



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106536011 B

(45)授权公告日 2019.08.20

(21)申请号 201580038216.X

(73)专利权人 布莱阿姆青年大学

(22)申请日 2015.05.15

地址 美国犹他州

(65)同一申请的已公布的文献号

(72)发明人 P·B·法恩斯沃思 S·夏尔马

申请公布号 CN 106536011 A

H·D·托利 M·L·李

(43)申请公布日 2017.03.22

(74)专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

(30)优先权数据

代理人 徐东升 张颖

61/996,803 2014.05.15 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

(51)Int.CI.

2017.01.13

B01D 15/08(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

审查员 朱芳萍

PCT/US2015/031023 2015.05.15

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/175906 EN 2015.11.19

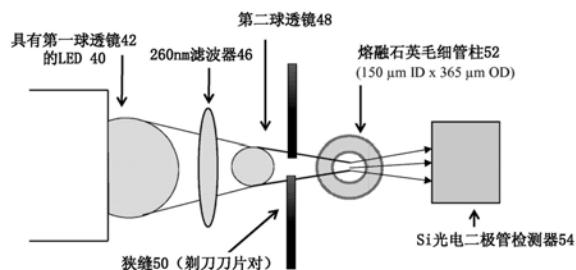
权利要求书3页 说明书9页 附图5页

(54)发明名称

用于毛细管液体层析法的具有低检测极限的基于低功率微型LED的UV吸收检测器

(57)摘要

一种用于执行用于毛细管液体层析法的基于UV LED的吸收检测以便检测和量化液体中的复合物的系统和方法，其中简化的系统通过使用稳定的UV源消除了对射束分裂器和参比室的需要，并且功率需求被降低，产生具有相对低的检测极限的便携且基本较小的系统。



1. 一种用于毛细管液体层析法的基于紫外线发光二极管即UV LED的吸收检测系统,所述系统包括:

LED,其用于产生UV光;
第一透镜,其用于接收和聚焦来自所述LED的所述UV光;
带通滤波器,其用于滤波来自所述第一透镜的所述UV光;
第二透镜,其用于接收和聚焦来自所述带通滤波器的所述UV光;
至少一个狭缝,其用于传递自所述第二透镜接收的所述UV光并且被设置为减少进入毛细管柱的杂散光,其中所述狭缝的宽度小于所述毛细管柱的内直径;
所述毛细管柱,其用于接收被传递通过所述至少一个狭缝的所述UV光,所述毛细管柱被定位为使得所述UV光穿过所述毛细管柱的横截面以进行在柱上的检测;以及
检测器,其用于接收已经传递通过所述毛细管柱的所述UV光并且用于进行毛细管液体层析法。

2. 根据权利要求1所述的系统,其中所述检测系统进一步包括用于通过分析由所述检测器接收的所述UV光来分析由至少一个复合物对所述UV光的吸收的系统,所述至少一个复合物设置在所述毛细管柱内的液体中。

3. 根据权利要求1所述的系统,其中所述检测器进一步包括平滑系统,所述平滑系统用于处理由所述检测器接收的数据以便减小来自所述检测系统的噪声。

4. 根据权利要求3所述的系统,其中所述平滑系统选自包括以下各项的平滑系统的组:通过基于固定窗求平均而平滑、通过基于固定宽度的滑动窗求平均而平滑、使用指数加权的移动平均而平滑、以及使用被构造为白化基线噪声过程的因果滤波器或非因果滤波器而平滑。

5. 根据权利要求3所述的系统,其中所述检测器进一步包括:
光电二极管,其用于接收来自所述毛细管柱的所述UV光;
运算放大器,其用于接收来自所述光电二极管的电流并且将所述电流转换成电压值;以及

模数转换器,其用于接收来自所述运算放大器的所述电压值并且将所述电压值转换成数字值。

6. 根据权利要求5所述的系统,其中所述检测器进一步包括RC滤波器,所述RC滤波器被设置在所述运算放大器与所述模数转换器之间以减小所述检测系统中的噪声。

7. 根据权利要求3所述的系统,其中所述平滑系统进一步包括在硬件中实施的平滑系统。

8. 根据权利要求3所述的系统,其中所述平滑系统进一步包括在软件中实施的平滑系统。

9. 根据权利要求1所述的系统,其中所述检测系统进一步包括用于向所述LED和所述检测器提供电力的DC电源。

10. 一种使用基于紫外线发光二极管的UV吸收检测系统来执行毛细管液体层析法的方法,所述方法包括以下步骤:

提供作为UV光源的发光二极管即LED,用于接收和聚焦来自所述LED的所述UV光的第一透镜,用于滤波来自所述第一透镜的所述UV光的带通滤波器,用于接收和聚焦来自所述带

通滤波器的所述UV光的第二透镜，用于传递自所述第二透镜接收的所述UV光并且被设置为减少进入毛细管柱的杂散光的至少一个狭缝，用于接收被传递通过所述至少一个狭缝的所述UV光的所述毛细管柱以及用于接收已经传递通过所述毛细管柱的所述UV光的检测器，所述毛细管柱被定位为使得所述UV光穿过所述毛细管柱的横截面以进行在柱上的检测，其中所述狭缝的宽度小于所述毛细管柱的内直径；

产生来自所述LED的所述UV光；

通过使用所述检测器来测量传递通过所述毛细管柱的所述UV光；以及

通过分析由所述检测器接收的所述UV光来分析由至少一个复合物对所述UV光的吸收并且进行毛细管液体层析法，所述至少一个复合物设置在所述毛细管柱内的液体中。

11. 根据权利要求10所述的方法，其中所述方法进一步包括以下步骤：通过使用稳定的UV光源以及消除对参考信号的需要来最大化传递通过所述毛细管柱的所述UV光的量，所述参考信号能够由分裂来自所述LED的所述UV光的射束分裂器生成。

12. 根据权利要求11所述的方法，其中所述方法进一步包括将由所述检测器接收的所述UV光的量增加至少两个数量级的步骤。

13. 根据权利要求10所述的方法，其中所述方法进一步包括以下步骤：

选择由所述LED产生的所述UV光的波长；以及

选择所述带通滤波器以匹配由所述LED产生的所述UV光的所述波长，从而减少达到所述毛细管柱的杂散光。

14. 根据权利要求10所述的方法，其中所述方法进一步包括以下步骤：将所述第二透镜相对于所述第一透镜来定位使得来自所述第二透镜的所述UV光的聚焦点等于或小于所述毛细管柱的内径即ID。

15. 根据权利要求10所述的方法，其中所述方法进一步包括改进峰形状和增加检测灵敏度的步骤。

16. 根据权利要求10所述的方法，其中所述方法进一步包括通过执行由所述检测器接收的数据的平滑而减小所述检测系统中的噪声的步骤。

17. 根据权利要求10所述的方法，其中所述方法进一步包括以下步骤：提供用于接收来自所述毛细管柱的所述UV光的光电二极管、提供用于接收来自所述光电二极管的电流且将所述电流转换成电压值的运算放大器、以及提供用于接收来自所述运算放大器的所述电压值并且将所述电压值转换成可记录的数字值的模数转换器。

18. 根据权利要求17所述的方法，其中所述方法进一步包括以下步骤：将RC滤波器设置在所述运算放大器与所述模数转换器之间，从而减小所述检测系统中的噪声。

19. 根据权利要求18所述的方法，其中所述方法进一步包括以下步骤：通过执行由所述检测器接收的数据的软件平滑来减小所述检测系统中的噪声。

20. 根据权利要求18所述的方法，其中所述方法进一步包括以下步骤：通过使用硬件系统来执行由所述检测器接收的数据的平滑，从而减小所述检测系统中的噪声。

21. 一种使用基于紫外线发光二极管的UV吸收检测系统来执行毛细管液体层析法的方法，所述方法包括以下步骤：

提供作为UV光源的发光二极管即LED、用于接收和聚焦来自所述LED的所述UV光的双透镜系统、用于滤波来自所述LED的所述UV光的带通滤波器、用于传递自所述双透镜系统接收

的所述UV光并且减少杂散光的通过的至少一个狭缝、用于接收被传递通过所述至少一个狭缝的所述UV光的毛细管柱、以及用于接收已经传递通过所述毛细管柱的所述UV光的检测器，所述毛细管柱被定位为使得所述UV光穿过所述毛细管柱的横截面以进行在柱上的检测，其中所述狭缝的宽度小于所述毛细管柱的内直径；

产生来自所述LED的所述UV光并且消除对参考UV光的需要，这是因为所述LED是稳定的UV光源；

通过使用所述检测器来测量传递通过所述毛细管柱的所述UV光并且进行毛细管液体层析法；以及

通过平滑数据而减小来自所述检测器的噪声，所述数据通过分析由所述检测器接收的所述UV光来分析由至少一个复合物对所述UV光的吸收而被收集，所述至少一个复合物被设置在所述毛细管柱内的液体中。

22.一种使用基于便携式紫外线发光二极管的UV吸收检测系统来执行毛细管液体层析法的方法，所述方法包括以下步骤：

提供作为UV光源的发光二极管即LED、用于接收和聚焦来自所述LED的所述UV光的第一透镜、用于滤波来自所述第一透镜的所述UV光的带通滤波器、用于接收和聚焦来自所述带通滤波器的所述UV光的第二透镜、用于传递自所述第二透镜接收的所述UV光并且被设置为减少进入毛细管柱的杂散光的至少一个狭缝、用于接收被传递通过所述至少一个狭缝的所述UV光的所述毛细管柱、用于接收已经传递通过所述毛细管柱的所述UV光的检测器以及提供DC电源的电源，所述毛细管柱被定位为使得所述UV光穿过所述毛细管柱的横截面以进行在柱上的检测，其中所述狭缝的宽度小于所述毛细管柱的内直径；

使用所述DC电源来产生来自所述LED的所述UV光；

通过使用所述检测器来测量传递通过所述毛细管柱的所述UV光并且进行毛细管液体层析法，所述检测器通过使用所述DC电源来操作；以及

通过分析由所述检测器接收的所述UV光来分析由至少一个复合物对所述UV光的吸收，所述至少一个复合物被设置在所述毛细管柱内的液体中。

用于毛细管液体层析法的具有低检测极限的基于低功率微型 LED的UV吸收检测器

背景技术

[0001] 相关技术的描述:液体层析法(LC)被执行以便分析液体溶液中的化学内容物。图1示出来自光源的紫外(UV)光可以被传输通过设置在毛细管柱内的液体到UV检测器。UV光可以被液体中的复合物吸收,在检测器上留下的光的强度可以被解释为检测并量化复合物。

[0002] 用于液体层析法(LC)的现有技术系统的示例被示出在图2中。标准的UV光源(例如汞(Hg)灯20)具有短使用寿命、长加热时间以及不稳定的光输出。图2示出光源可以通过使用透镜22被分离,引起减少的源20的光输出。光源20可以被分离以便经过样品材料24和参考材料26并且然后剩余的光分别被样品光电池27和参考光电池28检测到。

[0003] 新光源可以被提议,该新光源与标准UV光源相比更稳定并且产生较少噪声。在这些之中,发光二极管(LED)已获得青睐,这是由于其长寿命、高稳定性、明亮输出以及低功率需求。此外,新光源与标准光源相比,其尺寸小且更紧凑。考虑到LED的接近单色的行为,不需要单色仪。基于LED的检测器可以被制造,而不使用昂贵的光学透镜。

[0004] 图3是使用LED 30作为光源的LC检测系统的框图。对于LC而言,UV范围是可期望的,这是因为在那个范围中的许多复合物可以通过LC显示吸收(exhibit absorption)而被分析。现有技术示出了来自平坦窗口LED 30的光可以被直接聚焦到贯通池(flow-through cell)并且通过使用信号光电二极管32实现检测。然而,检测器32遭受高噪声、高检测极限以及有限线性度。系统也可以遭受高杂散光水平。LC检测系统的一个问题可以是:硅光电二极管32与UV相比,在较高的波长处更灵敏,其可以从光电二极管灵敏度图中明显看出。因此,在高于UV的波长处来自LED 30的任何光发射可以导致系统中的显著的杂散光。图3中所示的系统仍然需要射束分裂器33,该射束分裂器33将来自LED30的一部分光发送到参考二极管36。光的其他部分被发送通过狭缝34并且通过熔融石英管35。检测器32和参考二极管36被耦合作为到放大器37的输入。

[0005] 另一现有技术的系统使用半球形透镜LED作为具有光电倍增管的光源以用于毛细管上的检测。该系统可以遭受高水平的杂散光,其牺牲了系统的线性范围和检测极限。

[0006] 毛细管柱已经获得LC工作中的普及,但是需要检测器,该检测器可以履行对这类柱的检测需求。使用基于Hg笔射线灯的检测器以用于毛细管上的检测的现有技术的LC检测系统实现了良好的性能。然而,商用的基于流动池(flow-cell)的检测器可引入毛细管柱的相当大的死区体积。此外,低体积的流动池(很少的nL)可以是昂贵的并且由于盐沉积而遭受堵塞问题。

[0007] 需要一种可以提供向下到毛细管柱的内直径的光束的狭窄聚焦的系统。为了消除杂散光,一种光的狭窄聚焦的方法可以是使用等于或小于毛细管柱内直径的狭缝。然而,狭缝在毛细管柱的前面的使用也减少了如图3中所示的光通量。来自光源的光强度的减少可以减少检测器的S/N比(信噪比)。

发明内容

[0008] 本发明是一种用于执行毛细管液体层析法的基于UV LED的吸收检测以用于检测和量化液体中的复合物的系统和方法,其中简化的系统通过使用稳定的UV源消除了对射束分裂器和参比室(reference cell)的需要,并且功率需求被降低,从而产生具有相对低的检测极限的便携的且基本较小的系统。

[0009] 鉴于下面的结合附图的具体实施方式,本发明的这些和其他实施例对本领域技术人员来说将变得显而易见。

附图说明

[0010] 图1是示出UV检测系统的操作的图示,其中UV光被传递通过毛细管柱。

[0011] 图2是用于通过使用射束分裂器和Hg光源生成样品光源和参考光源的现有技术的检测系统的图示。

[0012] 图3是示出替代的现有技术的检测系统的图示,该替代的现有技术的检测系统使用UV LED作为光源,但是其仍然使用射束分裂器来产生参考源,但是其遭受减少的UV光强度。

[0013] 图4是示出毛细管LC系统的主要硬件元件的本发明的第一实施例的第一示意图。

[0014] 图5是示出毛细管LC系统的更多构造细节的本发明的第一实施例的第二示意图。

[0015] 图6是具有(橙色)且不具有(蓝色)滤波器的光输出的覆盖光谱的图表。

[0016] 图7是在没有滤波器的数字化和暗RMS噪声上和在具有0.5秒滤波器的总RMS噪声上的软件平滑的作用的图表。

[0017] 图8示出说明第一实施例的S/N比增强的两个图表,其中(A)在没有平滑和(B)在每0.1秒平滑具有4200个数据点的情况下获得信号。

[0018] 图9是通过使用集成的纳米流的泵送系统和LED检测器来示出离析物的图表。

[0019] 图10是本发明的第二实施例中的部件的框图。

[0020] 图11是本发明的第三实施例中的部件的框图。

具体实施方式

[0021] 现在将参考附图,在附图中本发明的各种实施例将被给出数字标记,并且在附图中实施例将被讨论以便于能够使本领域技术人员制造且使用本发明。应理解的是,下列描述示出本发明的实施例,并且不应被视为使随附的权利要求变窄。

[0022] 在开始之前,应理解的是,在柱上的检测可以指的是当填充床材料(packed bed material)在柱的端部之前终止时使得柱的最后一部分实际上是空的。但是也可以具有下列情况,其中柱始终具有填充层材料直到柱的端部并且毛细管必须被添加以便执行毛细管部分中的检测。因此,本发明的实施例应全部被视为包括在所有实施例的范围内的两种配置,其中检测发生在柱上的所述柱的不包括填充床材料的区域中,或者在已经被添加到填充床材料结束的柱的极末端的毛细管内。

[0023] 第一实施例是与毛细管液体层析法一起使用的具有低检测极限的基于LED的UV吸收检测器。在第一实施例的第一方面中,LED光源可以被选择。LED输出波长可以随着驱动电流和结点温度的改变而改变。因此,LED应由恒定电流供应来驱动,并且系统的加热应被避

免。

[0024] LED源的准单色性有助于系统中的杂散光,引起检测器非线性。通过利用系统中的滤波器来保护检测系统免受期望的吸收带之外的任何LED光。

[0025] 柱上的毛细管检测可以被优先用于毛细管柱,这是因为狭窄的峰宽通过消除额外柱的带分散来获得,并且峰分辨率被保持。检测器中的短期噪声可以确定检测极限并且通常可以通过执行集成、平滑和/或使用低通的RC滤波器来减少。

[0026] 第一实施例示出基于UV LED的吸收检测器具有用于微型化场分析的极大潜能。进一步优化检测器设计和减少噪声水平可以引起用于小直径毛细管柱的较好的检测极限。第一实施例导致具体用于毛细管LC柱上检测的基于便携式260纳米LED的UV吸收检测器。与现有技术相比,系统是相对小、重量轻且具有很低功率消耗。

[0027] 图4是用于介绍本发明的第一实施例的元件的第一示意图。元件包括基于UV的LED 40、第一球透镜42、调谐到LED 40光源的带通滤波器46、第二球透镜48、包括剃刀刀片的狭缝50、毛细管柱52以及硅光电二极管检测器54,该毛细管柱52可以具有大约150 μm 的内直径(ID)和大约365 μm 的外直径。

[0028] 本发明的元件的比例没有被示出在图4中。来自第二球透镜48的UV光可以比所示更急剧地聚合。此外,第二球透镜48的直径可以为毛细管柱52的内直径的10倍。因此,应理解的是,提供图3和图4以示出本发明的部件的物理次序,而没有示出实际尺寸。

[0029] 此外,应理解的是,由第一球透镜42和第二球透镜48引起的UV光的聚合的任何附图没有被按比例示出并且仅用于说明的目的。

[0030] 可以通过替换提供相同功能的其他部件作为上述检测系统的部件而提供相同的功能性。例如,虽然第一球透镜42和第二球透镜48被示出在图4中,但不同类型的透镜可以被取代且仍然应被视为落入第一实施例的范围内。还可以通过使用单个透镜提供首先的两个球透镜的功能且获得期望的聚焦效果。也应理解的是,被给出用于第一实施例的所有方面的值大约仅是50%且可以改变高达50%,而不背离第一实施例的期望功能。

[0031] 图5是被示出具有更多构造细节的第一实施例的侧剖视图。图5中所示出的系统不应该被视为限制本发明,但是应被视为第一实施例的原理的示范。因此,被给出用于第一实施例的部件的尺寸、形状、重量、功率、灵敏度或任何其他特性的具体值仅是示例性的并且可以不同于所给出的值。

[0032] 图5示出具有第一球透镜42的LED 40。LED 40可以被设置在LED保持器44内。LED 40可以被制造为与第一球透镜42集成,或者该LED 40在制造之后可以被附连到第一球透镜42或被设置为邻近第一球透镜42。LED 40可以选自适于在毛细管柱52中被分析的复合物的UV光的任何期望的带宽。第一实施例使用260纳米的LED 40,但是UV光的该波长可以如期望地改变。

[0033] 在第一实施例中,具有第一球透镜42的商业可获得的260纳米的UV LED40被用作光源。LED 40被安装在LED保持器44上。LED保持器44被蜿蜒穿入到黑透镜管中并且在扣环的帮助下被抓紧。第一球透镜42可以是6mm的直径,或任何合适尺寸以聚焦来自LED 40的光。

[0034] 第一实施例包括设置在第一球透镜42之后的带通滤波器46。带通滤波器46可以是260纳米的带通滤波器,其被用于减少自LED 40到达检测器的杂散光和/或任何周围光。带

通滤波器的值可以如所需要地被调节以便被优化用于LED 40光源。

[0035] 在第一实施例中,260纳米的带通滤波器可以被定位在黑螺纹管中的LED40与第二球透镜48之间。

[0036] 第一实施例的另一元件可以使用设置在带通滤波器46之后的第二球透镜48。第二球透镜48的功能可以是接收由第一球透镜42聚焦的UV光并且更进一步聚焦UV光。期望的是聚焦UV光使得发送到毛细管柱52中的光可以等于或小于内直径(ID)的宽度。虽然这是优选的,但是UV光源的聚焦可以不等于或小于第一实施例中的毛细管柱52的ID。

[0037] 在第一实施例中,熔融石英球透镜可以具有用于第二球透镜48的3mm的直径并且可以被安装在3mm的球透镜盘上并且可以被设置在LED焦点处。第二球透镜支架可以位于底板(mount)的中心,其可以被蜿蜒穿入到包括LED 40和带通滤波器46的黑透镜管中。

[0038] 由于经过毛细管柱52且由检测器接收的增加的光通量,可以实验性地确定入射到检测器上的光强度可以高达现有技术的毛细管LC设计三个数量级。

[0039] 为了减少到达检测器54的杂散光,一个或多个狭缝50被设置在第二球透镜48之后和毛细管柱52的前面。狭缝50可以由剃刀刀片或任何其他合适装置来提供。狭缝可以是大约100μm的宽度。

[0040] 结合带通滤波器46和狭缝50,杂散光被实验性地减少到3.6%的值,其与现有技术的系统相比非常低,该现有技术的系统可以以减少杂散光到30.5%的值来操作。现有技术的设计可以使用用于明显不是很有效的较高波长杂散光消除的具体UV指数光电二极管,或者可以使用在连接到商用柱(1mm ID)的端部的250μm ID中空毛细管的前面的狭缝(100μm宽)。这导致通过毛细管柱52的减少的光通量。此外,由于较大直径管到较小直径管之间的连接导致的带增宽削弱了检测灵敏度。

[0041] 传递通过毛细管柱52的UV光被定位为使得其照射UV检测器54。UV检测器54可以是任何UV灵敏装置。

[0042] 在第一实施例中,UV检测器54可以是硅光电二极管。光电二极管54可以被设置在具有外螺纹的二极管保持器上。黑盖帽可以被构建以蜿蜒穿入到二极管保持器中。该黑盖帽可以具有V形凹槽、中心孔和孔的相对两侧上的凹槽,所述V形凹槽将毛细管柱52保持在所述中心,中心孔允许光通过,孔的相对两侧上的凹槽将狭缝保持在适当位置。一对剃刀刀片可以被用于制造可调节的一个或多个狭缝50。狭缝50可以被设置在盖帽中的中心孔的相对两侧上,该盖帽纵向覆盖毛细管柱的外直径。

[0043] 在检测器54中,运算放大器可以被用于接收来自光电二极管的电流并将其转换为电压值。模数转换器可以被用于通过计算机或其他记录装置来记录电压输出。应理解的是,低通RC滤波器可以在输入端处被用于模数转换器。

[0044] 以下示例仅示出用于第一实施例的实验性数值且不应被视为限制其性能。数据点以1KHz到42KHz的速率被采样。然后这些数据点以10Hz速率被平滑以减小检测系统中的噪声水平。这些值不应被视为限制,而是用来说明本发明的实施例的原理。数据点采样速率和数据平滑速率可以被调节以便优化使用的检测系统的结果。

[0045] LED 40和硅光电二极管检测器54可以分别需要用于操作的6V和12V DC电源。检测器54需要0.139安培的电流,并且可以使用4安培小时12V DC电池操作达大约25小时,以及通过AC-DC适配器自线路电源操作。然而,应理解的是,第一实施例的检测系统可以通过使

用DC电源来操作并且因此可以是便携的,不仅因为DC电源需求,而且也因为检测系统的相对小尺寸。

[0046] 除非另有具体声明,否则具有60nL的喷射体积的集成的截留喷射器被用于这些实验中。150 μm ID \times 365 μm OD的涂覆特氟龙的毛细管柱52被用在所有实验中。其中被报告的吸光度值通过采用透射率(transmittance)值的倒数的常用对数来计算。透射率通过样品信号除以通过记录基线所获得的参考信号而被计算。

[0047] 基于基线数据的1分钟测量而确定检测器噪声。中空熔融石英毛细管被连接到纳米流泵送系统并且被填充水。基线然后被记录达大约1分钟,并且峰与峰间的吸光度被计算。这给出了峰与峰间(p-p)的噪声。短期噪声(RMS)被计算为所记录基线的标准偏差。对于暗噪声测量,LED 40被关闭并且暗噪声被测量为基线中的标准偏差。为了确定数字转换器(digitizer)的噪声,A/D转换器的正端子和负端子被缩短。通过使水以300nL/分流过毛细管并且记录基线达1小时来确定检测器偏移,之后测量基线的斜率。

[0048] 执行软件平滑以减小噪声水平。然而,应理解的是,平滑功能可以以更快速率在硬件中执行并且可以代替软件平滑。虽然我们能够使用各种平滑技术,但是第一实施例中所使用的平滑技术是固定窗求均值。可以被使用的其他平滑技术包括但不应被视为限制为:基于对固定宽度的滑动窗求平均来平滑、使用指数地加权的移动均值来平滑以及使用被构造为白化基线噪声过程的因果滤波器或非因果滤波器来平滑。

[0049] 通过使用溶液中的150 μm ID毛细管柱52和5.35pmol尿嘧啶喷射,在不同的平滑速率下确定S/N比,并且最佳平滑速率被用于进一步的工作。RC滤波器(0.5s和1s的时间常数)在短期噪声上的效果在通过执行任何平滑情况下和不通过执行任何平滑的情况下同样被研究。黑墨水填充的毛细管被用于系统中的杂散光评估。杂散光水平通过将用于黑墨水情况所获得的电压信号除以通过水填充的毛细管柱52所获得的电压信号之后乘以100而被测量。

[0050] 葡萄糖二磷酸钠(SAS)、磷酸腺苷(AMP)、DL-色氨酸(DLT)以及苯酚的不同浓度的溶液在HPLC等级水中制造。在氮气压力下使得溶液流动通过被插入到检测器54中的毛细管。在每个浓度实验之前和之后,基线数据通过使水流动通过毛细管而被记录。基线校正的最大吸光度单位(AU)值针对摩尔浓度(M)被绘图以确定检测器54的线性度。用于流入式实验的检测极限被报告为基线中的标准偏差的3倍。双对数图被用于确定检测器54的灵敏度。用于苯酚的校准数据也可以通过到PEGDA整体柱上的喷射而获得,并且基线校正的峰面积针对浓度被绘图。洗脱情况在下一段中说明。检测极限被确定为基线区域中的标准偏差的3倍,该基线区域从空白(blank)喷射(n=4)获得且在分析物的峰区内被计算。

[0051] 使用集成系统通过使用PEGDA整体毛细管柱52(16.5cm \times 150 μm ID)来执行酚类(即苯酚、邻苯二酚、间苯二酚以及连苯三酚)的等度分离。预处理的毛细管柱52被填充单体混合物并且经受UV发起的聚合达5分钟。在聚合之后,整体柱通过甲醇接着是水被冲洗达至少6小时以移去未反应的复合物。单体混合物成分是:DMPA(0.002g)、PEGDA 700(0.2g)、十二烷醇(0.15g)、正葵醇(0.15g)、葵烷(0.2g)和15-S-20表面活性剂(tergitol)(0.3g)。酚类复合物被溶解在HPLC水中并且流动相(mobile phase)是80/20%(v/v)乙腈/水混合物。以350nL/分来执行分离。

[0052] 基于UV LED的吸收检测器54可以远小于较早描述的基于Hg笔射线灯的检测器。对

于毛细管上的柱检测，吸光度值可以是小的，所以噪声减小可以对获得良好检测极限是重要的。明亮的光源LED 40可以增加被用于计算吸光度的光电流，而没有噪声的成比例增加。单个波长(260nm)检测器54而不是多波长检测器被制造，以便减少检测系统的成本和尺寸。

[0053] 虽然LED 40具有集成熔融石英第一球透镜42(6.35mm直径)，其将光束向下聚焦到焦点(15–20mm)处的1.5–2.0mm斑点，这对于毛细管柱52的尺寸(0.075mm ID到0.20mm ID)仍然太广阔。因此，第二熔融石英球透镜48(3mm直径)被放置在LED 40的焦点处以获得光的改进聚焦。第一球透镜42和第二球透镜48可以由任何合适材料来构造。

[0054] LED 40被选择以发射具有带宽±5nm的光；然而，通过分光计，确定LED也以较高波长发射光。光的额外波长可以显著有助于系统的杂散光。

[0055] 在实验期间使用具有20nm FWHM的260nm带通滤波器。图6中的覆盖光谱示出在具有滤波器和没有滤波器情况下来自LED 40的光输出，证实滤波器成功消除来自较高波长的光。LED 40位置被优化以在毛细管柱52的中心处获得最佳聚焦。

[0056] 由于LED 40的被报告的固有稳定性，从第一实施例的设计消除了参比室。参比室的消除也导致第一实施例中的射束分裂器的消除，该消除增加了通过毛细管柱52的UV光通量。因为除了第一球透镜42和第二球透镜48之外没有其他光学透镜被使用，所以在第一实施例中也避免了光学元件的复杂对齐和来自多个表面的传输损耗。

[0057] 作为检测器54的部分功能的第一实施例的特征是执行检测数据的处理。在第一实施例的实验使用中，检测器54的短期RMS噪声被发现是8mV，而没有使用信号平滑和低通滤波器。没有平滑的暗RMS噪声被计算为6.95mV。软件平滑将暗RMS噪声水平平滑减少到如图7中所示的74.4μV。暗电压值在亮室和暗室中是相同的，证实毛细管柱52没有作为导光管。数字转换器噪声能够显著有助于通过检测器可获得的最小噪声。数字转换器RMS和p-p噪声被发现分别为2.4mV和7.7mV。软件平滑对数字转换器RMS噪声的影响如图7中所示被研究，并且所获得的最小RMS和p-p噪声水平分别是15μV和95μV。

[0058] 如从数据可以看出的，包括来自光电二极管和放大器的噪声的暗电流噪声、以及数字转换器噪声两者促成了总基线噪声，并且两者通过使用第一实施例的软件平滑被有效减少。为了进一步减少总噪声水平，两个低通滤波器(时间常数=0.5s和1s)被应用到A/D转换器的输入。非平均的RMS噪声水平分别下降到2.42mV和2.3mV。

[0059] 软件平滑对S/N比(信噪比)的作用也被研究，并且虽然发现平滑对用于色谱图中峰宽的信号强度的作用是微不足道的，但是RMS噪声水平被减小到相当于入射光(I₀)强度(5.7μAU)的0.18mV电压水平，而没有使用滤波器。通过0.5s滤波器和每0.1s平滑的4200个数据点，RMS噪声进一步下降到0.14mV(4.4μAU)。因此，LED检测器RMS噪声(~10–6AU)比以前检测器和其他UV LED检测器(~10–5AU)低一个数量级。检测器54漂移被发现是非常低的(10–5AU每小时)，其在峰宽上可以被忽略并且可以表示在典型色谱图的持续时间内没有问题。

[0060] 如图7中可以看出的，随着每0.1s所平均的数据点的数目从100增加到2400，RMS噪声水平随之减小；然而，在2400个数据点平滑之后的噪声水平的进一步减小不是显著的。如图8中所示，用于尿嘧啶的信噪比从14(无平滑)增加到408(具有4200个数据点的平滑)。由于LED的被报告和观察的低漂移和固有光稳定性、参比室没有被包括，简化了第一实施例的检测器54设计而没有牺牲其性能。通过毛细管柱52的光电二极管信号(70μA的均值)高于

以前工作(nA范围)三个数量级。

[0061] 杂散光可以引起自真实吸光度值的负偏差。当狭缝50宽度被调节为等于毛细管柱52的内直径(即150 μm)时,杂散光水平被测量为是17.3%。通过目视检查,发现显著水平的光通过弯曲的毛细管柱52的壁到达检测器54。因此,狭缝50宽度被减小到100 μm ,其将杂散光水平减小到3.6%。光强度的减小通过增加LED 40上的驱动电流(13.3mA)而被补偿。因此,通过减小狭缝50的宽度,一点也没有牺牲输出电压信号强度。

[0062] 在实验期间,LED 40以其最大操作电流的仅一半操作。具有毛细管的检测器54的最大吸光度被计算为1.4AU,其高于由Hg笔射线灯检测器所获得的值(0.94AU)。

[0063] 可能通过将光源不恰当聚焦在毛细管柱54的ID上而牺牲UV吸收检测器的线性度。检测的极限取决于检测器54短期噪声和测试分析物摩尔吸收率。对于实验而言,测试分析物的选择基于摩尔吸收率和相关的以前的LED检测器工作。检测器54使得线性响应高达所测试的最高浓度,确认杂散光在系统中是低的。线性动态范围对于所有测试分析物是三个数量级。信噪比为3的检测极限在实验中被发现对于SAS是24.6nM(7.63ppb)或1.5fmol。该检测极限可以是基于现有技术的笔射线Hg灯的检测器的五分之一。

[0064] 考虑到葱醌和葱表现出相似的摩尔吸收率,检测极限也是之前所报告的基于无参考单波长流动池(1cm长)的检测极限的三分之一。用于AMP的检测极限(87.9nM或30.5ppb)针对相同的毛细管柱52尺寸(75 μm ID)是之前所报告的无参考LED检测器的1/230。对于DLT而言,信噪比为3的检测极限被发现是299nM(61ppb)或17.9fmol。针对相同的毛细管尺寸(250 μm ID),这种检测极限是之前所报告的参考检测器的1/60。因此,针对各种复合物的检测极限的变化与260nm处的摩尔吸收率的变化一致。

[0065] 考虑到在毛细管刻度上执行检测的事实,用于检测器54的检测极限是显著的。用于SAS、AMP和DLT的校准数据在表格1中列出。用于三种复合物的峰面积($n=3$)中的RSD范围为0.4%-2.6%。通过使用作为传递液(carrier fluid)的600nL/分的水将每个复合物的不同浓度三次喷射到中空毛细管柱来计算这些面积。

[0066]

分析物	浓度范围	峰面积 (AU)		R^2	灵敏度 ^d	LOD
		回归方程				
SAS	24.6 nM – 50.4 μM	$y = 498.09x + 9 \times 10^{-6}$		1 ^a	0.9968	24.9 nM
AMP	87.9 nM – 22.5 μM	$y = 185.44x + 5 \times 10^{-6}$		0.9999 ^b	1.0138	87.9 nM
DLT	299 nM – 0.61 mM	$y = 54.744x + 5 \times 10^{-6}$		1 ^c	0.9855	299 nM

[0067] ^a针对 $n=12$; ^b针对 $n=9$; ^c针对 $n=12$; ^d灵敏度通过使用 $\log(\text{AU})$ 图对 $\log(\text{M})$ 图来获得。

[0068] 表格1

[0069] 因为检测器54被具体设计用于在柱上的检测,所以检测器性能在LC情况下使用苯酚被测试且与表格2中所示的贯通实验进行比较。检测器线性度在两种情况下是优秀的,并且检测极限被发现是相似的。因此,在实际LC情况下使用时没有牺牲检测器性能。

[0070]

方法	浓度范围	峰面积 (AU)		LOD
		回归方程	R ²	
贯通	1.95 μM - 1.33 mM	y = 14.252x + 2×10 ⁻⁵	1	1.95 μM
在柱上	1.70 μM - 1.33 mM	y = 3118.9x + 0.0121	0.9997	1.96 μM

[0071] 表格2

[0072] 毛细管LC通过本发明的第一实施例来执行。因此，检测系统包括用于通过分析由检测器接收的UV光来分析由至少一个复合物吸收UV光的系统，该至少一个复合物设置在毛细管柱内的液体中。用于分析吸收的系统可以是检测器的部分或者可以是计算机系统，该计算机系统被耦连到检测系统以用于接收来自检测器的数据。

[0073] 同样注意到，第一实施例通过使用整体毛细管柱来执行在柱上的LC检测。使用在柱上的检测可以改进峰形状并且增加检测灵敏度，这是因为可以减少额外柱的带增宽。

[0074] 毛细管LC系统的应用通过使用如在图9中所示的酚类复合物而被说明。用于所有分析物的良好的分辨率以等度模式获得。在LC实验下的基线稳定性是显著的，证实由该检测器呈现出的低漂移。复合物的s (tR/wb1/2) 中的最小宽度和峰宽度中的保留时间被发现是：苯酚(11.79/10.4)、邻苯二酚(12.98/13.4)、间苯二酚(14.03/12.8) 和连苯三酚(14.85/16.6)。峰保留时间的再现性在从0.1%-0.2% (n=4) 的范围内。用于保留的复合物的柱效率(N/m) 和最小板高度(μm) 是：苯酚(156,838/6.4)、邻苯二酚(113,118/8.8)、间苯二酚(144,673/6.9) 以及连苯三酚(96,963/10.4)。

[0075] 第一实施例可以是通过使用260nm UV LED 40所制造的高灵敏度的柱上检测器54，其能够在ppb范围内检测。检测器54的噪声水平通过使用软件平滑和低通滤波器(即3.4-4.4μAU)而显著减少，检测器54的噪声水平在曾经通过被设计用于毛细管柱52工作的吸收检测器获得的最低噪声水平之内。低检测极限可以有助于系统中的良好的光聚焦、低杂散光以及非常低的噪声。

[0076] 针对测试复合物可以获得第一实施例的低检测极限，这是由于毛细管LC系统中的良好的光聚焦、低杂散光以及非常低的噪声。具有150μm路径长度的以毛细管格式的用于SAS的检测极限可以是具有1cm路径长度的基于LED的检测器的三分之一。对于AMP和DLT而言，与具有相同路径长度的检测器相比，检测极限由230和60的因数来改进。而且，本发明检测器中的苯酚检测极限在贯通实验下和在分离情况下是相同的。因此，在实际液体层析法工作下没有牺牲检测器性能。苯酚混合物的可再生等度分离(isocratic separation)也可以被说明。

[0077] 软件平滑被用于减少检测系统中的噪声水平。在没有平滑的情况下，总均方根噪声水平是8mV。通过每0.1秒平滑的4200个数据点，噪声水平被减小到0.18mV，并且当低通RC滤波器(2Hz时间常数)被应用到模数转换器的输入时，噪声被进一步减小到0.14mV(等于4.4μAU)。这是通过基于毛细管的检测器曾经获得的最低噪声水平之一。在没有软件平滑且仅使用RC滤波器的情况下，噪声水平仅从8mV减少到2.4mV。因此，低通滤波明显不足以有效消除来自检测系统的高频率噪声。信噪比从14增加到408以用于5.35pmol尿嘧啶峰。噪声水平高达小于一些检测器仅依赖于低通滤波器的现有技术2个数量级。

[0078] 第一实施例的关于尺寸需求、重量需求、功率需求和便携性的最终评论是毛细管LC系统的不复杂设计的直接结果。典型的商用系统可以具有 $11 \times 13 \times 22\text{cm}$ 的尺寸大小、具有3.31bs的重量、需要常规的AC电源线以及具有大约是1mA的灵敏度。与此相反,第一实施例可以具有大约是 $5.2 \times 3 \times 3\text{cm}$ 的尺寸、可以具有0.21bs的重量、可以从12DC电源操作并且仅使用1.68W以及可以具有大约 $10\mu\text{AU}$ 的灵敏度。应理解的是,这些值仅是近似的并且可以改变高达50%,而不背离第一实施例的特性。

[0079] 提供图10和图11作为本发明的第二实施例和第三实施例。具体地,第二实施例和第三实施例的所有特征和功能与第一实施例相同,除了第一球透镜42、滤波器46以及第二球透镜48的次序的改变以外。图10在图表中示出可以将第一球透镜42定位为邻近第二球透镜48,并且然后完全消除滤波器46。

[0080] 如果UV光源可以被制造为更完美地单色,则滤波器46可以最终变得不必要。执行滤波以便阻止任何杂散光到达毛细管柱52。如果UV光源没有产生杂散光或产生极少杂散光,则滤波器变得不必要且可以从系统移去,而不背离本发明的原理。

[0081] 与此相反,图11在图表中示出可以将滤波器46定位在LED 40与第一球透镜42之间,并且然后将第二球透镜48定位为邻近如在图10中的第一球透镜。也就是说,可以将滤波器46设置在球透镜42、球透镜48这两者的前面并且在球透镜之间,或者完全消除滤波器并且仍然实现来自LED 40的UV光的期望的聚焦和滤波。

[0082] 虽然以上仅详细描述了一些示例实施例,但是本领域技术人员将容易意识到在示例实施例中许多修改是可能的,而不实质背离本发明。因此,所有这类修改意图被包括在如所附权利要求中所限定的本公开的范围内。申请人的表达意向是不调用用于本文中任何权利要求的任何限制的35 U.S.C. §112第6款,除了其中权利要求清楚使用词语“意味着”连同相关功能的限定。

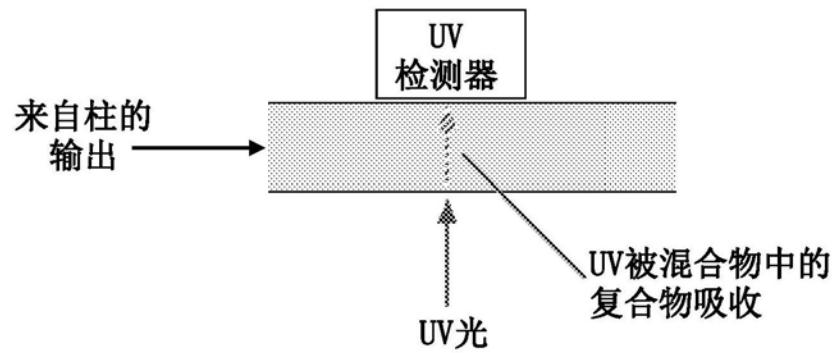


图1

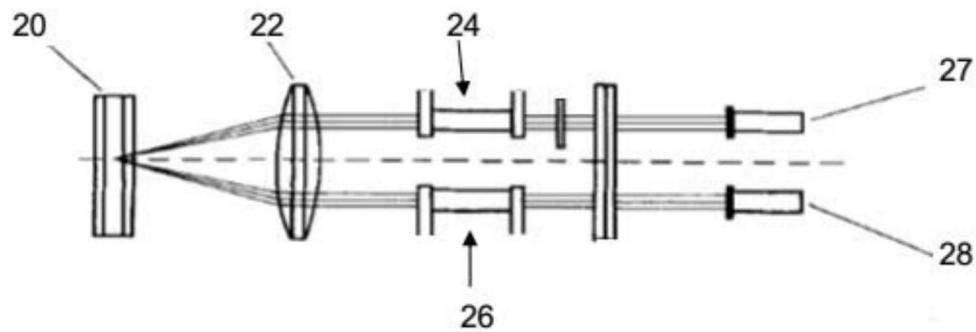


图2(现有技术)

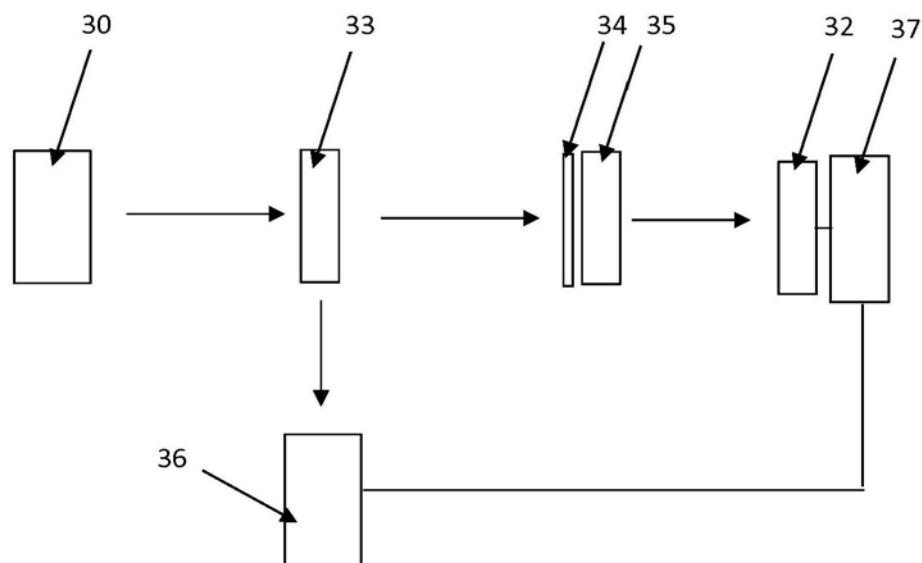


图3(现有技术)

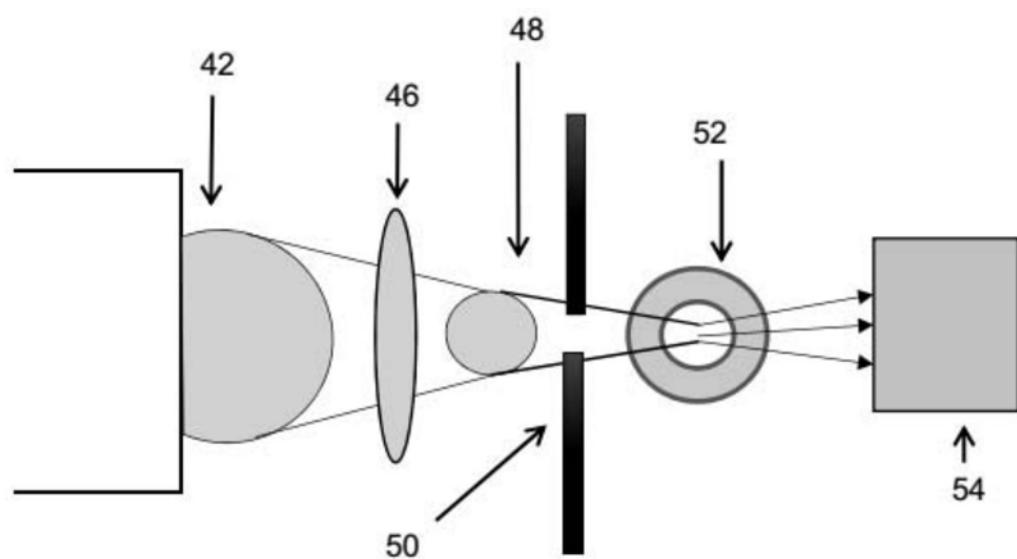


图4

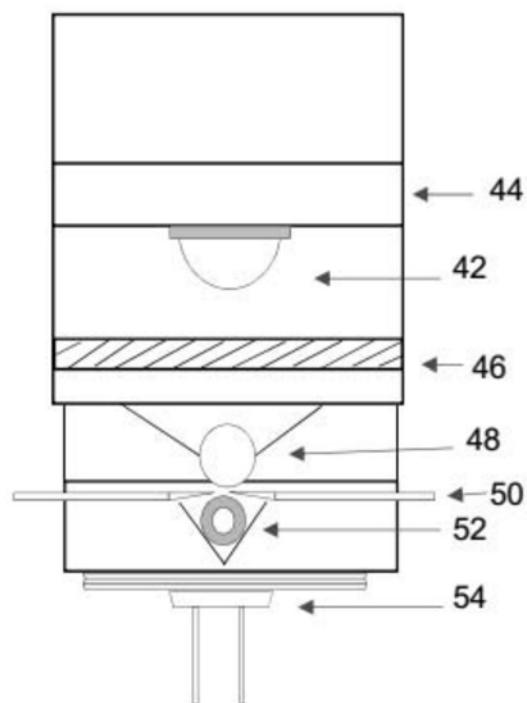


图5

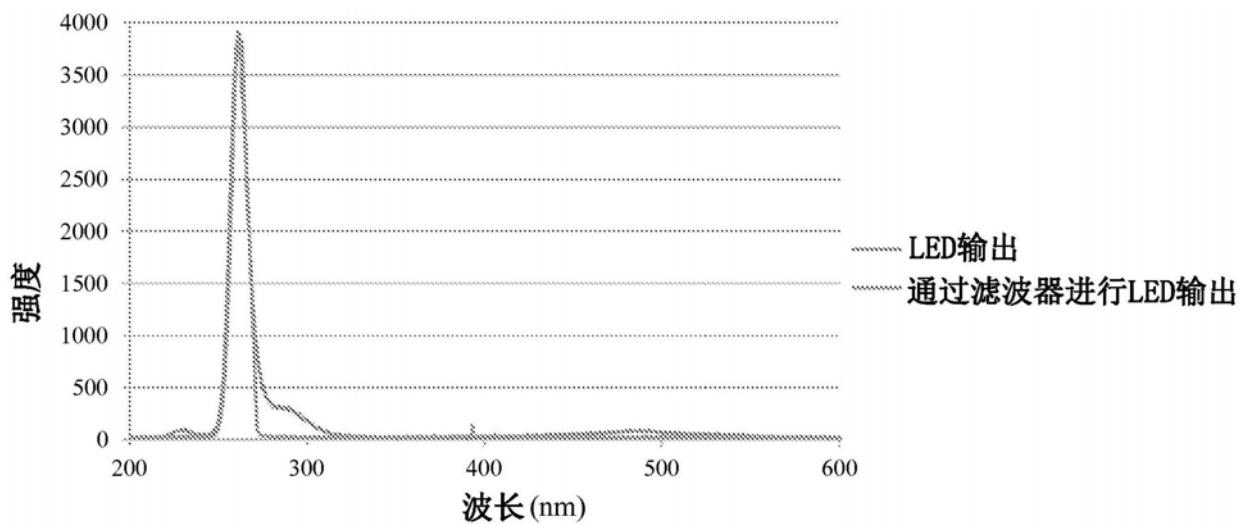


图6

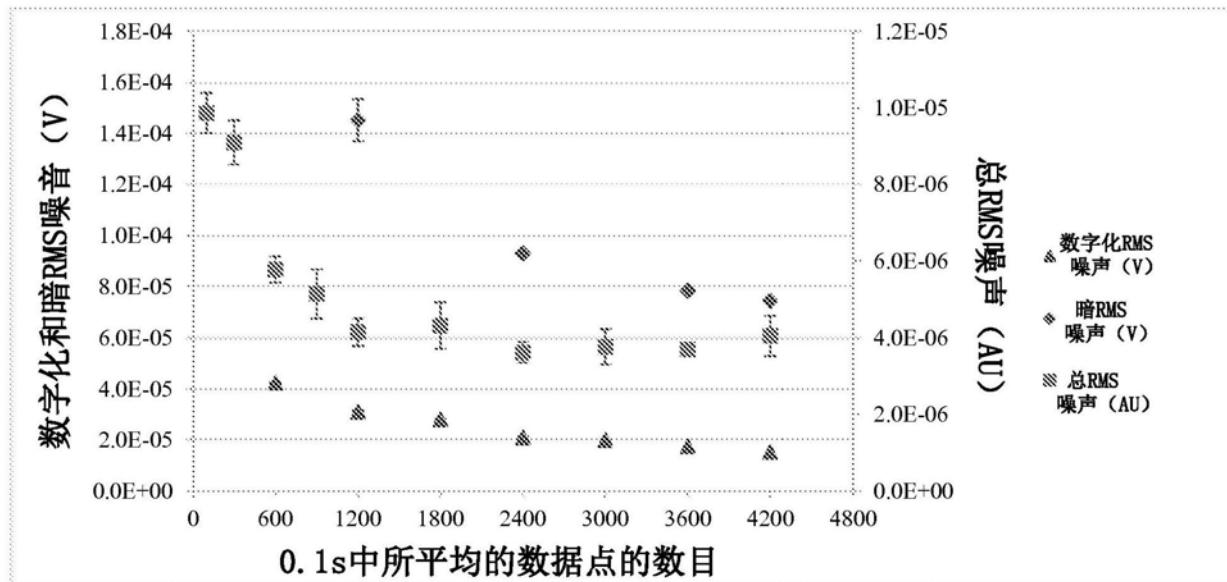


图7

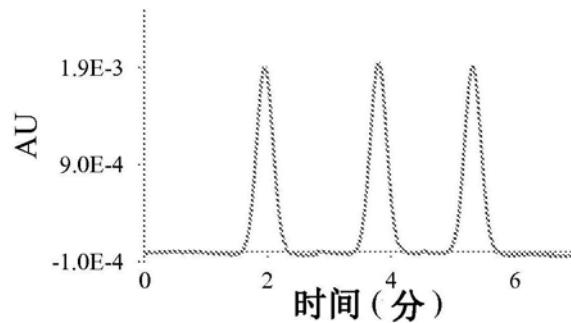
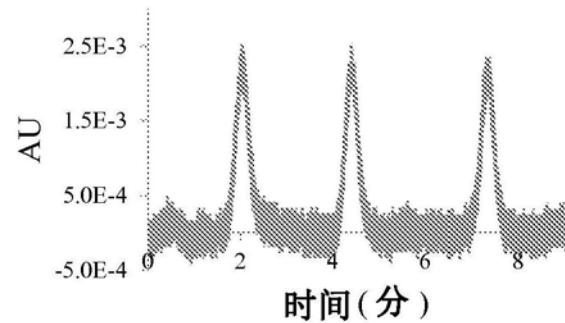


图8

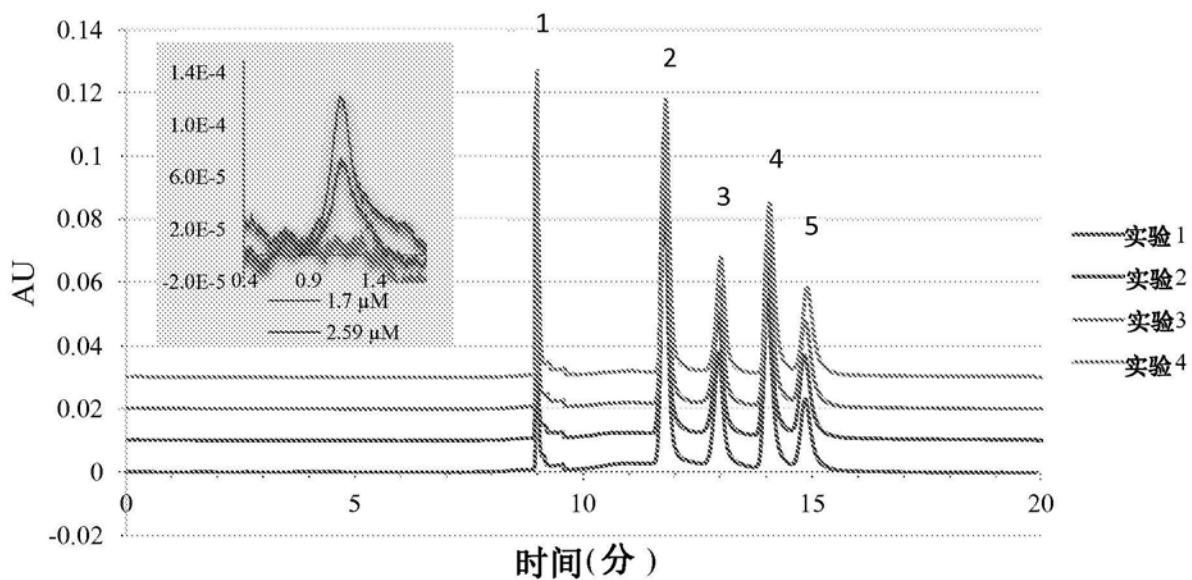


图9

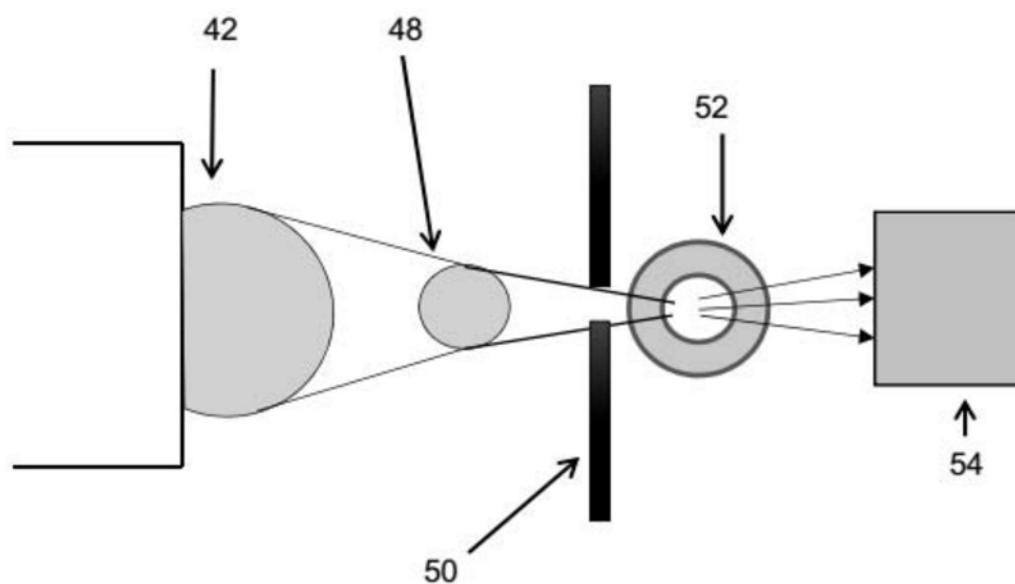


图10

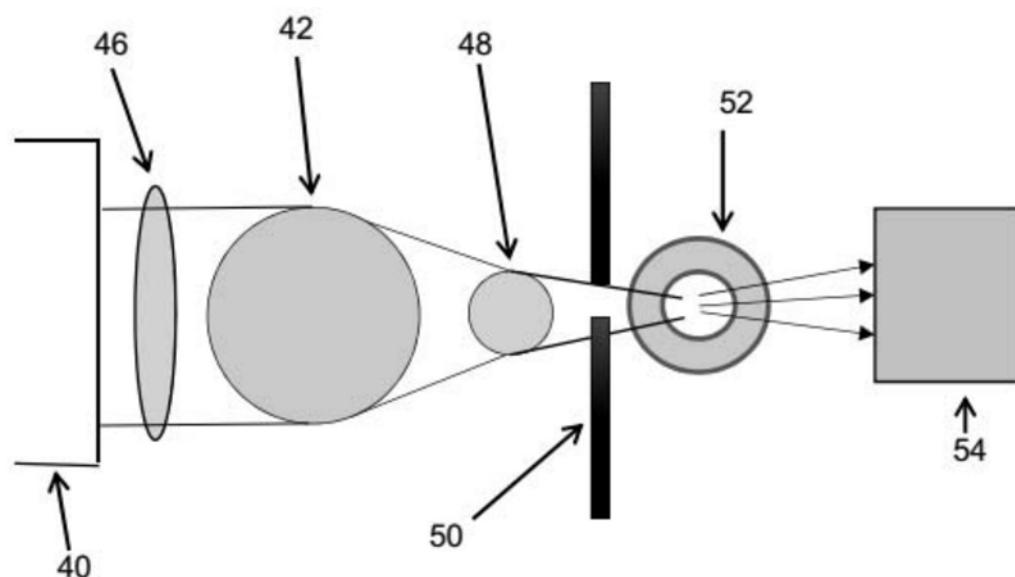


图11