

Optický vláknový senzor s nanovlákněným detekčním prvkem

Bc. Tomáš Vaněk, doc. Ing. Stanislav Petřík, CSc.

Abstrakt

V této práci je představen senzorický systém založený na spojení jedinečných vlastností optických vláken a nanovláken, který by měl sloužit pro vychytávání a detekování různých látek z roztoku. Konkrétně byl tento výzkum zaměřen na možnost detekce aktivity esterázových enzymů, jejichž zvýšená aktivita v krvi může signalizovat rozvíjející se monocytární leukemii. Optická vlákna sloužila k přenosu optického signálu do senzorového pole a z něj do detektoru. Hlavním prvkem senzorového pole byla SiO_2 nanovlákná imobilizovaná enzymem esterázou. Důkaz aktivity probíhal histochemickou reakcí a ověření pomocí UV/VIS spektroskopie. Součástí práce bylo také vylepšení hardwaru měřicího přístroje.

Úvod

Motivací pro vznik této práce byla myšlenka vytvořit optický vláknový senzor [1, 2], který by dokázal využít přednosti nanovláken (zejména obrovský specifický měrný povrch a široká možnost funkcionizace povrchu) pro detekci organických molekul a zejména aktivity enzymů.

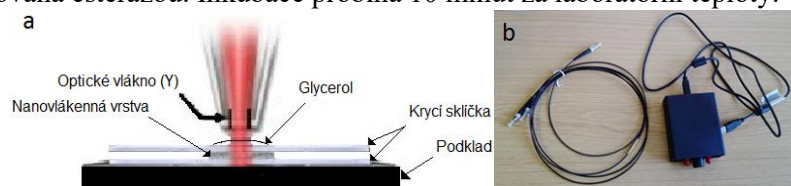
Cílem tohoto příspěvku je navrhnout a realizovat experimentální zařízení pro ověření možnosti detekce aktivity organických molekul imobilizovaných na nanovlákněné vrstvě[3]. Vyhodnotit citlivost senzoru, jeho stabilitu a navrhnout možné vylepšení měřicí metody.

Experiment a metody

Zdrojem záření senzoru byla polovodičová dioda ($\lambda = 633\text{nm}$) a detektorem fotodioda, které byly připojeny na elektronickou část senzoru, Obrázek 1b. Pro přivedení záření do senzorového pole a odvedení záření do detektoru sloužilo optické vlákno tvaru Y, Obrázek 1b. Záření v senzorovém poli (Obrázek 1a) dopadalo na esterázou funkcionizovanou SiO_2 nanovlákněnou vrstvou, která část záření absorbovala a část odrazila. Množství absorbovaného záření záviselo na průběhu histochemické reakce, respektive na množství α -naftyl acetátu (substrátu) a Fast Blue RR Salt (barvivo) vychyteného esterázou z roztoku. Pro zjištění citlivosti senzoru byla koncentrace substrátu a barviva exponenciálně snižována. Vyhodnocení detekce probíhalo porovnáním intenzity odraženého světla vzorku před reakcí a po reakci.

Funkcionizace SiO_2 nanovlákněné vrstvy a histochemická reakce:

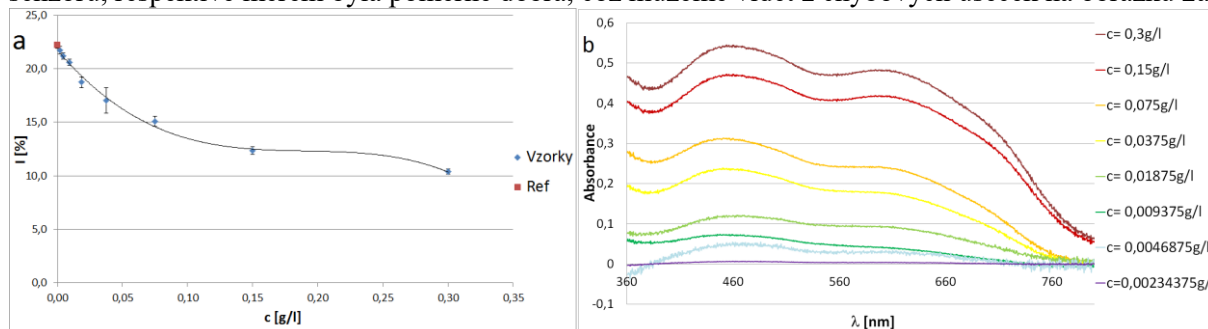
1. Křemičitá nanovlákná se na 10 minut vloží do 2ml 2% roztoku glutaraldehydu.
2. Promytí ve fosfátovém pufru pH= 7,2.
3. Poté se připraví roztok 2mg esterázy v 20ml fosfátového pufru (pH= 7,2) a po dobu 10 minut se v něm nechají inkubovat funkcionizovaná nanovlákná glutaraldehydem.
4. Promytí ve fosfátovém pufru pH= 7,2.
5. Připraví se roztok 3mg substrátu (α -naftyl acetátu) s 9mg azobarviva (Fast Blue B nebo Fast Blue RR salt) ve fosfátovém pufru (pH=7,2), do kterého vložíme nanovlákná imobilizovaná esterázou. Inkubace probíhá 10 minut za laboratorní teploty.



Obrázek 1. (a) schéma sestavení senzorového pole. (b) snímek optického vlákna typu Y a elektronické části senzoru.

Výsledky a diskuze

Na obrázku 2a jsou naměřené výsledky odrazivosti měřené senzorem. Je patrné, že se snižující se koncentrací substrátu se odrazivost vzorků blíží referenčnímu vzorku. Z výsledků vyplynulo, že praktický detekční limit senzoru je $c_{\text{substrátu}} = 4,69\text{mg/l}$, což odpovídá 4,63ppm. Měření absorbance UV/VIS spektrometrem (Obrázek 2b) potvrdilo, že tuto koncentraci je možné detekovat. Stabilita senzoru, respektive měření byla poměrně dobrá, což můžeme vidět z chybových úseček na obrázku 2a.



Obrázek 2. (a) měření intenzity odraženého světla senzorem, (b) měření absorbance UV/VIS spektrometrem.

Závěr

Provedenými pokusy se podařilo ověřit možnost detekce aktivity enzymu esterázy imobilizovaného na povrchu křemičitých nanovláken. Detekční limit optického vláknového senzoru byl 4,69mg/l. Měření UV/VIS spektrometrem, kromě potvrzení detekčních možností ukazuje potenciální možnost zvýšení citlivosti při použití vlnové délky záření okolo 460nm. Toto záření je zároveň schopno vybudit fluorescenci v nanovlákněch, což může být využito pro další výzkum ke zvýšení citlivosti senzoru. Z tohoto důvodu byl sestaven nový hardware, který obsahuje tři diody o vlnových délkách 410, 525 a 630nm. Testy zaměřující se přímo na diagnostiku monocytární leukemie vykazovaly zajímavý potenciál této metody, ale pro prokázání možnosti použití je třeba ještě dalšího výzkumu.

Poděkování

Chtěl bych poděkovat mému vedoucímu práce doc. Ing. Stanislavu Petříkovi, CSc. a doc. Mgr. Ireně Lovětinské-Šlamborové, Ph.D. za jejich odborné rady, pomoc při práci a možnost pracovat na tomto výzkumu. Také bych chtěl poděkovat Bc. Janu Kredbovi za pomoc při sestavení hardwaru senzoru.

Reference

- [1] TURÁN, Ján a Stanislav PETRÍK. *Optické vláknové senzory*. Bratislava: Alfa, 1991. ISBN 978-80-05-00655-5.
- [2] FIDANBOYLU, K. A. a H. S. EFENDIOGLU. Fiber optic sensors and their applications. In: *5th International Advanced Technologies Symposium (IATS'09)* [online]. 2009 [vid. 2017-02-25]. Dostupné z: http://www.academia.edu/download/41626548/02_KeynoteAddress.pdf
- [3] ŠLAMBOŘOVÁ, Irena, Veronika ZAJÍCOVÁ, Petr EXNAR a Jarmila STUDNIČKOVÁ. Nanofiber structure with immobilized organic substance and the method of its preparation [online]. US20150240411 A1. 12. říjen 2012. [vid. 2017-03-03]. Dostupné z: <http://www.google.com/patents/US20150240411>