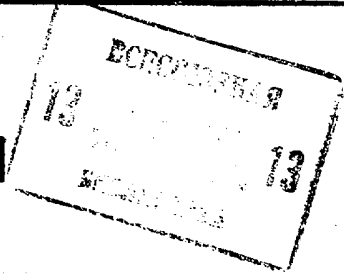




ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



- (21) 3696922/24-25
(22) 03.02.84
(46) 15.09.85. Бюл. № 34
(72) А. Ф. Лобазов, В. А. Мостовников,
С. В. Нечаев, Б. Г. Беленький
и М. Г. Солоненко
(71) Ордена Трудового Красного Знамени
институт физики АН БССР
(53) 535.37 (088.8)
(56) Беленький Б. Г. и др. ДАН СССР,
т. 263, 1982, № 4, с. 56.

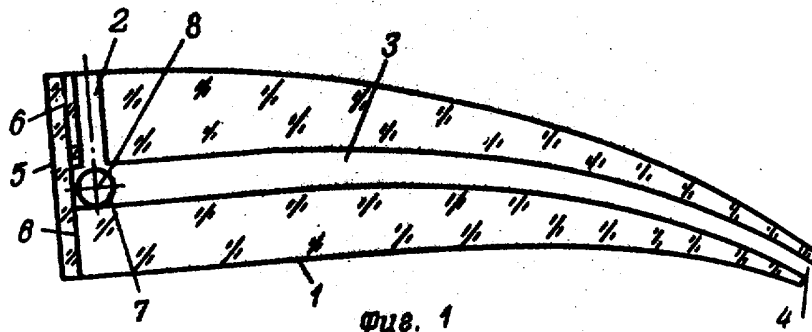
Todoriki H, G. W. Laser fluorometry using
an optical fiberan application to high perfor-
mance liquid chromatography. — J. Chem.
Pharm. Bull., 1980, 28, p. 1337-1339.
(54(57) ПРТОЧНАЯ КЮВЕТА ДЛЯ АНАЛИ-
ЗА МИКРОКОЛИЧЕСТВ ФЛУОРЕСЦИРУЮЩИХ
ЖИДКОСТЕЙ, содержащая канал для протока
исследуемой жидкости с боковым отверстием

для ее ввода, отличающаяся тем, что, с целью повышения чувствительности и разрешающей способности анализа, кювета имеет форму рога Вуда с максимальным радиусом кривизны

$$R_{\text{макс}} < \frac{l^2}{d} + \frac{d}{4}$$

где d — наибольшая толщина кюветы;
 l — ее длина,

один торец рога Вуда закрыт прозрачной для возбуждающего лазерного излучения пластинкой, а другой имеет отверстие для вывода жидкости, в боковой поверхности рога выполнены входное отверстие, диаметр которого равен диаметру канала для протока жидкости, и два окна для регистрации флуоресценции, оси которых пересекают ось входного отверстия для ввода жидкости.



Фиг. 1

Изобретение относится к флуоресцентному анализу и может быть использовано при разработке оптических детекторов, предназначенных для анализа малых количеств флуоресцирующих жидкостей, например, в хроматографии.

Целью изобретения является повышение чувствительности и разрешающей способности регистрации поступающих после хроматографической колонки флуоресцирующих жидкостей.

На фиг. 1 изображена кювета, общий вид; на фиг. 2 — схема, поясняющая вывод соотношения R от l и d ; на фиг. 3 — схема установки для регистрации флуоресценции с данной кюветой.

Кювета имеет форму рога Вуда 1, выполненного из нефлуоресцирующего под действием лазерного возбуждающего луча материала. Рог Вуда представляет собой изогнутый конус, обычно выполняемый из стекла, с отверстием внутри него. Зачерненная поверхность позволяет использовать его в качестве светоловушки. Для ввода исследуемой жидкости служит отверстие 2, для протока — внутренний канал 3, а для вывода — незапаянный конец 4. Торцы кюветы закрыты прозрачной для возбуждающего лазерного излучения пластинкой 5. Области 6 контакта ее с кюветой зачернены, как и вся кювета, за исключением окон 7 для регистрации прозрачной пластинки 5. Лазерный луч фокусируется в точке 8.

Поступающая в кювету после хроматографического разделения жидкость возбуждается лазерным лучом в точке 8 и после прохождения по каналу 3 выводится. Лазерное излучение после прохождения через возбуждаемую жидкость при радиусе кривизны рога Вуда $R \leq R_{\text{макс}}$ отражается от стенок кюветы и поглощается зачерненной поверхностью. Регистрация флуоресценции исследуемой жидкости происходит через окна, расположенные на одной оси, пересекающей ось бокового отверстия для ввода жидкости.

Радиус кривизны кюветы должен быть больше, чем

$$R_{\text{макс}} \leq \frac{l^2}{d} + \frac{d}{4}, \quad (1)$$

где l — длина кюветы;

$R_{\text{макс}}$ — радиус кривизны кюветы;

d — максимальный диаметр кюветы (фиг. 2)

При $R = R_{\text{макс}}$ лазерный луч, падающий перпендикулярно на входное окно в центр входного отверстия во внутренний канал, отражается один раз от поверхности кюветы. Тогда из треугольника АОВ очевидно, что

$$R^2 = l^2 + \left(R - \frac{d}{2}\right)^2 \quad (2)$$

Отсюда получаем искомую формулу.

При размерах кюветы $R_{\text{макс}} = 55$ мм, $l = 20$ мм, $d = 8$ мм вклад второго члена формулы (1) в значение $R_{\text{макс}}$ составляет $\approx 9\%$, однако с уменьшением отношения l/d его вклад растет. При $l = d$, вклад второго члена составляет 20%.

Возбуждающее излучение фокусируется в точке пересечения осей входного отверстия и канала для протока жидкости, благодаря чему достигается высокая разрешающая способность анализа. Для устранения перемешивания исследуемой жидкости (например фракций в хроматографии) диаметр входного отверстия равен диаметру канала для протока жидкости. Регистрация флуоресценции происходит через два окна, что позволяет учесть рэлеевское рассеяние возбуждающего излучения на жидкости одновременно с регистрацией флуоресценции. Оси входного отверстия и окон для регистрации пересекаются. Сток жидкости осуществляется через незапаянный конец рога Вуда.

Например, диаметр входного отверстия 2 и канала для протока жидкости 3 (вблизи точки 8) 0,5 мм; длина кюветы 20 мм; максимальная толщина кюветы 8 мм; возбуждаемый объем, посредством соответствующей фокусировки лазерного луча, изменялся от 0,5 до 125 нл; диаметр окон 6 для флуоресценции 2 мм.

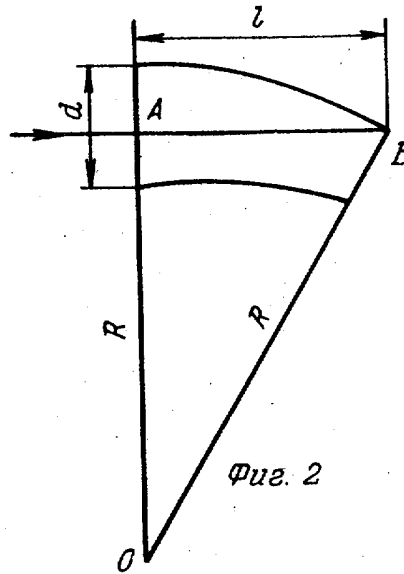
Для выбранных размеров и материала кюветы (кварц марки КВ высокой степени чистоты) максимальный радиус кривизны $R_{\text{макс}} = 51$ мм; $R = 40$ мм. Из этого же кварца выполнялась и торцовая пластинка.

Схема установки, на которой производились измерения, представлена на фиг. 3. Регистрировалась флуоресценция водных и спиртовых растворов флуоресценции. Величина детектируемого объема изменялась расположенными у окон диафрагмами D . Минимальная скорость прокачки, реализованная для этой кюветы, составила 1 мл/ч.

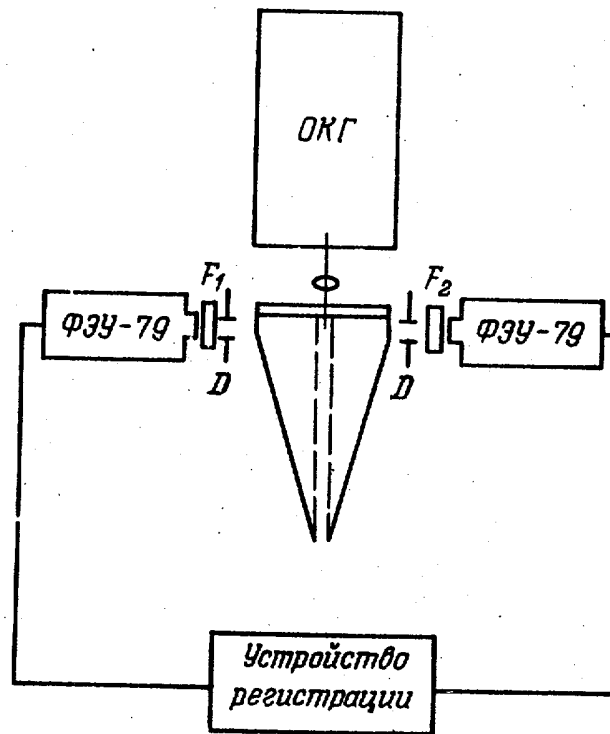
Флуоресценция в кювете возбуждалась гелий-кадмиевым лазером с длиной волны генерации 325 нм. Фотоприемники работали в режиме счета одноэлектронных импульсов. Через окна осуществлялась регистрация флуоресценции, причем один из фотоприемников (ФЭУ-79) регистрировал флуоресценцию образца в области 550 нм, выделяемой фильтром F_1 , а другой при помощи фильтра F_2 измерял рэлеевское рассеяние

лазерного излучения на жидкости. Учет вредного действия рассеянного на жидкости возбуждающего излучения происходил в регистрирующем устройстве.

При наименьшем значении возбуждаемого и детектируемого объемов (0,5 нл) было зарегистрировано рекордно малое количество флуоресцирующего вещества (10^{-17} моль).



Фиг. 2



Фиг. 3

Редактор И. Рыбченко

Составитель Б. Широков
Техред М. Надь

Корректор А. Обручар

Заказ 5651/39

Тираж 897

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Филиал ППП "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4