

LMA-3 型激光微量物质分析仪^①

党建明^② 王克权 贾维庄 张乃昌 刘君涛 李晓尧

核工业北京地质研究院 100029

摘要 LMA-3 型激光微量物质分析仪是用小型封闭式紫外脉冲激光器做激发光源,根据激光-时间分辨荧光分析原理设计的一种通用型微量物质分析仪器。仪器由激光器系统和测量系统两部分组成,适用于发光寿命在 $1\mu\text{s}\sim 10\text{ms}$ 的物质测量。该仪器灵敏度高、选择性好、操作简单、有较好的稳定性和可靠性,检出下限可达 $10^{-13}\text{g/ml}(\text{Eu})$,在 $1\times 10^{-10}\sim 2\times 10^{-8}\text{g/ml}$ 量级测量时 RSD 在 5%~10% 范围。

关键词 激光 时间分辨 荧光 测量

1 概述

激光-时间分辨荧光分析法是近几年才发展起来的一种全新分析技术。目前,美国、日本、加拿大等许多国家都大力开展了对此方法的研究,并且较快地将所取得的成果应用于原子能、地球化学找矿、环境保护、生物医学工程和食品检验等部门。

加拿大先达利公司曾推出过 UA-3 型激光铀分析仪和 MU-4 型在线铀分析仪;国内,核工业总公司北京第三研究所、第五研究所等单位相继研制过各型激光测铀装置。先达利公司仪器和国内 JU-1 型^[1]仪器皆以小型封闭式紫外脉冲激光器做光源,但条件固定,不能做时间分辨,只是用来测铀。国内其它几种仪器是采用循环式紫外脉冲激光,体积较大、外围辅助设备较多,测量条件也是固定的,只是用于测铀。另外,瑞典 LKB 公司最新推出 ARCUS 1230 荧光测定仪是采用氘灯做光源,专用于以 Eu 做标记物进行免疫分析

的。

本课题研制的 LMA-3 型激光微量物质分析仪是在 LMA-1 型^③及 LMA-2 型仪器基础上,利用先进的电子技术,充分考虑不同用户要求而最新设计的。较之前两种型号, LMA-3 型的改进之处在于:整机采用高集成度 CMOS 电路,使功耗大大降低,抗干扰能力提高;激光器做了改进,减小寄生参量,缩短脉冲形成时间,提高了激光强度,降低器件的故障率;各主要电路全部数字化,尽量使用模块电路,使仪器稳定性进一步提高。所研制的各型激光微量物质分析仪得到了原子能科学研究院^④、地矿部岩矿测试技术研究所^[2]、核工业北京地质研究院^⑤等单位的大力配合,已完成了 10 多种元素(物质)的痕量分析研究,检出下限最低可达 $1\times 10^{-13}\text{g/ml}(\text{Eu})$ 量级。特别是原子能科学研究院利用该仪器做了激光-时间分辨免疫分析的研究,并完成了

① 本课题为核工业总公司纵向课题(8328),仪器已批量生产,有兴趣的用户可与作者联系。

② 党建明 男,工程师;王克权 男,工程师,俩人均为电子仪器专业。

③ 该仪器在 1992 年被国家专利局授予发明专利,专利号(申请号) 89104227·X。

④ 徐永源,冯爱南,赵永刚. LMA-1 型激光微量物质分析仪使用报告. 中国原子能科学研究院. 1988 年 7 月。

⑤ 刘然,徐作馥. 利用 LMA-1 型激光微量物质分析仪分析钆. 核工业北京地质研究院. 1988 年 11 月。

以 Tb 做标记物的尿中白蛋白分析^①。另外, 厦门大学化学系、山西大学化学系等单位还利用该仪器进行了分子发光寿命特性以及光谱特性的研究。

LMA-3 型仪器的出现, 将有力地推动我国微量分析及荧光分析研究的发展。

2 分析方法原理

液体中处于基态能级的被分析物质分子如果吸收外部激发源的能量, 便跃迁到高能级。由于受激分子能级状态取决于分子的量子化吸收, 它既可以跃迁到第 1 激发态, 也可以跃迁到第 2 激发态。因此物质的量子化吸收构成了物质的吸收光谱, 每种能产生发光的物质都有其特定的吸收光谱。由于受激发的分子从第 1 激发态上以不同的路径回到基态, 故分子发光有荧光、磷光和延迟荧光之分。不同物质的能级构成不同, 所以有不同的发射光谱。此外, 不同物质的分子在第 1 激发态上停留的时间长短不同, 所以不同的物质发光寿命也不同。由此, 不论是荧光、磷光或延迟荧光(统称为发光)表征其特性的都有 3 个参数。一是吸收光谱, 二是发射光谱, 三是发光寿命。

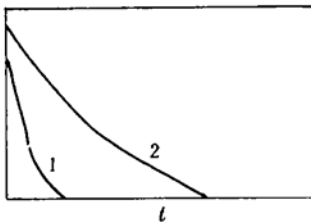


图 1 荧光和磷光的信号

1—荧光信号;

2—磷光信号(或延迟荧光)。

图 1 给出了荧光、磷光(或延迟荧光)的

信号图。由图中可以看出它们的波形基本呈指数衰减形式, 即:

$$F = Ae^{-\frac{t}{\tau}}$$

$$\ln F = -\frac{t}{\tau} + C_0$$

其中: 斜率为 $-\frac{1}{\tau}$, 把 τ 定义为其寿命, C_0 为截距。

某一发光物质稀溶液用紫外光照射时, 发光强度与它所含荧光物质的浓度成正比, 即:

$$F = \Phi 2.3 I_0 \epsilon C L$$

其中: F 为发光强度; Φ 为发光效率, 即被测物质发出的光量子数与它吸收的光量子数之比; I_0 为入射紫外光强度; ϵ 为发光物质对紫外光的摩尔吸光系数; C 为发光物质浓度; L 为激发光透过液层的厚度。

在一定条件下, 当照射的紫外光强度和波长一定时, 式中 Φ 、 I_0 、 ϵ 均为常数, 因此有:

$$F = KCL$$

在选定条件下, 根据上式测量荧光强度, 就可以求得荧光物质的浓度, 这就是荧光分析法的定量数学基础。

由图 1 可知, 当激光脉冲结束后, 受激而产生的发光呈指数衰减。根据被测发光物质和干扰物质的发光光谱特性和寿命特性, 就可以有效地把被测发光物质的荧光信号取出。以高于常规荧光分析法的信噪比和灵敏度来进行微量分析。

3 技术关键

① 根据需测量较短荧光(磷光)寿命物质的要求, 激光器必须进一步减小寄生参量的影响以缩短脉冲形成时间。因此, 重新研制了激光器件和有关的自动控制电路, 使激光

① 徐永源, 王衍真, 刘秀红. 激光-时间分辨荧光技术在免疫分析中的应用——尿中白蛋白荧光免疫分析. 中国原子能科学研究院. 1988 年 7 月。

强度大大提高、激光脉冲进一步变窄、大幅度降低了故障率。其激光管使用时间较早期激光测铀仪延长 1 倍,即由 500h 提高到 1000h (约 5×10^7 次)。

② 由于测量的荧光寿命较短且寿命变化范围较大,所以需要研制脉冲响应更好、通带更宽的测量电路。

③ 仪器内外许多因素对测量都将形成强大干扰,特别是仪器内的激光器在激光形成的瞬间,电流变化率达到每秒钟几千安培,形成强大的磁场。磁场通过空间或电流通过电源及地线等,均影响电路正常可靠地工作。因此,需要从仪器的电路设计、安装工艺和结构等方面采取措施,有效地克服这些干扰。

④ 为完成在仪器指标范围内对不同荧光(磷光)寿命的测量要求,测量时间和延迟时间必须准确可靠,变换时不产生误差并方便地重复。所产生的取样控制信号也必须准

确、稳定。

4 仪器总体结构及工作过程

LMA-3 型激光微量物质分析仪的整机可分为两部分,其一是激光器系统,其二是测量系统。各部分结构框图及工作过程简述如下。

4.1 激光器系统

激光器系统电路总框图如图 2 所示,产生脉冲激光的过程为:高压产生电路产生高压后经 R_1 、 R_2 使 C_1 、 C_2 充电到某一高压值,之后由一个控制信号使闸流管导通,在 C_1 高速放电后,由于 C_2 放电时间常数远大于 C_1 ,所以 C_1 来不及放电,于是在激光管两电极之间形成高电压差激发管内的气体分子到高能级。被激发的气体分子由高能级返回到低能态时产生超辐射脉冲激光。如此不断循环,不断产生激光脉冲。

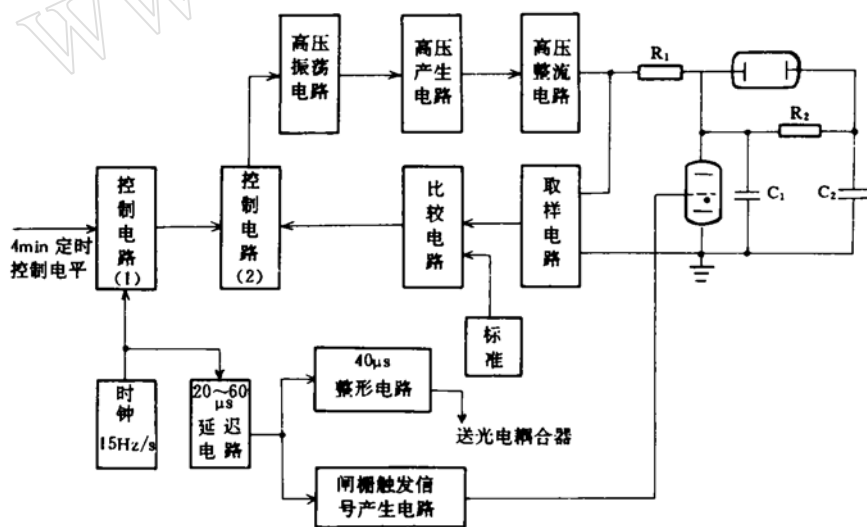


图 2 激光器系统电路总框图

为了保证激光的稳定性,要求所产生的高压要稳定、重复性要好。如图 2 中时钟电路产生 15Hz 的矩形时钟方波,此脉冲信号一方

面通过延迟及整形电路后产生测量系统的同步信号和闸流管的闸栅触发信号,另一方面经控制电路 1 送到控制电路 2 以控制高压振

荡器工作,经过整流倍压后通过 R_1 和 R_2 给电容 C_1 和 C_2 充电。另外取样电路的输出随着高压的产生而升高,当此电压达到比标准电压略高时,比较电路的输出便由低电平变高电平,于是此电平使控制电路 2 的输出又由高电平返回到低电平,高压振荡器振荡停止,不再产生高压,这样就形成了产生激光的几个必要条件。

本设计的激光器是氮分子脉冲式激光器,光脉冲宽度为 $5 \times 10^{-9}s$,瞬时功率在 $15 \sim 20kW$,主要输出光脉冲波长为 $337.1nm$,此外尚有 $357.7nm$ 和 $380.5nm$ 等,发光频率为 $12 \sim 15Hz$ 。

4.2 测量系统

测量系统电路框图如图 3 所示,具体工作过程是:首先由拨盘把所选定的延迟时间

和测量时间置入延迟和测量时间产生电路。按启动键,光电耦合器的输出信号通过主控电路产生主控信号。该信号一方面使荧光取样信号产生电路产生荧光取样控制信号,另一方面还使激光取样信号产生电路产生激光取样控制信号。此外,当主控电路产生的主控信号个数等于预先设定的测量累计次数时,主控电路还输出一个 A/D 转换控制信号,此信号控制 A/D 转换器把已经累积的荧光强度和激光强度转换成数字量,并由显示器显示最后结果。

测量系统的荧光道和激光道的模拟信号分别来自光电倍增管的输出和硅光电池的输出,而后经过各自的匹配放大电路及各自的线性门送到积分器累积。

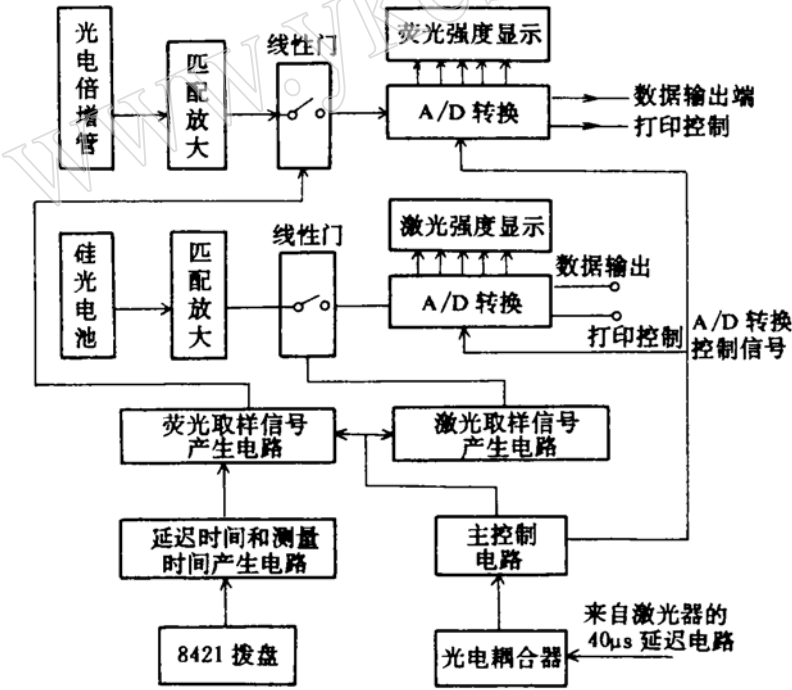


图 3 测量系统电路框图

5 仪器的主要技术指标

① 根据不同荧光物质荧光寿命的差异

在 $1\mu\text{s}(1\times 10^{-6}\text{s})$ 到 $10\text{ms}(1\times 10^{-2}\text{s})$ 4 个量级内改变延迟和测量时间,改变的最小时间间隔为 $1\mu\text{s}$,并能系统地测出被测物质在此时间范围内的寿命曲线。

② 能根据不同被激发发光物质的发光波长的差异,通过更换滤光片达到对被测物质发光波长的测量要求。

③ 同步记录被测物质的发光强度和激发该物质发光的激光强度,因此可以较准确地校准由于激光强度变化给发光测量造成的误差。

④ 可根据被测量物质的发光效率和对测量精度的要求,在 20、40、60、80、100、120、140、160、180、200 次共 10 档范围内改变每次测量的累计次数。

⑤ 直接测量液体样品,对于固体样品转化成液体样品,不需要分离富集亦可快速测量。

⑥ 工作条件为:环境温度 $10\sim 35\text{C}$;相对湿度 $<80\%$ (35C);电源 交流 $220\text{V}\pm 22\text{V}$, $50\text{Hz}\pm 0.5\text{Hz}$ 。

用该仪器测量 U,其主要技术指标为:

检出下限 $1\times 10^{-11}\sim 2\times 10^{-11}\text{g/ml}$ 。

测量精度 $1\times 10^{-10}\sim 2\times 10^{-9}\text{g/ml}$ 范围为 $\pm 5\%$; $2\times 10^{-9}\sim 2\times 10^{-8}\text{g/ml}$ 范围为 $\pm 4\%$ 。

量程范围 $0\sim 2\times 10^{-8}\text{g/ml}$,如果改变灵敏度可以扩展到 $1\times 10^{-6}\text{g/ml}$ 量级。

测量线性 样品浓度和发光强度计数的相关系数大于 0.99。

稳定性 经激光校准对浓度为 $2\times 10^{-9}\text{g/ml}$ 标准铀样,3.5h 计数最大计数相对偏差小于或等于 $\pm 8\%$ 。

6 应用

本仪器在原子能、地球化学、找矿、环保、医药卫生、生物医学和食品检验等需要做微量物质分析的部门,有着巨大的应用潜力。适用于对激发发光寿命在 $1\mu\text{s}\sim 10\text{ms}$ 范围内物质的测量。曾用 LMA-3 型激光微量物质分析仪对某些物质做了分析开发研究,其水平如下。

6.1 元素类物质检出下限(g/ml)

U	1×10^{-11}	Tb	6×10^{-12}
B	1×10^{-11}	Se	2×10^{-11}
Eu	1×10^{-13}	P	7×10^{-11}
Sm	3×10^{-13}	Pd	3×10^{-10}
Dy	4×10^{-11}		

6.2 化合物类

做尿中的白蛋白分析,其测量范围为 $1\sim 225\text{mg/L}$ 。此外,尚在做其它一些免疫分析和阴离子分析的开发工作。

7 参考文献

- 1 张乃昌,成其谦,赵宝玲. JU-1 型激光铀分析仪. 核电子学与探测技术. 1982,2(4):1.
- 2 杜安道,杨桂芳,周肇茹,李蓉华. 激光荧光法测定地质样品中痕量铀. 岩矿测试. 1989,8(3):208.

(收稿日期:1994-03-01,修回日期:1994-06-05)

Model LMA-3 Laser Analyzer for Trace Substances

Dang Jianming, Wang Kequan, Jia Weizhuang

Zhang Naichang, Liu Juntao, Li Xiaoyao

(Beijing Research Institute of Uranium Geology, 100029)

This general-purpose instrument consists of a pulse-laser system as exciting source and a measurement system, and is based on laser-time resolved fluorimetry principles. The instrument is suitable for measurements of materials with $1\mu\text{s}\sim 10\text{ms}$ fluorescent lifetimes. It is characterized by high sensitivity, good selectivity, simple operation, good stability and reliability, and low limit of detection (10^{-13}g/ml Eu), the RSD is $5\%\sim 10\%$ for measurements with $1\times 10^{-10}\sim 2\times 10^{-8}\text{g/ml}$ quantities.

Key words: laser, time-resolved, fluorimetry, measurement system

- 用于分析化学的表面活性剂和环糊精等的理论和应用最新成就
- 各大专院校、科研单位、工矿企业分析专业人员的良师益友

欢迎订阅

《新分析增效试剂》

杭州大学出版社出版 戚文彬 戚志红 编著

大32开 200千字 定价:6.50元 1994年6月出版

分析化学中的增效试剂,对分析化学起“如虎添翼”的作用。本书是作者前著《表面活性剂与分析化学》的续篇,重点介绍:① 分析化学中应用的表面活性剂的开发、应用和理论的新成就;② 各类环糊精及其衍生物(非离子型、离子型和两性型)在分析、分离、富集中的应用及发展前景;③ 环糊精与表面活性剂等组合的混合增效试剂的发展和优越性。内容中理论与应用并重,并结合作者的研究心得和成果。每章还介绍了大量最新文献。

本书是各行业分析专业人员及大中专院校分析专业师生很好的参考书,也可作硕士研究生和大学本科高年级选修课教材。对于已读过和欲购未得《表面活性剂与分析化学》的读者,则将成为良伴。

汇款方式:① 银行汇款:杭州大学出版社,开户行:杭州市工商银行保俶路分理处,帐号:24514424767。② 邮局汇款:杭州大学出版社发行部杨厥正(邮编:310028,地址:杭州市天目山路34号)。

注意事项:① 银行汇款除在汇单上附注订数和邮编外,务请将订购回执单加盖公章后寄回(以凭单发书,不至因银行汇款速度慢或出错而耽误发书)。② 邮局汇款请在汇款附注栏注明订数和邮编,以防错漏。③ 订购数不足100册,加收10%邮寄费;订购数在100册以上,免收10%邮寄费。