Capacitance = 086 pF
- 10 Capacitance = 087 pF
- 11 Capacitance = 087 pF
- 12 Capacitance = 086 pF
- 13 Capacitance = 175 pF
- 14 Capacitance = 091 pF
- 15 Capacitance = 085 pF
- 16 Capacitance = 091 pF
- 17 Capacitance = 087 pF
- 18 Capacitance = 091 pF
- 19 Capacitance = 086 pF
- 20 Capacitance = 091 pF
- 21 Capacitance = 087 pF
- 22 Capacitance = 087 pF
- 23 Capacitance = 091 pF
- 24 Capacitance = 091 pF
- 25 Capacitance = 086 pF
- 26 Capacitance = 091 pF
- 27 Capacitance = 091 pF
- 28 Capacitance = 086 pF
- 29 Capacitance = 086 pF
- 30 Capacitance = 091 pF
- 31 Capacitance = 091 pF
- 32 Capacitance = 087 pF

b) Με 1 σταγόνα νερού

1 Capacitance = 8611  $\mu\text{F}$  (σφάλμα λόγω συνθηκών περιβάλλοντος - δεν συμπεριλαμβάνεται στους επόμενους υπολογισμούς)

2 Capacitance = 002.7  $\mu\text{F}$

3 Capacitance = 002.6  $\mu\text{F}$

4 Capacitance = 002.6  $\mu\text{F}$

5 Capacitance = 002.6  $\mu\text{F}$

6 Capacitance = 002.6  $\mu\text{F}$

7 Capacitance = 002.6  $\mu\text{F}$

8 Capacitance = 002.6  $\mu\text{F}$

9 Capacitance = 002.6  $\mu\text{F}$

10 Capacitance = 002.6  $\mu\text{F}$

11 Capacitance = 002.7  $\mu\text{F}$

12 Capacitance = 002.7  $\mu\text{F}$

13 Capacitance = 002.7  $\mu\text{F}$

14 Capacitance = 002.7  $\mu\text{F}$

15 Capacitance = 002.7  $\mu\text{F}$

16 Capacitance = 002.7  $\mu\text{F}$

17 Capacitance = 002.7  $\mu\text{F}$

18 Capacitance = 002.7  $\mu\text{F}$

19 Capacitance = 002.7  $\mu\text{F}$

20 Capacitance = 002.8  $\mu\text{F}$

21 Capacitance = 002.8  $\mu\text{F}$

22 Capacitance = 002.8  $\mu\text{F}$

23 Capacitance = 002.8  $\mu\text{F}$

24 Capacitance = 002.8  $\mu\text{F}$

25 Capacitance = 002.8  $\mu\text{F}$

26 Capacitance = 002.8  $\mu\text{F}$

27 Capacitance = 002.8  $\mu\text{F}$

28 Capacitance = 002.8  $\mu\text{F}$

29 Capacitance = 002.8  $\mu\text{F}$

30 Capacitance = 002.9  $\mu\text{F}$

31 Capacitance = 002.9  $\mu\text{F}$

32 Capacitance = 002.9  $\mu\text{F}$

c) Με 2 σταγόνες νερού

1 Capacitance = 004.8  $\mu\text{F}$

2 Capacitance = 004.5  $\mu\text{F}$

3 Capacitance = 004.4  $\mu\text{F}$

4 Capacitance = 004.2  $\mu\text{F}$

5 Capacitance = 004.2  $\mu\text{F}$

6 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

7 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

8 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

9 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

10 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

11 Capacitance = 003.9  $\mu\text{F}$

12 Capacitance = 003.9  $\mu\text{F}$

13 Capacitance = 003.9  $\mu\text{F}$

14 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

15 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

16 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

17 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

18 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

19 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

20 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

21 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

22 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

23 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

24 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

25 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

26 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

27 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

28 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

29 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

30 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

31 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

32 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

d) Με 3 σταγόνες νερού

1 Capacitance = 004.2  $\mu\text{F}$

2 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

3 Capacitance = 004.2  $\mu\text{F}$

4 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$

5 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

6 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

7 Capacitance = 003.9  $\mu\text{F}$

8 Capacitance = 003.9  $\mu\text{F}$

9 Capacitance = 003.9  $\mu\text{F}$

10 Capacitance = 003.8  $\mu\text{F}$

11 Capacitance = 003.8  $\mu\text{F}$

12 Capacitance = 003.8  $\mu\text{F}$

13 Capacitance = 003.8  $\mu\text{F}$

14 Capacitance = 003.8  $\mu\text{F}$

15 Capacitance = 003.8  $\mu\text{F}$

16 Capacitance = 003.8  $\mu\text{F}$

17 Capacitance = 003.8  $\mu\text{F}$

18 Capacitance = 003.8  $\mu\text{F}$

19 Capacitance = 003.8  $\mu\text{F}$

20 Capacitance = 003.8  $\mu\text{F}$

21 Capacitance = 003.9  $\mu\text{F}$

22 Capacitance = 003.9  $\mu\text{F}$

23 Capacitance = 003.9  $\mu\text{F}$

24 Capacitance = 003.9  $\mu\text{F}$

25 Capacitance = 003.9  $\mu\text{F}$

26 Capacitance = 003.9  $\mu\text{F}$

27 Capacitance = 003.9  $\mu\text{F}$

28 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

29 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

30 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

31 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$

e) Με 4 σταγόνες νερού



- 1 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$
- 2 Capacitance = 004.0  $\mu\text{F}$
- 3 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$
- 4 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$
- 5 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$
- 6 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$
- 7 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$
- 8 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$
- 9 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$
- 10 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$
- 11 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$
- 12 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$
- 13 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$
- 14 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$
- 15 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$
- 16 Capacitance = 004.1  $\mu\text{F}$
- 17 Capacitance = 004.2  $\mu\text{F}$
- 18 Capacitance = 004.2  $\mu\text{F}$
- 19 Capacitance = 004.2  $\mu\text{F}$
- 20 Capacitance = 004.2  $\mu\text{F}$
- 21 Capacitance = 004.2  $\mu\text{F}$
- 22 Capacitance = 004.2  $\mu\text{F}$
- 23 Capacitance = 004.2  $\mu\text{F}$
- 24 Capacitance = 004.2  $\mu\text{F}$
- 25 Capacitance = 004.2  $\mu\text{F}$
- 26 Capacitance = 004.3  $\mu\text{F}$
- 27 Capacitance = 004.3  $\mu\text{F}$
- 28 Capacitance = 004.4  $\mu\text{F}$
- 29 Capacitance = 004.4  $\mu\text{F}$
- 30 Capacitance = 004.5  $\mu\text{F}$

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα δημιουργήθηκε το διάγραμμα μεταβολής της χωρητικότητας (Εικόνα 40). Κάθε σημείο αντιπροσωπεύει μια μέτρηση. Στον οριζόντιο άξονα φαίνεται ο αριθμός των σταγόνων νερού στην επιφάνεια του πυκνωτή. Στον κατακόρυφο άξονα η χωρητικότητα του πυκνωτή σε nF.



Όπως ήταν αναμενόμενο, από το διάγραμμα παρατηρείται ότι με τις δύο πρώτες σταγόνες η χωρητικότητα εμφανίζει μεγάλη αύξηση ενώ για περισσότερες από δύο παραμένει σχεδόν σταθερή στην τιμή που έχει φτάσει αφού η επιφάνεια του πυκνωτή έχει καλυφθεί. Η γραμμή που ενώνει τις μετρήσεις φαίνεται να είναι σχεδόν ευθεία για περισσότερες από τις δύο σταγόνες.

Στη συνέχεια, για καθεμία από τις περιπτώσεις υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι (αριθμητικός, γεωμετρικός και αρμονικός), η αβεβαιότητα (Uncertainty 100% και 95.4%), η τυπική απόκλιση (Standard deviation), η διασπορά (Variance) και το περιθώριο σφάλματος (Margin of error) των μετρήσεων.

Ο αριθμητικός μέσος  $\chi$  των θετικών αριθμών  $\alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_\nu$  είναι:

$$\chi = \frac{\alpha_1 + \alpha_2 + \dots + \alpha_\nu}{\nu} \quad (\text{A})$$

Ο γεωμετρικός μέσος  $\lambda$  των θετικών αριθμών  $\alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_\nu$  είναι:

$$\lambda = \sqrt[\nu]{\alpha_1 \cdot \alpha_2 \cdot \dots \cdot \alpha_\nu} \quad (\text{B})$$

Ο αρμονικός μέσος  $\rho$  των θετικών αριθμών  $\alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_\nu$  είναι:

$$\rho = \frac{\nu}{\frac{1}{\alpha_1} + \frac{1}{\alpha_2} + \dots + \frac{1}{\alpha_\nu}} \quad (\text{Γ})$$

Για την αβεβαιότητα έγινε χρήση του τύπου της τυπικής απόκλισης (Standard deviation):

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^2}. \quad (\text{Δ})$$

Η διασπορά (Variance) είναι ίση με  $\sigma^2$  και το περιθώριο σφάλματος (Margin of error) ίσο με  $\sigma_{\bar{x}} = \sigma/\sqrt{N}$ , όπου  $N$  το πλήθος των μετρήσεων,  $\mu$  ο μέσος όρος και  $x_i$  η κάθε μέτρηση. Για την αβεβαιότητα (Uncertainty) επιπέδου 95.4% αφαιρέθηκαν τυχαία σε κάθε περίπτωση 2 μετρήσεις και έγιναν οι ίδιοι υπολογισμοί. Ακολουθούν τα αποτελέσματα αυτών των υπολογισμών για καθεμία από τις 5 περιπτώσεις.

a) Χωρίς νερό

Αριθμητικός M.O.:

$$(0.091+0.083+0.091+0.091+0.086+0.091+0.085+0.085+0.086+0.087+0.087+0.086+0.175+0.091+0.085+0.091+0.087+0.091+0.086+0.091+0.087+0.087+0.091+0.091+0.086+0.091+0.091+0.086+0.086+0.091+0.091+0.087) / 32 = 2.911 / 32 = 0.09096875 \text{ nF} = 90.96875 \text{ pF} \sim 91 \text{ pF}$$

Γεωμετρικός Μ.Ο.:

$$(0.091*0.083*0.091*0.091*0.086*0.091*0.085*0.085*0.086*0.087*0.087*0.086*0.175*0.091*0.085*0.091*0.087*0.091*0.086*0.091*0.087*0.087*0.091*0.091*0.086*0.091*0.091*0.086*0.086*0.091*0.091*0.087)^{(1/32)}=3.5938263210443527656512013989164e-34^{(1/32)}=0.09012829573088282434184890227037 \sim 90 \text{ pF}$$

Αρμονικός Μ.Ο.:

$$32/((1/0.091)+(1/0.083)+(1/0.091)+(1/0.091)+(1/0.086)+(1/0.091)+(1/0.085)+(1/0.085)+(1/0.086)+(1/0.087)+(1/0.087)+(1/0.086)+(1/0.175)+(1/0.091)+(1/0.085)+(1/0.091)+(1/0.087)+(1/0.091)+(1/0.086)+(1/0.091)+(1/0.087)+(1/0.087)+(1/0.091)+(1/0.091)+(1/0.086)+(1/0.091)+(1/0.091)+(1/0.086)+(1/0.086)+(1/0.091)+(1/0.091)+(1/0.087)) = 32/357.2636160571713339887787761835 = 0.08956971424394691216381753079811 \sim 90 \text{ pF}$$

Αβεβαιότητα (100%)

$$\text{Τυπική απόκλιση, } \sigma=0.015308258341088$$

$$\text{Διασπορά, } \sigma^2=0.0002343427734375$$

$$\text{Περιθώριο σφάλματος, } \sigma_{\bar{x}} = \sigma/\sqrt{N}= 0.0027061433202848$$

$$\text{Αβεβαιότητα (95.4\%)} \sim 1.960\sigma_{\bar{x}} = 0.005304040907758208$$

$$\sigma=0.0024587711474547$$

$$\sigma^2= 6.04555555555556E-6$$

$$\sigma_{\bar{x}} = 0.00044890814040126$$

b) Με 1 σταγόνα νερού

Αριθμητικός Μ.Ο.:

$$(2.7+2.6+2.6+2.6+2.6+2.6+2.6+2.6+2.6+2.7+2.7+2.7+2.7+2.7+2.7+2.7+2.7+2.7+2.7+2.8+2.8+2.8+2.8+2.8+2.8+2.8+2.8+2.8+2.8+2.9+2.9+2.9)/31 = 84.5 / 31 = 2.725806452 \text{ } \mu\text{F} \sim 2.7 \text{ } \mu\text{F}$$

Γεωμετρικός Μ.Ο.:

$$(2.7*2.6*2.6*2.6*2.6*2.6*2.6*2.6*2.6*2.7*2.7*2.7*2.7*2.7*2.7*2.7*2.7*2.7*2.7*2.7*2.8*2.8*2.8*2.8*2.8*2.8*2.8*2.8*2.8*2.8*2.8*2.9*2.9*2.9)^{(1/31)}=31059805548301.606020078136932217^{(1/31)}=2.7241575252327858122710751199702 \sim 2.7 \text{ } \mu\text{F}$$

Αρμονικός Μ.Ο.:

$$\begin{aligned} & 31/((1/2.7)+(1/2.6)+(1/2.6)+(1/2.6)+(1/2.6)+(1/2.6)+(1/2.6)+(1/2.6)+(1/2.6)+(1/2.7)+ \\ & (1/2.7)+(1/2.7)+(1/2.7)+(1/2.7)+(1/2.7)+(1/2.7)+(1/2.7)+(1/2.7)+(1/2.8)+(1/2.8)+ \\ & (1/2.8)+(1/2.8)+(1/2.8)+(1/2.8)+(1/2.8)+(1/2.8)+(1/2.8)+(1/2.8)+(1/2.9)+(1/2.9)+(1/2.9))= \\ & 31/11.386538110676041710524469145159 = 2.7225131728961883338982528579792 \sim 2.7 \mu\text{F} \end{aligned}$$

Αβεβαιότητα (100%)

Τυπική απόκλιση,  $\sigma = 0.094928638513304$

Διασπορά,  $\sigma^2 = 0.0090114464099896$

Περιθώριο σφάλματος,  $\sigma_{\bar{x}} = 0.017049686791173$

Αβεβαιότητα (95.4%)  $\sim 1.960\sigma_{\bar{x}} = 0.03341738611069908$

$\sigma = 0.085999751126482$

$\sigma^2 = 0.0073959571938169$

$\sigma_{\bar{x}} = 0.015969752868574$

c) Με 2 σταγόνες νερού

Αριθμητικός Μ.Ο.:

$$\begin{aligned} & (4.8+4.5+4.4+4.2+4.2+4.1+4.1+4+4+4+3.9+3.9+3.9+4+4+4+4+4+4+4.1+4.1+4.1+4.1+4.1+4.1+4.1 \\ & +4.1+4.1+4.1+4.1+4.1) / 32 = 131.3 / 32 = 4.103125 \sim 4.1 \mu\text{F} \end{aligned}$$

Γεωμετρικός Μ.Ο.:

$$\begin{aligned} & (4.8*4.5*4.4*4.2*4.2*4.1*4.1*4*4*4*3.9*3.9*3.9*4*4*4*4*4*4.1*4.1*4.1*4.1*4.1*4.1*4.1 \\ & *4.1*4.1*4.1*4.1*4.1)^{(1/32)} = 40541200261874441309.078061984926^{(1/32)} = \\ & 4.0996498829710487263613002230354 \sim 4.1 \mu\text{F} \end{aligned}$$

Αρμονικός Μ.Ο.:

$$\begin{aligned} & 32/((1/4.8)+(1/4.5)+(1/4.4)+(1/4.2)+(1/4.2)+(1/4.1)+(1/4.1)+(1/4)+(1/4)+(1/3.9)+ \\ & (1/3.9)+(1/3.9)+(1/4)+(1/4)+(1/4)+(1/4)+(1/4)+(1/4)+(1/4.1)+(1/4.1)+(1/4.1)+ \\ & (1/4.1)+(1/4.1)+(1/4.1)+(1/4.1)+(1/4.1)+(1/4.1)+(1/4.1)+(1/4.1)+(1/4.1)+(1/4.1)) \\ & = 32/7.8117861136153819080648348941032 = 4.0963743162688875013629893239976 \sim 4.1 \mu\text{F} \end{aligned}$$

Αβεβαιότητα (100%)

Τυπική απόκλιση,  $\sigma = 0.17407680596507$

Διασπορά,  $\sigma^2 = 0.030302734375$

Περιθώριο σφάλματος,  $\sigma_{\bar{x}} = 0.030772722486299$

Αβεβαιότητα (95.4%)  $\sim 1.960\sigma_{\bar{x}} = 0.06031453607314604$

$\sigma = 0.097752521990768$

$\sigma^2 = 0.009555555555555556$

$\sigma_{\bar{x}} = 0.017847087115788$

d) Με 3 σταγόνες νερού

Αριθμητικός Μ.Ο.:

$(4.2+4+4.2+4.1+4+4+3.9+3.9+3.9+3.8+3.8+3.8+3.8+3.8+3.8+3.8+3.8+3.8+3.8+3.8+3.9+3.9+3.9+3.9+3.9+3.9+4+4+4+4) / 31 = 121.3 / 31 = 3.912903226 \sim 3.9 \mu\text{F}$

Γεωμετρικός Μ.Ο.:

$(4.2*4*4.2*4.1*4*4*3.9*3.9*3.9*3.8*3.8*3.8*3.8*3.8*3.8*3.8*3.8*3.8*3.8*3.8*3.9*3.9*3.9*3.9*3.9*3.9*4*4*4*4)^{(1/31)} = 2301272299409053325.4630647711743^{(1/31)} = 3.9113037890797682681563261516232 \sim 3.9 \mu\text{F}$

Αρμονικός Μ.Ο.:

$31 / ((1/4.2)+(1/4)+(1/4.2)+(1/4.1)+(1/4)+(1/4)+(1/3.9)+(1/3.9)+(1/3.9)+(1/3.8)+(1/3.8)+(1/3.8)+(1/3.8)+(1/3.8)+(1/3.8)+(1/3.8)+(1/3.8)+(1/3.8)+(1/3.8)+(1/3.8)+(1/3.9)+(1/3.9)+(1/3.9)+(1/3.9)+(1/3.9)+(1/3.9)+(1/3.9)+(1/3.9)+(1/4)+(1/4)+(1/4)+(1/4)) = 31 / 7.9289323214226936948374689067885 = 3.9097319466636144790522127198832 \sim 3.9 \mu\text{F}$

Αβεβαιότητα (100%)

Τυπική απόκλιση,  $\sigma = 0.11285713344862$

Διασπορά,  $\sigma^2 = 0.012736732570239$

Περιθώριο σφάλματος,  $\sigma_{\bar{x}} = 0.020269739538915$

Αβεβαιότητα (95.4%)  $\sim 1.960\sigma_{\bar{x}} = 0.0397286894962734$



### 3.3.2 Μετρήσεις με υδατικό διάλυμα πολυβινυλικής αλκοόλης

Όπως αναφέρθηκε, η χωρητικότητα του πυκνωτή στη διάταξη μετρήθηκε όταν με μια σταγόνα, στην επιφάνειά του, ίδιου όγκου (0.5 ml) υδατικού διαλύματος πολυβινυλικής αλκοόλης που περιέχει επίσης ποβιδόνη και χλωριούχο νάτριο. Διεξήχθησαν 30 μετρήσεις και έγιναν οι αντίστοιχοι με το προηγούμενο πείραμα, υπολογισμοί.

1 Capacitance = 029.9  $\mu$ F

2 Capacitance = 028.8  $\mu$ F

3 Capacitance = 027.9  $\mu$ F

4 Capacitance = 027.2  $\mu$ F

5 Capacitance = 027.7  $\mu$ F

6 Capacitance = 027.8  $\mu$ F

7 Capacitance = 027.2  $\mu$ F

8 Capacitance = 027.1  $\mu$ F

9 Capacitance = 027.4  $\mu$ F

10 Capacitance = 027.9  $\mu$ F

11 Capacitance = 028.7  $\mu$ F

12 Capacitance = 027.8  $\mu$ F

13 Capacitance = 027.4  $\mu$ F

14 Capacitance = 027.1  $\mu$ F

15 Capacitance = 026.8  $\mu$ F

16 Capacitance = 026.6  $\mu$ F

17 Capacitance = 026.3  $\mu$ F

18 Capacitance = 025.8  $\mu$ F

19 Capacitance = 025.7  $\mu$ F

20 Capacitance = 025.4  $\mu$ F

21 Capacitance = 025.1  $\mu$ F

22 Capacitance = 025.0  $\mu$ F

23 Capacitance = 024.6  $\mu$ F

24 Capacitance = 024.4  $\mu$ F

25 Capacitance = 024.0  $\mu$ F

26 Capacitance = 023.8  $\mu$ F

27 Capacitance = 023.5  $\mu$ F

28 Capacitance = 023.2  $\mu$ F



29 Capacitance = 022.9  $\mu$ F

30 Capacitance = 023.3  $\mu$ F

Αριθμητικός Μ.Ο.: 26.21  $\mu$ F

Γεωμετρικός Μ.Ο.: 26.143945115039  $\mu$ F

Αρμονικός Μ.Ο.: 26.07713659545  $\mu$ F

Αβεβαιότητα (100%)

Τυπική απόκλιση,  $\sigma$ = 1.8490267710339

Διασπορά,  $\sigma^2$ = 3.4189

Περιθώριο σφάλματος,  $\sigma_{\bar{x}}$  = 0.33758455730873

Αβεβαιότητα (95.4%)  $\sim 1.960\sigma_{\bar{x}}$  = 0.6616657323251108

$\sigma$ = 1.6689351059149

$\sigma^2$ = 2.7853443877551

$\sigma_{\bar{x}}$  = 0.31539908889686

Παρατηρώντας τα αποτελέσματα για τη μία σταγόνα απιονισμένου νερού και αυτά για τη μία σταγόνα του δεύτερου υδατικού διαλύματος, φαίνεται ότι ενώ ο όγκος των υγρών ήταν ίδιος και στις δύο περιπτώσεις (0.5 ml), η χωρητικότητα στην περίπτωση του νερού ήταν περίπου 2.7  $\mu$ F ενώ στην περίπτωση του διαλύματος ήταν 26.2  $\mu$ F. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνει ότι σε έναν interdigitated αισθητήρα η χωρητικότητα αλλάζει με βάση τις διηλεκτρικές ιδιότητες των μέσων και αυτό, του δίνει την δυνατότητα για διάκριση ή και αναγνώριση ουσιών.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

### ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΤΡΟΠΟΝΙΝΗΣ

#### 4.1 Μετρήσεις σε διαλύματα τροπονίνης

Μετά την κατασκευή της διάταξης και τις δοκιμές για την ορθή λειτουργία με νερό και υδατικό διάλυμα, είχαν σειρά οι μετρήσεις με χρήση βιολογικών διαλυμάτων αντισωμάτων τροπονίνης I και τροπονίνης I διαφόρων περιεκτικοτήτων, ώστε να εξεταστεί κατά πόσο ο αισθητήρας είναι σε θέση να δώσει ορθά αποτελέσματα ανίχνευσης σε πραγματικές συνθήκες. Οι μετρήσεις αυτές, έγιναν με τη χρήση ενός μετρητή χωρητικότητας (Fluke Capacitance meter) σε συχνότητα 100 kHz, ώστε να λαμβάνεται κάθε φορά η τιμή της χωρητικότητας του interdigitated πυκνωτή είτε εν κενώ είτε παρουσία διαλυμάτων στην επιφάνειά του. Όπως είναι αναμενόμενο μετά την επαλήθευση της ικανότητας της διάταξης για ορθή μέτρηση της χωρητικότητας, οι παρούσες μετρήσεις που έγιναν με το Fluke Capacitance meter θα συμφωνούν με αυτές που θα λαμβάνονταν με χρήση του Funduino.

##### 4.1.1 Χωρητικότητα διαλύματος τροπονίνης στον χρόνο – Sensitivity measurement

Αρχικά, μετρήθηκε η χωρητικότητα του interdigitated πυκνωτή παρουσία διαλύματος αντισωμάτων τροπονίνης I και βρέθηκε ίση με 1100 pF ή 1.1 nF. Η τιμή της χωρητικότητας τώρα, εμφανίζεται πολύ μικρότερη από τις τιμές που ελήφθησαν από τις μετρήσεις με το νερό και το υδατικό διάλυμα του προηγούμενου κεφαλαίου και συγκεκριμένα τρεις και τέσσερις τάξεις μεγέθους μικρότερη, αντίστοιχα. Το γεγονός αυτό οφείλεται στη διαφορά της συχνότητας που έγιναν οι μετρήσεις χωρητικότητας, καθώς η συχνότητα διέγερσης και η χωρητικότητα ενός πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων καλωδίων είναι αντιστρόφως ανάλογα μεγέθη όπως φάνηκε στην εξίσωση (4) του κεφαλαίου 2.2.3. Επομένως, στη μεγάλη συχνότητα των 100 kHz που χρησιμοποιήθηκε σε αυτές τις μετρήσεις, είναι λογικό η χωρητικότητα να είναι αρκετά μικρής τάξεως.

Με τη προσθήκη του διαλύματος αντισωμάτων στην επιφάνεια ολοκληρώθηκε η κατασκευή του βιοαισθητήρα. Πλέον, κάθε αλλαγή σε αυτή τη χωρητικότητα υποδεικνύει την παρουσία τροπονίνης

I στα διαλύματα που προστίθενται, η οποία θα αλληλεπιδρά με τα αντισώματα του πυκνωτή και θα μεταβάλλει τη διηλεκτρική σταθερά, άρα και τη χωρητικότητα.

Ακολούθως, τοποθετήθηκε υδατικό διάλυμα τροπονίνης I μικρής περιεκτικότητας (2 µg/ml) και η χωρητικότητα μετρήθηκε σε συνάρτηση με το χρόνο ώστε να γίνει η μέτρηση ευαισθησίας του αισθητήρα (sensitivity measurement). Οι μετρήσεις χωρητικότητας πάρθηκαν ανά 5 δευτερόλεπτα.

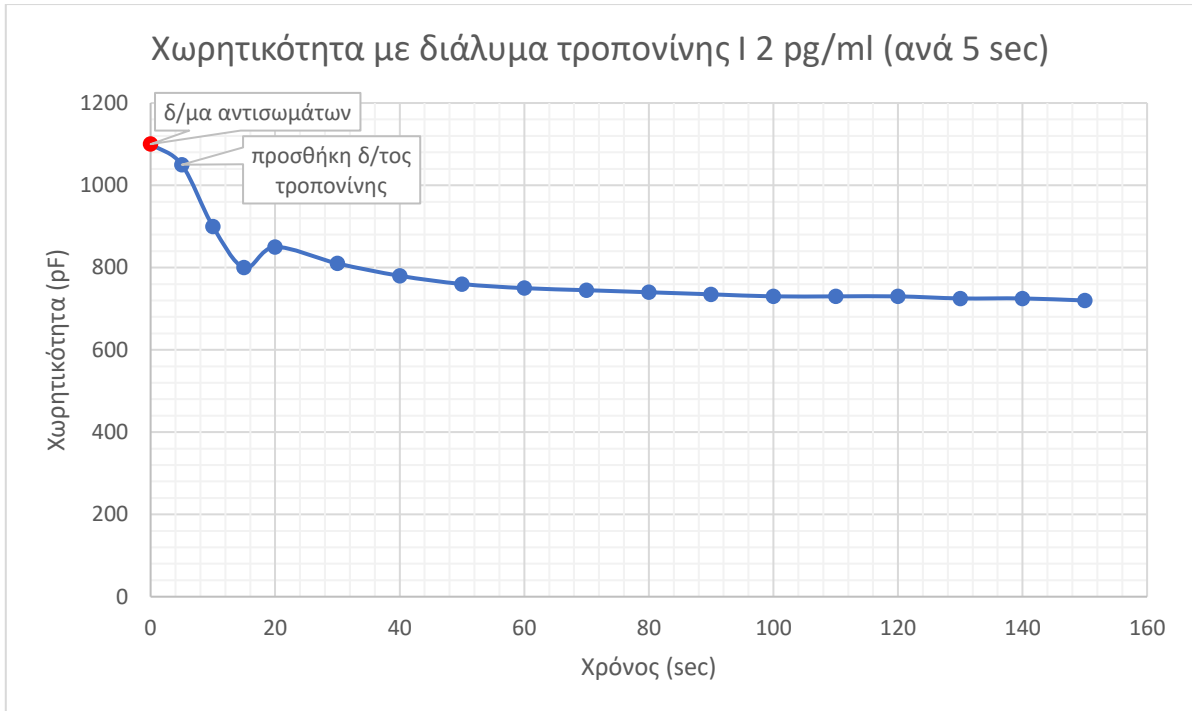
Φάνηκε ότι η αρχική χωρητικότητα (1100 pF) μειώθηκε και ότι από τα 60 δευτερόλεπτα και έπειτα σχεδόν σταθεροποιήθηκε, περίπου στα 730 pF. Αυτή η μεταβολή (περίπου 370 pF), είναι ικανή να υποδείξει την ύπαρξη τροπονίνης I στο διάλυμα, παρόλο που πρόκειται για διάλυμα αρκετά μικρής περιεκτικότητας. Η μείωση οφείλεται στην μετατόπιση των αντίθετων ιόντων γύρω από το ηλεκτρόδιο όταν το μόριο-στόχος συνδέεται με τον υποδοχέα, όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 2.2.3.

*Ακολουθούν ο*

Πίνακας 4 και το διάγραμμα (Εικόνα 41) από αυτές τις μετρήσεις.

*Πίνακας 4. Μετρήσεις χωρητικότητας με διάλυμα τροπονίνης I μικρής περιεκτικότητας*

Χρόνος (sec)	Χωρητικότητα (pF)
Πριν την προσθήκη	1100
5	1050
10	900
15	800
20	850
30	810
40	780
50	760
60	750
70	745
80	740
90	735
100	730
110	730
120	730
130	725
140	725
150	720



Εικόνα 41. Διάγραμμα μεταβολής χωρητικότητας με προσθήκη διαλύματος τροπονίνης I μικρής περιεκτικότητας.

Για την ανάλυση της ευαισθησίας του αισθητήρα, από τις παραπάνω μετρήσεις υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι (αριθμητικός, γεωμετρικός και αρμονικός), η αβεβαιότητα, η τυπική απόκλιση, η διασπορά και το περιθώριο σφάλματος, ακριβώς όπως στις μετρήσεις με το νερό και το υδατικό διάλυμα που παρουσιάστηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο (εξιιώσεις Α, Β, Γ, Δ του κεφαλαίου 3.1.1).

Αριθμητικός Μ.Ο.:

$$(1050+900+800+850+810+780+760+750+745+740+735+730+730+730+725+725+720) / 17 = 781.17647058824 \sim 781 \text{ pF}$$

Γεωμετρικός Μ.Ο.:

$$(1050 \cdot 900 \cdot 800 \cdot 850 \cdot 810 \cdot 780 \cdot 760 \cdot 750 \cdot 745 \cdot 740 \cdot 735 \cdot 730 \cdot 730 \cdot 730 \cdot 725 \cdot 725 \cdot 720)^{(1/17)} = 777.3042396 \sim 777 \text{ pF}$$

Αρμονικός Μ.Ο.:

$$17 / (1/1050 + 1/900 + 1/800 + 1/850 + 1/810 + 1/780 + 1/760 + 1/750 + 1/745 + 1/740 + 1/735 + 1/730 + 1/730 + 1/730 + 1/725 + 1/725 + 1/720) = 773.88878 \sim 778 \text{ pF}$$

Αβεβαιότητα (100%)

Τυπική απόκλιση,  $\sigma = 82.880662112758$

Διασπορά,  $\sigma^2 = 6869.2041522491$

Περιθώριο σφάλματος,  $\sigma_{\bar{x}} = \sigma/\sqrt{N} = 20.101513188943$

Αβεβαιότητα (95.4%)  $\sim 1.960\sigma_{\bar{x}} = 39.39896585032828$

$\sigma = 49.9960935974$

$\sigma^2 = 2499.609375$

$\sigma_{\bar{x}} = 12.49902339935$

#### 4.1.2 Χωρητικότητα με αύξηση περιεκτικότητας διαλύματος – Calibration

Σε δεύτερη φάση, εξετάστηκε η μεταβολή της χωρητικότητας για διαφορετικές περιεκτικότητες υδατικών διαλυμάτων τροπονίνης I ώστε να πραγματοποιηθεί η διακρίβωση (calibration) του αισθητήρα. Η περιεκτικότητα αυξήθηκε έως την τιμή των 20 pg/ml. Για κάθε τιμή της, η χωρητικότητα μετρήθηκε μετά από 60 δευτερόλεπτα, χρονικό διάστημα στο οποίο φάνηκε από το προηγούμενο πείραμα ότι άρχισε να σταθεροποιείται η τιμή της.

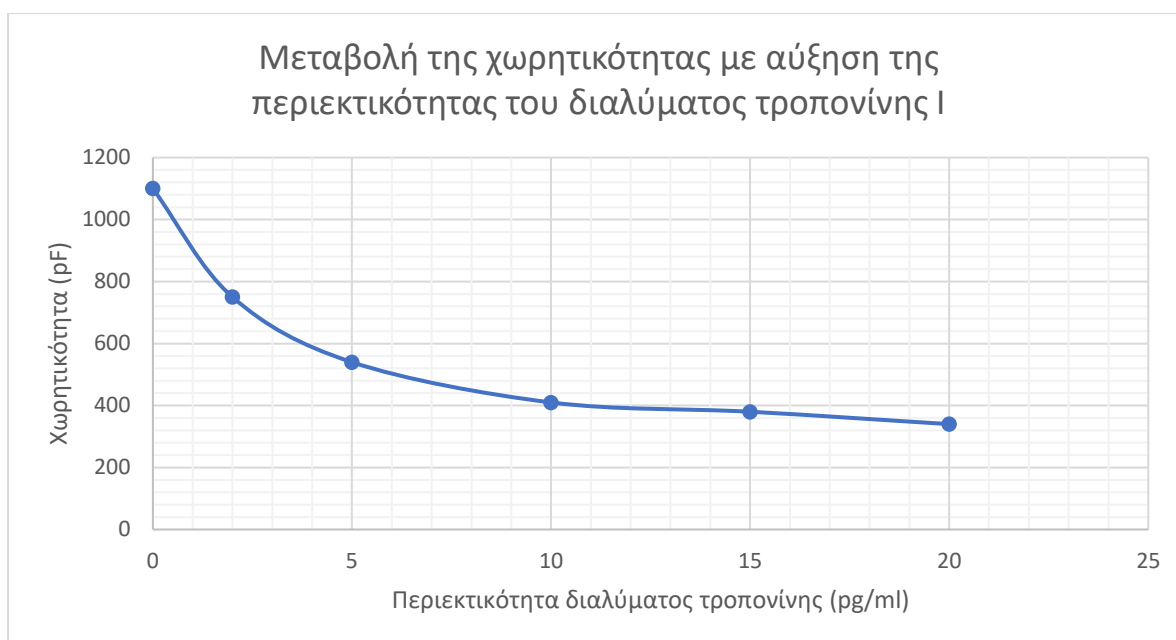
Θα πρέπει να τονιστεί ότι, για πιο ασφαλή συμπεράσματα για την πιστότητα της απόδοσης του αισθητήρα, απαιτούνται ακόμη περισσότερες μετρήσεις με μεγαλύτερο αριθμό πυκνωτών και για διαλύματα μεγαλύτερων περιεκτικότητας (π.χ. έως την τιμή των 200 pg/ml). Ωστόσο, κάτι τέτοιο δεν ήταν δυνατό στα πλαίσια της παρούσας εργασίας λόγω της έλλειψης του απαραίτητου υλικού.

*Από τις μετρήσεις για περιεκτικότητες έως 20 pg/ml, παρατηρείται μονοτονική μείωση της χωρητικότητας καθώς αυξάνεται η περιεκτικότητα των διαλυμάτων τροπονίνης I. Αυτό δικαιολογείται από το γεγονός ότι όσο περισσότερα είναι τα βιομόρια τροπονίνης (μεγαλύτερη περιεκτικότητα), τόσο περισσότερα αντιδρούν με τα αντισώματα του ήδη υπάρχοντος διαλύματος αντισωμάτων του αισθητήρα. Παρακάτω φαίνεται ο*

Πίνακας 5 αυτών των μετρήσεων και το αντίστοιχο διάγραμμα (Εικόνα 42).

Πίνακας 5. Μετρήσεις χωρητικότητας με αύξηση της περιεκτικότητας διαλύματος τροπονίνης

Συγκέντρωση (pg/ml)	Χωρητικότητα (pF)
Πριν την προσθήκη	1100
2	750
5	540
10	410
15	380
20	340



Εικόνα 42. Διάγραμμα μεταβολής της χωρητικότητας με αύξηση της περιεκτικότητας διαλύματος τροπονίνης.

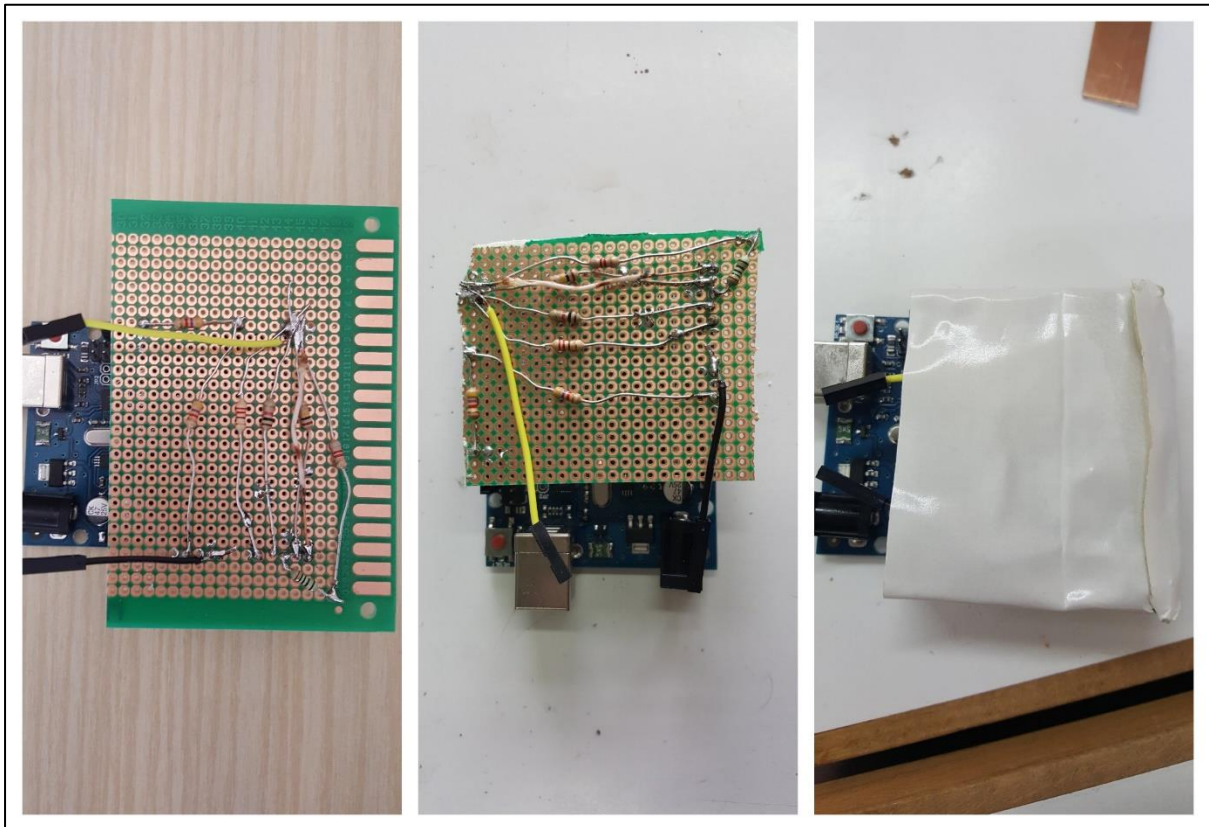
Από τις παραπάνω μετρήσεις, γίνεται κατανοητό ότι ο αισθητήρας είναι πράγματι σε θέση να ανιχνεύσει την παρουσία τροπονίνης σε ένα διάλυμα, άρα και σε ανθρώπινο ορό ή αίμα, μέσω της αλλαγής χωρητικότητας του interdigitated πυκνωτή. Μάλιστα, αφού η μεταβολή αυτή εξαρτάται από την περιεκτικότητα, μπορεί ακόμη να εντοπίζει ποιοτικά την ποσότητα της τροπονίνης στο διάλυμα, θέτοντας τη βάση για τη δυνατότητα ακριβούς μέτρησης των επιπέδων τροπονίνης.

#### 4.2 Πλεονεκτήματα – δυνατότητες διάταξης

Σε αυτή την ενότητα, εξετάζεται η δυνατότητα του αισθητήρα να χρησιμοποιηθεί ως μια πραγματική φορητή και εύχρηστη συσκευή πρόβλεψης καρδιακής προσβολής. Ένας τέτοιος συμπαγής (compact)

και ακριβής βιοαισθητήρας αναγνώρισης αυξημένων επιπέδων τροπονίνης, θα μπορούσε να αποτελέσει ένα απαραίτητο αξεσουάρ για άτομα με βεβαρυμμένο ιστορικό καρδιακών παθήσεων προσφέροντάς τους πολυάριθμα οφέλη. Η έγκαιρη ιατρική παρέμβαση σε έκτακτες περιπτώσεις θα είναι δυνατό ακόμα και να σώσει τη ζωή αυτών των ατόμων καθώς η αυξημένη τροπονίνη είναι μεταξύ άλλων βασική ένδειξη για εκδήλωση εμφράγματος του μυοκαρδίου.

Για το σκοπό αυτό, επιχειρήθηκε η ελαχιστοποίηση του μεγέθους της διάταξης (miniaturization) που παρουσιάστηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο πάνω σε Breadboard, για σκοπούς επεξήγησης. Οι αντιστάσεις του Breadboard κολλήθηκαν σε μια μικρή διάτρητη πλακέτα PCB και αυτή τοποθετήθηκε πάνω στο Funduino ώστε να συνδέονται κατάλληλα τα pins. Στη συνέχεια, η πλακέτα κόπηκε, έγινε ένα τυπικό, απλό πακετάρισμα της συσκευής και η βάση με τον interdigitated πυκνωτή τοποθετήθηκε ανάμεσα στην πλακέτα και στο Funduino. Έτσι, η διάταξη έχει πλέον μικρότερες διαστάσεις, παρόμοιες με αυτές του μικροελεγκτή, και συγκεκριμένα είναι 10 cm x 6 cm x 2 cm (μήκος x πλάτος x ύψος) και βάρος περίπου 85 g και αποτελείται από μία ενιαία κατασκευή αντί για 2 ξεχωριστά μέρη. Τα βήματα της τροποποίησης της διάταξης φαίνονται στην Εικόνα 43 και η τελική μορφή της στην Εικόνα 44.



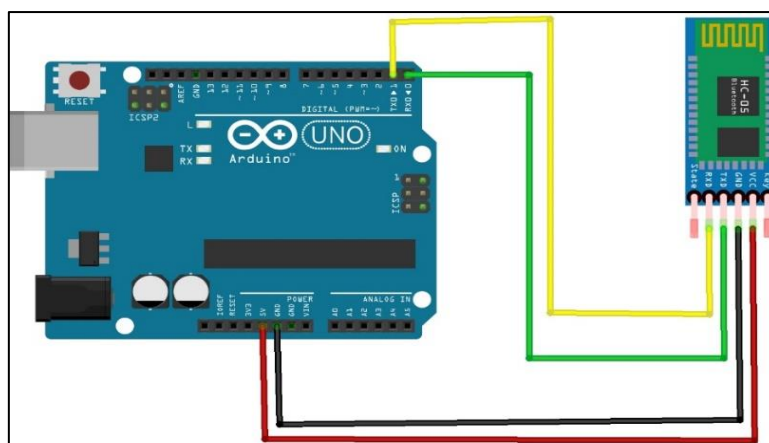
Εικόνα 43. Σταδιακή τροποποίηση της διάταξης.





Εικόνα 44. Τελική μορφή διάταξης.

Επιπλέον, είναι ιδιαίτερα σημαντική η δυνατότητα που δίνεται μέσω του Arduino (και Funduino) για ασύρματη μεταφορά των αποτελεσμάτων σε οποιαδήποτε συσκευή (Laptop, Tablet, Smartphone) μέσω της τεχνολογίας Bluetooth. Πρόκειται για μια ασύρματη τεχνολογία που επιτρέπει τη σύνδεση συσκευών για την αποστολή δεδομένων μεταξύ τους γρήγορα και αποτελεσματικά χωρίς την ανάγκη σημείου συνάντησης ή δρομολογητή. Για την μεταφορά των μετρήσεων από τον αισθητήρα στην εκάστοτε συσκευή μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια βοηθητική συσκευή Bluetooth (Bluetooth module), HC-05. Η συσκευή αυτή συνδέεται σε ηλεκτρονική διάταξη με την πλακέτα του Arduino, ώστε να λαμβάνει ενσύρματα τα δεδομένα και ύστερα να τα μεταδίδει ασύρματα στην εφαρμογή. Συνδέοντας στο Arduino ένα Bluetooth module HC-05 (όπως φαίνεται στην παρακάτω Εικόνα 45 από πρόγραμμα προσομοίωσης) και προγραμματίζοντάς το κατάλληλα, είναι δυνατή η εμφάνιση των ίδιων δεδομένων στην επιθυμητή ηλεκτρονική συσκευή χωρίς την ανάγκη της σειριακής USB σύνδεσης με ηλεκτρονικό υπολογιστή που χρησιμοποιήθηκε στα πλαίσια της παρούσας εργασίας.



Εικόνα 45. Προσομοίωση σύνδεσης Bluetooth HC-05 με Arduino Uno [51].

Με τα παραπάνω, γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι, η εν λόγω διάταξη είναι δυνατό να αποτελέσει έναν φορητό, μικρού μεγέθους, έξυπνο βιοαισθητήρα γρήγορης και ακριβής μέτρησης με φθηνή και απλή κατασκευή του ηλεκτρονικού του μέρους, πληρώντας την αρχή “Better-Faster-Cheaper” του τομέα της ανάπτυξης βιοαισθητήρων.

#### 4.3 Δυνατότητα χρήσης αισθητήρα για μέτρηση άλλων ουσιών

Η διάταξη που κατασκευάστηκε και περιγράφεται πλήρως στο κεφάλαιο 2, στα πλαίσια αυτής της εργασίας χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση τροπονίνης μέσω της μεταβολής χωρητικότητας. Με απλά λόγια, χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα αντισωμάτων τροπονίνης I, μετρήθηκε η χωρητικότητα και επομένως κάθε περαιτέρω αλλαγή σε αυτήν υποδείκνυε την παρουσία τροπονίνης I σε διαλύματα που προστέθηκαν, καθώς όταν η τροπονίνη συνδεόταν με τα αντισώματα, η διηλεκτρική σταθερά στην επιφάνεια του πυκνωτή, άρα και η χωρητικότητα άλλαζαν.

Με βάση αυτό, είναι δυνατό να ισχυριστεί κανείς πως η διάταξη που κατασκευάστηκε μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοαισθητήρας αναγνώρισης πολλών και διαφορετικών βιομορίων. Απαραίτητο στοιχείο είναι η ύπαρξη των κατάλληλων για το κάθε βιομόριο αναλυτών, στην επιφάνειά του. Σε έναν βιοαισθητήρα, ο αναλυτής ή βιοϋποδοχέας είναι σχεδιασμένος να αλληλεπιδρά και συνήθως να συνδέεται με την επιθυμητή αναλυόμενη ουσία, με υψηλή εκλεκτικότητα έναντι άλλων χημικών ή βιολογικών συστατικών. Οι πιο κοινοί τύποι αλληλεπιδράσεων βιοϋποδοχέων, των οποίων ακολουθεί μια συνοπτική περιγραφή, είναι: αντίσωμα/αντιγόνο, ένζυμο/προσδέτες, νουκλεϊκά οξέα/DNA, κυτταρικές δομές/κύτταρα ή βιομιμητικά υλικά.

Οι αλληλεπιδράσεις αντισώματος-αντιγόνου, που αξιοποιούνται και στην παρούσα εργασία, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τεστ στον ανθρώπινο ορό ή για την ανίχνευση συγκεκριμένων αντισωμάτων ως απόκριση σε μια ασθένεια ενώ είναι ήδη σημαντικό μέρος της παγκόσμιας κίνησης στην καταπολέμηση της πανδημίας COVID-19. Ωστόσο, η χρήση αντισωμάτων ως συστατικού βιοαναγνώρισης των βιοαισθητήρων έχει αρκετά μειονεκτήματα καθώς αυτά εμφανίζουν υψηλά μοριακά βάρη και περιορισμένη σταθερότητα [52].

Σε μια προσέγγιση για την υπέρβαση αυτών των περιορισμών, έχουν κατασκευαστεί τεχνητές οικογένειες αντιγονοδεσμευτικών πρωτεϊνών, ικανών να δεσμεύονται ειδικά σε διαφορετικές πρωτεΐνες-στόχους διατηρώντας τις ευνοϊκές ιδιότητες του μητρικού μορίου. Οι πρωτεΐνες τεχνητής δέσμησης είναι πολύ μικρότερες από τα αντισώματα, έχουν ισχυρή σταθερότητα και μπορούν να εκφραστούν σε υψηλή απόδοση σε μειωτικά κυτταρικά περιβάλλοντα όπως το βακτηριακό κυτταρόπλασμα γεγονός που τις καθιστούν ιδιαίτερα κατάλληλες για τη δημιουργία βιοαισθητήρων [53].

Οι ειδικές ικανότητες σύνδεσης και η καταλυτική δράση των ενζύμων τα καθιστούν δημοφιλείς βιοϋποδοχείς. Η αναγνώριση αναλυόμενης ουσίας ενεργοποιείται είτε μέσω της μετατροπής της αναλυόμενης ουσίας σε προϊόν που είναι ανιχνεύσιμο από αισθητήρες, είτε μέσω ανίχνευσης αναστολής ή ενεργοποίησης του ενζύμου από την αναλυόμενη ουσία είτε μέσω παρακολούθησης της τροποποίησης των ιδιοτήτων του ενζύμου εξαιτίας της αλληλεπίδρασης με την αναλυόμενη ουσία [52]. Η καταλυτική δραστηριότητα των ενζύμων επιτρέπει επίσης χαμηλότερα όρια ανίχνευσης σε σύγκριση με κοινές τεχνικές δέσμησης. Ωστόσο, η διάρκεια ζωής του αισθητήρα περιορίζεται από τη σταθερότητα του ενζύμου.

Η χρήση υποδοχέων δέσμησης - προσδετών για σκοπούς βιοαισθητοποίησης αρχικά διαμορφώθηκε σε ένα τεστ φθορισμού για τη μέτρηση της γλυκόζης, όπου η κονκαναβαλίνη A (Concanavalin A - ConA) μπορεί να λειτουργήσει ως υποδοχέας συγγένειας [54]. Η αρχή αυτών των αισθητήρων έχει το πλεονέκτημα ότι δεν καταναλώνει την αναλυόμενη ουσία σε μια χημική αντίδραση όπως συμβαίνει στις ενζυμικές αναλύσεις.

Οι βιοαισθητήρες που χρησιμοποιούν υποδοχείς βασισμένους σε νουκλεϊκά οξέα μπορούν είτε να βασίζονται σε αλληλεπιδράσεις συμπληρωματικών ζευγών βάσεων είτε σε ειδικούς μιμητές αντισωμάτων με βάση το νουκλεϊκό οξύ (απταμερή). Στην πρώτη περίπτωση, η διαδικασία αναγνώρισης βασίζεται στην αρχή του συμπληρωματικού ζεύγους βάσεων, αδερίνη-θυμίνη και κυτοσίνη-γουανίνη. Εάν η αλληλουχία νουκλεϊκού οξέος του στόχου είναι γνωστή, μπορούν να συντεθούν συμπληρωματικές αλληλουχίες, να επισημανθούν και στη συνέχεια να ακινητοποιηθούν στον αισθητήρα. Στην δεύτερη περίπτωση, τα απταμερή που δημιουργούνται έναντι του στόχου τον

αναγνωρίζουν μέσω αλληλεπίδρασης συγκεκριμένων μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων. Επιπλέον, τα απταμερή μπορούν να συνδυαστούν με ένζυμα νουκλεϊκών οξέων, όπως DNA ένζυμα που διασπούν RNA, παρέχοντας ταυτόχρονα αναγνώριση στόχου και παραγωγή σήματος σε ένα μόνο μόριο, γεγονός που δείχνει πιθανές εφαρμογές στην ανάπτυξη πολλαπλών βιοαισθητήρων [55].

Τα κύτταρα χρησιμοποιούνται συχνά σε βιοϋποδοχείς επειδή είναι ευαίσθητα στις συνθήκες περιβάλλοντος και τείνουν να προσκολλώνται στην επιφάνεια, ώστε να μπορούν να ακινητοποιηθούν εύκολα. Σε σύγκριση με άλλα οργανίδια παραμένουν ενεργά για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα και η αναπαραγωγικότητά τους τα καθιστά επαναχρησιμοποιήσιμα. Χρησιμοποιούνται συνήθως για την ανίχνευση ολικών παραμέτρων όπως η κατάσταση του στρες, τα οργανικά παράγωγα ή και για την παρακολούθηση της θεραπευτικής επίδρασης των φαρμάκων [56].

Μια αλληλεπίδραση μεταξύ του βιομορίου-στόχου και οποιουδήποτε τύπου βιοϋποδοχέα-αναλυτή μπορεί να μεταφραστεί στην αισθητήρια διάταξη ως αλλαγή διηλεκτρικής σταθεράς του μέσου, άρα και χωρητικότητας. Επομένως, με χρήση του κατάλληλου αναλυτή η διάταξη που κατασκευάστηκε είναι ευέλικτη να χρησιμοποιηθεί εύκολα για ανίχνευση πολλών βιομορίων όπως ιών ή πρωτεϊνών και να έχει πολυάριθμες και σπουδαίες εφαρμογές στον τομέα της υγείας. Μοναδική προϋπόθεση είναι η διάθεση ενός βιοϋποδοχέα, κατάλληλου για το μόριο-στόχο του οποίου επιχειρείται η ανίχνευση.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Η πρόληψη των καρδιοπαθειών και η μείωση του αριθμού των θανάτων που οφείλονται σε αυτές είναι ένα καίριο ζητούμενο που απασχολεί εδώ και χρόνια την παγκόσμια κοινότητα. Αποτελεί, λοιπόν, μια πρόκληση για την επιστήμη των μηχανικών και την τεχνολογία, η συνδρομή τους στην ιατρική με νέα μέσα και συσκευές που θα μπορούσαν να παίξουν καταλυτικό ρόλο στην αντιμετώπιση τέτοιων σοβαρών προβλημάτων υγείας. Σε αυτό το πλαίσιο, οι βιοαισθητήρες φαίνεται να συνιστούν μια σπουδαία οικονομική και έξυπνη λύση διευκολύνοντας με πολλούς τρόπους τις ζωές των ανθρώπων.

Κατά την εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας έγινε μια προσπάθεια σχεδιασμού και κατασκευής ενός βιοαισθητήρα ικανού να ανιχνεύει την παρουσία υψηλών επιπέδων τροπονίνης I στο αίμα, η οποία αποτελεί βασική ένδειξη κινδύνου για την εμφάνιση καρδιακής επιπλοκής. Αρχικά, παρουσιάστηκαν και αναλύθηκαν τόσο το βιολογικό θεωρητικό υπόβαθρο για την κατανόηση της φύσης και του ρόλου της τροπονίνης στα καρδιαγγειακά νοσήματα, όσο και οι διάφορες τεχνικές ανίχνευσης που χρησιμοποιούνται από τους βιοαισθητήρες. Εν συνεχεία, έγινε ο σχεδιασμός, η υλοποίηση και ο έλεγχος του ηλεκτρονικού μέρους του αισθητήρα και τέλος η δοκιμή του με μετρήσεις σε διαλύματα τροπονίνης I.

Για την κατασκευή επιλέχθηκε η τεχνική της χωρητικής ανίχνευσης, συνδέοντας μια αλλαγή στην χωρητικότητα πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων με την ένδειξη αυξημένης τροπονίνης. Η αλλαγή στην χωρητικότητα του πυκνωτή συμβαίνει όταν μεταβάλλεται η διηλεκτρική σταθερά, εξαιτίας της αλλαγής του μέσου που βρίσκεται πάνω στην επιφάνειά του ή του μέρους της επιφάνειας που αυτό καλύπτει. Με γνωστή τη χωρητικότητα που έχει ένα διάλυμα αντισωμάτων τροπονίνης I που βρίσκεται στην επιφάνεια του πυκνωτή, οποιαδήποτε χωρητική αλλαγή συμβεί κατά την επαφή της επιφάνειας με διαλύματα (π.χ. ανθρώπινος ορός αίματος) υποδεικνύει την παρουσία τροπονίνης I σε αυτά αφού η τροπονίνη θα συνδεθεί με τα υπάρχοντα αντισώματα και επομένως η διηλεκτρική σταθερά του μέσου του πυκνωτή θα μεταβληθεί.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η διάταξη που κατασκευάστηκε λειτούργησε σωστά, αφού ήταν τελικά σε θέση να μετρήσει με σχετική ακρίβεια και σταθερότητα τη χωρητικότητα και τη μεταβολή που αυτή υφίσταται κατά την προσθήκη υδατικών διαλυμάτων τροπονίνης I. Επομένως, μπορεί κανείς να ισχυριστεί, ότι πρόκειται για μια προσέγγιση κατασκευής ενός έξυπνου και μικρού μεγέθους

βιοαισθητήρα ικανού να ανιχνεύει γρήγορα τα αυξημένα επίπεδα τροπονίνης και να υποδεικνύει περιπτώσεις κινδύνου.

Παρόλο που η παρούσα διάταξη φαίνεται να εκπληρώνει τους αρχικούς της στόχους, θα ήταν παράλογο να υποστηριχθεί πως δεν επιδέχεται διορθώσεις και βελτιώσεις, ιδίως εφόσον πρόκειται για ένα πειραματικό πρότυπο. Στην πραγματικότητα, θα μπορούσε να θεωρηθεί η αρχή για μελλοντική εργασία ερευνητών και μηχανικών ώστε με τις κατάλληλες επεκτάσεις να αποτελέσει μια εμπορική μικροσυσκευή πρόληψης καρδιακής προσβολής που ο καθένας και κυρίως τα άτομα υψηλού κινδύνου θα μπορούν να έχουν παντού μαζί τους.

Για ένα αρτιότερο αποτέλεσμα, επόμενες εργασίες πάνω στο αντικείμενο μπορούν:

- Να μελετήσουν την επιλεκτικότητα της συσκευής.
- Να εξετάσουν τη λειτουργία του παρόντος αισθητήρα και τα αποτελέσματά του για μέτρηση σε δείγμα αίματος αντί για υδατικό διάλυμα τροπονίνης.
- Μέσω περεταίρω μετρήσεων με μεγαλύτερο αριθμό πυκνωτών, με χρήση διαφορετικών βιοϋποδοχέων και περισσότερων διαλυμάτων διαφορετικών περιεκτικοτήτων, να επιτύχουν καλύτερη μελέτη και ανάλυση του αισθητήριου συστήματος και να το καταστήσουν ικανό για ακριβή μέτρηση του επιπέδου τροπονίνης και όχι μόνο για ανίχνευσή της.
- Να επανεξετάσουν την φορητότητα και την έξυπνη συνδεσιμότητα του συστήματος: περεταίρω μείωση διαστάσεων της διάταξης, τροφοδοσία του Arduino από μπαταρία, χρήση ασύρματων συνδέσεων (Bluetooth & Wi-Fi modules) για μεταφορά δεδομένων και σύνδεση με έξυπνες συσκευές.
- Να εξετάσουν τη δυνατότητα δημιουργίας ενός εμφυτεύσιμου βιοαισθητήρα τροπονίνης, για τη συνεχή μέτρηση χωρίς την ανάγκη συχνής δειγματοληψίας αίματος. Με την προσθήκη ενός πηνίου στο κύκλωμα του αισθητήρα, θα δημιουργηθεί ένα LC κύκλωμα το οποίο θα μπορεί να διεγείρεται από μια εξωτερική πηγή και μέσω της συχνότητας συντονισμού να λαμβάνονται σε εξωτερική συσκευή οι μετρήσεις των τιμών τροπονίνης σε πραγματικό χρόνο.
- Να επεκτείνουν τον αισθητήρα με κάποιον τρόπο ειδοποίησης του χρήστη σε περίπτωση κινδύνου.
- Να χρησιμοποιήσουν το ίδιο σύστημα για ανίχνευση άλλων βιομορίων με τη χρήση διαφορετικού βιοϋποδοχέα ή ακόμα και να δημιουργήσουν σύστημα πολλαπλής ανίχνευσης βιομορίων με μια συστοιχία πυκνωτών με διαφορετικούς βιοϋποδοχείς.

Εν κατακλείδι, όπως αναφέρθηκε, κάποιιοι από τους παράγοντες που επιβαρύνουν τη λειτουργία της καρδιάς είναι, λόγω του σημερινού τρόπου ζωής, αναπόφευκτοι. Επομένως, η πρόληψη και η

συνεχής παρακολούθηση φαίνεται να είναι η λύση για τη μείωση των θανάτων που οφείλονται στις καρδιαγγειακές παθήσεις. Με όλα τα προαναφερθέντα, είναι δυνατό, να δομηθεί ένα ακριβές, γρήγορο, έξυπνο, εύχρηστο και πολύπλευρο σύστημα ανίχνευσης τροπονίνης που θα αποτελέσει ένα σημαντικό εφόδιο σε αυτή την προσπάθεια.





## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] “Cardiovascular diseases (CVDs)”, *World Health Organization*, 11-Jun-2021. [Online]. Available: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). [Accessed: 03-Aug-2021].
- [2] “Heart Disease”, Centers for Disease Control and Prevention, 19-Jan-2021. [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/heartdisease/index.htm>. [Accessed: 25-Oct-2021].
- [3] Σ. Καλιαμπάκος και Α. Γ. Πιπιλής, “Η θέση των τροπονινών στην αντιμετώπιση ασθενών με προκάρδιο άλγος: Νοσοκομείο ΥΓΕΙΑ”, *hygeia.gr*, 05-Jun-2007. [Online]. Available: <https://www.hygeia.gr/h-thesi-ton-troponinon-stin-antimetopisi-asthenon-me-prokardio-algos/>. [Accessed: 13-Apr-2021].
- [4] “Cardiovascular Diseases - Expertise: EMD Group”, Expertise | EMD Group. [Online]. Available: <https://www.merckgroup.com/gr-el/expertise/general-medicine/cardiovascular-diseases.html>. [Accessed: 03-Aug-2021].
- [5] “Heart disease”, Mayo Clinic, 09-Feb-2021. [Online]. Available: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/heart-disease/diagnosis-treatment/drc-20353124>. [Accessed: 05-Aug-2021].
- [6] K.Thygesen *et al.*, “Third universal definition of myocardial infarction”, *Eur. Heart J.*, vol. 33, no. 20, pp. 2551–2567, Oct. 2012, doi: 10.1093/EURHEARTJ/EHS184.
- [7] “The role of troponin testing in primary care”, The role of troponin testing in primary care - Best tests December 2009, 02-Dec-2009. [Online]. Available: <https://bpac.org.nz/BT/2009/December/troponin.aspx>. [Accessed: 11-Aug-2021].
- [8] “Troponin Test: MedlinePlus Medical Test”, MedlinePlus, 09-Sep-2021. [Online]. Available: <https://medlineplus.gov/lab-tests/troponin-test/>. [Accessed: 08-Apr-2021].
- [9] N. Wettersten and A. Maisel, “Role of Cardiac Troponin Levels in Acute Heart Failure”, *Card. Fail. Rev.*, vol. 1, no. 2, p. 102, 2015, doi: 10.15420/cfr.2015.1.2.102.
- [10] Α. Δημητρακόπουλος, “Καρδιακή Τροπονίνη: Όσα Πρέπει να Γνωρίζετε”, Γ Παθολογική Κλινική Ερρίκος Ντυνάν Hospital Center, 11-Jun-2019. [Online]. Available: <http://pathologia.eu/eswterikh-pathologia/kardiakh-troponinh-osa-prepei-na-gnwrizete/>. [Accessed: 04-Aug-2021].

- [11] R. B. Jennings and C. E. Ganote, "Structural changes in myocardium during acute ischemia.", *Circ. Res.*, vol. 35 Suppl 3, no. 3 sup, pp. 156–172, Sep. 1974, Accessed: Aug. 11, 2021. [Online]. Available: <http://europepmc.org/article/MED/4607107>.
- [12] Ι. Α. Λακουμέντας, Α. Δ. Σαπλαούρας, Ε. Ν. Παππά και Α. Μ. Σιδέρης, "Υψηλή τροπονίνη: αίτια, μηχανισμοί αύξησης και κλινική αξία", *ΚΑΡΔΙΑ & ΑΓΓΕΙΑ*, pp. 342-347, Sept.-Oct. 2018
- [13] A. H. B. Wu, "Release of cardiac troponin from healthy and damaged myocardium", *Front. Lab. Med.*, vol. 1, no. 3, pp. 144–150, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.flm.2017.09.003.
- [14] B. R. Weil *et al.*, "Brief Myocardial Ischemia Produces Cardiac Troponin I Release and Focal Myocyte Apoptosis in the Absence of Pathological Infarction in Swine", *JACC Basic to Transl. Sci.*, vol. 2, no. 2, pp. 105–114, Apr. 2017, doi: 10.1016/J.JACBTS.2017.01.006.
- [15] K. Starnberg *et al.*, "A Possible Mechanism behind Faster Clearance and Higher Peak Concentrations of Cardiac Troponin I Compared with Troponin T in Acute Myocardial Infarction", *Clin. Chem.*, vol. 66, no. 2, 2020, doi: 10.1093/clinchem/hvz003.
- [16] M. Al Mawed, H. C. Mendrok, F. John, R. Högel, and U. Tebbe, "Troponin test in clinical daily practice - Differences in the quality criteria for the diagnosis of acute myocardial Infarction considering clinical leading symptoms: A cross-sectional study", *Dtsch. Medizinische Wochenschrift*, vol. 145, no. 5, 2020, doi: 10.1055/a-0988-5332.
- [17] Y. Sandoval *et al.*, "Myocardial Infarction Risk Stratification With a Single Measurement of High-Sensitivity Troponin I", *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 74, no. 3, pp. 271–282, Jul. 2019, doi: 10.1016/J.JACC.2019.05.058.
- [18] J. W. Pickering *et al.*, "Rapid rule-out of acute myocardial infarction with a single high-sensitivity cardiac troponin t measurement below the limit of detection: A collaborative meta-analysis", *Ann. Intern. Med.*, vol. 166, no. 10, pp. 715–724, May 2017, doi: 10.7326/M16-2562.
- [19] Y. Sandoval, S. W. Smith, S. A. Love, A. Sexter, K. Schulz, and F. S. Apple, "Single High-Sensitivity Cardiac Troponin I to Rule Out Acute Myocardial Infarction", *Am. J. Med.*, vol. 130, no. 9, pp. 1076-1083.e1, Sep. 2017, doi: 10.1016/J.AMJMED.2017.02.032.
- [20] P. Damborský, J. Švitel, and J. Katrlík, "Optical biosensors", *Essays Biochem.*, vol. 60, no. 1, pp. 91–100, Jun. 2016, doi: 10.1042/EBC20150010.
- [21] R. F. Dutra and L. T. Kubota, "An SPR immunosensor for human cardiac troponin T using specific binding avidin to biotin at carboxymethyl-dextran-modified gold chip", *Clin. Chim. Acta.*, vol. 376, no. 1–2, pp. 114–120, Feb. 2007, doi: 10.1016/J.CCA.2006.07.029.

- [22] S. Y. Song, Y. D. Han, K. Kim, S. S. Yang and H. C. Yoon, "A fluoro-microbead guiding chip for simple and quantifiable immunoassay of cardiac troponin I (cTnI)", *Biosens. Bioelectron.*, vol. 26, no. 9, pp. 3818–3824, May 2011, doi: 10.1016/J.BIOS.2011.02.036.
- [23] F. Li, Y. Yu, H. Cui, D. Yang, and Z. Bian, "Label-free electrochemiluminescence immunosensor for cardiac troponin I using luminol functionalized gold nanoparticles as a sensing platform", *Analyst*, vol. 138, no. 6, pp. 1844–1850, Feb. 2013, doi: 10.1039/C3AN36805J.
- [24] M. Abdolrahim, M. Rabiee, S. N. Alhosseini, M. Tahriri, S. Yazdanpanah and L. Tayebi, "Development of optical biosensor technologies for cardiac troponin recognition", *Anal. Biochem.*, vol. 485, pp. 1–10, Jul. 2015, doi: 10.1016/J.AB.2015.06.003.
- [25] V. Nabaee, R. Chandrawati and H. Heidari, "Magnetic biosensors: Modelling and simulation", *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 103. Elsevier Ltd, pp. 69–86, Apr. 30, 2018, doi: 10.1016/j.bios.2017.12.023.
- [26] L. Wang and J. Lin, "Recent advances on magnetic nanobead based biosensors: From separation to detection", *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, vol. 128. Elsevier B.V., Jul. 01, 2020, doi: 10.1016/j.trac.2020.115915.
- [27] I. Giouroudi and G. Kokkinis, "Recent advances in magnetic microfluidic biosensors", *Nanomaterials*, vol. 7, no. 7. MDPI AG, Jul. 01, 2017, doi: 10.3390/nano7070171.
- [28] Y. Li *et al.*, "Nanomagnetic Competition Assay for Low-Abundance Protein Biomarker Quantification in Unprocessed Human Sera", *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 132, no. 12, pp. 4388–4392, Mar. 2010, doi: 10.1021/JA910406A.
- [29] Y. Gao *et al.*, "Multiplex measurement of twelve tumor markers using a GMR multi-biomarker immunoassay biosensor", *Biosens. Bioelectron.*, vol. 123, pp. 204–210, Jan. 2019, doi: 10.1016/J.BIOS.2018.08.060.
- [30] Y. Ryu, Z. Jin, M. S. Kang, and H. S. Kim, "Increase in the detection sensitivity of a lateral flow assay for a cardiac marker by oriented immobilization of antibody", *Biochip J.*, vol. 5, no. 3, pp. 193–198, 2011, doi: 10.1007/s13206-011-5301-2.
- [31] C. Berggren, B. Bjarnason, and G. Johansson, "Capacitive Biosensors.", *Electroanalysis*, vol.13, no. 3, pp. 173-180, 2001, doi: 10.1002/1521-4109(200103)13:3<173::AID-ELAN173>3.0.CO;2-B
- [32] G. Ertürk and B. Mattiasson, "Capacitive biosensors and molecularly imprinted electrodes", *Sensors (Switzerland)*, vol. 17, no. 2. MDPI AG, Feb. 17, 2017, doi: 10.3390/s17020390.

- [33] D. Wang, "FDC1004: Basics of Capacitive Sensing and Applications", 2021, Accessed: Aug. 16, 2021. [Online]. Available: [www.ti.com](http://www.ti.com).
- [34] B. Mattiasson and M. Hedström, "Capacitive biosensors for ultra-sensitive assays", *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 79, pp. 233–238, May 2016, doi: 10.1016/J.TRAC.2015.10.016.
- [35] K. Chetpattananondh, T. Tapoanoi, P. Phukpattaranont, and N. Jindapetch, "A self-calibration water level measurement using an interdigital capacitive sensor", *Sensors Actuators A Phys.*, vol. 209, pp. 175–182, Mar. 2014, doi: 10.1016/J.SNA.2014.01.040.
- [36] D. Mahalingam, Y. Gurbuz, A. Qureshi, and J. H. Niazi, "Design, fabrication and performance evaluation of interdigital capacitive sensor for detection of Cardiac Troponin-I and Human Epidermal Growth Factor Receptor 2", Dec. 2015, doi: 10.1109/ICSSENS.2015.7370209.
- [37] K. H. Lee, S. Choi, J. O. Lee, J. B. Yoon, and G. H. Cho, "CMOS capacitive biosensor with enhanced sensitivity for label-free DNA detection", *Dig. Tech. Pap. - IEEE Int. Solid-State Circuits Conf.*, vol. 55, pp. 120–121, 2012, doi: 10.1109/ISSCC.2012.6176945.
- [38] Y. Miao, B. Nie, and X. Chen, "A micro capacitance measurement system with ultra-high accuracy and fast speed", *Proc. - 2019 Int. Conf. Commun. Inf. Syst. Comput. Eng. CISCE 2019*, pp. 44–48, Jul. 2019, doi: 10.1109/CISCE.2019.00017.
- [39] D. Kozak, W. Anderson, R. Vogel, and M. Trau, "Advances in Resistive Pulse Sensors: Devices bridging the void between molecular and microscopic detection", *Nano Today*, vol. 6, no. 5, p. 531, Oct. 2011, doi: 10.1016/J.NANTOD.2011.08.012.
- [40] R. Maugi, P. Hauer, J. Bowen, E. Ashman, E. Hunsicker and M. Platt, "A methodology for characterising nanoparticle size and shape using nanopores", *Nanoscale*, vol. 12, no. 1, pp. 262–270, Jan. 2020, doi: 10.1039/C9NR09100A.
- [41] H. Bayley and C. R. Martin, "Resistive-Pulse Sensing From Microbes to Molecules", *Chem. Rev.*, vol. 100, no. 7, pp. 2575–2594, Jul. 2000, doi: 10.1021/CR980099G.
- [42] E. S. Kolosovas-Machuca, G. Vera-Reveles, M. C. Rodríguez-Aranda, L. C. Ortiz-Dosal, E. Segura-Cardenas, and F. J. Gonzalez, "Resistance-Based Biosensor of Multi-Walled Carbon Nanotubes", <http://dx.doi.org/10.1080/15321819.2014.908129>, vol. 36, no. 2, pp. 142–148, Mar. 2014, doi: 10.1080/15321819.2014.908129.
- [43] S. J. Sadeghi, "Amperometric Biosensors", *Encycl. Biophys.*, pp. 61–67, 2013, doi: 10.1007/978-3-642-16712-6\_713.

- [44] A. Hayat, G. Catanante, and J. L. Marty, "Current trends in nanomaterial-based amperometric biosensors", *Sensors (Switzerland)*, vol. 14, no. 12. MDPI AG, pp. 23439–23461, Dec. 08, 2014, doi: 10.3390/s141223439.
- [45] A. Villalonga, I. Estabiel, A. M. Pérez-Calabuig, B. Mayol, C. Parrado, and R. Villalonga, "Amperometric aptasensor with sandwich-type architecture for troponin I based on carboxyethylsilanetriol-modified graphene oxide coated electrodes", *Biosens. Bioelectron.*, vol. 183, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.bios.2021.113203.
- [46] "Capacitance Meter Based on Arduino", Simple Projects, 10-Jan-2020. [Online]. Available: <https://simple-circuit.com/arduino-capacitance-meter-with-1602-lcd/>. [Accessed: 14-Sep-2021].
- [47] "Arduino Uno", Components101, 19-Jul-2021. [Online]. Available: <https://components101.com/microcontrollers/arduino-uno>. [Accessed: 16-Sep-2021].
- [48] "What is Arduino?", Arduino, 05-Feb-2018. [Online]. Available: <https://www.arduino.cc/en/Guide/Introduction>. [Accessed: 14-Sep-2021].
- [49] "ATmega328P - Microchip Technology", microchip.com, Jan-2015. [Online]. Available: [https://ww1.microchip.com/downloads/en/DeviceDoc/Atmel-7810-Automotive-Microcontrollers-ATmega328P\\_Datasheet.pdf](https://ww1.microchip.com/downloads/en/DeviceDoc/Atmel-7810-Automotive-Microcontrollers-ATmega328P_Datasheet.pdf). [Accessed: 20-Jul-2021].
- [50] "Arduino 101: Timers and Interrupts", Robotshop, 24-Jul-2013. [Online]. Available: <https://www.robotshop.com/community/forum/t/arduino-101-timers-and-interrupts/13072>. [Accessed: 17-Sep-2021].
- [51] J. Akshay, "Interfacing Bluetooth Module (HC-05) with Arduino Uno", Arduino Project Hub, 29-Apr-2020. [Online]. Available: <https://create.arduino.cc/projecthub/akshayjoseph666/interfacing-bluetooth-module-hc-05-with-arduino-uno-f5209b>. [Accessed: 22-Oct-2021].
- [52] D. Marazuela and M. C. Moreno-Bondi, "Fiber-optic biosensors--an overview", *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 372, no. 5–6, pp. 664–682, 2002, doi: 10.1007/S00216-002-1235-9.
- [53] K. Škrlec, B. Štrukelj, and A. Berlec, "Non-immunoglobulin scaffolds: a focus on their targets", *Trends Biotechnol.*, vol. 33, no. 7, pp. 408–418, Jul. 2015, doi: 10.1016/J.TIBTECH.2015.03.012.
- [54] J. S. Schultz, S. Mansouri and I. J. Goldstein, "Affinity sensor: a new technique for developing implantable sensors for glucose and other metabolites", *Diabetes Care*, vol. 5, no. 3, pp. 245–253, 1982, doi: 10.2337/DIACARE.5.3.245.

- [55] H. Kaur and M. Shorie, "Nanomaterial based aptasensors for clinical and environmental diagnostic applications", *Nanoscale Adv.*, vol. 1, no. 6, pp. 2123–2138, Jun. 2019, doi: 10.1039/C9NA00153K.
- [56] C. Védrine, J. C. Leclerc, C. Durrieu, and C. Tran-Minh, "Optical whole-cell biosensor using *Chlorella vulgaris* designed for monitoring herbicides", *Biosens. Bioelectron.*, vol. 18, no. 4, pp. 457–463, Apr. 2003, doi: 10.1016/S0956-5663(02)00157-4.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

### Κώδικας

Ακολουθεί ο κώδικας που χρησιμοποιήθηκε για τον προγραμματισμό του Arduino και εκτελέστηκε στο περιβάλλον Arduino IDE, με ορισμένες παρατηρήσεις και σχόλια που επεξηγούν την λειτουργία των εντολών.

```
//Στις 4 πρώτες γραμμές ορίζονται τα pins φόρτισης και εκφόρτισης όπως εξηγήθηκε
#define discharge_pin A1
#define channel0_pin A2
#define channel1_pin A3
#define channel2_pin A4

// ακολουθεί η δήλωση των μεταβλητών που χρησιμοποιεί ο κώδικας
bool ok;
byte ch_number;
const uint32_t res_table[3] = {1000, 10200, 100000}; // οι 3 αντιστάτες φόρτισης ως πίνακας 3 στοιχείων
uint32_t res, t_mul;
char _bμFfer[9];
int i=1;

// συνάρτηση για τις αρχικοποιήσεις
void setup(void) {
  Serial.begin(9600); // αρχικοποίηση ώστε να τυπωθεί το αποτέλεσμα στο Serial monitor
  pinMode(discharge_pin, OUTPUT); // αρχικά τίθεται λογική τιμή LOW στο pin εκφόρτισης για να
  digitalWrite(discharge_pin, LOW); // αποφορτιστεί πλήρως ο πυκνωτής
  TCCR1A = 0; // διαμόρφωση του πρώτου χρονομέτρου - Timer1 module
  TIMSK1 = 1; // ενεργοποίηση interrupt σε υπερχείλιση του Timer1
  ADCSRA = 0x04; // απενεργοποίηση της ADC μονάδας
  ADMUX = 0x45; // επιλογή του καναλιού 5
  ADCSRB = (1 << ACME); // η αναστρέφουσα είσοδος του συγκριτή από τον πολυπλέκτη ADC
  ACSR = 0x12; // διαμόρφωση αναλογικού συγκριτή και των interrupts
  ch_number = 2; // τιμή 2 στη μεταβλητή ch_number
}
```

```

// αναλογικός συγκριτής ISR
ISR (ANALOG_COMP_vect) {
    TCCR1B = 0;           // απενεργοποίηση του Timer1
    pinMode(channel0_pin, INPUT); // αποσύνδεση του pin A2 φόρτισης
    pinMode(channel1_pin, INPUT); // αποσύνδεση του pin A3 φόρτισης
    pinMode(channel2_pin, INPUT); // αποσύνδεση του pin A4 φόρτισης
    pinMode(discharge_pin, OUTPUT); // αρχίζει η εκφόρτιση του πυκνωτή μέσω του pin A1
    digitalWrite(discharge_pin, LOW);
    ok = 1;               // flag ok όταν ολοκληρώνεται η εκφόρτιση
    ACSR &= ~0x08;       // απενεργοποίηση του interrupt του αναλογικού συγκριτή
}

// Υπερχείλιση
ISR(TIMER1_OVF_vect) {
    t_mul++;
    if(ch_number != 0) {
        ch_number = 0;
        ch_select(ch_number);
    }
}

// βασική συνάρτηση λειτουργίας
void loop() {
    // αρχικά resets για την αρχή κάθε εκτέλεσης
    TCNT1 = 0;
    t_mul = 0;
    ok = 0;

    // αναμονή για εκφόρτιση του πυκνωτή
    ADCSRA |= 0x80; // ενεργοποίηση μονάδας ADC
    uint16_t volt;
    do {
        ADCSRA |= 1 << ADSC; // μετατροπή
        while(ADCSRA & 0x40) delay(1); // καθυστέρηση για την ολοκλήρωση της μετατροπής
        volt = ADCL | ADCH << 8;
    } while (volt > 0); //μέχρι το τέλος της εκφόρτισης

    ADCSRA &= ~0x80; // μετά την εκφόρτιση, απενεργοποίηση μονάδας ADC
}

```



```

delay(100);          // καθυστέρηση
pinMode(discharge_pin, INPUT); //αποσύνδεση του pin εκφόρτισης

ACSR |= 0x08;       // ενεργοποίηση interrupt του αναλογικού συγκριτή
TCCR1B = 1;        // έναρξη χρονομέτρου με prescaler = 1 (+1 κάθε 62.5 ns)
ch_select(ch_number);
while(ok == 0) delay(1); // όσο το ok=0 αναμονή μέχρι να ολοκληρωθεί η φόρτιση
uint32_t _time = 65536 * t_mul + TCNT1; //μέτρηση χρόνου
uint32_t cap;

if(ch_number == 0)
    cap = -62.5 * _time/(res * log(0.5)); // χωρητικότητα σε nF
else {
    _time -= 385; // αλλιώς απαραίτητη διόρθωση
    if(_time < 0) _time = 0;
    cap = -62500.0 * _time/(res * log(0.5)); // χωρητικότητα σε nF
}

if( (ch_number == 1 && cap < 10000) || (ch_number == 0 && cap < 10) )
    ch_number = 2;
if( (ch_number == 2 && cap > 12000) || (ch_number == 0 && cap < 500) )
    ch_number = 1;

if(ch_number != 0) {
    if(cap < 1000) //αν η χωρητικότητα είναι < 1000 pF δηλ. 1 nF
        sprintf(_bμFfer, "%03u pF ", (uint16_t)cap); // έκφραση σε pF
    else
        sprintf(_bμFfer, "%03u nF ", (uint16_t)(cap/1000) % 1000); // αλλιώς έκφραση σε nF
}
else {
    if(cap < 1000000) // αν η χωρητικότητα < 1000000 nF δηλ. 1000
        μF
        sprintf(_bμFfer, "%03u.%1u μF", (uint16_t)(cap/1000), (uint16_t)(cap/100)%10); //έκφραση σε μF
    else
        sprintf(_bμFfer, "%u μF ", (uint16_t)(cap/1000));
}

// εκτύπωση αποτελεσμάτων στο Serial monitor

```

```

Serial.print(i);
Serial.print(" Capacitance = ");
Serial.println(_bμFfer); Serial.println();

delay(10000); // καθυστέρηση 10 sec για κάθε εκτύπωση (απαραίτητος χρόνος για την ορθή μέτρηση του
interdigitated πυκνωτή)
i++;
} // τέλος βασικής συνάρτησης

// συνάρτηση επιλογής του pin φόρτισης
void ch_select(byte n) {
switch(n) {
case 0:
pinMode(channel1_pin, INPUT);
pinMode(channel2_pin, INPUT);
pinMode(channel0_pin, OUTPUT);
digitalWrite(channel0_pin, HIGH);
break;
case 1:
pinMode(channel0_pin, INPUT);
pinMode(channel2_pin, INPUT);
pinMode(channel1_pin, OUTPUT);
digitalWrite(channel1_pin, HIGH);
break;
case 2:
pinMode(channel0_pin, INPUT);
pinMode(channel1_pin, INPUT);
pinMode(channel2_pin, OUTPUT);
digitalWrite(channel2_pin, HIGH);
}
res = res_table[n]; // επιλογή της κατάλληλης αντίστασης σύμφωνα με το pin φόρτισης
}

```