

Opinnäytetyö (AMK)

Kone- ja tuotantotekniikka

TUTES12

2016

Kimmo Taurén

TOKSISUUSTESTIN TUOTEKEHITYSPROJEKTI

OPINNÄYTETYÖ (AMK) | TIIVISTELMÄ

TURUN AMMATTIKORKEAKOULU

Kone- ja tuotantotekniikka | Tuotantotekniikka

2016 | Sivumäärä 26

Timo Vaskikari, Juha Lappalainen Aboatox Oy

Kimmo Taurén

TOKSISUUSTESTIN TUOTEKEHITYSPROJEKTI

Opinnäytetyön tavoitteena oli löytää ratkaisu näytteenottolaitteelle, jolla olisi mahdollista tehdä toksisuusmittauksia kenttäolosuhteissa. Kehitystyö suoritettiin kevään 2016 aikana maskulaiselle ympäristömittauksien kehitykseen ja markkinointiin erikoistuneelle Aboatox Oy:lle.

Työssä käydään läpi yksikköpakattu näytteenottoväline ja reagenssipakkaus- LuciPac Pen ja sen muokkaaminen siten, että sillä kyetään tekemään kaksi toisistaan riippumatonta mittausta yhdellä kertakäyttöisellä mittausvälineellä. Näytteenottolaitteen muutostyön lisäksi käsitellään itse mittauksessa käytettävää Kikkoman PD-30 -mittalaitetta sekä sen toimintaperiaatetta.

Tuotekehityksen tuloksena onnistuttiin kehittämään näytteenottolaite, jonka avulla onnistuu toksisuusmittauksen suorittaminen kentällä ilman laboratoriovälineistöä. Prototyypin osien kehittämiseen käytettiin SolidWorks 3D –mallinnusohjelmaa, jonka avulla saatiin luotua tarvittavat osat. 3D-mallinnetut osat tulostettiin 3D-tulostimella Turun Koneteknologiakeskuksen tiloissa.

ASIASANAT:

tuotekehitys, luminometri, näytteenottolaite, toksisuus testi

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Mechanical Engineering | Production Engineering

2016 | 26

Timo Vaskikari, Juha Lappalainen Aboatox Oy

Kimmo Taurén

PRODUCT DEVELOPMENT OF A TOXICITY TEST

The goal of this thesis was to create a sampling device which would assist in toxicity measurements in the field. The development work was carried out during the spring of 2016 for Aboatox Oy, which is specialized in the development and marketing of environmental measurement gear.

The project covers LuciPac Pen, a single-packed sampling device and reagent package, and its development work. The goal of development work was to create a sampling device which would be able to do two independent measurement processes with one single-use measuring instrument. In addition to the sampler modification, Kikkoman PD-30 measuring device used for measuring the event itself as well as its operating principle were also covered.

As a result of product development, a sampling device that enables consumers to perform toxicity measurements in the field without access to laboratory equipment was successfully developed. Prototype parts were created with SolidWorks 3D modelling software. 3D modelled parts were printed with a 3D printer at Machine Technology Center Turku Ltd premises.

KEYWORDS:

product development, luminometer, sampling device, toxicity test

SISÄLTÖ	
KÄYTETYT LYHENTEET TAI SANASTO	6
1 JOHDANTO	7
2 TYÖN KUVAUS	8
3 STANDARDIT	9
4 TOKSISUUSMITTAUS	10
5 MITTALAITE	11
5.1 Kikkoman PD-30	11
5.2 Luminometrinen ATP-mittaus	12
6 LUCIPAC PEN	13
6.1 Rakenne ja toiminta	13
6.2 BioTox kit ja Aliivibrio fischeri	14
7 TYÖNSELOSTUS	15
7.1 Prototyypin mallinnus	15
7.2 Prototyypin osien 3D-tulostaminen KTK:lla	17
7.3 Okartek	17
8 PROTOTYYPPI	19
8.1 Kasaaminen	20
8.2 Käyttöohjeet	20
9 YHTEENVETO	26
LÄHTEET	27

KUVAT

Kuva 1. Kikkoman PD-30 (Lagotec 2016).	12
Kuva 2. Näytteenottolaitteen osat (Biochemifa Kikkoman 2016).	13

Kuva 3. LuciPac Penin käyttö ohje (Tales 2016).	14
Kuva 4. Kartio.	16
Kuva 5. Reikälevy.	16
Kuva 6. Leapfrog 3D -tulostin KTK:lla.	17
Kuva 7. Mittalaitteen sisäpuoleiset olakkeet.	18
Kuva 8. Räjätyskuva näytteenottolaitteesta.	19
Kuva 9. Kasattu näytteenottolaite.	19
Kuva 10. Lähikuva kartiosta.	21
Kuva 11. Näytteen kerääminen.	21
Kuva 12. Reagenssikapselin kiinnittäminen takaisin näytteenottopuikon suojaaksi.	22
Kuva 13. Kontrollipään reagenssikapseli värjättyllä liuoksella.	22
Kuva 14. Näytteenottolaite mittaussalmiina.	23
Kuva 15. Reagenssi-elvytysliuosseos valumassa kohti testinäytteen päätä kartion läpi.	23
Kuva 16. Reagenssi-elvytysliuosseos testinäytteen päässä.	24
Kuva 17. Kartion toimintaperiaate (ylinmääräisellä nesteellä).	25

KÄYTETYT LYHENTEET TAI SANASTO

Lyhenne	Lyhenteen selitys
Proseduuri	Sarja toimintoja, tehtäviä tai operaatioita, jotka tulee suorittaa aina samalla tavalla.
Single-shot-näytteenottolaite	Näytteenottolaite, joka sisältää kaiken tarpeellisen mittauksen suorittamiseksi yhdessä kertakäyttöisessä paketissa
Luminometri	Näytteen mittaamisessa käytty laite, jolla voidaan havaita hyvin heikkoja valomääriä

1 JOHDANTO

Tämän opinnäytetyön aiheena on LuciPac Pen -toksisuustestin tuotekehitysprojekti. Työ tehtiin keväällä 2016 maskulaiselle Aboatox Oy:lle. Työssä pyrittiin muokkaamaan ATP-mittauksiin tarkoitettua näytteenotto- ja reagenssipakkausta LuciPac Peniä niin, että siinä käytettävä reagenssi voitaisiin korvata kylmäkuivatun bakteerin (*Aliivibrio fischeri*) bioluminesenssiin perustuvalla BioTox-testillä. BioTox-testin käyttöönoton lisäksi tuotteen tulisi olla käyttäjä- sekä ympäristöystävällinen. Prototyyppiä kehitellessä pyrittiin vähentämään perinteisessä toksisuustestissä olevia osia, jolloin saataisiin vähennettyä muoviroskan määrää. Reagenssin vaihdos ja siitä seuraavat rakenteelliset muutokset eivät saisi muuttaa näytteenottolaitteen mittoja siten, ettei se enää mahtuisi Kikkoman PD-30 -mittauslaitteen mittakammioon. Mittalaitteeksi valittiin PD-30 siksi, että se edustaa uuden sukupolven diodilaitetta toksisuusmittauksissa käytettyjen valomonistinputkilaitteiden sijaan. Diodilaitteelle sovellutus haluttiin siksi, että sen hinta on noin 25 % valomonistinputkilaitteen hinnasta.

Standardimenetelmässä (ISO 11348-3) testireagenssi jaetaan samansuuruisiin osiin. Tällaisen mittauksen toteuttaminen kenttäolosuhteissa *Aliivibrio fischeri* -reagenssin kanssa on äärimmäisen hankalaa, koska useimmat mittaukset tapahtuvat olosuhteissa, joissa ei ole mahdollisuutta jakaa reagenssia tarkasti tai se on hankalaa. Tuotekehityksen taustalla on, että kertakäyttöisillä välineillä voitaisiin mitata testinäyte sekä kontrollinäyte ilman reagenssin jakamista. Menetelmän periaatetta on testattu ja todettu, että mittaamalla tikku voidaan mittaus tehdä kenttäolosuhteissa. Tässä työssä ei ole suoritettu lainkaan mittauksia vaan pohdittu mittauslaitteen mekaniikkaa. Kehitetyn menetelmän toimivuutta testataan tulevaisuudessa.

Työn toteuttamiseen käytettiin SolidWorks 3D –mallinnusohjelmaa, jonka avulla voitiin luoda erilaisia ratkaisuja valmiin tuotteen rakenteeksi. 3D-mallinnuksen lisäksi käytettiin koneteknologiakeskuksessa sijaitsevaa 3D-tulostinta tarvittavien osien valmistamiseksi.

Työn lähteinä toimivat valmistajien ja jälleen myyjien kotisivut. Näiden lisäksi ISO standardit 11348-3 (2007) sekä 21338 (2010) kuvailevat tarkasti mittausproseduuria, jotta se olisi suorituspaikasta ja mittaajasta riippumatta aina samanlainen.

2 TYÖN KUVAUS

Tarkoituksena oli valmistaa näytteenottolaite, joka mahdollistaisi kahden mittauksen (kontrollinäyte ja testinäyte) ottamisen samasta reagenssiannoksesta. Reagenssiannoksen jakaminen standardin ISO 11348-3 mukaisesti samansuuruisiin osiin kenttäolosuhteissa on hankalaa ja epäkäytännöllistä. Tuloksen kannalta on oleellista, että näyte ja kontrolli mitataan samalla reagenssiannoksella, koska yksikköpakattujen reagenssiannoksien välisiä eroja on mahdotonta arvioida ilman vertailukohtaa. Hajonta eri yksikköpakkausten välillä voi olla merkittävä ja siksi kontrolli haluttiin mukaan. Valmiin näytteenottolaitteen avustuksella reagenssiannoksen tarkka jakaminen ei ole enää tarpeellista, koska yhdellä kertakäyttöisellä näytteenottolaitteella saadaan kaksi toisiinsa vertailukelpoista mittausta.

Työn kannalta oli oleellista, etteivät näytteenottolaitteen fyysiset mitat muuttuisi alkuperäisestä LuciPac Penistä. Kikkoman PD-30 -mittalaitteen mittakammio on mitoitettu LuciPac Peniin sopivaksi. Huomioon tulisi myös ottaa näytteenottolaitteen helppokäyttöisyys. Näytteenottotilanne tulisi tehdä mahdollisimman helpoksi, jotta virheiden mahdollisuus laskisi minimiin. Helppokäyttöisyys on oleellista siksi, että mittauksen voi tehdä kuka vain vähäisellä kokemuksella luotettavasti.

3 STANDARDIT

Kansainväliset standardit, jotka määrittelevät mittausproseduuria tarkasti, ovat SFS-ISO 11348-3 sekä SFS-ISO 21338. Näissä standardeissa on käsitelty laboratorio-olosuhteita, mutta niitä voidaan soveltaa myös pikatestien tekemiseen. SFS-ISO 11348-3:AA käsitellään miten *Aliivibrio fischeri* -bakteeria tulee käsitellä, jotta mittaustulokset olisivat mahdollisimman tarkkoja. Standardissa mainitaan erilaisten virhelähteiden vaikutus sekä se, että muun muassa raskasmetallien läsnä ollessa eri bakteerivalmisteilla saatetaan saada erilaisia tuloksia. Tulosten tulkinnan yhteydessä tulee myös ottaa huomioon, että bakteerierät voivat olla eri tuottajilta, jolloin niiden reagoiminen saattaa olla ennalta arvaamatonta. (ISO 11348-3:2007, 1–3.)

Standardeissa ohjeistetaan, kuinka toimia näytteiden kanssa joiden happamuus, suolapitoisuus tai happipitoisuus eivät ole sallituissa normeissa. SFS-ISO 21338 käsitellään näytteiden kineettisiä sovellutuksia joiden avulla voidaan välttää näytteen voimakkaasta väristä tai väristä johtuvat haittavaikutuksia näytteenoton yhteydessä. (ISO-21338:2010, 6, 10.)

4 TOKSISUUSMITTAUS

Toksisuusmittauksen periaatteena on verrata kontrollinäytteen ja testinäytteen luminesenssin intensiteettiä toisiinsa. ISO standardin 11348-3 mukaan testireagenssin käyttöönotto tapahtuu siten, että pakastimesta otetaan reagenssia, joka elvytetään käyttövalmiiksi laimennusliuoksella. Elvyttämisen jälkeen se jaetaan samansuuruisiin osiin ja siirretään koeputkiin. Osiin jakamisen jälkeen näytteisiin sekoitetaan testinäytteet ja kontrollinäyte. Ennalta määritetyn kontaktiajan jälkeen näytteet siirretään luminometriin ja niistä mitataan tulokset. Käyttöön otettu reagenssi tulee käyttää saman päivän aikana, joten on taloudellista tehdä lukuisia mittauksia samalla kertaa. Yhden mittauksen tekeminen on yhtä kallista kuin sadan mittauksen tekeminen. Mittauksen suorittaminen vaatii niin paljon työvaiheita, että sen suorittaminen ei ole järkevää kenttäolosuhteissa. (Lappalainen 2016, 1–2.)

Tuotekehityksen taustalla on luoda toksisuustesti single-shot-periaatteella toimivaksi, jolloin testin tekeminen onnistuu kenttäolosuhteissa yksikköpakatulla reagenssilla ja näytteenottovälineellä ja on myös taloudellista tehdä vain yksittäinen mittausta. Kenttäolosuhteissa tehtävän mittauksen ero laboratoriomittauksiin on se, että neste siirretään ja immobilisoidaan mittauksiin erikoisvalmisteisella näytteenottoaikeella eikä pipetillä. (Lappalainen 2016, 3.)

Toksisuusmittaus tehdään ottamalla näytepäällä näyte, jonka jälkeen näytteenottolaitteen reagenssikapseli asetetaan takaisin. Tämän jälkeen kontrollipään reagenssikapseli avataan. Suojakorkkina toiminut reagenssikapseli vaihdetaan reagenssia sisältävään reagenssikapseliin ja siihen annostellaan haluttu määrä elvytysliuosta. Kun kontrollipää on kastunut reagenssista, käännetään väline ylösalaisin, jotta reagenssi-elvytysliuos valuu näytepäähän. Määritetyn kontaktiajan kuluttua aloitetaan mittaukset. Ensimmäinen mitataan näytepää ja tämän jälkeen kontrollipää. Mikäli näyte on myrkyllinen, näytepään intensiteetti laskee kontrollipäähän verrattuna ja tulos voidaan laskea, mikäli halutaan muu kuin +/- -vastaus näytteelle. (Lappalainen 2016, 4.)

5 MITTALAITE

Markkinoilla on lukuisia luminometriaan perustuvia mittalaitteita, jotka eroavat toisistaan monilla tavoin. Joissakin malleissa ei ole tallennusmahdollisuutta suoraan laitteeseen, jolloin mukana täytyy kantaa näytteenottokirjaa sekä kynää. Myös näytteenmittauskammioiden muodoissa on eroja mallista riippuen. Hyvin harvoissa malleissa on mahdollisuus mittakammion jäähdyttämiseen tai lämmön kompensointiin ohjelman avulla.

Kaikissa kannettavissa laiteissa yhdistävä tekijä on, että niissä on mittakammio, joka on tehty mahdollisimman valotiiviiksi. Valotiiveys on edellytys sille, että mittatuloksesta tulee tarkka. Taustavalo vaikuttaa mittaukseen tarkkuuteen negatiivisesti eikä anna tällöin oikeanlaista tulosta.

5.1 Kikkoman PD-30

Kikkoman PD-30 -mittalaite on Kikkoman-korporaation kehittämä luminometriaan perustuva kannettava pikamittauslaite. PD-30 on tuoteperheen kolmas ja uusin versio. PD-30-laitetta on paranneltu huomattavasti verrattuna entisiin versioihin. Laitteeseen on lisätty huomattavasti aikaisempia versioita enemmän muistipaikkoja mittauksille. On myös mahdollista luoda käyttäjille omat profiilit laitteen muistiin, jolloin mittaustapahtumat kirjautuvat yksittäisen henkilön toimiksi ja mittauksen jäljitettävyyks parantuu. PD-30-mittalaitteessa on lämpötilan vaikutuksia kompensoiva ohjelmisto, mikä riittää tietyille sovellutuksille.

Mittalaite ja -väline on kehitelty siten, että kuka tahansa voi tehdä mittauksen. Mittaus tapahtuu laitteessa automaattisesti ilman käyttäjän toimenpiteitä, kun tämä on asettanut näytteenottolaitteen mittalaitteen mittauskammioon ja painanut aloitus-näppäintä. Käyttäjän huoleksi jää sulkea mittakammio tiiviisti näytteenottopuikon asettamisen jälkeen.



LUMITESTER PD30

Kuva 1. Kikkoman PD-30 (Lagotec 2016).

5.2 Luminometrinen ATP-mittaus

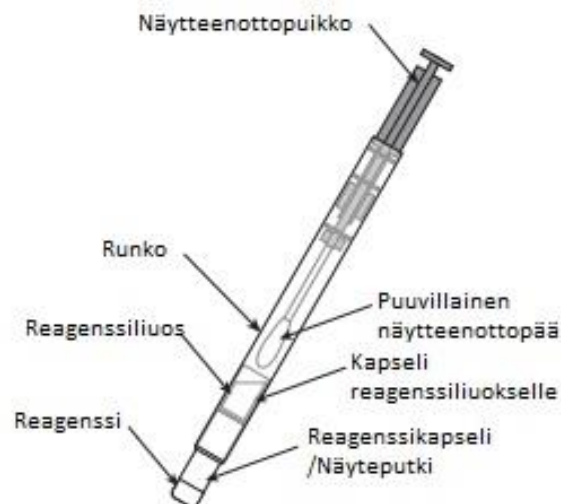
Luminometrisella ATP-mittauksella kyetään havaitsemaan jokaisen solun energia-ai-neenvaihdunnan perustana oleva ATP-molekyyli. Molekyylien havaitseminen tarkoittaa sitä, että tutkittavassa näytteessä on läsnä elävää ainetta. Luminometriaan perustuvia mittaustekniikoita on käytetty yhä enemmän 1980-luvulta lähtien. Euroopassa ATP-mit-taus on kontaktimaljojen lisäksi pääasiallinen pintapuhtauden valvontamenetelmä. Suu-rimmassa osassa luminometriaan perustuvissa mittalaitteissa käytetään niin sanottuja singleshot-reagensseja eli koko mittauspaketti on rakennettu mittavälineeseen, jolla saa-daan otettua näyte sekä tulos. Singleshot-reagenssien suosiota selittää, että mittaustoi-menpide ja tulos saadaan suoritettua paikan päällä. (Netfood 2016.)

Kentällä tehtävät luminometriset pintapuhtauden menetelmät ovat erittäin tarkkoja ja ver-tailukelpoisia laboratorioissa suoritettuihin mittauksiin. ATP-näytteenotto puikolla voidaan näyte ottaa tasaisilta pinnoilta tai hankalammista paikoista, kuten putkien tai venttiilien sisältä. Menetelmä on yleisessä käytössä muun muassa suurkeittiöissä ja elintarvike- ja lääketieteellisuuden puhtauden valvonnassa. (Netfood 2016.)

6 LUCIPAC PEN

6.1 Rakenne ja toiminta

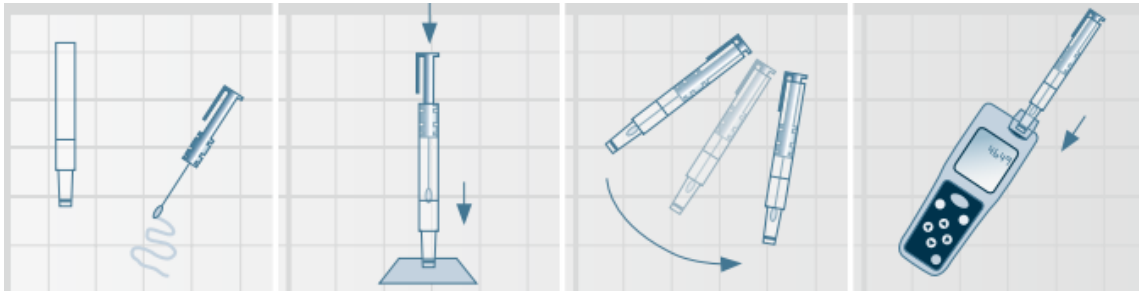
Runkoputki on kiinnitysosa kaikille osille ja toimii samalla näytteenottopuikon suojana kuljetuksen ja säilytyksen aikana. Näyte otetaan näytteenottopuikolla, jonka päässä on puuvillainen näytteenottopää, jolla voidaan pinnalta kerätä näyte. Näiden osien lisäksi on kaksi mittaukselle tärkeää folioin eristettyä kapselia, jotka sisältävät mittauksessa tarvittavan kylmäkuivatun reagenssin sekä elvytysliuoksen. Reagenssikapseli toimii mittauksen aikana mittakammiona eli kyvetinä, ja sen tulee olla optisesti kirkasta muovia. Reagenssikammion sijainti ja muoto on optimoitu mittaukseen PD-30 -mittalaitteella.



Kuva 2. Näytteenottolaitteen osat (Biochemifa Kikkoman 2016).

LuciPac Penillä mittaaminen on yksinkertainen toimenpide. Näytteenottotikku poistetaan rungostaan, jonka jälkeen sillä hangataan mitattavaa aluetta 10 cm x 10 cm alueelta kahteen suuntaan. Kun mitattavasta alueesta on otettu näyte, mittatikku asetetaan takaisin runkoon. Runkoon asettamisen jälkeen näytteenottotikku painetaan elvytysliuos sekä reagenssikapseleiden suojafolioiden läpi pohjaan asti. Näytepuikon ollessa painettuna pohjaan asti tulee heiluttaa koko näytteenottolaitetta siten, että reagenssi ja elvytysliuos sekoittuvat mitattavaan aineeseen. Kun aineet ovat sekoittuneet reagenssikammiossa,

on näytteenottolaite valmis asetettavaksi mittauskammioon näytteen mittaamista varten. (Kuva 3.)



Kuva 3. LuciPac Penin käyttö ohje (Tales 2016).

6.2 BioTox kit ja *Aliivibrio fischeri*

Markkinoilla on muutamia toksisuusmittausuotepaketteja, joiden toimintaperiaate on sama, mutta nimi ja pakkauksen mukana tulevat testimäärät vaihtelevat. BioTox Kit on Aboatox Oy:n valmistama kaupallinen toksisuusitestipaketti. Paketti sisältää *Aliivibrio fischeri* -reagenssia, elvytysliuosampulleja sekä referenssinäytteiden tekemiseen käytettävää natriumkloridia. BioTox Kitissä käytettävä bakteeri, *Aliivibrio fischeri*, on kylmäkuivattu ja tulee säilyttää $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa tai sitä alemmassa lämpötilassa (Aboatox 2016.) ISO standardi määrittelee käytettävän testiorganismien ja menetelmää on sovellettu siihen sopivaksi.

Toksisuustestissä käytettävä *Aliivibrio fischeri* on maailmanlaajuisesti merissä esiintyvä bakteeri (Madigan & Martinko 2005, 68). *Aliivibrio fischeri*:lla on bioluminesenssia ominaisuuksia eli kyky hohtaa valoa, ja se esiintyy yleisesti symbioosissa monien meressä elävien eläimien kanssa, mutta sitä voidaan myös tavata vapaana, jolloin se ruokkii itseään vedessä olevalla orgaanisella aineella. (Holt JG 1994, 124).

7 TYÖN SELOSTUS

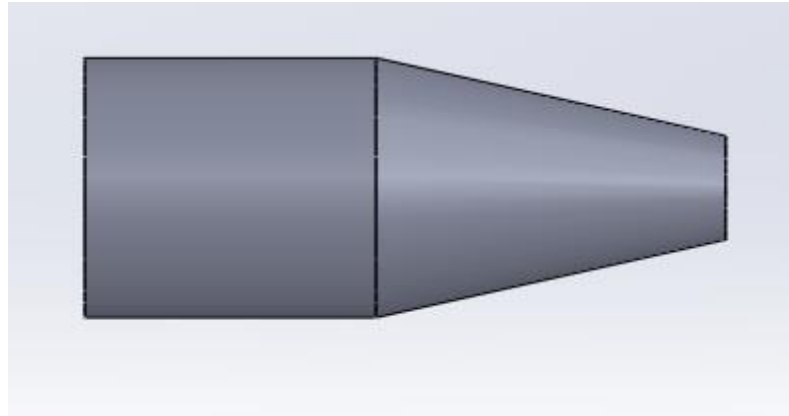
Prototyypin kehittäminen aloitettiin mallintamalla jo olemassa oleva LuciPac Pen SolidWorks 3D-mallinnusohjelmalla. Työssä oli huomattavasti helpompaa edetä, kun valmiista tuoteaihiosta oli 3D-malli, josta sai haettua oleellisia mittoja sekä toiminnan kannalta tärkeimpiä muotoja.

Mallinnusvaiheessa vaihtoehtoja oli monia, mutta monet niistä olivat käyttökelvottomia, koska niiden kanssa ei olisi onnistunut kahden mittauksen tekeminen näytteenottolaitetta avaamatta näytteen oton jälkeen. Vaihtoehdot karsiutuivat myös siitä syystä, että niiden käyttäminen olisi saattanut olla hankalaa ja näin ollen lisätä virheiden mahdollisuutta. Virheiden minimoimiseksi pyrittiin luomaan sellainen rakenne, jota ei tarvitsisi enää avata sen jälkeen, kun näyte on otettu. Jos näytteenottolaitteen toiminta vaatisi mittausvaiheessa reagenssikammioiden vaihtoa päittäin tai muita toimenpiteitä, saattaisi tuloksen luotettavuus heikentyä.

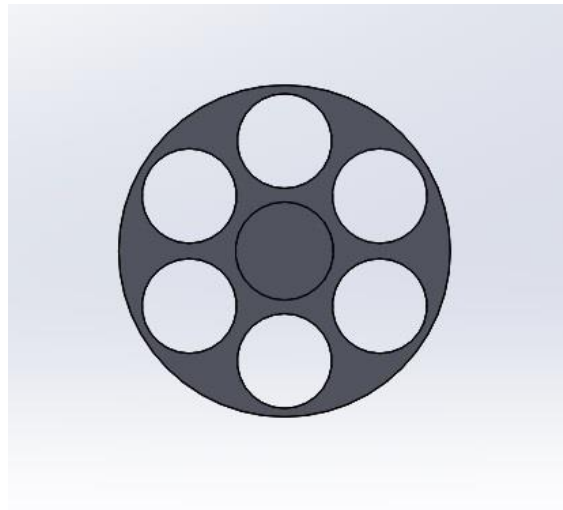
7.1 Prototyypin mallinnus

Mallintaminen oli prototyypin valmistuksen kannalta oleellista, koska 3D-tulostaminen ei onnistuisi ilman olemassa olevia 3D-malleja. Prototyypissä päätettiin käyttää LuciPac Penin omia osia mahdollisimman paljon, jotta fyysiset mitat eivät muuttuisi merkittävästi.

Kokonaan uusi mittaustapa vaati muutamia uusia osia, jotta se olisi mahdollista. Kahden toisistaan riippumattoman mittauksen mahdollistamiseksi näytteenottolaitteeseen tuli luoda mekanismi, joka päästäisi nestettä kulkemaan vain yhteen suuntaan. Tämä ominaisuus onnistui käyttämällä kartiota, joka päästäisi reagenssin-elvytys liuoksen kontrolli päästä testinäyte päätyyn, mutta ei takaisin (Kuva 4.). Kartion toimintaperiaatteena on, että se päästää isomman reiän puolelta nesteen lävitseen, mutta toiseen suuntaan valuessaan se keräytyy kartion ja rungon väliin. Ominaisuus on oleellista sen kannalta, että testinäyte ei kontaminoi kontrollinäytettä.



Kuva 4. Kartio.



Kuva 5. Reikälevy.

Näytteenottopuikkojen kiinnitykseen käytetään reikälevyjä (Kuva 5). Reikälevyjien keski-reikä on umpinainen, jotta siihen sijoitettava näytteenottopuikko ei mene siitä läpi. Näytteenottopuikon asetuspisteen lisäksi reikälevyssä on viisi muuta reikää, jotka päästävät reagenssin ja elvytysliuosseoksen virtamaan siitä läpi. Reikälevyn pääasiallinen tarkoitus on pitää näytteenottopuikot paikoillaan kuljetuksen, näytteenoton ja mittauksen yhteydessä. Reikälevyn ansiosta näytteenottolaitteeseen saadaan helposti sijoitettua kaksi toisistaan kaukana olevaa mittapuikkoa. Levyjen ansiosta näytteenottopuikkojen kiinnittäminen onnistuu ilman monimutkaisia sisäpuoleisia muotoja.

7.2 Prototyypin osien 3D-tulostaminen KTK:lla

Mallinnetut osat tulostettiin koneteknologiakeskuksessa sijaitsevalla Leapfrog-3D tulostimella. Tulostimessa on mahdollista käyttää monia eri materiaaleja muun muassa metallia, keraamia ja lasia. Tässä työssä käytettiin muovia. 3D-tulostaminen on yleisesti käytetty sovellutus tuotteen alkuvaiheessa, jolloin kokeillaan erilaisia prototyyppejä. 3D-tulostaminen on hyvin taloudellinen ja verrattain helppo tapa luoda yksittäisiä prototyypeissä käytettäviä osia.

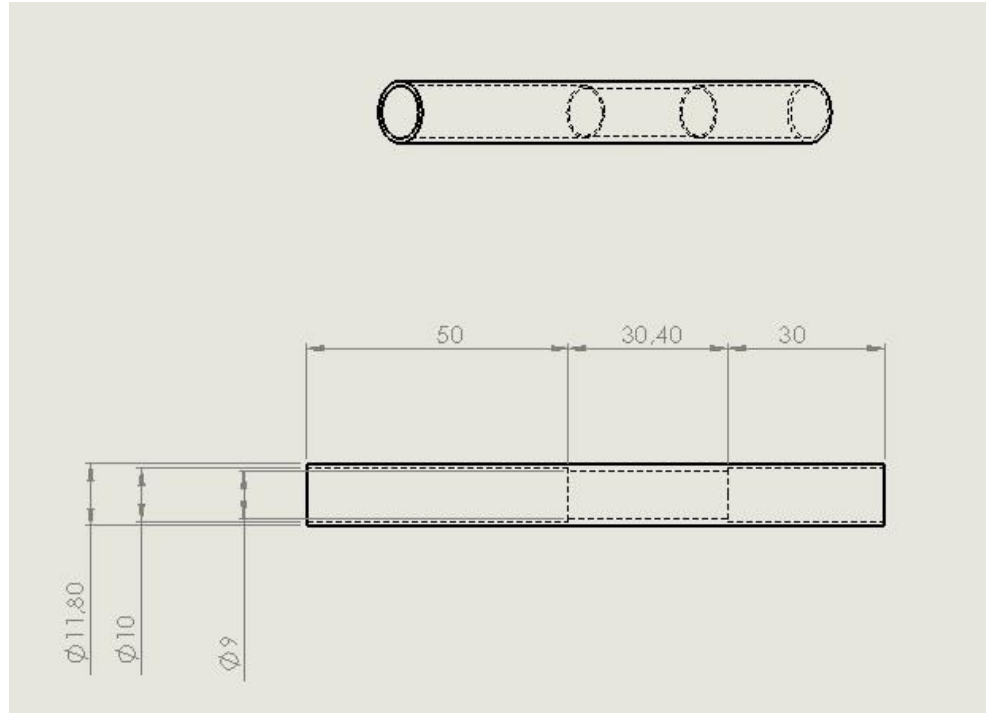


Kuva 6. Leapfrog 3D -tulostin KTK:lla.

Tulostimen toiminta perustuu suuttimien sulattaman muovin kasaamiseen tietokoneelta tulevan radan mukaisesti. Yleensä 3D-tulostimen suutinyksikkö ei liiku korkeussuunnassa, vaan taso, johon muovia sulatetaan, liikkuu. Suutinyksikkö liikkuu vain horisontaalisesti. 3D-tulostimella on mahdollista luoda hyvin pieniä kappaleita hyvällä mittatarkkuudella.

7.3 Okartek

Yritysvierailu kaarinalaisella muovituotteita valmistavalla Okartekilla antoi ohjeet, joiden avulla tuote olisi mahdollisimman lähellä tuotetta, jonka kasaaminen olisi tuotannollisesti järkevä ratkaisu.



Kuva 7. Mittalaitteen sisäpuoleiset olakkeet.

Osien asentaminen oikeaan asetussyvyyteen olisi hankalaa, jos putki olisi sisäpuolelta täysin sileä. Runkoputkeen tuli tehdä lovitukset, joiden ansiosta robottilla on vasteet, joista se tietää, että reikälevyt ovat oikeassa asetussyvydessä.

8 PROTOTYYPPI

Prototyypin loppuliseen muotoon päädyttiin, koska se on yksinkertainen tapa mahdollistaa nesteen liikkuminen vain yhteen suuntaan. Mitat olivat lukittuja, joten monimutkaisia rakenteita tai liikkuvia osia ei voinut putken sisälle sijoittaa. Mittojen pitäminen vaadituissa toi haasteita sisäisille rakenteille. Rakenteiden muuttuminen pienemmäksi vaikeuttaa nesteen kulkemista mittalaitteen sisällä.



Kuva 8. Räjätyskuva näytteenottolaitteesta.

Prototyyppi rakentuu seitsemästä osasta, joista kaksi ovat keskenään identtisiä. Kummassakin päässä näytteenottolaitetta ovat reagenssikammiot, joiden avulla mittaus voidaan suorittaa kontrollipäästä ja näytepäästä. Identtisiä ovat myös reikälevyt, jotka pitävät paikallaan näytteenottopuikkoja. Näytteenottopuikon ympärillä olevassa levyssä on reikiä, jotta se päästää nesteen kulkemaan lävitseen toiseen päättyyn. Reikälevyjen välissä on kartio, jonka tarkoituksena on estää nesteen pääsy takaisin kontrollipäähän, kun se on ollut kosketuksissa näytepään kanssa. Ominaisuus on näytteenoton kannalta kriittinen, koska neste ei saa päästä takaisin kontrollipäättyyn, jonka tulee pysyä puhtaana.



Kuva 9. Kasattu näytteenottolaite.

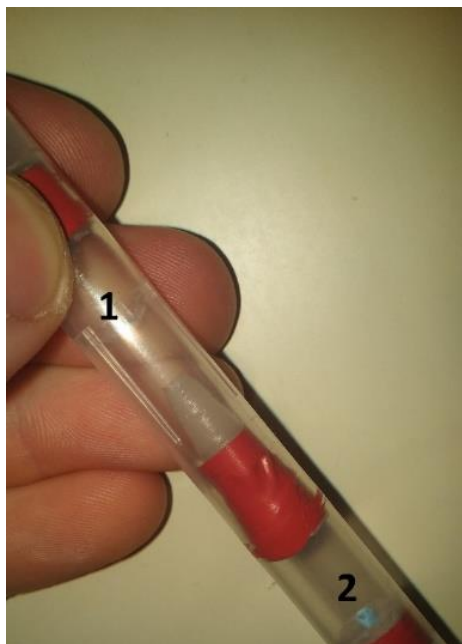
Näytteenottolaitteen mitat ovat samat kuin LuciPac Penissä, joten sitä on mahdollista käyttää mittauksissa PD-30 -mittalaitteen kanssa.

8.1 Kasaaminen

Näytteenottolaitteen kasaaminen aloitetaan liu'uttamalla kartio keskelle mittavälinettä. Kartion asettamisen jälkeen asennetaan paikalleen reikälevyt, jotka painetaan olakkeita vasten, jotta ne ovat oikeassa asetussyvydessä. Reikälevyjen keskireikiin asetettavat näytteenottopuikot tulee asettaa paikalleen ennen niiden asettamista mittalaitteen sisälle. Mittalaitteen päätyihin kiinnitetään reagenssikapselit. Kontrollipään reagenssikapseli on periaatteessa vain kuljetusta varten, koska mittausta tehtäessä sen tilalle tulee asettaa kylmäsäilytyksestä otettava kapseli, jossa on *Aliivibrio fischeri* -bakteerijauhe. Kapselin vaihdoksella mahdollistetaan enemmän tilaa vievän välineen kuljetus missä lämpötilassa tahansa. Näytteenottopuikko puhkaisee reagenssikapselin ja elvytysliuoksen kalvon, jonka jälkeen reagenssi on vapaana näytteenottolaitteessa. Jauhe ei tule olla vapaana, jotta se ei leviäisi hallitsemattomasti. Reagenssin elvytysliuos voidaan lisätä erikseen kapseliin esimerkiksi tippapullolla tai pipetillä.

8.2 Käyttöohjeet

Ennen näytteenottoa tulee varmistua siitä, että näyte kerätään näytteenottopuikolla eikä kontrollipuikolla. Näyte tulee ottaa puikolla, joka on kartion terävemmän kärjen puolella, jotta laite toimii niin kuin on suunniteltu. Kuvassa 10. numero yksi on näytteenottopuoli ja numero kaksi on kontrollipuoli. Kaupallisessa tuotteessa tulee olla värikoodi näytteenottopuolelle, jotta sekaannuksen mahdollisuus minimoituu. Värikoodaus voitaisiin toteuttaa vaikkapa eri värisellä näytteenottopuikolla.



Kuva 10. Lähikuva kartiosta.

Jotta näytteenottolaitteen toiminnasta saisi mahdollisimman havainnollistavan kuvan, käytettiin varsinaisen reagenssin ja elvytysliuoksen sijasta värjättyä nestettä.



Kuva 11. Näytteen kerääminen.

Näytteenotto aloitetaan poistamalla näytteenottopuikon reagenssikapseli ja pyyhkimällä mitattavaa aluetta noin 10 cm x10 cm alueelta. Alueen pyyhkiminen tulee tehdä kahteen

suuntaan, jotta saadaan mahdollisimman paljon näytettä kerättyä. Mahdollisuuksien mukaan näytteenottopuikkoa tulisi myös pyörittää kädessä akselinsa ympäri, jotta näytettä kerääntyisi tasaisesti koko näytteenottopuikolle.



Kuva 12. Reagenssikapselin kiinnittäminen takaisin näytteenottopuikon suojaiksi.



Kuva 13. Kontrollipään reagenssikapseli värjättyllä liuoksella.

Näytteenoton jälkeen kontrollipään reagenssikapseliin laitetaan reagenssi sekä elvytysliuos. Lucipac Penin oman elvytysliuoskapselin käyttö näytteenottolaitteessa on hankalaa, joten suositeltavaa on lisätä tarvittava neste reagenssikapseliin tippapullolla tai pipetillä.



Kuva 14. Näytteenottolaite mittausvalmiina.

Kuvassa 14. näytteenottolaitteella on otettu näyte sen testinäytepuikolla ja kontrollipään on laitettu tarvittava reagenssi ja elvytysliuos.



Kuva 15. Reagenssi-elvytysliuosseos valumassa kohti testinäytteen päätä kartion läpi.

Kun elvytysliuos ja reagenssi ovat kontrollipään reagenssikapselissa, laite kiepautetaan kädessä ympäri ja seos valutetaan kartion läpi kohti testinäytteen päätä.



Kuva 16. Reagenssi-elvytysliuosseos testinäytteen päässä.

Kun reagenssi-elvytysliuosseos on valunut testinäytteen pätyyn, voidaan aloittaa varsinaiset toksisuusmittaukset. Mittaus suoritetaan ennalta määritetyn kontaktiajan jälkeen, jolloin mahdollinen toksiini reagoi ja rajoittaa *aliviibrio fischerin* valontuotantoa. Testinäytteen valontuotantoa verrataan kontrollinäytteen valontuotantoon. Valontuotannon väheneminen tulkitaan siten, että näyte on reagenssibakteerille toksista.



Kuva 17. Kartion toimintaperiaate (ylinmääräisellä nesteellä).

Kuvassa 17. kartion toiminta periaate on havainnollistettu huomattavasti suuremmalla määrällä nestettä kuin mitä käytettäisiin varsinaisessa mittauksessa. Kartion tulee toimia siten, että kun neste olisi valumassa testinäytteeltä kontrollinäytteelle, se kerääntyykin kartion ja rungon väliseen tilaan ja ei näin pääse kontaminoimaan kontrollinäytettä. Kontrollinäytteen tulee pysyä puhtaana, jotta saadaan puhtaalle reagenssille valotuotanto arvo, jota voidaan verrata testinäytteestä saatavaan valoarvoon.

9 YHTEENVETO

Opinnäytetyön tavoitteena oli luoda näytteenottolaite, jonka avulla olisi mahdollista tehdä kaksi toisistaan riippumatonta mittausta. Toisistaan riippumattomat mittaukset ovat toksisuustestille tärkeitä ominaisuuksia, koska testinäytettä verrataan kontrolliarvoon. Työn sisällön hahmottaminen oli aluksi hankalaa, koska aihe oli täysin vieras. Ennen opinnäytetyön aloittamista en ollut koskaan nähnyt LuciPac Peniä tai vastaavaa laitteistoa. Opinnäytetyön aikana tutustuin myös 3D-tulostamiseen, mitä en myöskään ollut tehnyt aikaisemmin.

Nykyinen mittauskäytäntö laboratorioissa on aikaa vaativaa ja samalla myös haastavaa, koska siinä tarvitaan niin paljon laitteistoa. Menetelmän kehittäminen kenttäolosuhteisiin single-shot tyyppisesti tuo toksisuusmittauksen myös yksittäisiä mittauksia tekevän ulottuville. Mittaustavan kehittäminen kenttäolosuhteisiin sopivaksi myös nopeuttaa tulosten saamista. Mittaus voidaan suorittaa heti näytteenoton jälkeen, jolloin tuloksiin voidaan reagoida nopeasti.

Näytteenottolaitteen suunnittelu aloitettiin väärässä järjestyksessä. Huomattavasti helpompaa olisi ollut suunnitella näytteenottolaite niin isoksi kuin vaadittavat toimenpiteet vaativat ja suunnitella jo valmiina olevalle näytteenottolaitteelle siihen sopiva mittalaite. Näin ollen ei tulisi ongelmia siinä, etteivät osat mahdu toisiinsa sisälle tai ettei osista tule niin pieniä, että nesteen vapaa liikkuminen rajoittuu valtavasti. Näytteenottolaitteen kehittäminen lukittuihin mittoihin toi haastavuutta työn suorittamiseksi.

LÄHTEET

Aboatox. Viitattu 27.04.2016 http://www.aboatox.com/?page_id=297

Biochemifa kikkoman. Viitattu 4.4.2016 <http://biochemifa.kikkoman.co.jp/products/torisetu/toripen.pdf>

Holt JG (editor) (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9th ed.). Williams & Wilkins

ISO-11348-3 Water quality. Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test). Part 3: Method using freeze-dried bacteria, Helsinki: Suomen standardoimisliitto. 2007

ISO-21338 Veden laatu. Kineettinen määrittäminen sedimentin, muiden kiinteiden aineiden ja värillisten näytteiden estovaikutuksesta *Vibrio fischeri* valontuotantoon (kineettinen valobakteeritesti), Helsinki: Suomen standardoimisliitto. 2010

Lagotec. Viitattu 3.5.2016 http://www.lagotec.de/en_atp.html

Madigan M, Martinko J (editors) (2005). *Brock Biology of Microorganisms* (11th ed.). Prentice Hall

Netfood. Viitattu 10.4.2016 <http://www.netfood.fi/atp-mittaus-eli-luminometria>

Tales. Viitattu 12.4.2016 http://www.ales.com.tr/images/resim/924375978Lumitester-PD20_EN.pdf

(Lappalainen J.) 2016. TESTING TOXICITY OF A TEST SAMPLE. Aboatox Oy, Masku, Suomi FI20140005810 20140916, 24.03.2016