Studentská konference Fakulty mechatroniky, informatiky a mezioborových studií 2017
Technická univerzita v Liberci

TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
Fakulta mechatroniky, informatiky
a mezioborových studií

Optický vláknový senzor s nanovlákenným detekčním prvkem

Autor: Bc. Tomáš Vaněk

Vedoucí práce: doc. Ing. Stanislav Petrík, CSc.

Fakulta mechatroniky informatiky a mezioborových studií

Abstrct

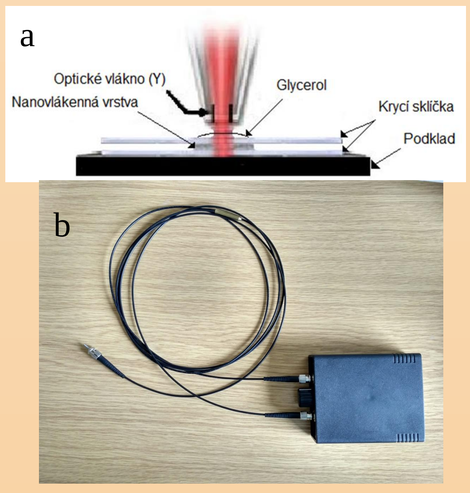
This thesis presents a senzory system based on the combination of a unique properties of optical fibers and nanofibers, which should to serve for picking up and detecting different agents from a solution. This research was concretly focused on a detection of Esterase enzyme activity, whose higher activity in the blood can signalizated a spreading monocyte leukemia. Optical fiber serves for a transfer of the optical signal to the senzorical field and back to the detector. The main part of the senzory field were SiO_2 nanofibers imobillizated by an Esterase enzyme. The proof of activity was performed by a histochemical reaction and verification by UV/VIS spectroscopy. During this work, the design and the hardware construction of the improved electronic part of the sensor was also carried out.

Úvod a cíle práce

Nanovlákna jsou známa pro svůj obrovský měrný specifický povrch a širokou možnost funkcionalizace povrchu. Tyto vlastnosti mohou býti atraktivní pro různé senzorické aplikace, ačkoliv zatím byly zkoumány převážně ve spojení s elektronickými senzory. Optické vláknové senzory v porovnání s jinými typy senzorů vynikají především vysokou citlivostí. Dále pak možností jejich použití v prostorách s vysokým napětím, teplotou a elektromagnetickým rušením, v explozivních nebo korozivních prostředí atd.
Motivací pro vznik této práce byla myšlenka vytvořit optický vláknový senzor [1, 2], který by dokázal využít přednosti nanovláken 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 nanovlákenné vrstvě[3]. Vyhodnotit citlivost senzoru, jeho stabilitu a navrhnout možné vylepšení měřicí metody. Zároveň se zaměřit na možnost využití detekce esterázových aktivit pro diagnostiku monocytární leukemie a navrhnout optimalizaci elektronického systému.

Metodika

Zdrojem záření senzoru byla polovodičová dioda (λ= 633nm) 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 vláknu tvaru Y, Obrázek 1b. Záření v senzorovém poli (Obrázek 1a) dopadalo na esterázou funkcionalizovanou SiO_2 nanovlákenou vrstvu, 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 (barviva) vychytaného esterázou z roztoku.



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

Pro zjištění citlivosti senzoru byla koncentrace substrátu a barviva exponenciálně snižována. Vyhodnocení detekce probíhalo porovnáním intenzity odraženého světla vzorku před reakcí a po reakci. Výsledná detekovaná koncentrace substrátu byla poté přepočítána na hodnotu ppm podle rovnice (1).

Funkcionalizace SiO_2 nanovlákenné vrstvy a histochemická reakce:

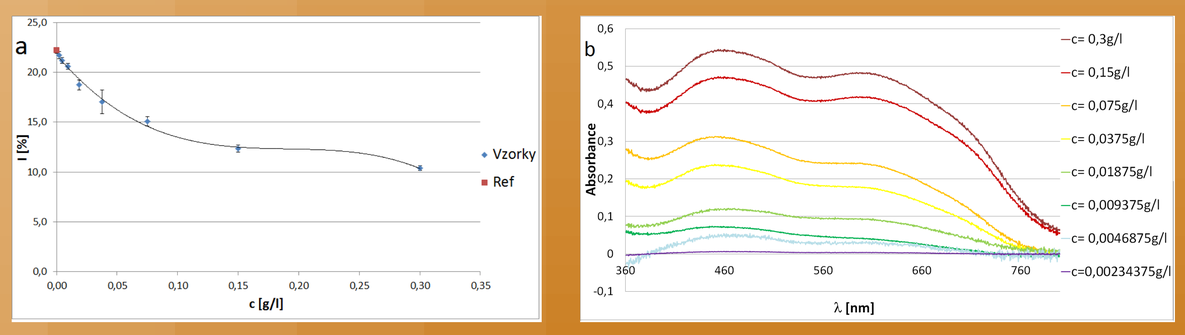
1. Křemičitá nanovlákna se na 10 minut vloží do 2ml 2% roztoku glutaraldehydu.
2. Promytí ve fosfátovém pufru pH= 7,2.
3. Poté se připraví roztok 2mg esterázy v 20ml fosfátového pufru (pH= 7,2) a po dobu 10 minut se v něm nechají inkubovat funkcionalizovaná nanovlákna glutaraldehydem.
4. Promytí ve fosfátovém 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 nanovlákna imobilizovaná esterázou. Inkubace probíhá 10 minut za laboratorní teploty.

$$c_{substrát}[ppm] = \frac{m_{substrát}}{\rho_{pufr} * V_{pufr} + m_{barvivo}} \quad (1)$$

c je koncentrace, *m je* hmotnost, *V* je objem a ρ je hustota.

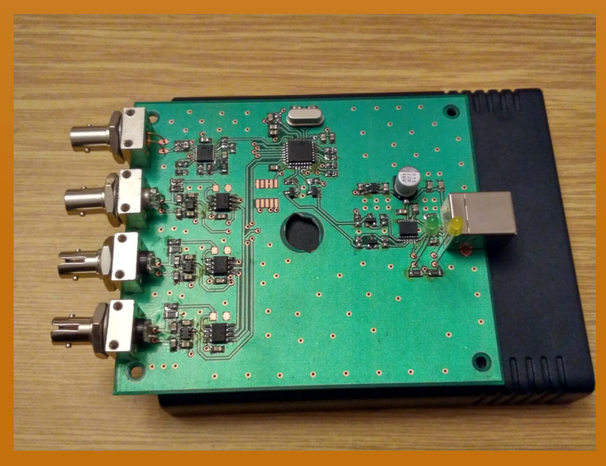
Výsledky

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 $c_{substrátu}$ = 4,69mg/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.

Na obrázku 3 je snímek sestaveného hardwaru. Hardware obsahuje tři diody o vlnových délkách 410, 525 a 630nm. Intenzita proudu protékajícího diodami je regulovaná proudově stabilizovanými číslicovými potenciometry, které jsou řízeny 32 bitovým mikroprocesorem ARM. Za fotodiodou je přiřazen operační zesilovač s postupným několikanásobným zesílením a filtrací signálu.



Obrázek 3. Snímek hardwaru

Diskuze a 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 nanovláknech, 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.

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] ŠLAMBOROVÁ, 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

Kontakt: Bc. Tomáš Vaněk
tomas.vanek@tul.cz

Tato práce byla podpořena z projektu Studentské grantové soutěže (SGS) na Technické univerzitě v Liberci v roce 2017.