



УКРАЇНА

(19) UA (11) 75746 (13) C2  
(51) МПК (2006)  
G01N 21/76МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

## (54) АПАРАТ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ

1

(21) 20040504068

(22) 27.05.2004

(24) 15.05.2006

(46) 15.05.2006, Бюл. № 5, 2006 р.

(72) Сніжко Дмитро Вікторович, Рожицький Микола  
Миколайович, Кукоба Анатолій Васильович(73) ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИ-  
ТЕТ РАДІОЕЛЕКТРОНІКИ

(56) BG 105117, 31.07.2002

US 5112646, 12.05.1992

EP 0753735, 15.01.1997

GB 2350421, 29.11.2000

RU 2059246, 27.04.1996

UA 52464, 16.12.2002

SU 457892, 11.03.1975

2

US 5082628, 21.01.1992

(57) Апарат для дослідження хемілюмінесценції, який містить хемілюмінесцентний реактор, у якому як фотодетектор використаний фотоелектронний помножувач, з'єднаний з високовольтним блоком живлення з резистивним подільником напруги, який відрізняється тим, що фотоелектронний помножувач розміщений у металевому модулі з оптично прозорим вікном під хемілюмінесцентним реактором сумісно з частиною резистивного подільника напруги високовольтного блока живлення, що розташована безпосередньо на виводах фотоелектронного помножувача навісним монтажем та герметизована.

Винахід відноситься до лабораторно-аналітичної техніки і призначений для проведення хемілюмінесцентних досліджень біорідин.

Відомий люменометр для хемілюмінесцентних (ХЛ) досліджень рідин [патент BG №105117 Photometer, 2002 МКИ G01J 1/42, G01N 21/63, G01N 21/33, G01J 1/58]. Люменометр дозволяє проводити хемілюмінесцентні дослідження різноманітних речовин у рідких пробах. Насамперед, люменометр орієнтовано на дослідження кількості АТФ (аденозінтрифосфорної кислоти) у пробах крові людини.

Проте в даному люменометрі як фотодетектор використовують фотодіод.

Недоліком цього є низька чутливість перетворення оптичного хемілюмінесцентного сигналу від досліджуваних рідин у електричний сигнал. Це не дозволяє досягти високих метрологічних показників люменометра, таких, як низька межа визначення речовин, висока чутливість апарата.

Для досягнення більш якісних метрологічних показників хемілюмінесцентних досліджень, як наприклад, підвищення чутливості та зниження межі визначення речовин, у відомому люменометрі використовують як детектор фотоелектронний помножувач (ФЕП), [патент US №5112646 Apparatus for bioluminescence measurement, 1992, МКИ G01N 21/76]. Вказаний апа-

рат для біоломінесцентних вимірів дозволяє проводити аналіз речовин у широкому діапазоні концентрацій.

Однак недоліком цього люменометра є наявність фотодетектора (ФЕП), чутливого до зовнішніх, таких, як електромагнітні випромінювання, температурні коливання середовища. Це викликає потребу зменшення вказаних перешкод для досягнення високих метрологічних показників аналітичного дослідження речовин за допомогою даного люменометра.

Найбільш близька по сукупності ознак до винаходу, що пропонують, є апарат [патент EP №0753735 Specimen testing apparatus, 1997, МКИ G01N 21/76]. В даному люменометрі як фотодетектор використовують ФЕП, що розташований з боку кюветного модуля. Живлення ФЕП здійснюють за допомогою високовольтного джерела, що підключено до зовнішнього резистивного подільника.

Недоліком цієї конструкції є розташування ФЕП у горизонтальному положенні, що не дає змоги ефективно проводити збір світлового потоку, а також проводити аналіз з різними типами хемілюмінесцентних реакторів, наприклад чашами Петрі. Наявність зовнішніх електромагнітних перешкод, що наводяться іншими електронними вузлами люменометра, призводять до зменшення

(19) UA (11) 75746 (13) C2

відношення сигнал/шум та зниженню метрологічних показників апарата.

В основу винаходу поставлено задачу підвищення метрологічних показників апарата для проведення хемілюмінесцентних досліджень шляхом удосконалення розташування ФЕП відносно хемілюмінесцентного реактора та розміщення частини подільника напруги високовольтного живлення безпосередньо на ФЕП, розташованому у корпусі-екрані. Завдяки цьому досягається підвищення чутливості та зниження межі визначення речовин апаратом, у наслідок чого виникає змога зменшити об'єм проб для аналізу та визначати менші концентрації речовин.

Для досягнення поставленої задачі в апараті для дослідження хемілюмінесценції ФЕП розміщують у металевому модулі у торці хемілюмінесцентного реактора, сумісно з частиною резистивного подільника, що розташовують безпосередньо на виводах ФЕП навісним монтажем та герметизують.

Аналітичний оптичний сигнал при цьому реєструють з дна хемілюмінесцентного реактора - циліндричної кювети, яку розташовують у світлозахищеній комірці апарату.

На фіг. 1 наведено структурну схему апарата для дослідження хемілюмінесценції.

На фіг. 2 зображене креслення модуля ФЕП 8 апарата для дослідження хемілюмінесценції.

Запропонований апарат для дослідження хемілюмінесценції містить: хемілюмінесцентний реактор 1, механічну мішалку 2, нагрівач 3, які розміщені в світлозахищеному модулі 4 (хемілюмінесцентний модуль); у сукупності з електричним термометром 5 нагрівач 3 утворюють термостат 6; дозатор 7, за допомогою якого подають реактиви в ХЛ-реактор, щоб ініціювати люмінесценцію; модуль ФЕП 8; високовольтний блок живлення 9; інтегруючий перетворювач фотострум-напруга 10; аналогово-цифровий перетворювач 11; блок живлення апарата 12; пристрій керування 13; схеми супряження апарат-ЕОМ 14; детектора засвідки ФЕП 15; пристрою зберігання, обробки та відображення інформації - ЕОМ 16.

Включення до апарата таких додаткових вузлів, як нагрівач, термостат, дозатор обумовлено специфікою метода хемілюмінесценції, та направлено на зниження впливу факторів, що впливають на точність аналізу та відтворюваність аналізів (вимірів).

Для надійності роботи оптичного каналу детектування в апарат додатково включено детектор засвідки стороннім світлом, що запобігає виходу з ладу ФЕП. При реєстрації такого світлового потоку фотодетектор відключає живлення ФЕП.

Резистивний подільник напруги складається з двох частин - слабострумової та сильнострумової. Слабострумову частину резистивного подільника 17 розташовують безпосередньо на виводах ФЕП 18 - перші каскади помноження, що зменшує перешкоди та шуми у аналітичному сигналі ФЕП, а розташування сильнострумової частини подільника ззовні викликає підігрів ФЕП теплоізоляцією, що розсіюють на резисторах подільника, та веде до зростання теплових шумів.

Герметизація ФЕП 18 та слабострумової час-

тини резистивного подільника 17 у металевому корпусі 19, дозволяє екранувати ФЕП 18 від зовнішніх перешкод і істотно знизити шуми. У якості герметика використовують кремній - органічний компаунд "ВИКСИН"20, що зменшує втрати аналітичного оптичного сигналу за рахунок супряження коефіцієнтів заломлення (рефракції) середовищ вхідного вікна ФЕП та оптичного скла 21, що вбудовано у вікно корпусу ФЕП. Низька діелектрична проникність компаунда забезпечує малу паразитну ємність. Ізоляція ФЕП 18 від металевого екрану 19 здійснюють компаундом та фторопластовим циліндром 22, до якого приклеюють оптичне скло, що виступає у якості механічного та електричного ізолятора. Розташування модуля ФЕП безпосередньо у контакті з хемілюмінесцентним реактором 1 - кюветою, та забезпечення оптичного контакту між ФЕП 18 і оптичним склом 21 вікна модуля ФЕП 8 зменшує втрати світла - аналітичного сигналу. Це підвищує чутливість апарата.

Герметизація допомагає запобігти наслідкам механічного контакту та таким артефактам експериментального дослідження, як пролив реактиву на ФЕП, попадання пилу у резистивний подільник ФЕП та інше.

Слабострумова частина резистивного подільника 17 з'єднана з високовольтним блоком живлення коаксіальним кабелем 23, а фотострум з ФЕП 18 подають до інтегруючого перетворювача струм-напруга 10 по коаксіальному кабелю 24 для електростатичного екранування від зовнішніх перешкод.

Розташування ФЕП 18 під хемілюмінесцентним модулем 4 забезпечує вільну зміну геометрії хемілюмінесцентного модуля 4, дозволяючи його модифікацію для використання хемілюмінесцентних реакторів 1 - кювет - різного габариту й адаптацію до проточно-інжекційного аналізу.

Сукупність цих технічних рішень дозволило підвищити чутливість апарата та підвищити точність вимірювань, зменшивши рівень шумів, які лімітують межу визначення речовин. Тобто зменшення шумів призвело до можливості точніше визначати аналітичний сигнал, що безпосередньо пов'язаний з кількістю речовини, що досліджують.

Пристрій працює наступним чином.

Апарат керується ЕОМ 16, яка забезпечує також відображення інформації, її обробку та зберігання. Оператор заносить у ЕОМ 16 вхідні дані, щодо проведення аналізу. Через схему супряження апарат-ЕОМ 14 проводиться налаштування пристрою, тобто: задається коефіцієнт перетворення для інтегруючого перетворювача фотострум-напруга 10, напруга живлення ФЕП 18. А також проводиться керування аналогово-цифровим перетворювачем 11, включення термостата 6, та/або механічної мішалки 2. Цифрові дані з аналогово-цифрового перетворювача 11 через схему супряження апарат-ЕОМ 14 передаються до ЕОМ 16, де проводиться їх подальша обробка. Аналіз біорідини за допомогою апарата для дослідження хемілюмінесценції складається з трьох етапів: по-перше, реєстрування темпового фотоструму, по-друге, аналіз власної

люмінесценції, та, по-третє, аналіз хемілюмінесценції проби.

На першому етапі аналізу проводять наступні дії.

Апарат для дослідження хемілюмінесценції включений до мережі живлення, прогрівають до виходу у статичний режим роботи, що обумовлено використанням електровакуумної техніки - ФЕП 18, та інерційністю термостатування хемілюмінесцентного модуля 4. Після чого проводять реєстрування темпового фотоструму, обумовленого шумами апарату.

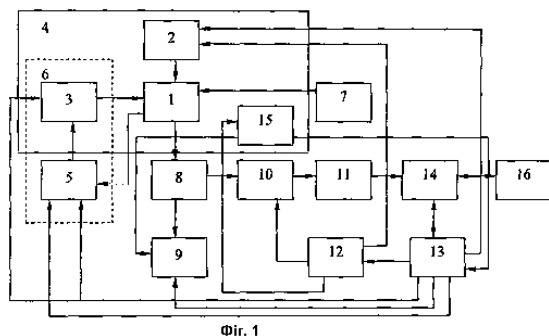
На другому етапі проводять наступні дії.

У хемілюмінесцентний модуль 4 розташовують хемілюмінесцентний реактор з пробой, що досліджується, для чого на деякий час виключається високовольтне живлення ФЕП 18 за допомогою програми керування. Після чого за допомогою ЕОМ 16 оператор запускає програму керування аналізом апаратом для дослідження хемілюмінесценції. ЕОМ 16 через схему супряження апарат-ЕОМ 14 опитує апарат щодо можливості подальшого проведення аналізу, тобто опитується детектор засвітки ФЕП 15, що реєструє факт закриття хемілюмінесцентного модуля. Після цього ЕОМ 16 проводить налаштування апарату для дослідження хемілюмінесценції відповідно введеним на першому етапі даним, подається висока напруга живлення ФЕП. Світовий потік з хемілюмінесцентного реактору 1 реєструється ФЕП 18, далі сигнал через інтегруючий перетворювач струм-напруга 10 подається на аналогово-цифровий перетворювач 11. ЕОМ 16 за допомо-

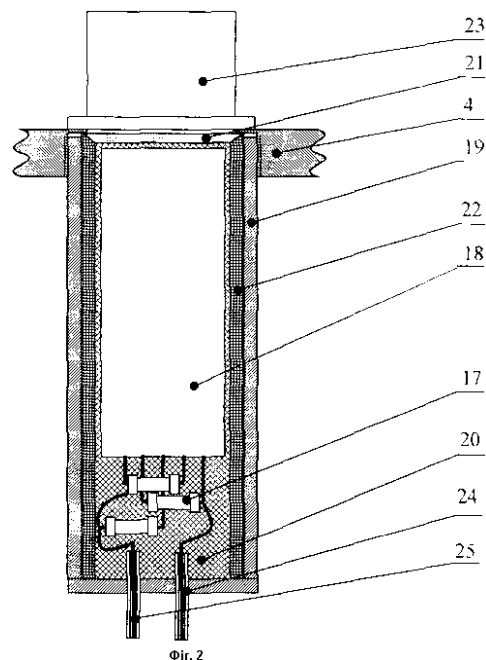
гою схеми супряження апарат-ЕОМ 14 починає періодично опитувати аналогово-цифровий перетворювач 11, отримуючи, таким чином, величину аналітичного сигналу у цифровому коді. Після чого інформація оброблюється у програмі керування апарату для дослідження хемілюмінесценції та відображається оператору.

На третьому етапі оператор, за допомогою дозатора 7 подає речовину, що ініціює хемілюмінесцентну реакцію, до хемілюмінесцентного реактора 1. ЕОМ 16 продовжує опитувати апарат для дослідження хемілюмінесценції, тобто продовжується реєстрація аналітичного сигналу. Після витрачення реагентів у реакції, що відповідає зниженню рівня світового потоку - аналітичного сигналу, аналіз завершується.

Запропоноване технічне рішення пояснюють наступним прикладом. У експериментальному апараті з запропонованим технічним рішенням, що реалізовано на базі лабораторії "Аналітичної оптихемотроніки" Харківського національного університету радіоелектроніки, вдалося знизити шуми ФЕП "ФЭУ-140" до 0,02нА при напрузі живлення 1900В, що відповідає чутливості ФЕП 1000А/лм, та досягти межі визначення аналітичного сигналу у  $2 \cdot 10^{-5}$  лм. Так, для хемілюмінесцентної реакції перекисного окислення люмінолу межа визначення кількості речовини склала 10фмоль. Це відповідає концентрації 5нМ (нмоль/л) при об'ємі проби в 2мл.



Фіг. 1



Фіг. 2