



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106066308 A

(43)申请公布日 2016. 11. 02

(21)申请号 201610255517.4

(22)申请日 2016.04.22

(30)优先权数据

2015-089287 2015.04.24 JP

(71)申请人 株式会社岛津制作所

地址 日本京都府京都市中京区西之京桑原町1番地

(72)发明人 长井悠佑 小川佳祐 渡边真人
神宫句实子 藤原理悟 山崎智之

(74)专利代理机构 上海市华诚律师事务所
31210

代理人 徐乐乐

(51)Int. Cl.

G01N 21/31(2006.01)

G01N 21/64(2006.01)

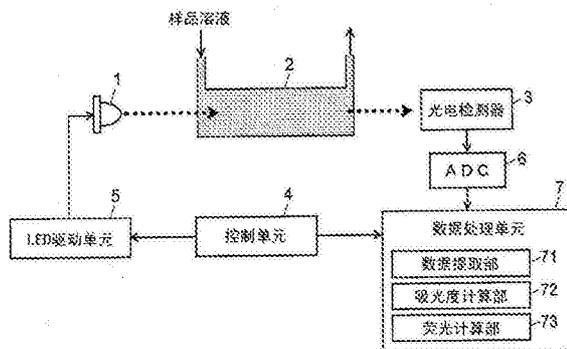
权利要求书1页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

光学分析器

(57)摘要

公开一种光学分析器。包括LED作为光源的光投射单元(1)发出的光投射进样品池(2),光电检测器(3)置于产生的穿过光可以被检测的位置。LED被驱动闪烁,数据提取部(71)提取LED打开期间获得的数据作为反映通过样品溶液的光的吸收的数据(吸光度数据)。此外在样品溶液包含荧光成分的情形中,荧光通过作为激发光的投射光发出。即使激发光停止后,荧光发射会持续短暂的时间,数据提取部(71)提取LED关闭后紧接获得的数据作为反映荧光的数据(荧光数据)。吸光度计算部(72)根据吸光度数据计算吸光度,荧光计算部(73)根据荧光数据计算荧光强度。因此可以对一个样品同时进行吸光度和荧光测量,而使用一个光电检测器,因此简化了光学系统的配置。



1. 一种光学分析器,其特征在于,包含:

a)光投射单元,所述光投射单元用于将光投射至目标样品内或目标样品上,所述光投射单元包括作为光源的发光半导体装置;

b)光检测单元,所述光检测单元放置在已经穿过所述样品的光能够被检测到的位置处,被检测到的光是从所述光投射单元投射至所述样品内或所述样品上的所述光;

c)光源驱动单元,所述光源驱动单元用于驱动所述光源以闪烁;和

d)信号处理单元,所述信号处理单元用于处理由所述光检测单元在所述光源驱动单元驱动所述光源打开的至少部分期间内获得的,作为其中反映了通过所述样品的吸收的信号检测信号,以及用于处理由所述光检测单元在所述光源驱动单元驱动所述光源关闭的至少部分期间内获得的,作为其中反映了来自所述样品的荧光的信号检测信号。

2. 如权利要求1所述的光学分析器,其特征在于,

所述光投射单元包括多个发光半导体装置作为所述光源,所述多个发光半导体装置具有不同的发射波长,和

所述光源驱动单元驱动所述多个光源同时闪烁,或者驱动所述多个光源中的一个光源选择性地闪烁。

光学分析器

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于并行地对样品进行吸光度测量和荧光测量的光学分析器。

背景技术

[0002] 为了检测已被液相色谱仪(LC)分离的液体样品中的成分,通常进行使用紫外可见分光光度计、光电二极管阵列(PDA)检测器等等的吸光度测量。此外,对于荧光成分和荧光标记的成分,在一些情况下,进行使用荧光分光光度计的荧光测量。虽然可以进行荧光测量的成分是有限的,但是通常,荧光测量的灵敏度远高于吸光度测量的灵敏度。因此,特别是在涉及对微量分析需求强烈的领域中,例如,生命科学、药物开发和环境测量,在相同的样品上并行地进行吸光度测量和荧光测量的需求是强烈的。

[0003] 为了在已被LC分离的液体样品上并行地进行吸光度测量和荧光测量,通常采用这样的配置,在该配置中,例如,两者均由PDA检测器组成的吸光度检测器和荧光检测器串行或者并行地连接到该LC的柱出口。在吸光度检测器和荧光检测器是串行地连接的配置中,穿过前级检测器的液体样品通过管被引入到后级检测器。因此,在时间方向上样品中的成分的扩散在后级检测器比在前级检测器大。这样会导致诸如色谱的峰宽扩大和峰顶高度减小的问题。同时,在吸光度检测器和荧光检测器并行地连接的配置中,必须将从LC的柱出口洗脱出来的液体样品划分成两路,并且分别将划分后的液体样品引入到两个检测器。这导致两个检测器没有测量相同的液体样品(即,目标液体样品中的成分的浓度可能稍有不同)和信号强度减小的问题。

[0004] 为了避免上述提及的问题,已开发一种能够对包含在池内的液体样品进行吸光度测量和荧光测量两者的装置。例如,一种在非专利文献中描述的装置包括两个光电检测器:用于吸光度测量的光电检测器,该检测器检测穿过样品的光;用于荧光测量的光电检测器,该检测器检测从样品发出的荧光,该荧光光电检测器被放置在穿过样品的光不会进入其的位置,并且这个设备可以同时地测量吸光度光谱和荧光光谱。专利文献1同样描述了根据一种跟专利文献1中配置相似的配置,荧光测量和吸光度测量可以被同时地进行。然而,根据这种配置,必须使用多个光电检测器,而且由于其光学系统的配置复杂会导致高额成本。

[0005] 专利文献2描述了一种装置包括:设置在样品和一个光电检测器之间的快门机构;用于将从样品发出的与入射光正交的方向上的光引导到光电检测器的光导。当进行吸光度测量时,打开快门,并且穿过样品的光到达光电检测器。当进行荧光测量时,关闭快门,并且穿过光导的荧光到达光电检测器。用这种方法,该设备可以进行吸光度测量和荧光测量两者。根据这个配置,虽然不是完全同时,但是光路通过快门被高速切换,因而能够基本同时地在相同的样品上进行吸光度测量和荧光测量。然而,即使根据这种配置,光学系统的配置、快门机构等是复杂的。

[0006] 引用列表

[0007] 专利文献

[0008] 【专利文献1】JP 2005-147826A(段落【0051】,图5)

[0009] 【专利文献2】JP 2006-503267A(段落【0025】到【0027】，图2)

[0010] 非专利文献

[0011] 【非专利文献1】山内进“环境技术介绍利用3维荧光测量装置的荧光性溶剂有机物的评价”，环技协，公益社团法人日本环境技术协会，2014年7月，p.18-19(Susumu YAMAUCHI,“Environmental Technology Introduction:Evaluations on Chromophoric Dissolved Organic Matters using Three-dimensional Fluorescence Measurement Apparatus”,“KANGIKYO”Magazine,Japan Environmental Technology Association, July,2014,p.18-19)

发明内容

[0012] 技术问题

[0013] 已被做出以解决上述问题的本发明的目的是提供能够对相同的样品基本上同时地进行吸光度测量和荧光测量的低成本、小尺寸的光学分析器，而使用相同的光电检测器，因此光学系统得以简化。

[0014] 问题的解决方案

[0015] 为达上述目的，根据本发明一种光学分析器包括：

[0016] a)光投射单元，所述光投射单元用于将光投射至目标样品内或目标样品上，所述光投射单元包括作为光源的发光半导体装置；

[0017] b)光检测单元，所述光检测单元放置在已经穿过所述样品的光能够被检测的位置处，被检测的光是所述光投射单元投射至所述样品内或所述样品上的所述光；

[0018] c)光源驱动单元，所述光源驱动单元用于驱动所述光源以闪烁；和

[0019] d)信号处理单元，所述信号处理单元用于处理由所述光检测单元在所述光源驱动单元驱动所述光源打开的至少部分期间内获得的，作为其中反映了通过所述样品的吸收的信号的检测信号，以及用于处理由所述光检测单元在所述光源驱动单元驱动所述光源关闭的至少部分期间内获得的，作为其中反映了来自所述样品的荧光的信号的检测信号。

[0020] 在根据本发明的光学分析器中，发光半导体装置代替传统使用的氙灯或氙气闪光灯被用作光源。发光半导体装置的实例在此包括发光二极管(LED)，超发光二极管(SLD)和激光二极管(LD)。发光半导体装置的发射光谱的峰宽通常较小，因此，从发光半导体装置发出的光可以被直接用作测量光，而不用通过昂贵的分光镜或单色器被转换为单色光。

[0021] 发光半导体装置直接将供给的电能转换成光能来发光，因此光发射的上升和降落极其迅速地跟随驱动电流的打开/关闭。因此，高速度的开/关操作，即，微秒级的打开/关闭操作的重复是可能的。因此，在根据本发明的光学分析器中，光源驱动单元驱动光源以预定频率闪烁。当光源被打开时，从光源发出的光作为测量光被投射进入样品内或投射至样品上，并且在穿过样品的同时被样品吸收。然后，在穿过的同时经历了吸收的光到达光检测单元。于是，信号处理单元对由光检测单元在光源被驱动为打开的至少部分期间内获得的，作为反映了通过样品的吸收的信号的检测信号进行预定的处理，并且因此，例如计算样品的吸光度。

[0022] 在样品包含荧光成分并且从光源投射的光的波长包括有效地作为激发光的波长的情形中，在各个方向上从已接收投射光的样品发出荧光。即使在光源被关闭且激发光停

止之后,来自样品的荧光的发射仍旧会持续一定的时间量,虽然这个时间是短暂的。于是,信号处理单元对由光检测单元在光源被关闭后紧接的一段期间内获得的,作为反映来自样品的荧光的信号的检测信号进行预定的处理,并且因此,例如计算来自样品的荧光的强度。

[0023] 虽然当光源被打开时获得的检测信号可能包含从样品发出的荧光的成分,但通常荧光的强度基本上低于穿过光的强度,由此其中包含的荧光在计算吸光度的时间不会导致任何问题。

[0024] 因为发光半导体装置的发射波长带窄,通常没有必要在光投射单元和样品之间的光路上提供诸如滤光器的光学元件来限制波长带,但是可根据需要放置光学滤光器以限制投射光的波长带。类似地,适当的光学滤光器或者偏振元件可以被放置在样品和光检测单元之间的光路中。

[0025] 用于激发荧光标记成分的激发光的波长视荧光物质的类型及其他因素而不同。因此,为了检测分别被荧光标记以多种不同的荧光物质的多种成分,可能需要将具有不同的波长的激发光投射进样品内或投射在样品上,但是该多个波长可能无法被一个发光半导体装置覆盖。

[0026] 在这种情况下,在根据本发明的光学分析器中,光投射单元可包含多个具有不同的发射波长的发光半导体装置作为光源,并且光源驱动单元可驱动多个光源同时闪烁或者可驱动多个光源中的一个光源选择性地闪烁。

[0027] 根据这个配置,具有不同波长的激发光同时地或者选择性地被投射进入样品内或样品之上,并且在激发光停止之后光检测单元立即检测从样品发出的荧光,借此,来自分别被荧光标记以不同的荧光物质的成分的荧光可以一起被检测。

[0028] 发明的优点

[0029] 根据本发明的光学分析器能够借助于一个光检测单元而不利用特定光学部件和诸如光导的光学元件来对被容纳在一个样品容器中的样品基本上同时地进行吸光度测量和荧光测量。因此,可以使用低成本、小尺寸的设备来进行吸光度和荧光的的同时测量。

附图说明

[0030] 图1是根据本发明实施例的吸光度/荧光检测器的示意配置图;

[0031] 图2A,图2B和图2C是本实施例的吸光度/荧光检测器的操作时间图;

[0032] 图3是根据本发明另一个实施例的吸光度/荧光检测器的光学测量单元的示意配置图;和

[0033] 图4是根据本发明另一个实施例的吸光度/荧光检测器的示意配置图。

具体实施方式

[0034] 在下文中,参考附图描述根据本发明实施例的吸光度/荧光检测器。

[0035] 图1是本实施例的吸光度/荧光检测器示意配置图,图2A,图2B和图2C是本实施例的吸光度/荧光检测器的操作时间图。有目标样品溶液在其中流动的样品池2连接到例如LC的柱出口,并且含有在柱中被时间地分离的多种成分样品溶液以基本恒定的流速在样品池2中流动。

[0036] 图1中,包括单个LED作为其光源的光投射单元1由LED驱动单元5供给的驱动电流

驱动以发光。从光投射单元1发出的光作为测量光和激发光被投射进入样品池2内。测量光的穿过样品池2的光,和通过激发光从样品池2中样品溶液发出的荧光,到达光电检测器3。只要光电检测器3对光投射单元1的发射波长和从样品发出的荧光的波长具有灵敏度,则不需要限制光电检测器3的元件类型。此外,包括在光投射单元1中的LED可能呈现含有激发光波长的发射光谱,该激发光用于目标样品溶液中的荧光成分(或被用于荧光标记的荧光物质)。

[0037] 在穿过光和荧光进入光电检测器3之后,光电检测器3产生检测信号。通过模拟数字转换器(ADC)6,检测信号在预定的采样间隔被转换为数字数据,并且该数字数据被输入到数据处理单元7。该数据处理单元7包括功能模块,例如数据提取部71、吸光度计算部72和荧光计算部73。控制单元4控制LED驱动单元5,并且向数据处理单元7发送时间控制信号,以便进行后述的吸光度和荧光的同时测量。

[0038] 虽然控制单元4和数据处理单元7可以使用包括微计算机的硬件电路配置,但通常,控制单元4和数据处理单元7的全部或部分功能可以通过在通用计算机上执行已安装在计算机上的用于控制和处理的专用软件来实现。

[0039] 接下来,描述本实施例的吸光度/荧光检测器的实例典型操作。

[0040] 控制单元4发送图2A所示的方波控制信号到LED驱动单元5和数据处理单元7。方波控制信号的频率可设置在,例如大约几赫兹到几千赫兹。当控制信号在H水平时,LED驱动单元5向光投射单元1供给预定的驱动电流,并且当该控制信号在L水平时停止供应驱动电流。LED驱动单元5包括恒流电路,并且该驱动电流的电流值总是保持不变。因为光投射单元1中的LED被高速地打开/关闭,当控制信号在H水平时,LED被打开,并且当控制信号在L水平时,LED被关闭。即,被包括在光投射单元1中的LED以方波控制信号的周期闪烁。

[0041] 当LED被打开时,从光投射单元1发出的光被投射进入样品池2内,并且穿过样品池2。在这个过程中,部分光被样品池2中的样品溶液所吸收,因此减小的光量到达光电检测器3。光电检测器3根据入射光的强度(量)输出检测信号,因此,当控制信号在H水平时,从光电检测器3输出的检测信号是其中反映了样品池2中样品溶液的吸收的程度的信号。在样品溶液包含荧光成分的情形中,该成分接收光以发出荧光。因为该荧光向每个方向发射,所以部分荧光会到达光电检测器3,但是此荧光的影响几乎不会产生问题,因为该荧光的强度通常地低于穿过光的强度。

[0042] 当打开状态的LED被关闭后,测量光的穿过样品溶液的光自然地停止,但是通过在关闭的前一刻被投射至样品溶液且作为激发光的光而从样品溶液中的荧光成分发出的荧光将持续发射一段时间,即使在该激发光停止之后,虽然这个时间较短(通常,大约亚纳秒到100纳秒)。因此,光电检测器3在控制信号从H水平变化到L水平后紧接的预定时间内输出的检测信号是其中仅反映了从样品溶液中的荧光成分发出的荧光的信号。

[0043] 考虑到上述内容,在数据处理单元7中,数据提取部71,根据控制单元4给出的控制信号,从时间序列连续数据中,提取其中反映通过样品溶液的光的吸收的数据,和其中仅反映来自样品溶液的荧光的数据。

[0044] 具体地,如图2B所示,数据提取部71提取在控制信号为H水平的期间所获得的数据,作为其中反映了通过样品溶液的光的吸收的数据(吸光度数据)。同时,如图2C所示,数据提取部71提取在控制信号从H水平变为L水平后紧接的预定期间内获得的数据,作为反映

荧光的数据(荧光数据)。因此,基本上相同的样品溶液的吸光度数据和荧光数据可以从通过将由一个光电检测器3获得的检测信号数字化所获得的数据来获取。

[0045] 为了避免在随后的吸光度测量中,在荧光测量中产生的长寿命的荧光被错误地作为穿过光而被检测麻烦,数据不被检测的非检测期间可在控制信号在H水平和L水平之间被切换之前和之后中的其一或两者提供。

[0046] 吸光度计算部72接收吸光度数据,并根据类似常规算法的已知算法计算样品溶液的吸光度。同时,荧光计算部73接收荧光数据,并计算从样品溶液中的荧光成分发出的荧光的强度值。样品池2中样品溶液的流动比光投射单元1中的LED的闪烁周期更慢。因此,在LED被几次打开/关闭的期间内,样品池2中的样品溶液可以被认为是相同的(即,样品溶液中的成分可以被认为是没有改变的)。考虑到这点,吸光度计算部72和荧光计算部73,可分别累计基于大量的LED时间上连续的闪烁所获得的吸光度数据片段和荧光数据片段,并因此计算吸光度和荧光强度。这可以增强吸光度和荧光强度的计算精度和敏感度。

[0047] 以如上所述的方式,本实施例的吸光度/荧光检测器可对一个样品基本同时地进行吸光度测量和荧光测量,而使用一个光电检测器,因此,简化了光学系统的配置。因此,例如,使用低成本、小尺寸的检测器,被LC分离的各种成分的吸光度和荧光强度能够获得。

[0048] 因为荧光的寿命同样取决于荧光物质的种类,显然,在利用荧光物质标记目标成分的情况下,使用具有长寿命的荧光的物质是更加有利的。

[0049] 在上述提及的实施例中,从光投射单元1发出的光被直接投射进入样品池2,并且穿过样品池2的光和从样品池2发出的光被直接引入到光电检测器3。另外,其他光学元件,例如具有预定的透射特性的光学滤光器,可被设置在光投射单元1与样品池2之间的光路,和样品池2与光电检测器3之间的光路中的任何一个光路中或者两个光路中。图3是光学滤光器8A和8B被分别设置在两个光路中的情况下,吸光度/荧光检测器的光路配置图。

[0050] 具有能够选择有效地作为激发光的波长 λ_1 的透射特性的光学滤光器8A被设置在光投射单元1和样品池2之间的光路中。此外,具有能够选择有效地作为激发光的波长 λ_1 和由激发光激发的且从样品成分发出的荧光的波长 λ_2 的透射特性的光学滤光器8B被设置在样品池2和光电检测器3之间的光路中。虽然LED的发射光谱的峰宽通常较窄,但是具有除了用于测量的波长外的波长的光可能会变成噪声,从而导致测量精度的降低。为了解决这个问题,根据图3所示的配置,具有对于测量来说不必要波长的光被防止进入光电检测器3,因此测量精度可以得到增强。

[0051] 在上述提及的实施例中,具有给定的特定波长的光被用作测量光和激发光。但是,在包含具有不同的荧光特性或被标以不同的荧光物质的多个成分的样品被LC分离且被检测的情况下,可能需要使用具有多个波长的光作为激发光。

[0052] 在这种情况下,如图4所示,具有不同的发射光谱的多个LED可被用于光投射单元1B,并且控制单元4可控制LED驱动单元5同时地使得多个LED被打开/关闭,或可控制LED驱动单元5选择性地使得多个LED中的一个被打开/关闭。在选择性地使得LED被打开/关闭情况中,可以进行时分操作,用于重复地使得多个LED依序被打开/关闭。

[0053] 在选择性地闪烁多个LED的情况中,例如,要被驱动以闪烁的LED可以依据LC中的目标成分的滞留时间而被切换,但是如果LED具有不同的发射波长,则吸光度比较是困难的。因此,例如可提前检查取决于LED的不同的发射波长的在同样成分的吸光度上的差异,

并且基于检查的差异,使用不同的LED所获得的吸光度测量结果可以被校正为可比较的。

[0054] 虽然在图1、图3和图4的说明中被省略,但是,从LED发出的光的量通常与温度有关。为了减少温度的影响,期望的是,实施温度控制,用于将光投射单元1或1B中的LED位置在基本不变的温度,或实施反馈控制,其中从LED发出的一部分光被监控,并且给LED的驱动电流被控制以使得被监控的光被维持在基本不变的量。在本实施例的吸光度/荧光检测器用作LC的检测器的情况下,本检测器被放置在用于将柱的温度维持在基本不变的温度的柱加热炉内,借此光投射单元1或1B的温度也可由柱加热炉调节。

[0055] 尽管在每个上面提及的实施例中,LED被用作光源,但使用除LED外的其他发光半导体装置,例如超发光二极管(SLD)或激光二极管(LD),作为其的光源的光学分析器也可以类似的方式被配置。

[0056] 应该注意到,上述提及的实施例及其变形仅仅是本发明的实例,即便在本发明要旨内适当做出的改变、修改或添加,也将自然落入本申请权利要求的范围。

[0057] 参考标记列表

[0058] 1,1B...光投射单元

[0059] 2...样品池

[0060] 3...光电检测器

[0061] 4...控制单元

[0062] 5...LED驱动单元

[0063] 7...数据处理单元

[0064] 71...数据提取部

[0065] 72...吸光度计算部

[0066] 73...荧光计算部

[0067] 8A,8B...光学滤光器。

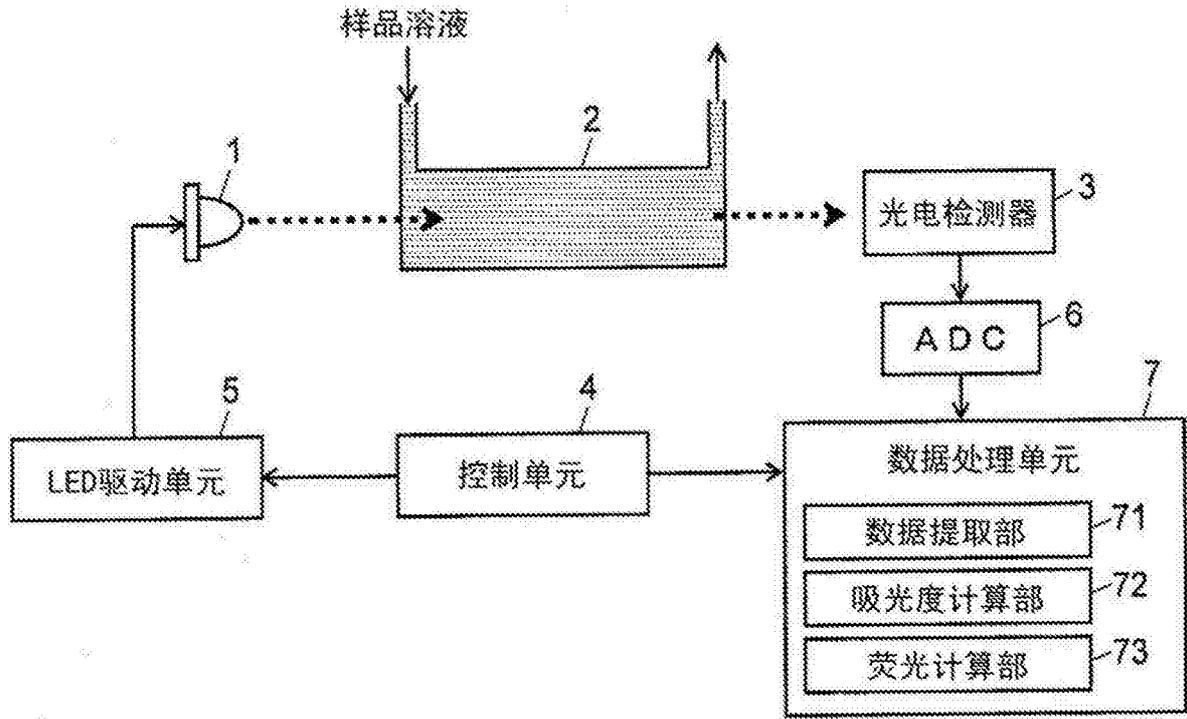


图1

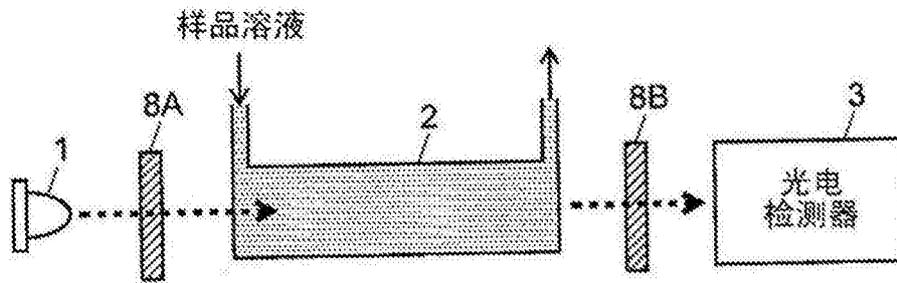
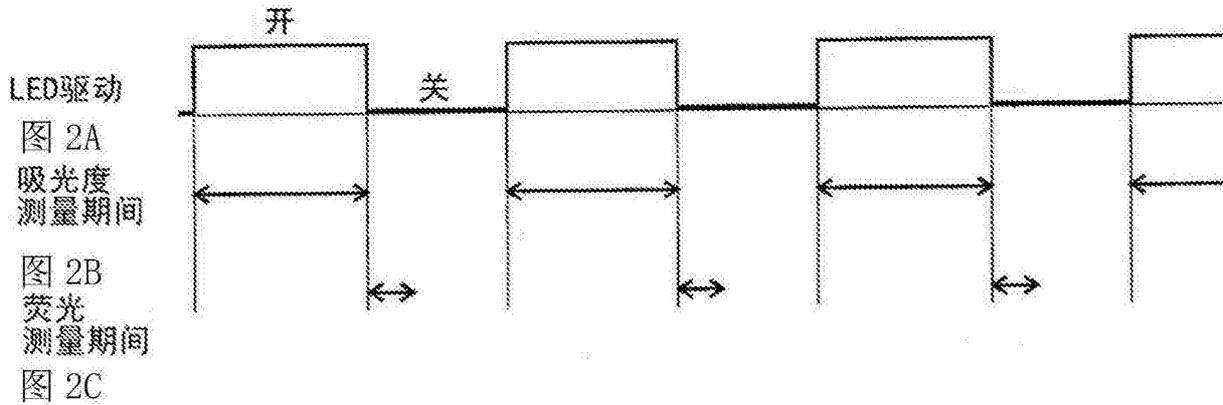


图3

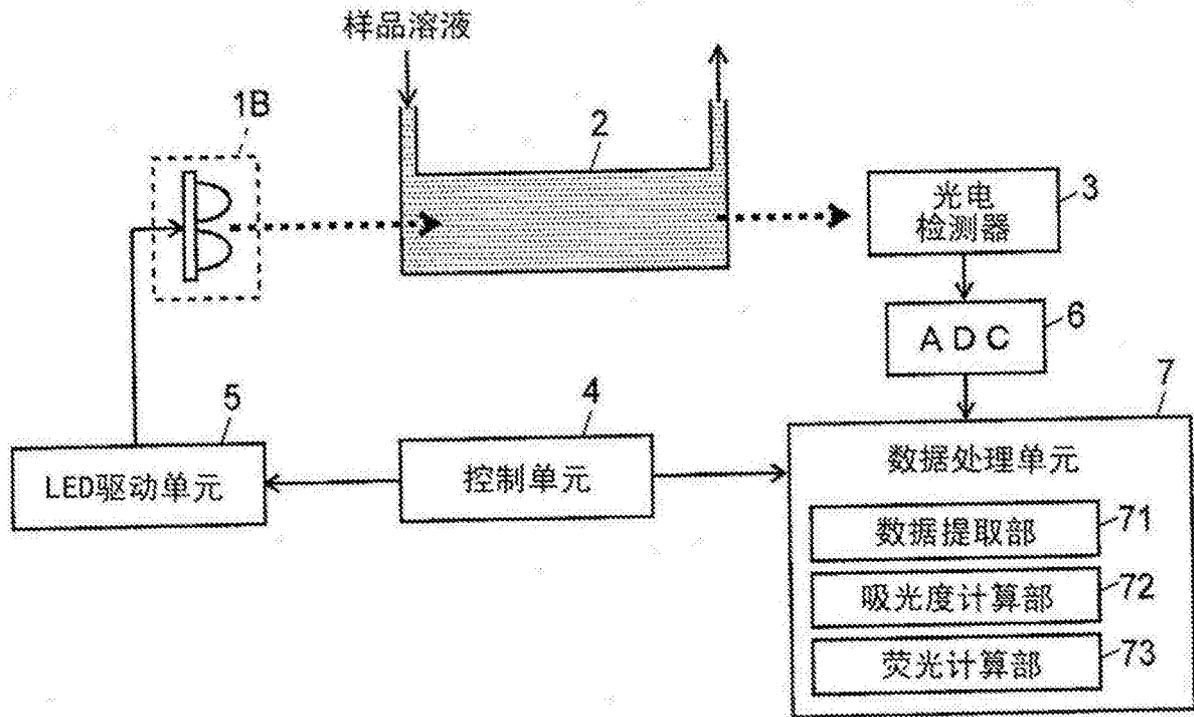


图4