

В.И. Алехнович, С.Г. Сазонкин,  
Д.А. Дворецкий, Л.К. Денисов

## **ВОЛОКОННЫЙ СПЕКТРОФЛУОРИМЕТР ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ ХАРАКТЕРИСТИК ОПТИЧЕСКИХ СРЕД**

*Приведено описание волоконного лазерного спектрофлуориметра для аналитического контроля объектов окружающей среды, технологических процессов и диагностики различных заболеваний. Рассмотрена возможность применения волоконного спектрофлуориметра для различных задач. Приведены схемы измерения и описаны преимущества волоконных спектрофлуориметров.*

**E-mail: vial@bmstu.ru**

**Ключевые слова:** *волоконный спектрофлуориметр, люминесценция, спектроскопия.*

Волоконный флуориметр для лазерной спектроскопии (спектрофлуориметр) предназначен для измерения массовой концентрации неорганических и органических примесей в воде, а также в воздухе, почве, технических материалах, пищевых продуктах как после перевода примесей в раствор, так и в твердом дискретном состоянии. Применяется для аналитического контроля объектов окружающей среды, санитарного контроля и контроля технологических процессов, в диагностике различных заболеваний.

Среди биоорганических соединений, которые представляют наибольший интерес для исследований, необходимо отметить соединения, входящие в состав выделений эндокринной железы, в кровь и продукты ее разложения и деструкции, в слюну и т. д. Лазерно-люминесцентные методы позволяют провести анализ соединений массой до  $10^{-9}$  г с поверхностной плотностью, не превышающей долей монослоя.

С помощью флуоресцентных зондов можно исследовать молекулярные механизмы возникновения и развития патологических процессов, действие на организм биологически активных веществ и лекарственных препаратов. Флуоресцентные зонды применяются также для диагностики и прогноза развития заболеваний, выявления факторов риска и контроля эффективности лечения. Зондовая флуоресценция чувствительна к структурно-функциональным изменениям в биологических мембранах, микровязкости ее липидного биослоя, связыванию с белками и другими веществами, структурным перестройкам в белках, изменению мембранного потенциала и концентрации внутриклеточного кальция и др. Анализируя спектр флуорес-

ценции клеток и мембран, связанных с зондом, можно определить полярность микроокружения флуорофора. Интенсивность и время жизни флуоресценции зонда характеризуют подвижность сольватной оболочки, поляризация флуоресценции — вращательную подвижность, ориентацию и вязкость микроокружения зонда. Тушение флуоресценции зонда посторонними веществами позволяет установить доступность флуорофора для тушителя, его локализацию в белках и мембранах клеток и их проницаемость для тушителей, скорость диффузии. По переносу энергии возбуждения с мембранных белков на флуоресцентный зонд и по степени эксимеризации зонда можно определить концентрацию элементов зонда, расстояние между флуорофорами и вязкость среды, окружающей зонд [1].

Поскольку чувствительность флуоресцентного метода очень высока, для его применения необходимы не менее чувствительные приборы. В лабораторной и научно-исследовательской практике для регистрации спектров флуоресценции применяют спектрофлуориметры. Основными их узлами являются источник возбуждающего света, монохроматоры для выделения как возбуждающего, так и испускаемого света, фотоумножители и регистрирующее сигнал электронное устройство (компьютер). Спектрофлуориметр должен снабжаться универсальными и надежными оптическими деталями — затворами, системой расщепления светового пучка, поляризаторами, дифракционными решетками, оптическими фильтрами и др. В свою очередь, каждый из узлов прибора должен соответствовать максимальным требованиям, предъявляемым к работе идеального спектрофлуориметра [2], а именно:

- источник света должен иметь постоянный выход фотонов на всех длинах волн;
- монохроматор должен пропускать фотоны всех длин волн с равной эффективностью;
- эффективность монохроматора не должна зависеть от поляризации;
- приемник (фотоумножитель) должен регистрировать фотоны всех длин волн с одинаковой эффективностью;
- возможность с высокой точностью исследовать вещества в местах с ограниченным доступом.

К сожалению, одновременно выполнить поставленные задачи невозможно. Поэтому в настоящее время для получения и регистрации спектров флуоресценции используют спектрофлуориметры различных видов [3].

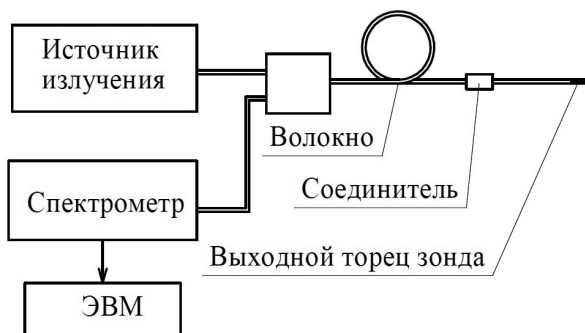
В последние годы взгляд на измерительную технику претерпел существенные изменения, значительно возросли требования, предъ-

являемые к создаваемым измерительным устройствам и системам, в частности должны обеспечиваться:

- высокие надежность, стабильность, прочность и стойкость к воздействию внешних факторов;
- снижение размеров и массы;
- высокое быстродействие;
- низкое энергопотребление.

Проблема доставки излучения до места исследования решается с помощью волоконных флуориметров. Волоконные спектрофлуориметры имеют меньшую массу и размеры по сравнению с аналогами, что делает их более гибкими в использовании и позволяет использовать в полевых условиях [4].

На рис. 1 приведена структурно-функциональная схема установки для исследования спектра флуоресценции. Излучение от полупроводникового лазера на длине волны генерации поступает по волокну на исследуемую поверхность и поглощается на ней. Люминесцентное излучение попадает через волокно на входную щель спектрометра с возможностью сканирования спектра в пределах 300...1100 нм. Результаты измерения спектра флуоресценции представлены на дисплее ЭВМ.



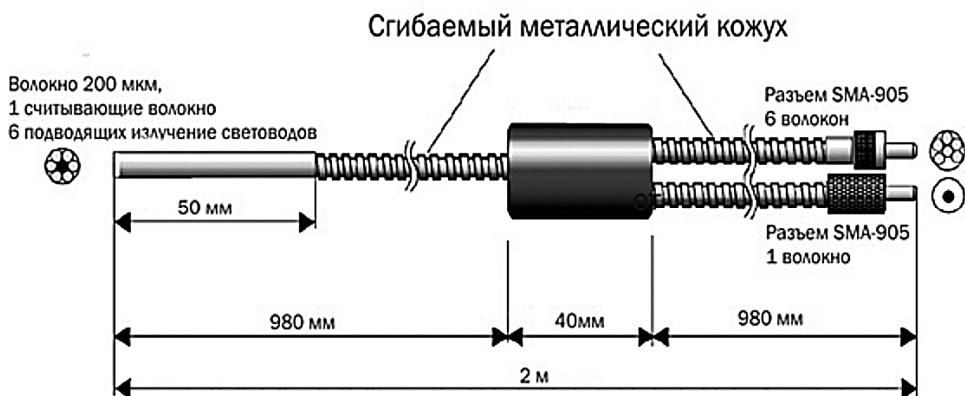
**Рис. 1. Схема волоконного спектрофлуориметра**

Данную схему можно использовать для диагностики труднодоступных участков, например для обнаружения и исследования различных образований на стенках кровеносных сосудов. Волоконный зонд запускается в кровеносный сосуд и по волокну передает излучение на его поверхность. Излучение от различных белков и соединений, образованное в результате их флуоресценции, поступает обратно в волоконный зонд и через него на спектрометр. По спектру флуоресценции можно оценить концентрацию исследуемого вещества и сделать выводы о состоянии тканей сосудов.

Основной проблемой при такой схеме исследования является выделение полезного сигнала флуоресценции из входящего в волокно излучения. Шумы можно представить в виде отраженного излучения засветки, так как интенсивность флуоресценции может быть сопоставима с интенсивностью излучения излучающего диода на данном участке спектра. Для минимизации этого эффекта необходимо использовать высококачественные лазеры с узкой полосой излучения и не допускать расширения спектра излучения.

Увеличение интенсивности входящего в волоконный зонд сигнала флуоресценции является достаточно сложной задачей. Существуют различные пути увеличения интенсивности сигнала, так, использование не одного волокна, а жгута из волокон существенно увеличивает интенсивность полезного сигнала. Волоконный кабель соединяется с источником света с помощью стандартного коннектора, причем свет поступает к окончанию датчика по шести оптоволоконным жилам [5]. Отраженный или рассеянный поверхностью свет принимается седьмым волокном оптоволоконного кабеля, заканчивающимся самостоятельным коннектором, который присоединяется к спектрометру или анализатору спектра. Такая конструкция улучшает поступление излучения от источника света и увеличивает уровень полезного сигнала. Конструкция оптоволоконного кабеля для подвода излучения к исследуемому веществу представлена на рис. 2. Применяется способ увеличения принимаемого излучения за счет нанесения на торец зонда вещества. Последнее при реакции с исследуемым веществом образует соединение с известным спектром флуоресценции, интенсивность которого будет зависеть от концентрации вещества.

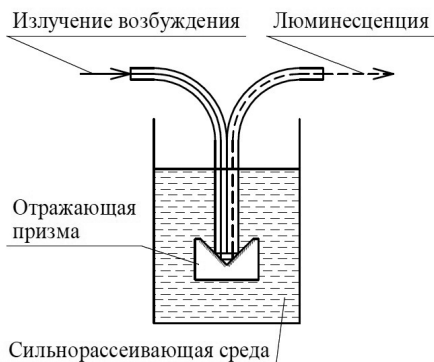
При исследовании сильно рассеивающих сред используют тонкие слои этих сред или специальные приставки на отражение. В случае



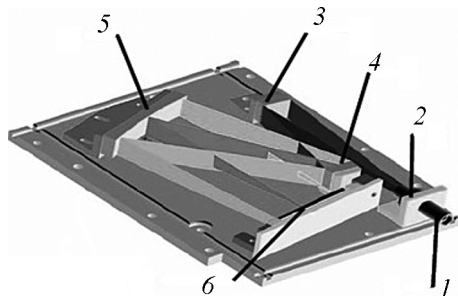
**Рис. 2.** Схема оптоволоконного кабеля для подвода излучения от источника

люминесцентных сред эффективно применение волоконного флуориметра (рис. 3). Излучение возбуждения, проходя через одно из волокон зонда, вызывает флуоресценцию веществ в жидкости, которая находится между торцом волокна и отражающей поверхностью. В результате значительная часть излучения, полученного в результате флуоресценции, попадает в волокно, связанное со спектрометром.

Спектрометр, входящий в состав спектрофлуориметра, играет важную роль в исследовании флуоресценции. Вид спектрометра со снятой крышкой представлен на рис. 4. Свет поступает на оптическую скамью через стандартный соединительный коннектор 1 и, пройдя через входную щель 2, коллимируется первым сферическим зеркалом 3. Плоская дифракционная решетка 4 отбрасывает диспергированные пучки света на второе сферическое зеркало 5, которое фокусирует полосу результирующего спектра на светочувствительную зону линейного многоэлементного фотодетектора 6. В спектрометре используется отражательная решетка.



**Рис. 3. Схема зонда для исследования сильнорассеивающих сред**

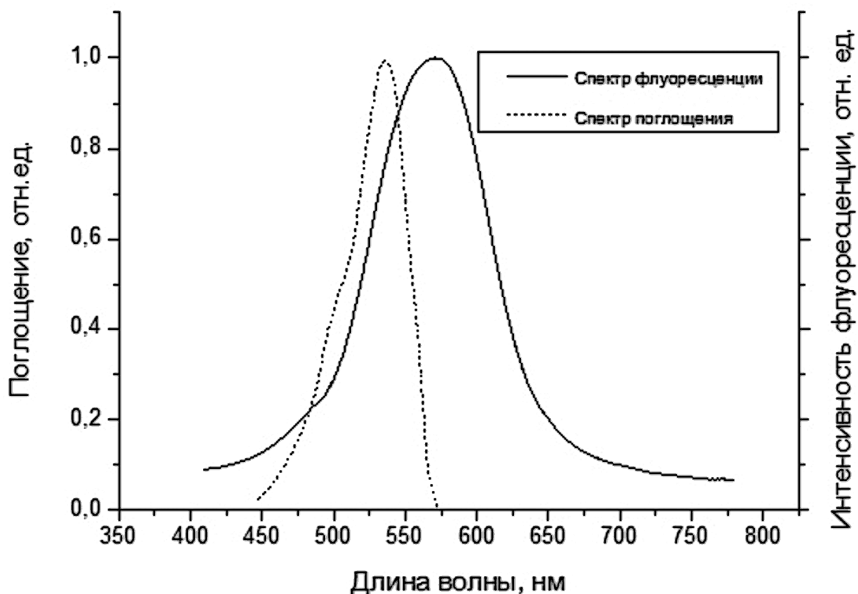


**Рис. 4. Схема спектрометра:**

1 — соединительный коннектор; 2 — входная щель; 3 — первое сферическое зеркало; 4 — дифракционная решетка; 5 — второе сферическое зеркало; 6 — линейный многоэлементный фотодетектор

В качестве испытуемого образца использован лазерный краситель Родамин-6Ж, введенный в твердотельную матрицу на основе полиметилметакрилата (ПММА). Этот краситель наиболее изучен и часто используется в перестраиваемых лазерах на красителях, обладает хорошими характеристиками в видимом диапазоне спектра и позволяет получить спектр флуоресценции в пределах 570...610 нм. Спектры поглощения и флуоресценции лазерного красителя Родамина-6Ж представлены на рис. 5.

Разработанный волоконный спектрофлуориметр позволяет измерять концентрации различных примесей в воде, воздухе, почве, кровеносных сосудах и в других веществах, доступ к которым затруд-



**Рис. 5. Спектры поглощения и флуоресценции для Родамина-6Ж**

нен. Установлена возможность применения волоконных флуориметров для измерений спектральных характеристик сильно рассеивающих и сильно поглощающих сред. Волоконный спектрофлуориметр удовлетворяет современным требованиям по энергопотреблению и массогабаритным характеристикам.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Черницкий Е. А., Слобожанина Е. И. Спектральный люминесцентный анализ в медицине. – Минск: Наука и техника, 1989. – 140 с.
2. Лакович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии. – М.: Мир, 1986. – С. 24–27.
3. Эпштейн М. И. Измерения оптического излучения в электронике. – М.: Энергоатомиздат, 1990. – С. 88–94.
4. Берштейн И. Я., Каминский Ю. Л. Спектрофотометрический анализ в органической химии. – Л.: Химия, 1975. – 87 с.
5. Снайдер А., Лав Д. Теория оптических волноводов : пер. с англ. – М. Радио и связь, 1987. – С. 50 – 53.

Статья поступила в редакцию 26.09.2012