

# МОДЕРНИЗАЦИЯ И КОМПЬЮТЕРИЗАЦИЯ СПЕКТРОФЛУОРИМЕТРА FLUOROLOG

Ф.А.Ермалицкий, А.Е.Радько, К.Н.Каплевский, К.А.Шевченко

НИИ ПФП им. А.Н.Севченко БГУ, г.Минск

Использование методов кинетической спектроскопии в оптико-физических, биологических и других исследованиях позволяет обеспечить существенно более обширную информацию об изучаемых системах по сравнению с чисто спектральными измерениями. Особенно актуально применение методов кинетической спектроскопии при изучении сложных молекулярных систем и комплексов с характерными широкими бесструктурными полосами поглощения и испускания. Информационные возможности, основанные на анализе лишь спектров таких систем зачастую ограничены вследствие того, что молекулярным комплексам с существенно разной структурой часто соответствуют очень близкие по форме и положению полосы поглощения и испускания. В этом плане гораздо более существенные различия проявляются во временных зависимостях спектрально-люминесцентных параметров. Для сложных молекул характерные времена релаксации обычно лежат в наносекундном диапазоне. Надо отметить, что несмотря на актуальность исследований с высоким временным разрешением аппаратура подобного рода отечественными производителями если и производится, то только мелкими сериями. В то

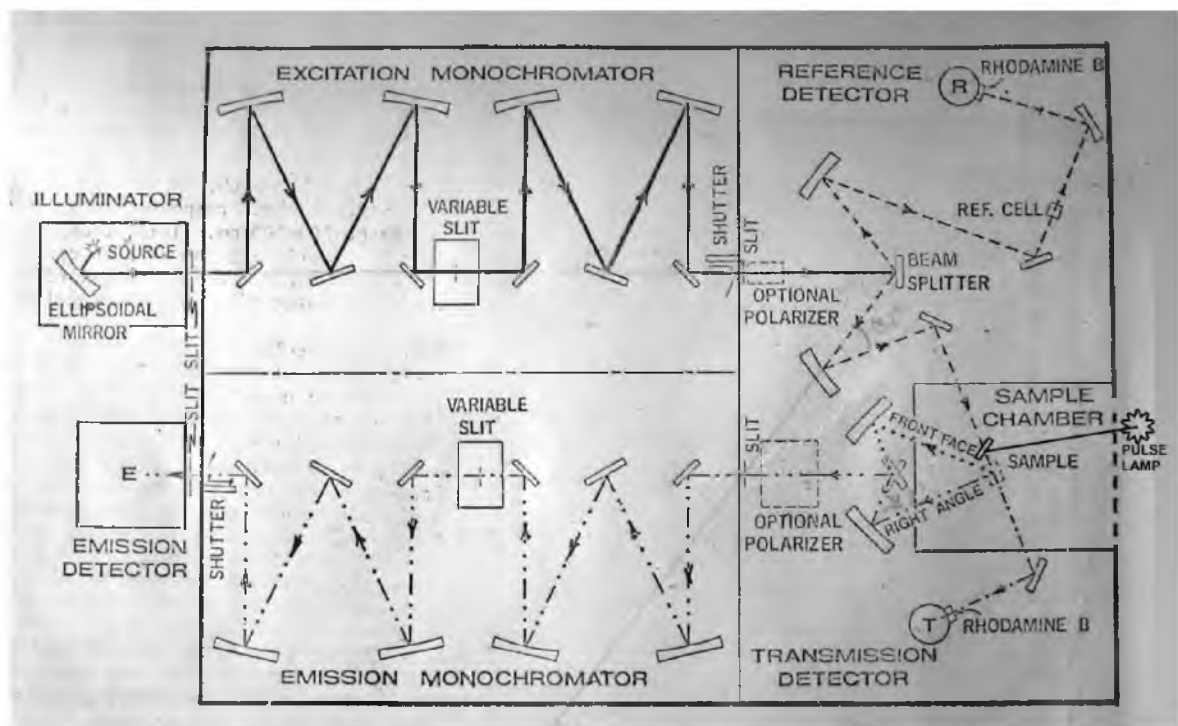


Рис. 1. Оптическая схема Fluorolog

же время путем замены или модернизации системы регистрации существует возможность реализовать возможность таких измерений практически в любом спектрофлуориметре, работающем со стационарными сигналами.

Для упрощения перевода прибора из стационарного режима в импульсный и уменьшения потерь, возбуждающее излучение от импульсной лампы подводится непосредственно к образцу с помощью съемного зеркала. Выделение нужной спектральной области излучения лампы осуществляется с помощью светофильтров. При этом штатные источник света и монохроматор возбуждения не используются.

Система управления и временного анализа полностью аналогична используемой в выпускаемом мелкими сериями спектрофлуориметре Универон. Основное отличие – это наличие в Fluorlog'e силовых элементов управления монохроматорами, что потребовало незначительной корректировки схемы управления. При этом алгоритмы управления остались неизменными, что позволило обойтись без адаптации программного обеспечения со стороны ПЭВМ.

Система управления реализована на основе микроконтроллера семейства MSC-51, обеспечивающего обмен информацией с ПЭВМ через интерфейс RS-232 и управление элементами измерительной системы, и программируемой логической интегральной схемы семейства Altera MAX7000, на базе которой реализованы счетчики импульсов сигналов в каналах возбуждения, пропускания, испускания и опорном, интерфейсы управления монохроматорами и интерфейс с системой временного анализа.

Система временного анализа обеспечивает преобразование временных интервалов между электрическими импульсами, поступающими по каналу возбуждения (от импульсного источника возбуждения) и стоповому (ФЭУ канала испускания) каналам, в двенадцатиразрядные двоичные коды. Электронный блок состоит из трёх основных частей: системы временного анализа (СВА), модуля управления (МУ) и системы питания (СПУ). СВА, в свою очередь, состоит из отдельных модулей, что служит для облегчения обслуживания. В СВА входят модули преобразователя время-амплитуда (ПВА) с встроенным селектором старт-импульсов, стоп-селектор (СС) и модуль аналого-цифрового преобразователя (АЦП). В модуле АЦП также находится интерфейс для связи с модулем управления, через который происходит управление всей системой временного анализа. В состав МУ входят: микроконтроллер, схема управления монохроматорами, интерфейс с СВА и схема интенсиметров. Интенсиметры служат для определения частот следования импульсов с фотоприемников

измерительных каналов: опорного, пропускания и люминисценции от Fluorlog, а также частоты импульсов возбуждения от импульсной лампы. Микроконтроллер служит для дешифрации команд с персонального компьютера (ПК) и управления остальными блоками. Для обработки и накопления экспериментальных данных задействованы ресурсы ПК. На микроконтроллер прибора возложены функции исключительно трансляции команд управления и простейшей подготовки данных.

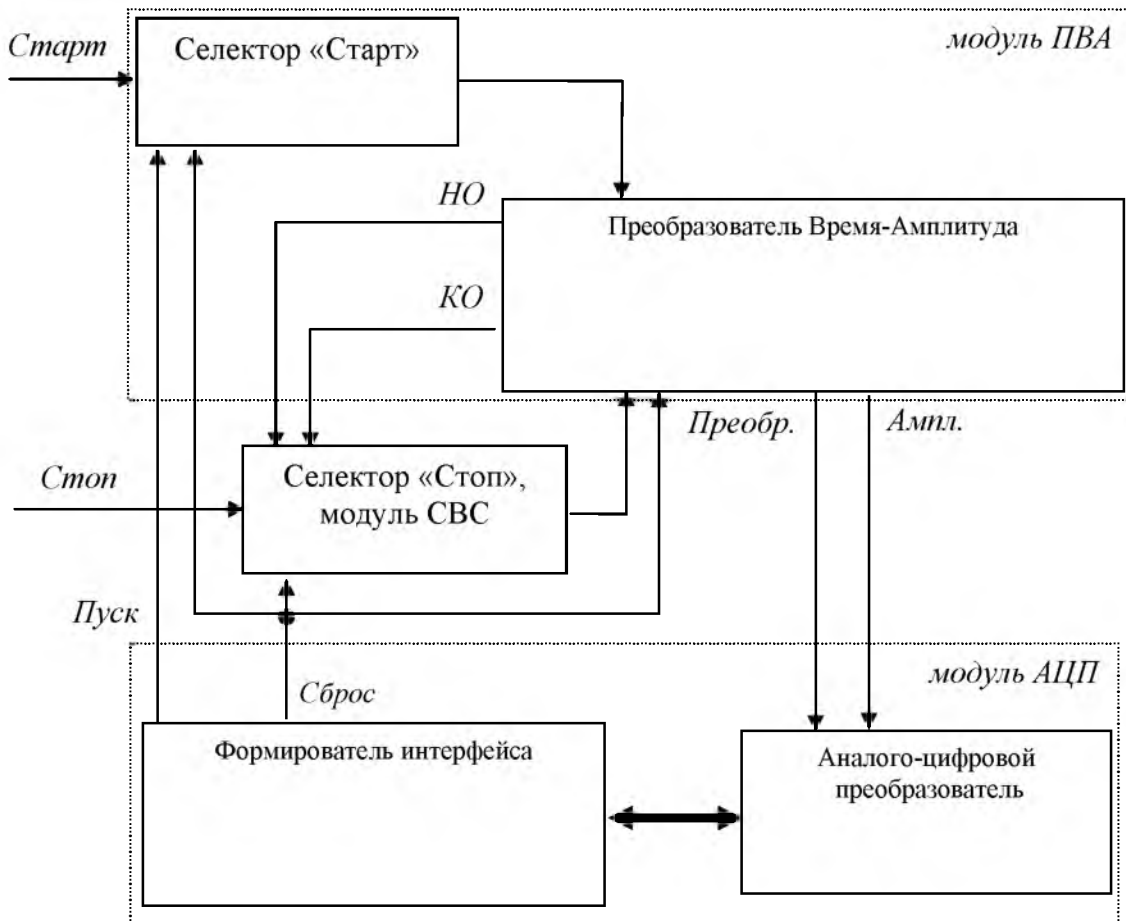


Рис.2. Структурная схема системы временного анализа

В программном обеспечении предусмотрены три основных режима измерения:

1. регистрация кинетики затухания люминесценции;
2. регистрация спектров люминесценции в определенном временном окне (мгновенных спектров);
3. регистрация стационарных спектров флуоресценции в спектральном диапазоне 260-900 нм (для более эффективной работы в данном

режиме применяется штатный источник возбуждения из состава Fluorlog – ксеноновая лампа)

4. регистрация стационарных спектров возбуждения флуоресценции в спектральном диапазоне 200-900 нм.

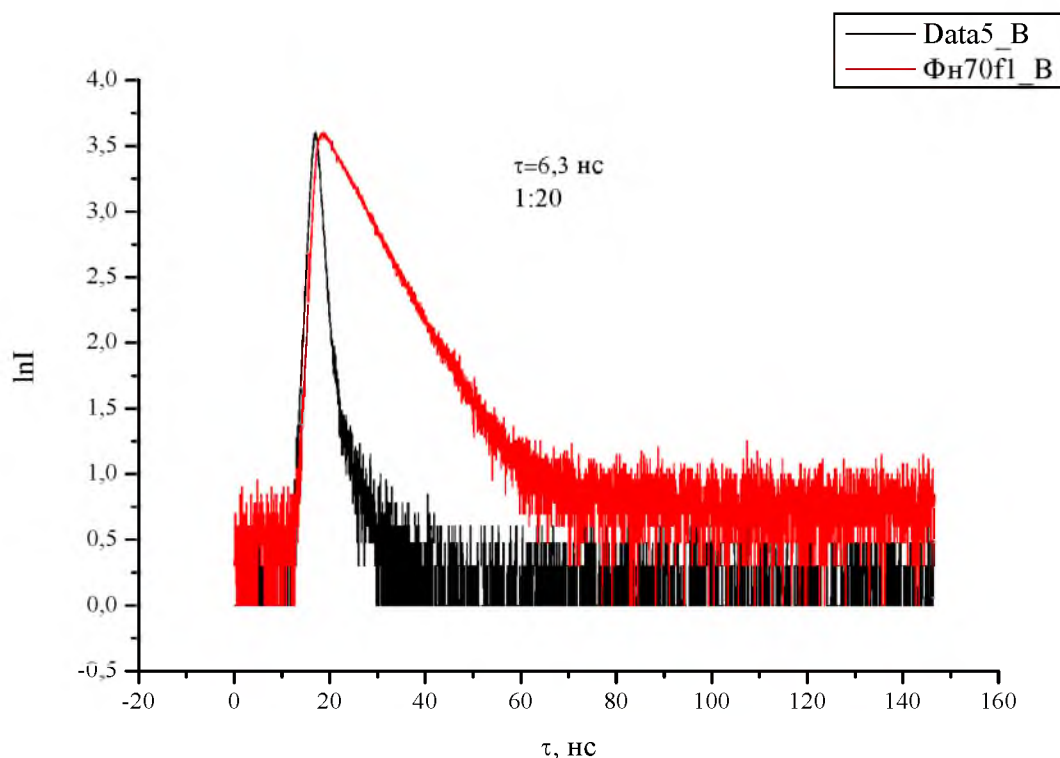


Рис. 3. Зарегистрированные распределения для аппаратной функции и красителя

Полуширина аппаратной функции системы временного анализа составляет десятки пикосекунд, полуширина схемы возбуждения – менее 1нс. Весь остальной вклад в аппаратную функцию вносится каналом регистрации. Так, применяемые в Универоне советские ФЭУ-106 в зависимости от экземпляра подбором параметров позволяют получить результирующую аппаратную функцию с полушириной от 1.3 до 2.0 нс с типовыми значениями 1.4-1.6 нс. Установленный в Fluorlog ФЭУ RCA31034А позволил получить аппаратную функцию полушириной 1.2 нс. Такие параметры позволили анализировать вещества с временем затухания от 0.4 нс с разрешением 0.2 нс.

При использовании импульсного источника возбуждения можно регистрировать кинетику затухания флуоресценции и времяразрешенные спектры. В качестве импульсного источника использована газоразрядная лампа, частота следования импульсов которой регулируется. При необ-

ходимости через разрядный промежуток может прокачиваться воздух или азот. В спектральном распределении излучения лампы выделяются две области: 250 – 450 нм - обусловленная в основном свечением газа, и 450 – 870 нм.

Наиболее интенсивное свечение соответствует линиям азота, наибольшая интенсивность в полосе с максимумом на длине волны 336,9 нм. Во второй области обнаружен ряд спектральных линий с длиной волны 750, 779, 823, 845, 870 нм, малой интенсивности (1-3% от интенсивности линии 336,9 нм). В этой области, а также на фоновой части первой области спектра отмечается спорадическое появление длительного послесвечения

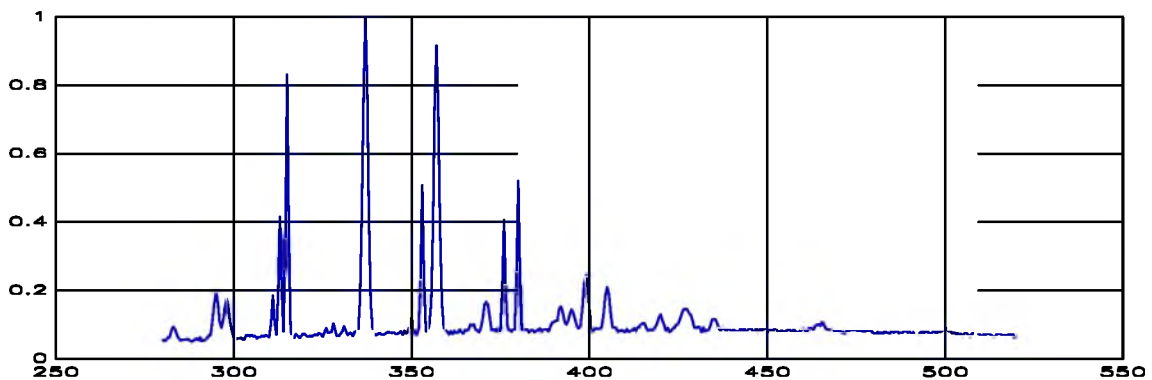


Рис. 4. Нормированный спектр излучения газоразрядной лампы

вечения учащающегося при увеличении времени наработки лампы. Наиболее вероятной причиной возникновения послесвечения является образование на электродах окисной пленки вольфрама. Длительность импульсов возбуждения по полувысоте в диапазоне от 200 до 500 нм составляет менее 1 нс, а в диапазоне 500 до 800 нм ~2нс, число фотонов за вспышку составляет  $\sim 10^{11} - 10^{12}$ .

В режиме обработки выполняется восстановление зарегистрированных функций затухания люминесценции в экспоненциальном базисе с числом компонент разложения до трёх, вычитание шума. Режим настройки и планирования эксперимента служит для выбора требуемого типа измерений, установки режимов регистрации, спектральных параметров, условий завершения измерений и др. В режиме вывода обеспечивается вывод данных измерений и параметров настройки на дисплей управляющей ПЭВМ или печатающее устройство в цифровой, символьной и графической формах. Для оценки временного разрешения комплекса выполнены измерения времен жизни ряда красителей: оксазина-17 (ОН-100), 7-диэтиламино-4-метилкумарина (КН-20) и кумарина-30 (КН-25). В связи с отсутствием эталонных средств поверки временных параметров аппаратуры наносекундного диапазона, выполнены измере-

ния зависимости времен флуоресценции от температуры и при введении концентрации тушителя. В качестве тушителя использован йодистый калий. Для одних и тех же образцов проводились измерения времени жизни и относительного квантового выхода их флуоресценции. Анализ полученных данных показал, что кривые зависимости времени жизни и квантового выхода флуоресценции от температуры или концентрации тушителя являются симбатными. При этом, кинетика затухания флуоресценции красителей для всех образцов является одноэкспоненциальной функцией, что свидетельствует о возможности использования таких зависимостей в целях метрологической аттестации аппаратуры.

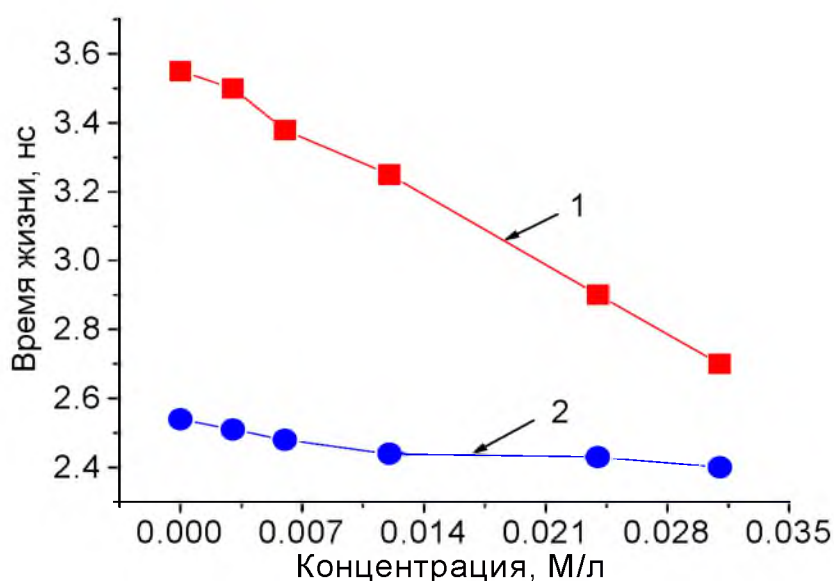


Рис. 5. Зависимость времён жизни от концентрации тушителя для растворов ОН-100 (1) и КН-25 (2) в этаноле

В целом комплекс характеризуется следующими основными параметрами: спектральный диапазон возбуждения 200 – 900 нм, регистрации – 260 – 900 нм, временной диапазон – 0,5 – 120 нс, минимальное разрешаемое время – 0,2 нс. Выполненная работа по модернизации спектрофлуориметра Fluorolog фирмы Spex 1977 года выпуска позволила перевести систему управления измерениями и обработки результатов под управление ПЭВМ, расширить возможности прибора до импульсного спектрофлуориметра