

# FLUORESCENCE PHOTOMETER FOR DETECTION OF HALOGENATED COMPOUNDS IN THE ENVIRONMENT

**Jiří Sedláček**

Master Degree Programme (2), FEEC BUT

E-mail: xsedla44@stud.feec.vutbr.cz

Supervised by: Jaromír Hubálek

E-mail: hubalek@feec.vutbr.cz

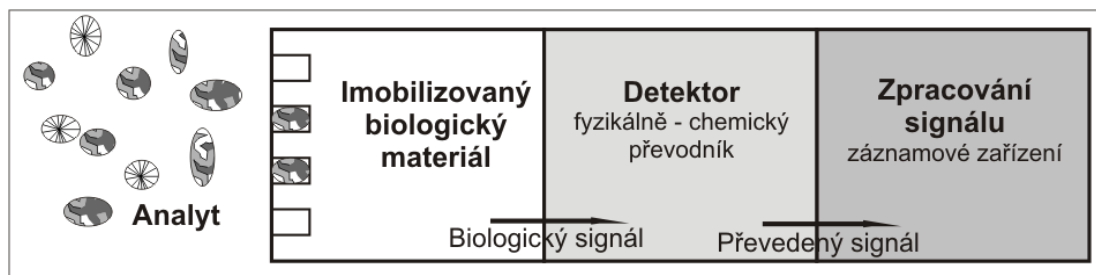
## ABSTRACT

This article describes development and construction of fluorescence photometer, which can be used as a part of optical biosensor for detection of halogenated chemicals in the environment. LED is used as a source of excitation light with wavelength 590 nm. The emission light which is produced by immobilized fluorescence pH indicator is scanned using high sensitive photodetector. The photodetector measures light in the range from 300 nm to 900 nm. The device is currently under testing in the laboratory of end users.

## 1. ÚVOD

Toto zařízení využívající enzymy halogenalkandehalogenázy [1] má sloužit pro detekci halogenovaných látek v prostředí (nejčastěji ve vodě). Lze jej klasifikovat jako biosenzor, který pracuje na principu měření fluorescence.

Definovat pojem biosenzor je značně složité. Jedna z definic říká, že se jedná o analytický přístroj obsahující citlivý prvek biologického původu, který je buď součástí, nebo v těsném kontaktu s fyzikálně-chemickým převodníkem. Poskytuje průběžný elektrický signál, který je přímo úměrný koncentraci jedné nebo několika chemických látek ve vzorku [2]. Hlavní části biosenzoru jsou biorekogniční část, která má za úkol styk s testovaným vzorkem a fyzikálně-chemický převodník, jenž poskytuje signál, který je možné dále zpracovat. Základní princip funkce biosenzoru ukazuje Obrázek 1, kde analyt je zkoumaný vzorek obsahující hledanou látku a biologický materiál je látka, která s analytem reaguje a vzniká tak biologický signál, který je následně detekován vhodným detektorem a zpracováván. Získané informace jsou vyhodnoceny číselnicově pomocí počítače.



**Obrázek 1:** Blokové schéma biosenzoru

## 2. REALIZACE

Přístroj je konstruován tak, že řízení a vyhodnocování naměřených dat se děje pomocí osobního počítače se softwarem a má vlastní napájecí zdroj. Zařízení je konstruováno jako dvoukanálové, kdy jeden kanál je použit pro měření a druhý je použit pro referenční vzorek nebo pro další měřený roztok. Snímání naměřených hodnot je pomocí přepínání LED diod, tj. jednotlivých kanálů

### 2.1. ELEKTRICKÁ KONSTRUKCE

Řídící a ovládací elektronika je navržena na jedné desce plošného spoje a skládá se z několika hlavních částí a to z řídicího mikrokontroléru, obvodů pro komunikaci s řídicím osobním počítačem, podpůrných obvodů, které zabezpečují řízení generování světla a napájecích obvodů.

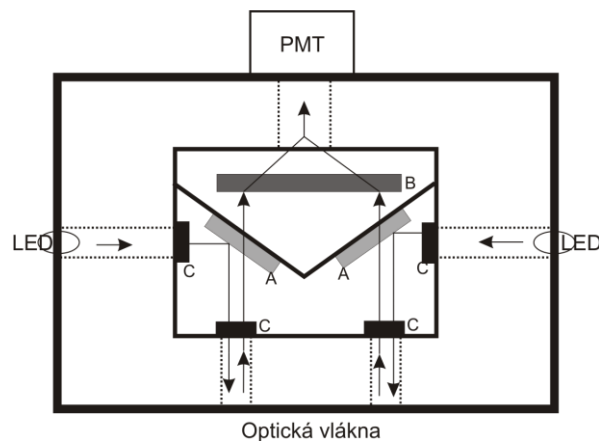
Pro řízení aplikace je použit mikrokontrolér ATMEGA128 od firmy Atmel. Pro spojení a komunikaci s řídicím počítačem slouží sběrnice USB a obousměrný převodník úrovní UART/USB FT232R od výrobce FTDIChip.

LED, použité jako zdroj, jsou ovládány ze zdroje proudu řízeného napětím, umožňují měnit jejich intenzitu záření a je možné je vypnout. Řídící napětí je generované v osmibitovém DA převodníku TC1320 firmy Microchip.

Napájení zařízení je z vlastního integrovaného transformátorového zdroje ze sítě 230 V. Je použit transformátor se dvěma sekundárními vinutími a trojice stabilizátorů. Dva jsou použity na symetrický zdroj  $\pm 15$  V pro fotodetektor a jeden +5 V slouží pro ostatní elektroniku.

### 2.2. MECHANICKÁ KONSTRUKCE

Mechanická konstrukce se sestává s optické části a řešení přístrojové krabice.



**Obrázek 2:** Principiální schéma optického systému

Optická část je zobrazena na Obrázku 2. K aktivaci zkoumaného vzorku je použit optický signál o vlnové délce 590 nm, který generuje světlo emitující dioda (LED). Dále se optická část skládá se soustavy filtru, polopropustných zrcadel a fokusační čočky. Světlo z LED se šíří ve směru šipky přes optický filtr (C), který propustí jen světlo požadované vlnové délky. Paprsek se dále odráží od polopropustného zrcadla (A), tam se světlo odrazí směrem k filtru (C) a putuje do optického vlákna, kde aktivuje měřený vzorek. Po aktivaci vzorek emituje (dle principu fluorescence) světlo o jiné vlnové délce, v tomto případě 630 nm a to

se vrací zpět optickým vláknem do optické části. Při vstupu projde filtrem (C) a pokračuje na polopropustné zrcadlo, které jej propustí dále až k optické čočce (B), která plní funkci zaostření světelného paprsku do snímacího fotodetektoru (PMT), jenž světlo převádí na analogové napětí. Stejný princip platí i pro druhý kanál.

Vláknem je vloženo do speciální temné komory. Na čele vlákna je nesen enzym, který po osvětlení vyvolá chemickou reakci, při které dojde ke změně pH. Podle hodnoty pH je emitováno množství světla, které je detekováno fotodetektořem. Velikost pH určuje hodnotu koncentrace halogenovaných látek.

Celé zařízení je umístěno v přístrojové skříni minimální velikosti. Na čelním panelu je výstup pro připojení optických vláken, která slouží k vedení světla ke zkoumanému vzorku a indikační LED dioda. V zadní části je síťová zásuvka pro napájení a USB konektor pro připojení k osobnímu počítači, přístup k pojistce a vypínač celého přístroje. Na dně skříně je umístěna deska plošného spoje, optický systém je v horní části.

### 2.3. PROGRAM

Ovládací program pro osobní počítač byl napsán v prostředí LabView. Program umožňuje nastavit jas každé LED a také zesílení fotodetektoru. Dále průběžně zobrazuje naměřené hodnoty v grafu v závislosti na čase a ukládá je do vybraného souboru pro další zpracování. Graf umožňuje pomocí kurzorů procházet křivku naměřených hodnot.

Budící proud do LED je možné měnit lineárně v rozsahu 0,3 – 50 mA s krokem 0,1 mA. Zesílení fotodetektoru je možné měnit od 200 do 2·10<sup>6</sup> také s lineárním průběhem a krokem 1.

Dále je přístroj schopen pozastavit měření bez ztráty nastavených parametrů a dat a opět začít měřit. Naměřené hodnoty se ukládají do souboru ve formátu souboru Excel.

## 3. ZÁVĚR

Přístroj by měl sloužit pro monitoring halogenovaných látek ve vodném prostředí. V současné době je podrobován testům v laboratorních podmínkách na Ústavu experimentální biologie Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně.

## PODĚKOVÁNÍ

Tento příspěvek vznikl ve spolupráci Loschmidtovými laboratořemi Masarykovy univerzity, hlavně se spolupracovníky prof. Jiřím Damborským, Dr. Zbyňkem Prokopem a Mgr. Šárkou Bidmanovou a dále děkujeme Dr. Břetislavu Mikelovi z Ústavu přístrojové techniky AVČR za pomoc při realizaci optické části. Práce vznikla za podpory výzkumného záměru MSM0021630503.

## LITERATURA

- [1] PROKOP, Z., et al., Catalytic mechanism of the haloalkane dehalogenase LinB from *Sphingomonas paucimobilis* UT26. *Journal of Biological Chemistry*. 278, 46 (2003) 45094-45100
- [2] SKLÁDAL, Petr. Biosenzory [online]. Dostupný z WWW: <<http://orion.chemi.muni.cz/pskl/vyuka/Biosensory.pdf>>