

ВЛИЯНИЕ ПЛАЗМОННЫХ ЭФФЕКТОВ НА ИДЕНТИФИКАЦИЮ БИОЛОГИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ОСНОВЕ ОПТИЧЕСКОГО РЕЗОНАНСА В МИКРОСФЕРАХ***А.В. Саечников^{1,3}, Э.А. Чернявская¹, В.А. Саечников², А. Ostendorf³***¹*Белорусский государственный университет**ул. Курчатова, 5, БГУ, факультет радиофизики и электроники, 220108, Минск, Беларусь**E-mail: saetchnikov@bsu.by*²*Белорусский государственный университет**пр. Независимости, 4, БГУ, физический факультет, 220050, Минск, Беларусь*³*LAT, Ruhr-Universität Bochum,**150 Universitätsstrasse, Bochum, Germany D-44780*

Abstract. Possibility to determine biological agents via optical resonance of WGM in dielectric microspheres and influence of some plasmon effects on this approach have been analyzed. Experimental data on optical resonance spectra in dielectric microspheres for medicine solutions under different macroscopic parameters of surrounding and interaction of microsphere surface with medicine have been represented. Identification of biological agents and solutions by multilayer neuron network has been performed.

При разработке современных высокочувствительных оптических биосенсоров эффективно используются: комбинационное рассеяние, плазмонный резонанс, оптический резонанс мод шепчущей галереи (МШГ) в диэлектрических микрорезонаторах различного типа, комбинированный плазмонно - фотонный резонанс позволяющий регистрировать биомолекулы в растворах с концентрацией на уровне мкг-нг/мл [1, 2].

Целью данной работы является разработка методики обнаружения и идентификации биологических соединений на основе спектроскопии оптического резонанса МШГ на диэлектрических микросферах, усиленного плазмонным резонансом с использованием золотых наночастиц и нанослоев. Идентификационная составляющая методики включала разработанные нейросетевые алгоритмы на базе многослойного персептрона для классификации исследуемых соединений.

В ходе эксперимента мы дополнили разработанную ранее методику [3-7], экспериментальной реализацией принципов усиления плазмонными наноструктурами с целью усиления эффекта оптического резонанса и увеличения чувствительности регистрации биомолекулярных соединений [8-10].

В качестве объектом исследования использовали следующие биологические соединения: бензил пенициллин (Benzylpenicillin), цефазолин (натриевая соль, Cefazolin), этанол, глюкоза, а также протеины: альбумин (Albumin) и фибронектин (Fibronectin).

Для получения спектров оптического резонанса мод шепчущей галереи в диэлектрических микросферах использовались следующие основные узлы: призма, кварцевая микросфера 100 мкм, перестраиваемый диодный лазер с системой управления (New Focus, 680 nm), система фокусировки, цифровая камера, разработанный программный интерфейс позволял в режиме реального времени осуществлять сбор и обработку полученной информации [8-10].

Большинство биологических соединений, являющихся объектами исследований, как правило, используются в виде растворов. Поэтому одним из наиболее критических этапов формирования чувствительного элемента сенсора биологических соединений являлась надежная фиксация диэлектрических микросфер в потоке жидкости. Пробоподготовка чувствительного элемента состояла из нескольких этапов: покровное стекло (Menzel - Gläser Deckgläser 20x20) очищалось от пыли и органики. Для этого оно помещалось в раствор ацетона с последующей промывкой деионизированной фильтрованной водой и сушилось на приборе Spincoater P670. Далее после отработки основных характеристик технологического процесса нанесения адгезивного покрытия и кварцевых микросфер, образ-

цы чувствительного элемента выдерживались при комнатной температуре в течение суток. В экспериментах с использованием золотых наночастиц производилась предварительная обработка. Данная обработка заключалась в длительном (1-2 часа) нахождении микросферы в растворе золотых наночастиц в условиях оптического резонанса. Для использования золотых нанослоев как средства получения плазмонного эффекта, производился предварительный расчет угла падающего лазерного луча с последующей установкой рассчитанного угла в экспериментальной установке.

Метод обработки экспериментальных данных заключался в записи спектров с последующей статистической обработкой результатов измерений спектров оптического резонанса МШГ. Спектры были получены путем программной обработки видеорядов, записанных во время перестройки длины волны лазерного луча, направляемого в микросферу. Результаты предельных чувствительностей методик с использованием золотых нанослоев и без них для биологических соединений представлены в Таб. 1. На основании полученных данных можно заключить, что предел чувствительности по массе белка (антибиотика) для схемы с золотым слоем увеличился в два раза.

Таблица 1 – Чувствительность методики

Биологические соединения	Пенициллин	Альбумин	Фибронектин
Стандартная методика			
Чувствительность	2,67 мг/мл	4,022 мг/мл	5,297 мкг/мл
Методика с использованием нанослоев			
Чувствительность	0,51 мг/мл	1,9102 мг/мл	2,91 мкг/мл

Оценка эффективности использования суспензии золотых наночастиц для увеличения чувствительности методики идентификации производилась с использованием раствора глюкозы. Предельная концентрация глюкозы, которая может быть идентифицирована, уменьшилась с 0.43% до 0.18% глюкозы. Это значит, что после обработки золотыми наночастицами чувствительность может быть улучшена в 2 раза.

В рамках данной работы была исследована возможность использования нейронных сетей для идентификации биологических соединений. При построении классификатора на основе нейронной сети были пройдены следующие этапы: подготовка данных и предобработка данных, конструирование и обучение сети, диагностика работы сети [5,6,10]. Для получения трехмерной классификационной зависимости были задействованы все экспериментально полученные значения, что увеличивает точность определения. Точность оценки можно повысить, путем увеличения экспериментальной выборки с меньшим шагом изменения концентраций вещества.

Для исследованных веществ были оптимизированы следующие параметры: максимальное количество циклов обучения – 50000; предельное значение критерия обучения 0.00001, активационная функция для всех слоев – нелинейная сигмоидальная логистического типа (logsig). Для обучения сети использовался метод градиентного спуска с адаптацией параметра скорости обучения (GDA), количество скрытых слоев – 3 в каждом из которых по 17 нейронов, во входном и выходном слоях количество нейронов соответствовало размерности входного и выходного сигнала (в данной работе 2 во входном и 1 в выходном). Для обучения сети потребовалось 25132 эпох обучения.

В результате нейронная сеть, полученная с помощью алгоритма многослойного персептрона, позволяет классифицировать исследуемые биологические соединения в 99% случаев. Результаты классификации биологических соединений представлены на Рис. 1.

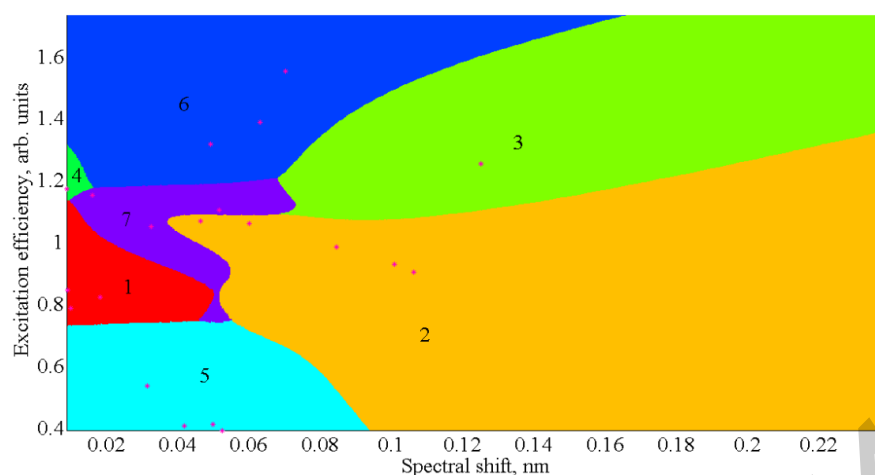


Рисунок 1 - Результаты классификации нейронной сетью (многослойный перцептрон) по двум параметрам (методика без плазмонных эффектов): растворы Albumin (1), Cefatoxim (2), Ethanol (3), Fibronectin (4), Gentamicin (5), Glucose (6), Penicillin (7) в деионизированной воде.

Таким образом, была разработана методика обнаружения и идентификации биологических соединений на основе спектроскопии оптического резонанса МШГ на диэлектрических микросферах, усиленного плазмонным резонансом с использованием золотых наночастиц и нанослоев. Подтверждена возможность и целесообразность использования многослойного перцептрона в качестве классификатора для обработки и интерпретации данных, полученных с помощью биосенсора, основанного на оптическом резонансе МШГ.

Литература

1. **Ultrasensitive** detection of a protein by optical trapping in a photonic-plasmonic microcavity / Miguel A. Santiago-Cordoba [et. al.] // J. Biophotonics, Vol 5, No. 8–9, 2012. – P. 629–638.
2. **Periodic** plasmonic enhancing epitopes on a whispering gallery mode biosensor / S. Arnold [et. al.]// Optics express, Vol. 20, No. 24, 2012 – P.26147-26160.
3. **Саечников, В.А.** Использование оптического резонанса мод шепчущей галереи в микросферах для обнаружения и идентификации биологических соединений в режиме реального времени /В.А. Саечников, Э.А. Чернявская // ЖПС, 77, 5, 2010. – С. 774-781.
4. **Чернявская, Э.А.** Обнаружение и идентификация микро/нано частиц и компонент крови с использованием оптического резонанса мод шепчущей галереи в микросферах /Э.А. Чернявская, В.А. Саечников // ЖПС, 77, 5, 2010. – С. 751-759.
5. **Tcherniavskaia, E.A.** Application of neural networks for classification of biological compounds from the characteristics of whispering-gallery-mode optical resonance / E.A. Tcherniavskaia, V.A. Saetchnikov // Journal of Applied Spectroscopy, 78, 3, 2011. – 457-460.
6. **Neural** network analysis of the resonance whispering gallery mode characteristics of biological agents / V.A. Saetchnikov [et. al.] // Nonlinear Phenomena in Complex Systems, V. 14, №3, 2011. – С. 253-263.
7. **Drag** detection and identification by whispering gallery mode optical resonance based sensor / V.A. Saetchnikov [et. al.] // Proceeding of the SPIE, 8801, 2003. – P. 880101- 880108.
8. **Plasmonic** improvement of microcavity biomedical sensor spectroscopic characteristics / V.A. Saetchnikov [et. al.] // Proceeding of the SPIE, 8957, 2014. – P. 89570E (11 pages).
9. **Biochemical** component identification by light scattering techniques in whispering gallery mode optical resonance based sensor / V.A. Saetchnikov [et. al.] //Proceeding of the SPIE, 8952, 2014 – P. 895204 (10 pages).
10. **Biochemical** component identification by plasmonic improved whispering gallery mode optical resonance based sensor / V.A. Saetchnikov [et. al.] // Proceeding of SPIE, 9126, 2014 – P. 91260V (12 pages).