



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2011 00163**

(22) Data de depozit: **21/02/2011**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/01/2017** BOPI nr. 1/2017

(41) Data publicării cererii:
28/09/2012 BOPI nr. 9/2012

(73) Titular:
• **UNIVERSITATEA "ȘTEFAN CEL MARE"**
DIN SUCEAVA, STR.UNIVERSITĂȚII NR.13,
SUCEAVA, SV, RO

(72) Inventatori:
• **GUTT SONIA, STR.VICTORIEI**
NR.185 BIS, SAT SFÂNTU ILIE, SV, RO;

• **GUTT GHEORGHE, STR.VICTORIEI**
NR.185 BIS, SAT SFÂNTU ILIE, SV, RO;
• **GUTT ANDREI, STR.VICTORIEI**
NR.185 BIS, SAT SFÂNTU ILIE, SV, RO;
• **EUFROZINA NIGA, STR. OITUZ NR. 22,**
SC. B, AP. 14, ONEȘTI, BC, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:
RO 125631 A2; RO 82768; RO 127233 A2;
JPH 0245761 A

(54) **FLUOROMETRU UNIVERSAL BAZAT PE STINGEREA DE
FLUORESCENȚĂ**



RO 127851 B1

1 Inventția se referă la un aparat portabil modular, destinat determinării concentrației
diferitelor specii chimice din soluții, pe baza fenomenului de stingere a fluorescenței.

3 În vederea determinării concentrației speciilor chimice fluorescente din lichide, sunt
cunoscute două procedee.

5 Primul procedeu, totodată și cel mai vechi, se bazează pe determinarea pe cale
fotovoltaică a intensității fluorescenței (I_f) unei specii fluorescente, pe baza diferenței dintre
7 intensitatea radiației (I) incidente de excitare și intensitatea (I_0) radiației ce a traversat proba
de o anumită grosime (b) pe altă direcție decât direcția radiației electromagnetice mono-
9 cromatice incidente:

$$11 \quad I_f = K \cdot (I_0 - I) \quad (1)$$

13 Dependența între concentrația (c) speciei fluorescente și intensitatea fluorescenței (I_f)
este stabilită de legea Lambert-Beer:

$$15 \quad I_f = K \cdot c \quad (2)$$

17 unde:

19 K reprezintă o constantă care depinde de randamentul de fluorescență, de grosimea
stratului traversat și de natura speciei fluorescente.

21 La determinarea concentrației pe baza măsurării intensității radiației de fluorescență,
sunt valabile restricțiile de liniaritate specifice legii Lambert-Beer. Din punct de vedere
constructiv, fluorometrele sunt echipamente fotometrice formate dintr-o sursă de radiație
23 monocromatică, de regulă un LED a cărui emisie luminoasă este acordată pe lungimea de
undă a fluorescenței speciei cercetate, un locaș pentru cuva cu soluție, o fotodiodă așezată
25 pe altă direcție decât direcția de iradiere (de obicei la 90°), un amplificator electronic și o
unitate electronică.

27 Al doilea procedeu, mai nou, se bazează pe măsurarea fenomenului de stingere a
fluorescenței (în engleză *Quenching*), la care concentrația unei anumite specii chimice
29 (*Quencher*) se determină prin intermediul altei specii chimice (*Fluorofor*), pe baza relației care
leagă timpul de scădere a intensității fluorescenței ultimului, fără a fi distrus, de concentrația
31 Quencher-ului. Acest procedeu reprezintă un mijloc de determinare a concentrației tuturor
speciilor chimice care pot activa drept Quencher-i. Având în vedere și faptul că acest fenomen
33 este reversibil, odată cu îndepărtarea Quencher-ului, fluorescența fluoroforului crește din nou
la valoarea inițială. Dependențele specifice între intensitățile de radiație, timpii de stingere
35 a fluorescenței și concentrația speciei fluorescente sunt date de ecuația Stern-Volmer, valabilă
pentru stingerea dinamică de fluorescență a fluoroforului:

$$37 \quad \frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_{dsv} \cdot c \quad (3)$$

39 unde: I_0 - Intensitatea de fluorescență a substanței fluorescente în absența speciei ce
provoacă stingerea fluorescenței;

41 I - Intensitatea de fluorescență a substanței fluorescente în prezența speciei ce
provoacă stingerea fluorescenței;

43 τ_0 - timpul de viață a stării excitate a fluoroforului în absența Quencher-ului;

τ - timpul de viață a stării excitate a fluoroforului în prezența Quencher-ului;

45 - K_{dsv} - constanta dinamică Stern-Volmer;

- c - concentrația speciei (Quencher) care provoacă stingerea fluorescenței.

RO 127851 B1

O aplicație de bază pentru măsurarea concentrației pe baza stingerii de fluorescență o reprezintă determinarea oxigenului liber din lichide, în special din apă, folosind sonde portabile. La această determinare se măsoară timpul τ de stingere a fluorescenței, timp care este în legătură cu concentrația oxigenului liber (Quencher) prin relația Stern-Volmer (3). În acest scop se folosește ca sursă de excitație o diodă laser pulsatorie, cu lungimea de undă a radiației cuprinsă, de obicei, în domeniul luminii albastre, fluorescența având loc la valori ale lungimii de undă mai mari, respectiv, în domeniul luminii roșii, unde poate fi măsurată ușor cu fotodiode sau detectoare de tip Diode-Array, determinându-se fie timpul de stingere, fie modificarea de fază dintre radiația de excitație și radiația de fluorescență (din modificarea de fază se poate determina cu precizie timpul de stingere).

Dezavantajul aparatelor actuale pentru determinarea concentrației, bazate pe stingerea de fluorescență, constă în faptul că, pentru fiecare specie analizată, este folosit un echipament complet (sondă + parte electronică). Autorilor nu le sunt cunoscute aparate universale care permit determinarea cu același aparat a mai multor specii chimice.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în realizarea unui fluorometru bazat pe stingerea de fluorescență, ce poate fi folosit atât ca unitate portabilă, cât și în condiții de laborator, echipamentul putând fi folosit pentru determinarea concentrației mai multor specii chimice.

În acest scop este folosită o structură modulară, formată dintr-o sondă și o unitate optoelectronică, interconectate prin două fibre optice. Sonda este de formă cilindrică, având înveliș metalic, iar în interior două fibre optice, una pentru transmiterea radiației monocromatice de excitație de la sursa la probă, și una pentru culegerea și transmiterea radiației de fluorescență de la probă la unitatea electronică de procesare a datelor. În vederea asigurării posibilității folosirii aceluiași echipament pentru determinarea concentrației mai multor specii chimice, pe sondă se pot aplica diferite capsule polimerice transparente, cave sau drepte, pe fiecare capsulă fiind depus în partea exterioară un fluorofor nedistructibil chimic, specific unei anumite specii chimice care urmează a fi determinată prin stingere de fluorescență. Tot pentru asigurarea universalității fluorometrului, sursa de radiație monocromatică este de tip coroană de LED-uri, fiecare LED din coroană fiind acordat pe o lungime de undă specifică unei anumite specii chimice (Quencher), și legat la o fibră optică. Toate fibrele optice provenind de la coroana de LED-uri se unesc într-o singură fibră optică ce iradiază, prin intermediul sondei, proba cu lungimea de undă specifică speciei chimice urmărite. Stabilirea LED-ului care urmează a se aprinde se realizează prin setarea manuală pe unitatea electronică sau pe calculator, după ce s-a stabilit natura Quencher-ului urmărit și s-a fixat pe sondă capsula ce conține fluoroforul corespunzător.

Prin realizarea invenției se obține următorul avantaj:

- cu un efort financiar minim se obține un fluorometru universal ce permite determinarea concentrației mai multor specii chimice, pe principiul stingerii de fluorescență, folosind în acest scop un singur echipament.

Se dă în continuare un exemplu de realizare a invenției în legătură cu fig. 1...4, ce reprezintă:

- fig. 1, sonda fluorometrului universal, echipat cu o capsulă cavă (a) și cu o capsulă dreaptă (b);

- fig. 2, aplicații cu fluorometrul universal la măsurări *in situ* cu sonda ținută în mână;

- fig. 3, aplicații cu fluorometrul universal în laborator - cu sonda prinsă pe un stativ, având montată capsulă cavă, și îndreptată cu cavitatea în sus (a), cu sonda prinsă pe un stativ, având montată capsulă dreaptă, scufundată într-un vas ce conține specia de analizat;

- fig. 4, schema de principiu a fluorometrului universal, bazat pe stingerea de fluorescență.

RO 127851 B1

1 Fluorometrul universal, conform invenției, se compune dintr-o sondă **1** cilindrică, cu
înveliș metalic, un material **2** polimeric de umplură, două fibre optice **3** și **4**, un mâner **5**,
3 un tip de capsulă **6** cavă, un tip de capsulă **7** dreaptă, un film **8** de fluorofor polimerizat, un
optocuplor **9**, un stativ **10**, un șurub **11** de strângere, un cap **12** rotativ, un șurub **13** de blocare
5 a rotației, o sursă **14** multiplă cu LED-uri comandate, o unitate **15** optoelectronică, un calcu-
lator **16** electronic și soluția **17** analizată, ce conține Quencer-ul (specia chimică urmărită),
7 reperul **18** reprezintă un vas de sticlă la lucrul în condiții de laborator, reperul **19** - o pipetă
de sticlă, și reperul **20** - o placă de termostatare de tip Peltier.

9 Fluorometrul universal poate lucra atât în condiții de teren, pentru analize *in situ*, cât
și în condiții de laborator, pentru analize în serie.

11 La lucrul în condiții de teren, fluorometrul poate fi echipat cu capsula **6** cavă, montată
pe corpul sondei **1** cilindrice, situație în care un volum precis din soluția **17** de analizat este
13 picurată în cavitatea capsulei **6** cu o pipetă **19**, sau sonda **1** cilindrică poate fi echipată cu
capsula **7** dreaptă, situație în care determinările se pot efectua în tot volumul soluției cerce-
15 tate prin scufundarea manuală a sondei **1** cilindrice în soluția de analizat. Trebuie specificat
faptul că schimbarea tipului de capsulă necesită o setare de la unitatea **15** electronică de
17 procesare a datelor, sau de la calculatorul **16** electronic, deoarece fiecare tip de sondă nece-
sită alt factor de corecție. De asemenea, la schimbarea capsulelor în vederea determinării
19 altei specii chimice trebuie setată specia corespunzătoare. Această setare comandă în
sursa **14** multiplă aprinderea LED-ului ce emite pe lungimea de undă specifică speciei, și
21 specifică, totodată, și filmului **8** fluoroforic de pe capsula **6** sau capsula **7**.

La lucrul în condiții de laborator, sonda **1** cilindrică a fluorometrului se fixează și se
23 rigidizează ușor cu șurubul **11** de strângere, după care, în funcție de tipul de aplicație, capul **12**
rotativ se rotește astfel ca sonda să fie cu capul în sus (fig. 3a), sau cu capul în jos (fig. 3b),
25 după care se procedează la rigidizarea definitivă cu șurubul **11** de strângere în poziția dorită,
și se strânge șurubul **13** de blocare. Fixarea cu capul în sus a sondei **1** cilindrice este destinată
27 determinărilor în serie; în acest scop sonda **1** cilindrică se echipează cu capsula **6** prin
împingerea acesteia pe corpul sondei **1**, după care pot fi realizate determinări în serie. După
29 fiecare determinare se slăbește șurubul **13** de blocare, se rotește sonda **1** cu capul în jos,
ceea ce duce la eliminarea soluției **17** de analizat din cavitatea capsulei **6**, după care se
31 clătește cu apă bidistilată și se readuce din nou sonda **1** în poziție verticală, în vederea unei
noi analize, volumul precis de soluție **17** de analizat fiind asigurat cu o pipetă **19** din sticlă.
33 Fixarea cu capul sondei în jos (fig. 3b) este destinată studiului evoluției cinetice a unei specii
chimice în diverse condiții. În acest scop, este necesară montarea capsulei **7** drepte pe corpul
35 sondei **1** cilindrice, după care aceasta este scufundată în vasul ce conține soluția **17** analizată,
înregistrându-se prin intermediul calculatorului **16** electronic evoluția concentrației în timp,
37 în funcție de diverși parametri de proces.

RO 127851 B1

Revendicare

1

Fluorometru universal, bazat pe stingerea de fluorescență, **caracterizat prin aceea** 3
că este alcătuit dintr-o sondă (1) cilindrică, având înveliș metalic, ce conține în interior un material 3
(2) polimetric de umplură și două fibre (3 și 4) optice, una pentru transmiterea unei radiații 5
monocromatice de excitație de la o sursă (14) multiplă de LED-uri la o probă, fiecare LED 7
fiind acordat pe o lungime de undă specifică unei anumite specii chimice, iar cealaltă - pentru 7
culegerea și transmiterea radiației de fluorescență de la probă la o unitate (15) electronică 9
de procesare a datelor, în vederea asigurării posibilității de folosire a aceluiași echipament 9
pentru determinarea mai multor specii chimice dintr-un mediu (17) analizat, atât în condiții 11
de teren, cât și în condiții de laborator, pe sondă (1) aplicându-se mai multe capsule (6 și 7) 11
polimerice transparente, cave (6) sau drepte (7), pe fiecare capsulă (6 și 7) fiind depus, la 13
partea exterioară, un film (8) de fluorofor polimerizat, în condiții de laborator sonda (1) fixându-se 13
și rigidizându-se cu un șurub (11) de strângere, rotită cu ajutorul unui cap (12) rotativ, în funcție 15
de capsulele (6, 7) folosite, și blocată în poziția aleasă, cu ajutorul unui șurub (13) de blocare 15
a rotației.

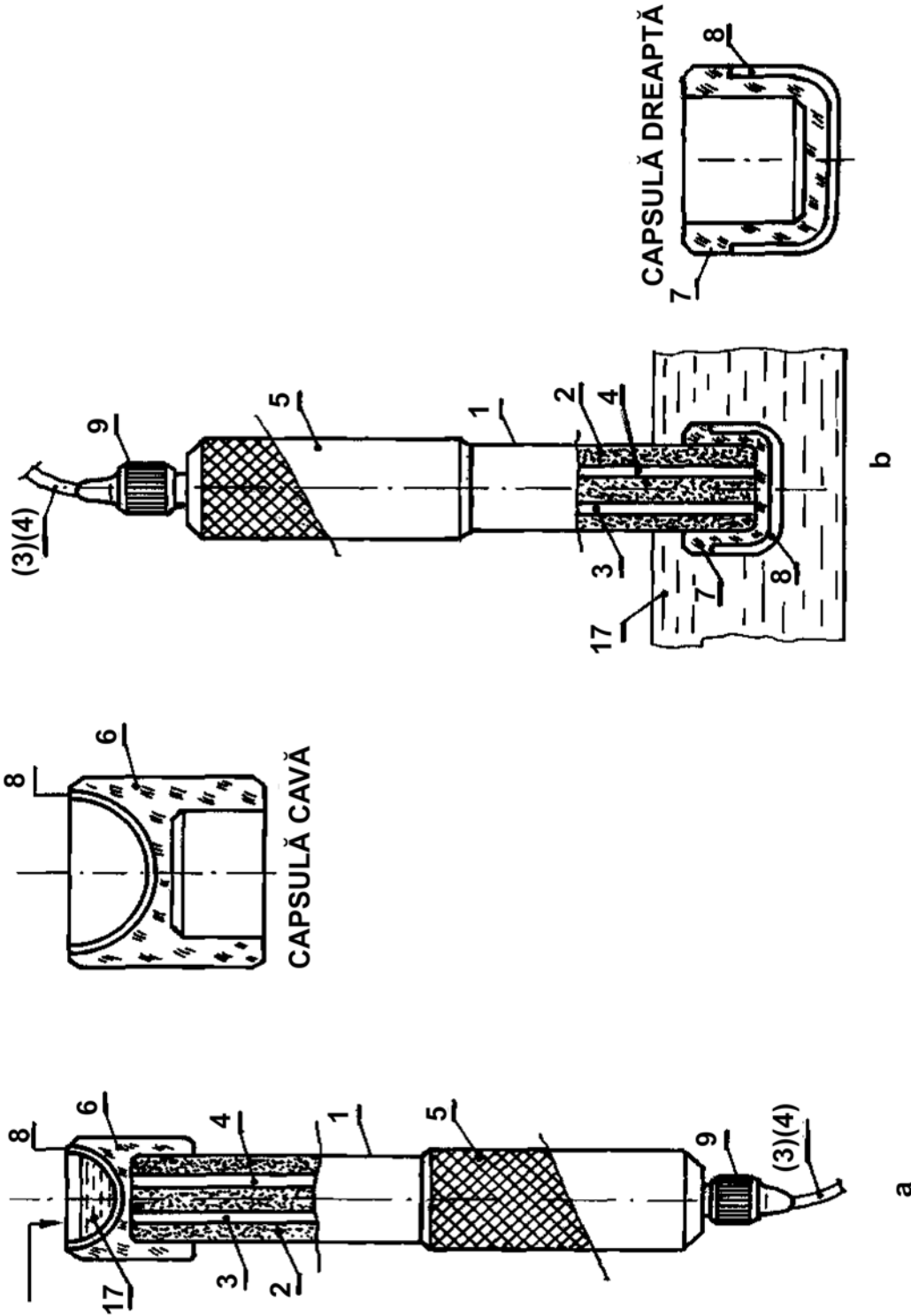


Fig. 1

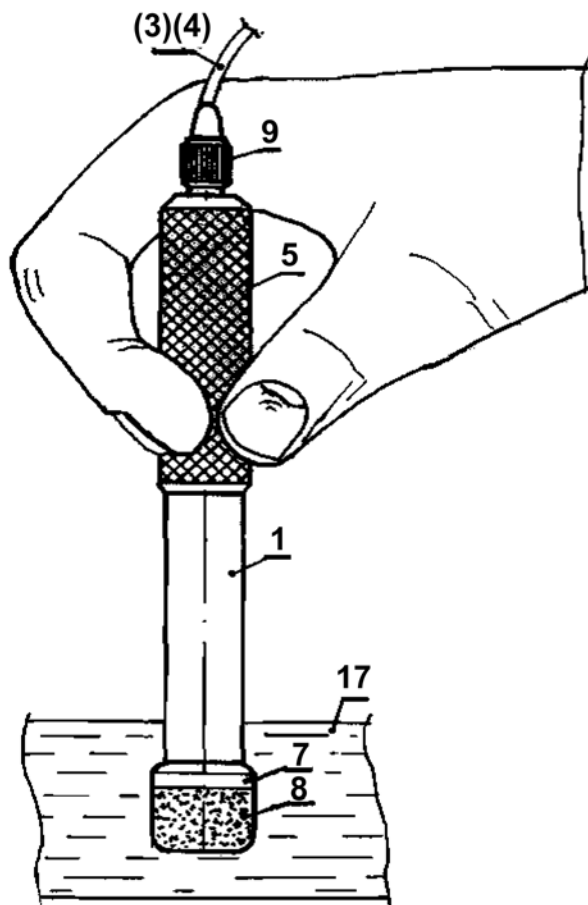


Fig. 2

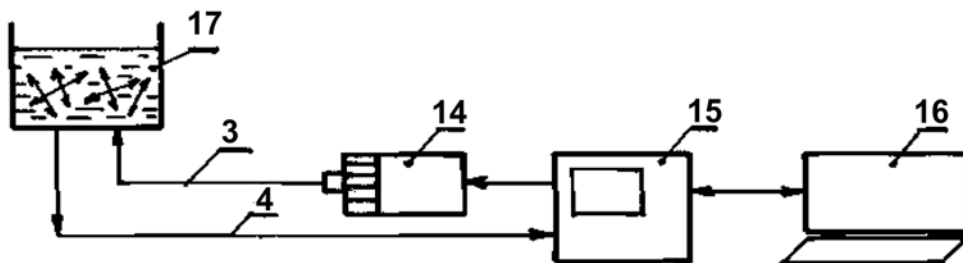


Fig. 4

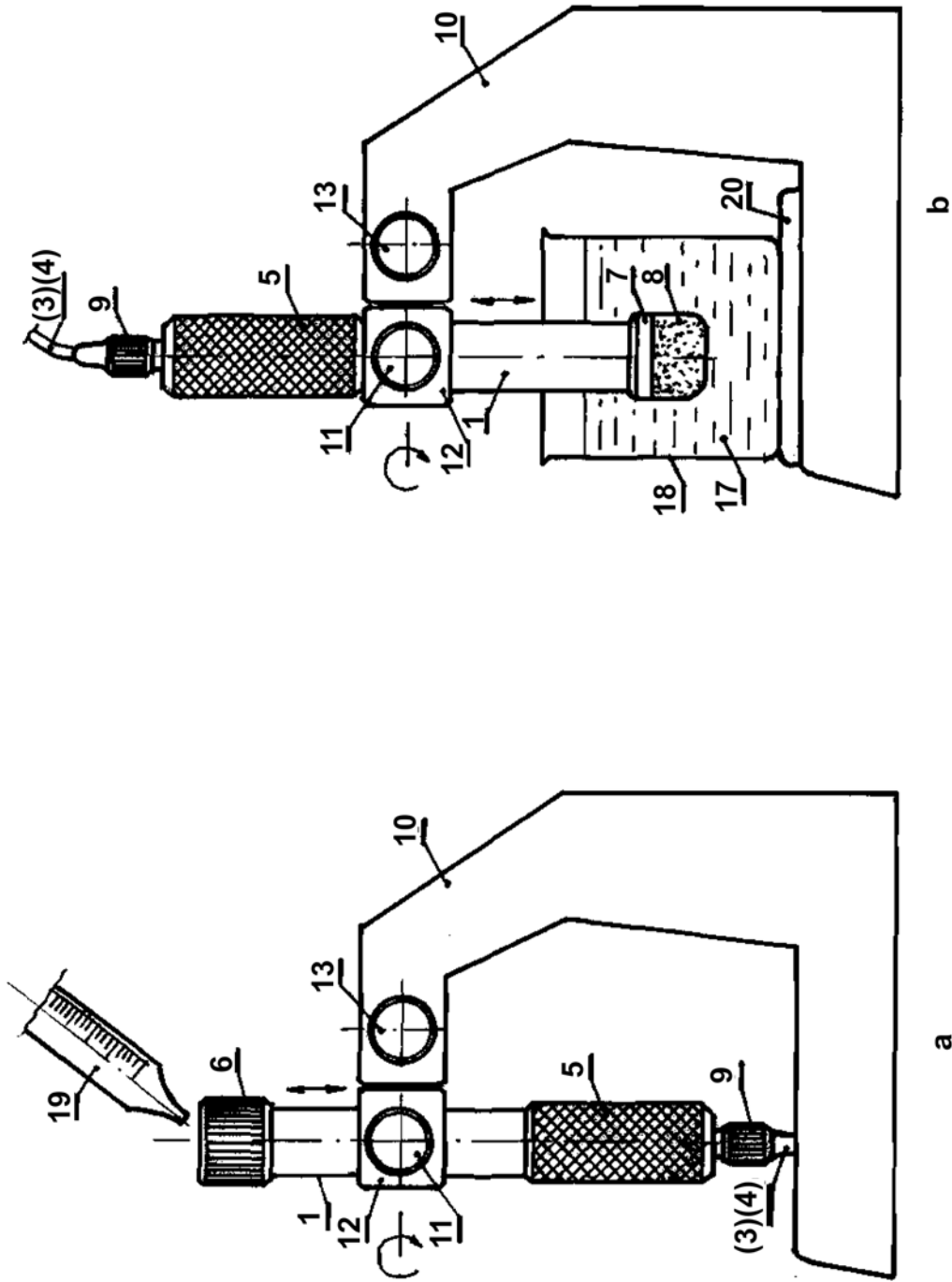


Fig. 3

