

NEJVĚTŠÍ  
VĚDECKÝ  
FESTIVAL  
V ČESKÉ REPUBLICE

# Optické měření pH v mikroskopickém měřítku

AKADEMIE VĚD ČESKÉ REPUBLIKY



TÝDEN VĚDY  
A TECHNIKY

14.

[www.tydenvedy.cz](http://www.tydenvedy.cz)

Ondřej Podrazký

Ústav fotoniky a elektroniky AV ČR, v.v.i.

[podrazky@ufe.cz](mailto:podrazky@ufe.cz)



ufe

# Ústav fotoniky a elektroniky AV ČR, v.v.i.



Chaberská 57, Praha Kobylisy



Rozvojová 264, Praha Suchdol

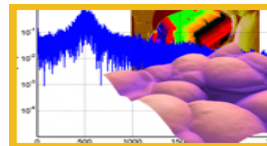
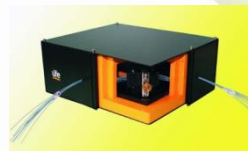
**Optické biosenzory**

**Vláknové lasery a nelineární optika**

**Nanomateriály**

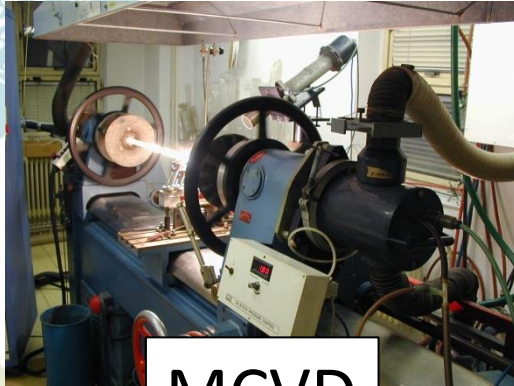
**Bioelektrodynamika**

**Státní etalon času a frekvence**

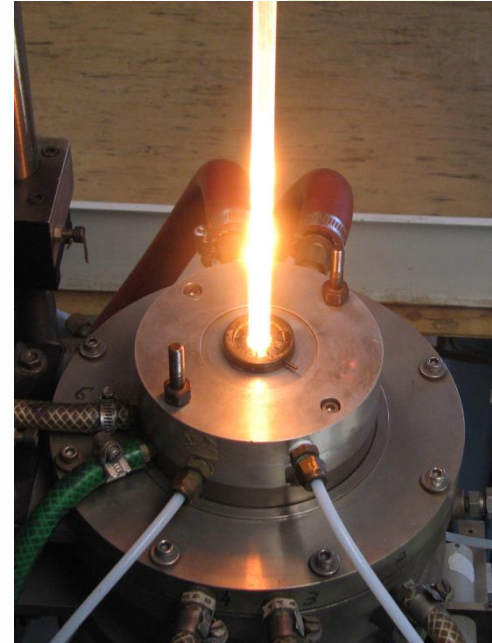
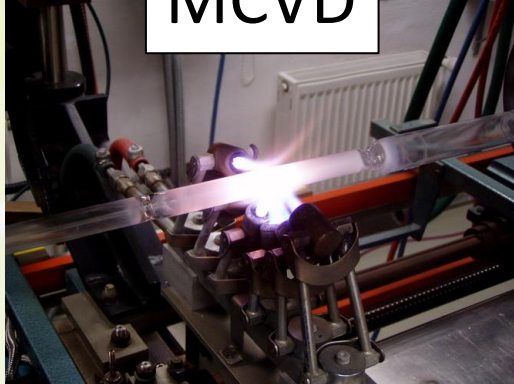


# Laboratoř technologie optických vláken

NEJVĚTŠÍ  
VĚDECKÝ  
FESTIVAL  
V PLZNI



MCVD



Tažení optických vláken

# Co je to pH

**pH** (power of hydrogen) = **vodíkový exponent** (1909 S.P.L. Sørensen)

**kyselost prostředí**

$$\text{pH} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+]$$

Obvyklý rozsah 0-14

Autoprotolýza vody:  $\text{H}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O} = \text{H}_3\text{O}^+ + \text{OH}^-$

Iontový součin vody:  $K_w = [\text{H}_3\text{O}^+].[\text{OH}^-] = 10^{-14}$

$$[\text{H}_3\text{O}^+] = [\text{OH}^-] = 10^{-7} \text{ mol/L} \Rightarrow \text{pH} = 7$$

# Typické hodnoty pH

kyselina v akumulátoru	< 1
žaludeční šťávy	1,5-2
šťáva z citronu	2,4
ocet	3
šťáva z pomeranče	3,5
pivo	4,5
káva	5
čaj	5,5
děšť	5,6
mléko	6,5
destilovaná voda	7
krev	7,4
mořská voda	8
mýdlo	9-10
hašené vápno	12,5
louh pro domácí použití	13,5

## Indikátorové „pH papírky“

- Univerzální (rozlišení 1 pH)
- Selektivní (rozlišení až 0,2 pH)
- Jednorázové stanovení



[www.lach-ner.cz](http://www.lach-ner.cz)

# Jak se pH měří

## Electrochemické (pH-elektrody)

- Skleněné elektrody
- Velký rozsah pH (2-12)
- Křehké
- Ovlivnitelné ionty kovů a EM polem

## Opto-chemické (optody)

- Úzké rozpětí pH (typicky 1-2 jednotky)
- Selektivní
- Malé (komerčně dostupné ~ 140  $\mu\text{m}$ )
- Interní reference



[www.shelfscientific.com](http://www.shelfscientific.com)

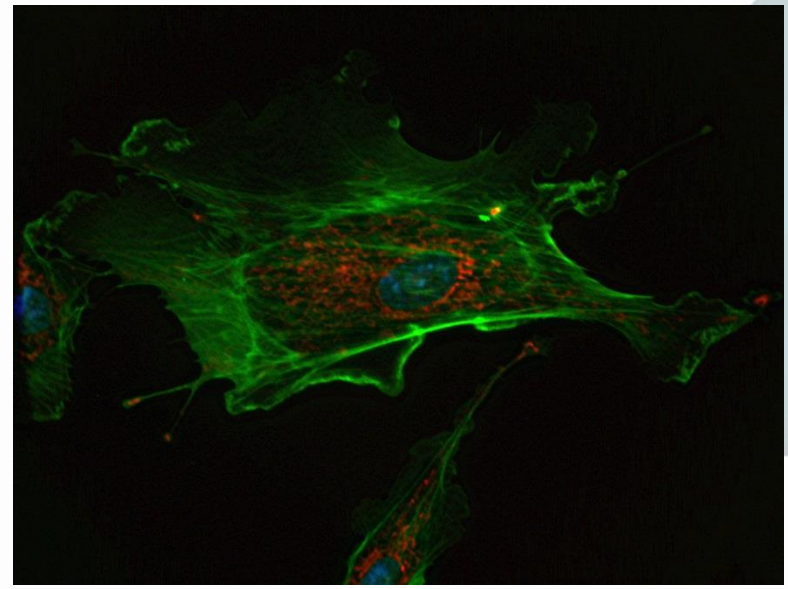


[www.presens.de](http://www.presens.de)



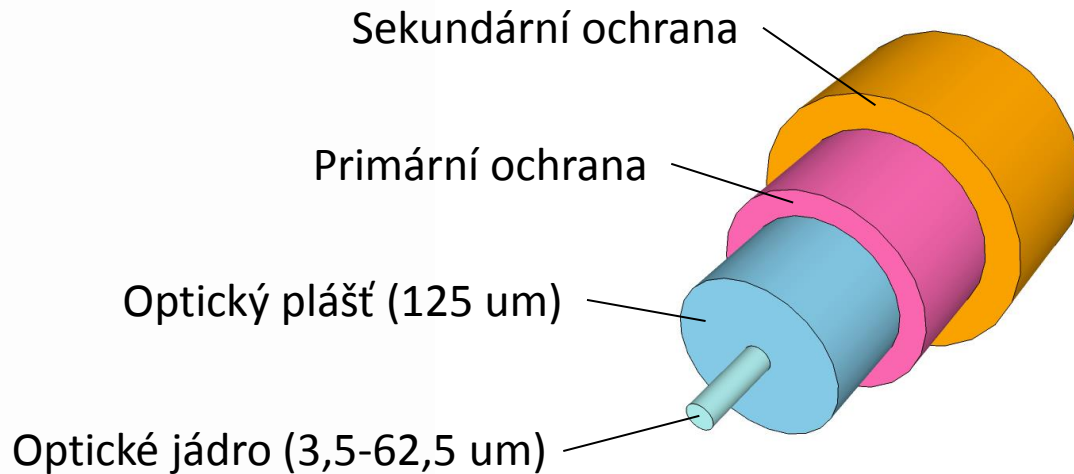
## Mikroskopické metody

- Fluorescenční mikroskopie
- Konfokální mikroskopie



*en.wikipedia.org*

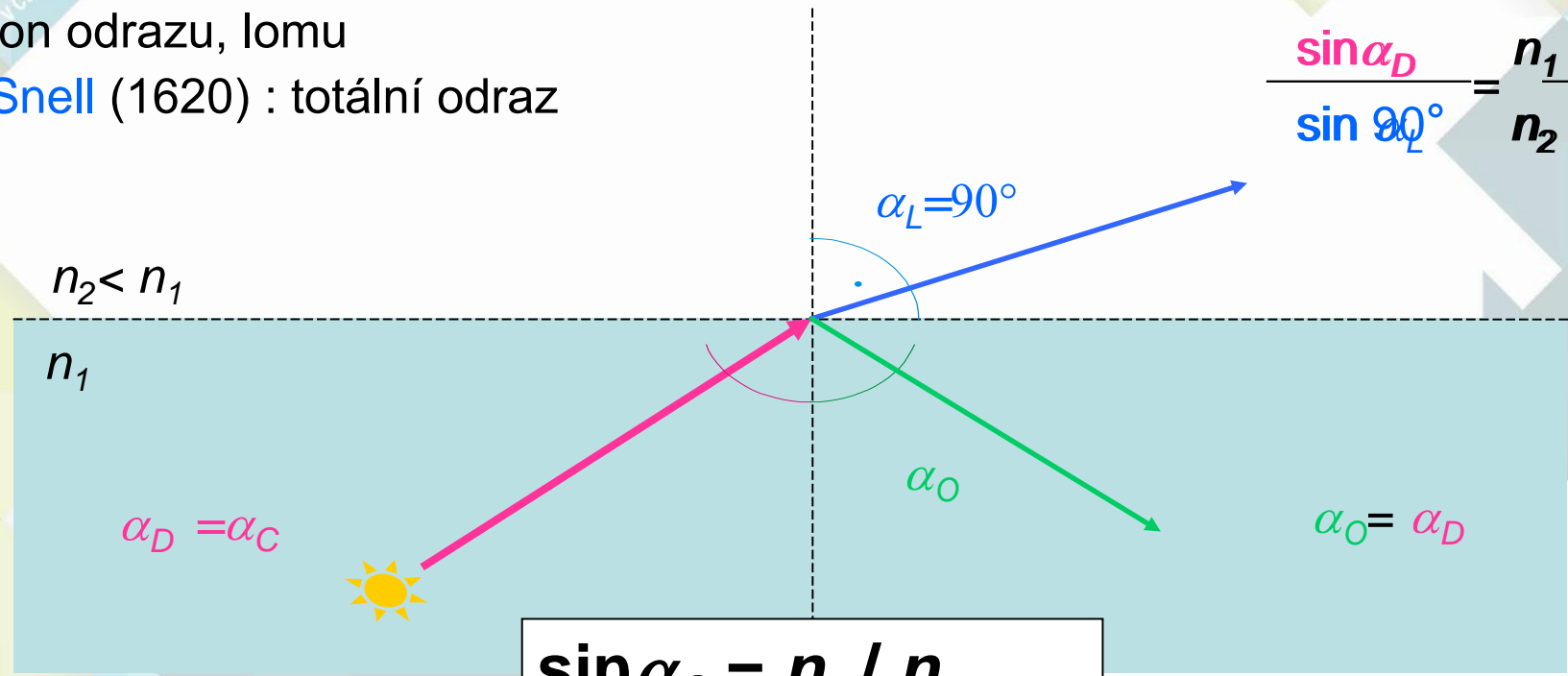
# Optické vlákno



# Totální odraz

Zákon odrazu, lomu

W. Snell (1620) : totální odraz



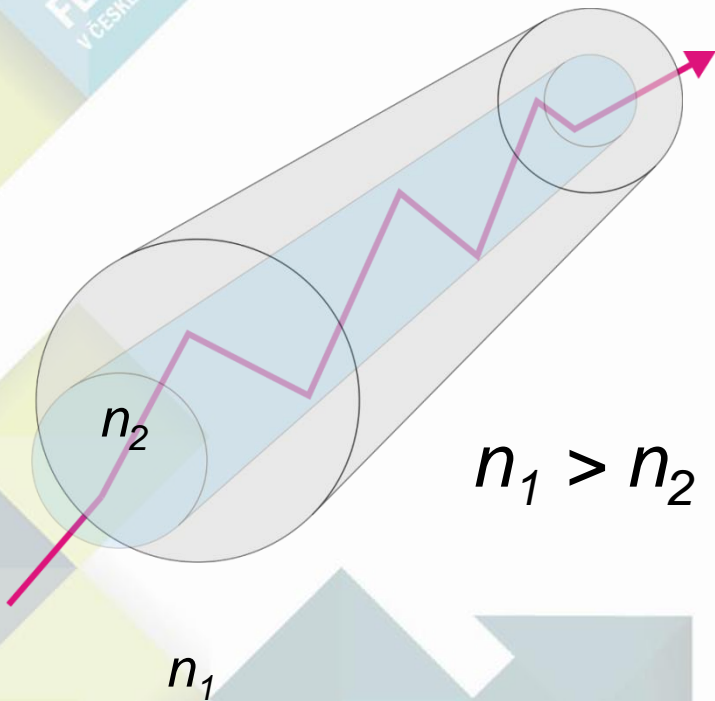
$$\frac{\sin \alpha_D}{\sin 90^\circ} = \frac{n_1}{n_2}$$

$$\sin \alpha_C = n_1 / n_2$$

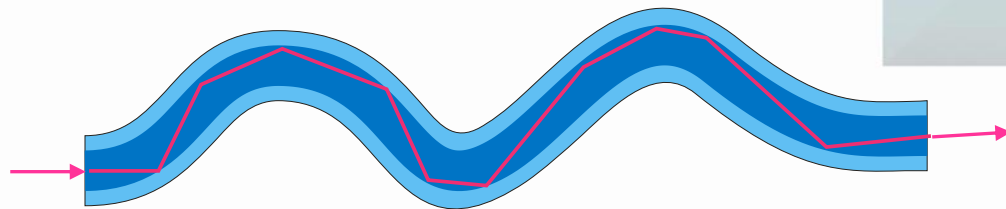
# Totální odraz - příklady



# Vlnovodný princip

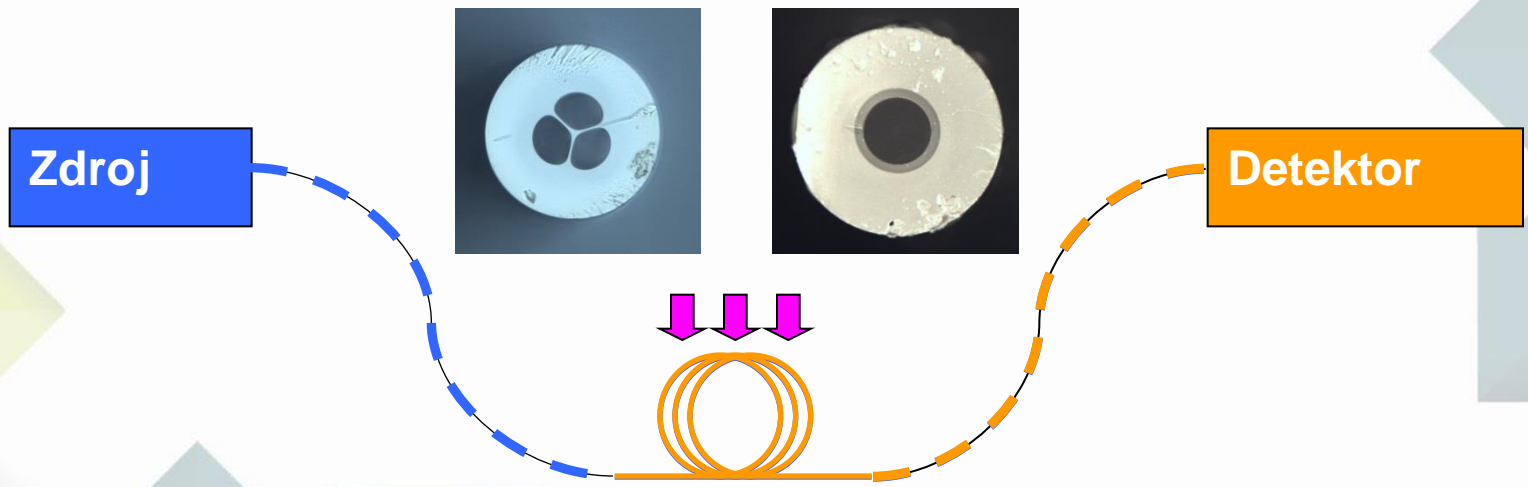


Index lomu ( $n=c/v$ )	
Vakuum	1
Vzduch	1,0003
Voda	1,330
Křemenné sklo	1,457



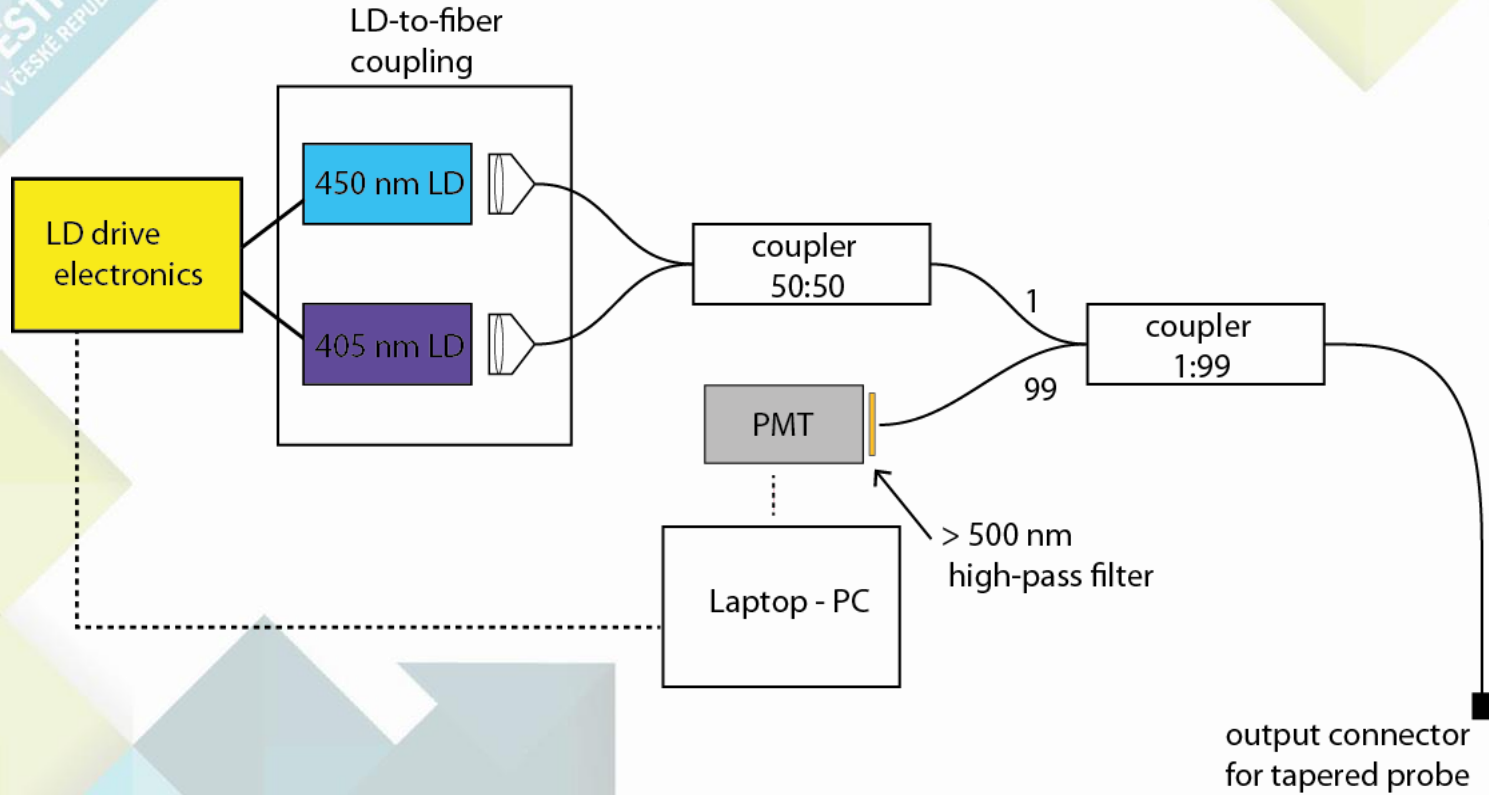
# Optické vláknové senzory distribuované

Malá zařízení pro kontinuální monitorování  
(bio)chemických látek a jejich koncentrace

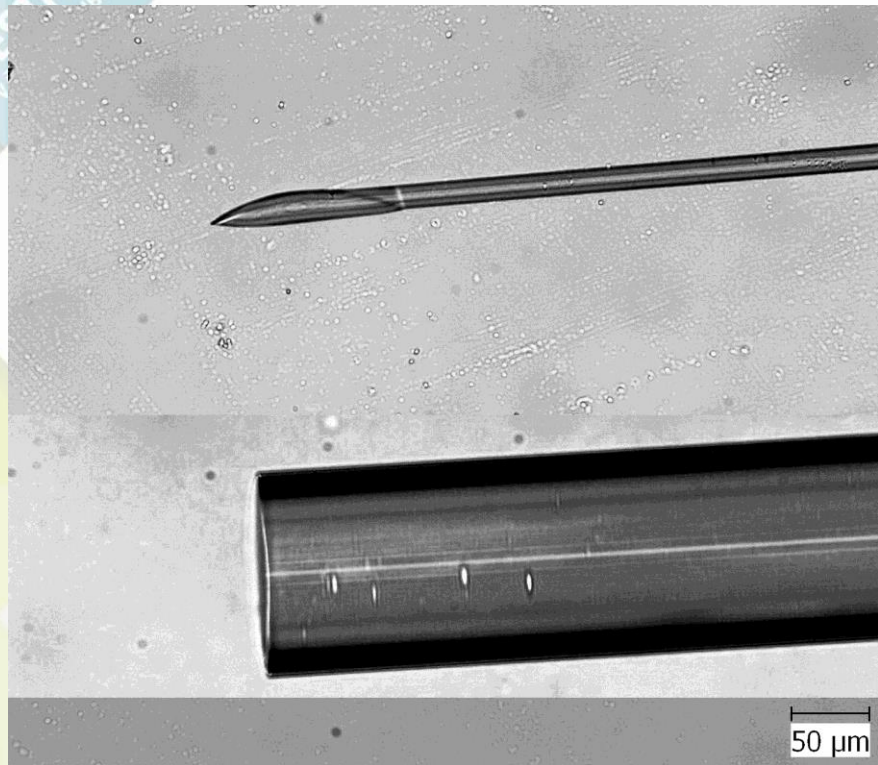


Změna vlastností světla díky vlastnostem prostředí  
= převod informace o chemickém složení na optický signál

# Optické vláknové senzory bodové

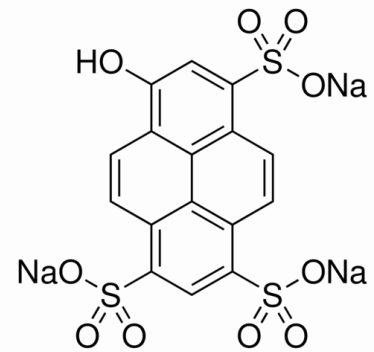


# Optická sonda



Detekční vrstva:

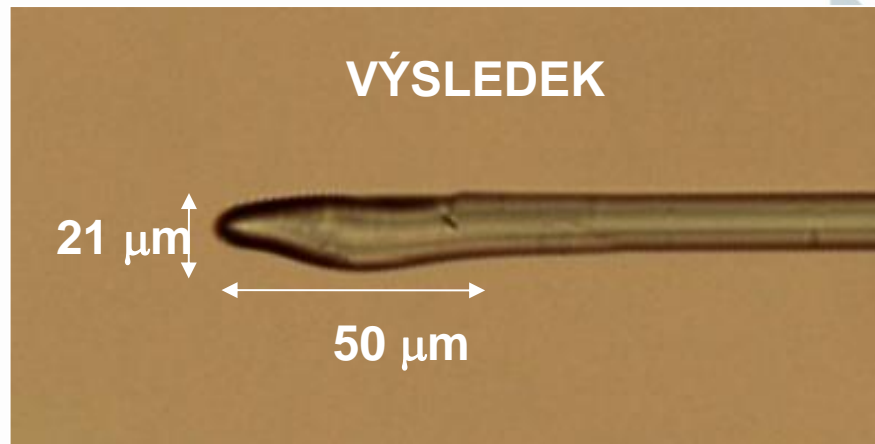
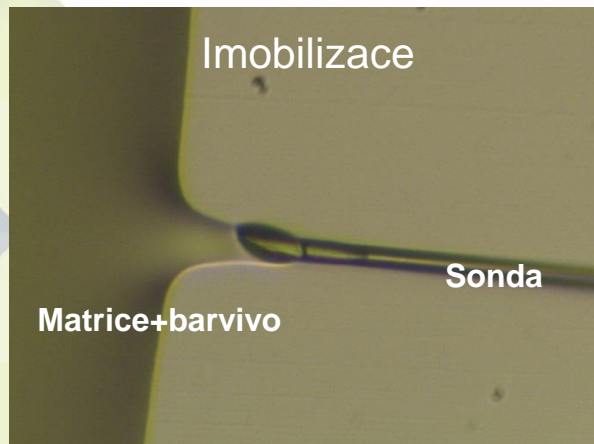
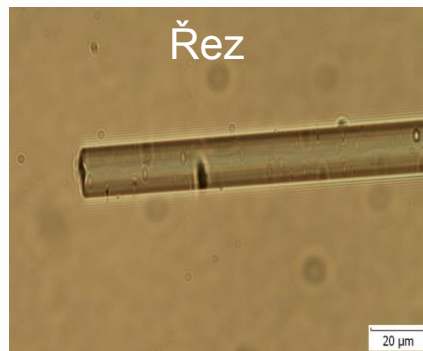
- modifikovaný pyranin
- matrice: TEOS+GLYMO



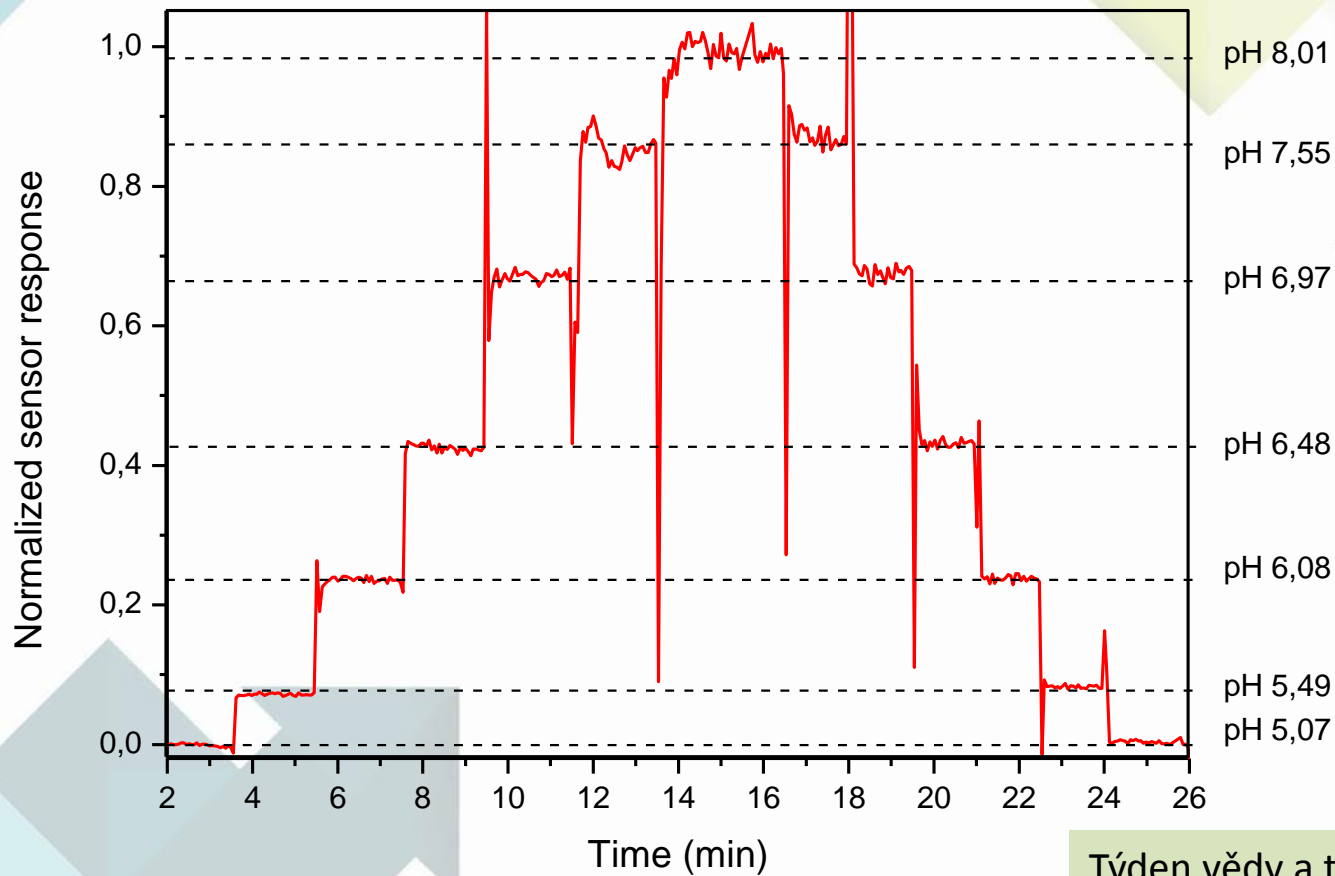
8-Hydroxypyrene-1,3,6-trisulfonic acid trisodium salt (HPTS, pyranine)



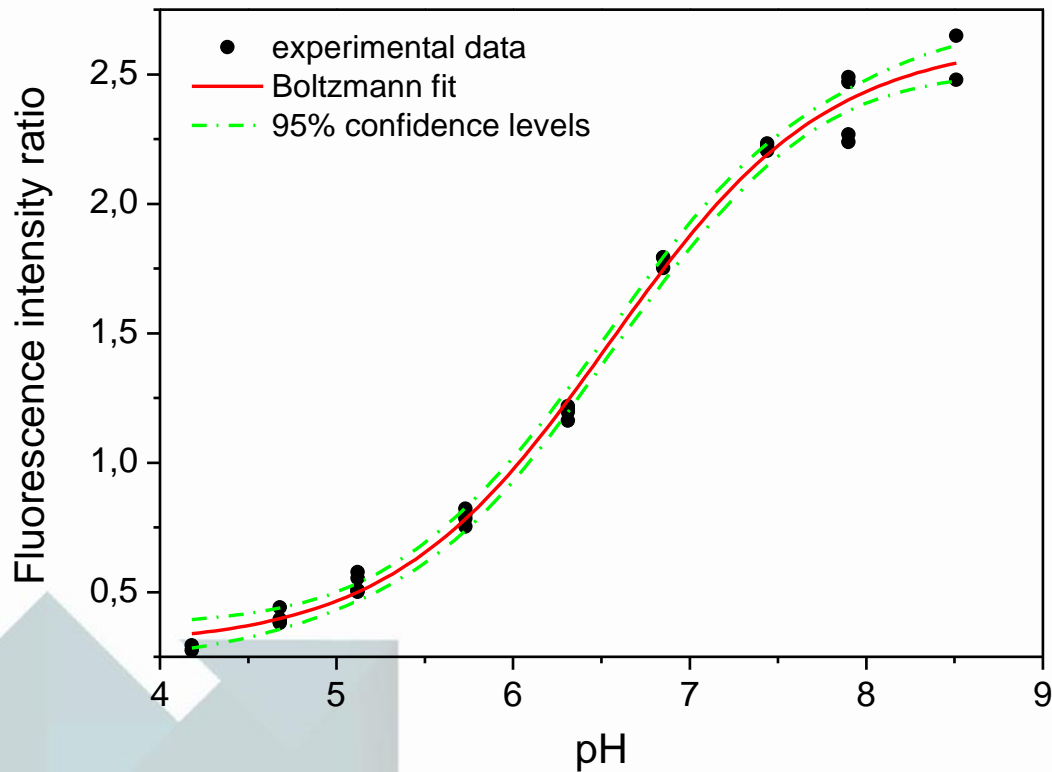
# Příprava sondy



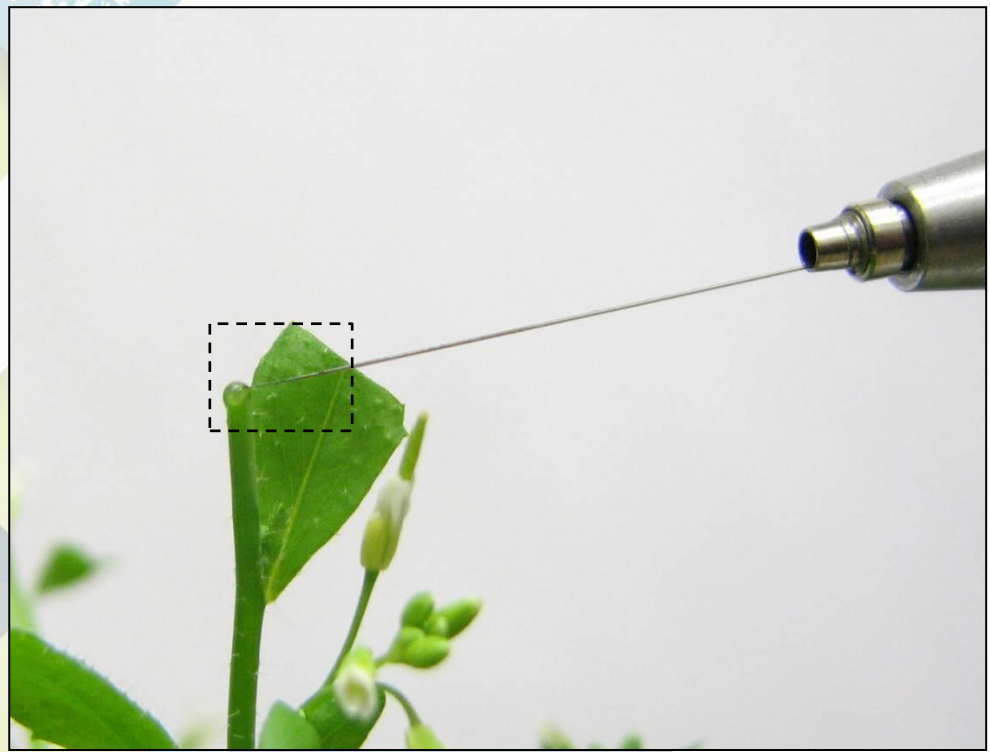
# Časová odezva senzoru



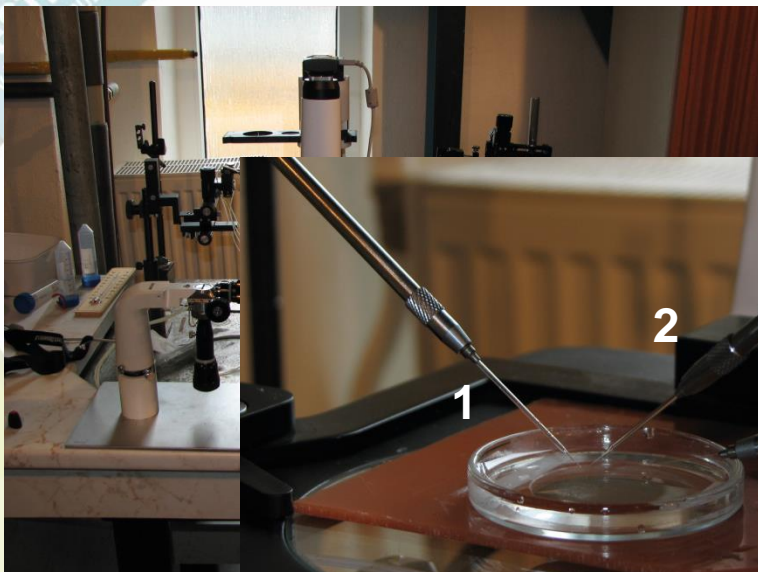
# Kalibrační křivka



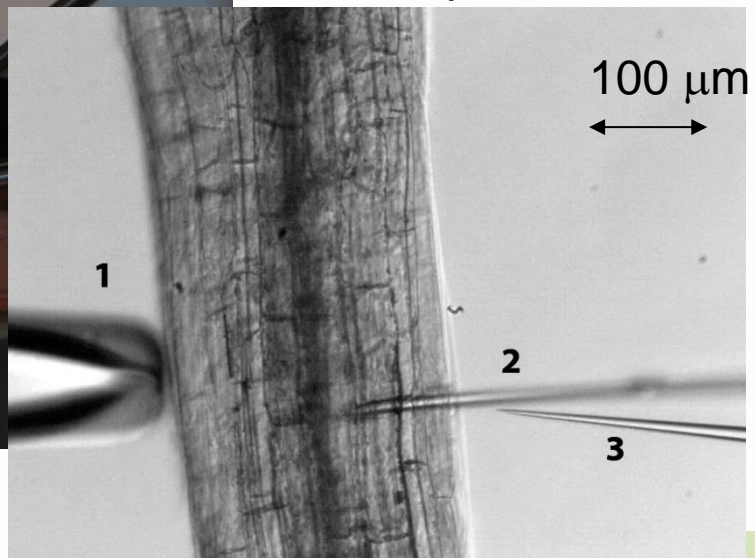
# Měření pH rostlinných šťáv (exudátu)



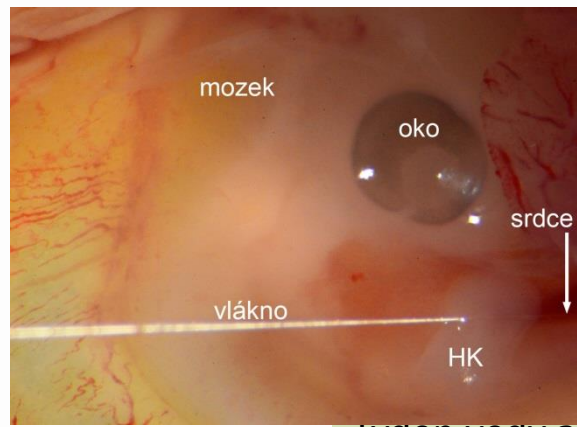
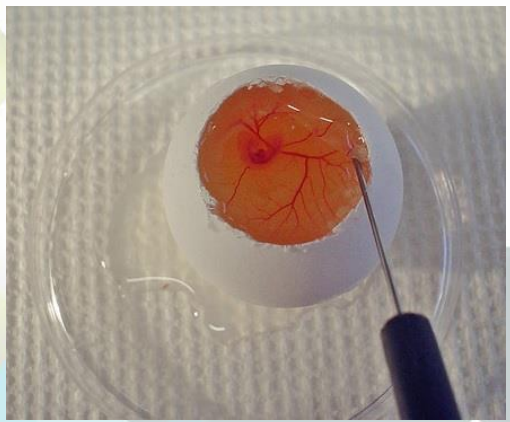
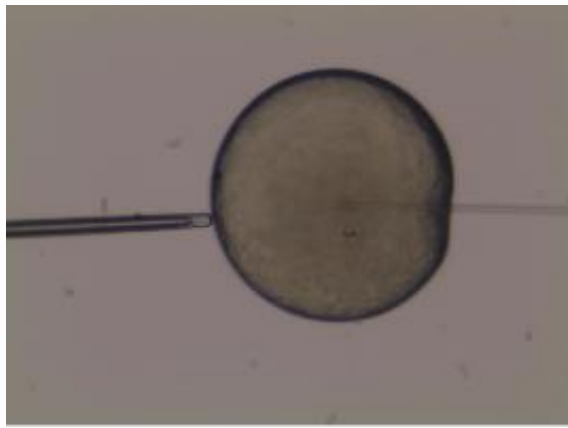
# Měření pH ve stonku (*Arabidopsis Thaliana*)



- 1 – fixační pipeta
- 2 – pH sonda
- 3 – penetrátor



# Měření pH v embryích



Anal Bioanal Chem (2010) 398:1883–1889  
DOI 10.1007/s00216-010-4130-9

ORIGINAL PAPER

## Fiber-optic pH detection in small volumes of biosamples

I. Kasík • J. Mrazek • T. Martan • M. Pospisilova •  
O. Podrazky • V. Matejec • K. Hoyerova • M. Kamínek

*Sensors & Transducers, Vol. 27, Special Issue, May 2014, pp. 312-318*



### Sensors & Transducers

© 2014 by IFSA Publishing, S. L.  
<http://www.sensorsportal.com>

### Tapered Optical Fiber Sensor for Detection of pH in Microscopic Volumes

Ondřej PODRAZKÝ, Vlastimil MATĚJEC, Jan MRÁZEK,  
Tomáš MARTAN, Jan AUBRECHT, Ivan KAŠÍK

Institute of Photonics and Electronics, Academy of Sciences of the Czech Republic, v.v.i.,  
Chaberska 57, 182 51 Prague 8, Czech Republic  
Tel.: +420 266 773 558, fax: +420 284 680 222  
E-mail: podrazky@ufe.cz

Materials Science and Engineering C 33 (2013) 4809–4815



Contents lists available at ScienceDirect

### Materials Science and Engineering C

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/msec](http://www.elsevier.com/locate/msec)



### *In vivo* optical detection of pH in microscopic tissue samples of *Arabidopsis thaliana*

Ivan Kašík<sup>a,\*</sup>, Ondřej Podrazký<sup>a</sup>, Jan Mrázek<sup>a</sup>, Tomáš Martan<sup>a</sup>, Vlastimil Matějec<sup>a</sup>,  
Klára Hoyerová<sup>b</sup>, Miroslav Kamínek<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Institute of Photonics and Electronics, AS CR, v.v.i., Chaberska 57, Prague 8 182 51, Czech Republic  
<sup>b</sup> Institute of Experimental Botany, AS CR, v.v.i., Rozvojova 263, 165 02 Prague 6, Czech Republic

# Poděkování

**LC06034 - Regulace morfogeneze rostlinných buněk a orgánů  
(2006-2011 MŠMT)**

**TA04011400 - Vlákno optický pH metr pro mikroskopické biologické vzorky  
(2014-2017, TA ČR)**