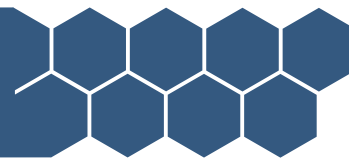


Времяразрешенная флуоресцентная спектроскопия в России сегодня

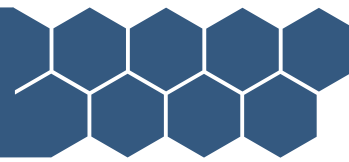


ДМИТРИЙ ПЛЕШКОВ

Руководитель отдела биологии и биотехнологий Техноинфо



- О Техноинфо
- Приложения флуоресцентной спектроскопии
- Санкции
- Модульный флуоресцентный спектрометр SilverskAI



- Technoinfo Ltd. основана в Лондоне в 1999 Наталией Евгеньевной Микулинской
- ООО Техноинфо находится в Москве



КТО МЫ?

ПОСТАВЩИК АНАЛИТИЧЕСКОГО, ЛАБОРАТОРНОГО И ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ



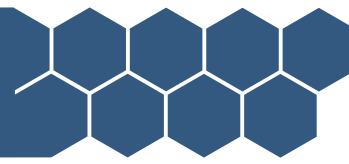


- Technoinfo Ltd. основана в Лондоне в 1999 Наталией Евгеньевной Микулинской
- ООО Техноинфо находится в Москве
- Основные направления работы: Материаловедение, Биология, Геология и Микро-, наноэлектроника



Что было ДО





Системы счета фотонов



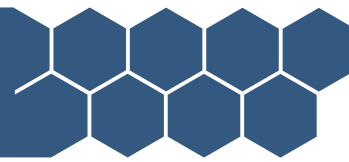
Конфокальные микроскопы



Импульсные лазеры



Флуоресцентные спектрометры



- **Материаловедение**

- Фотофизика
- Микроэлектроника
- Фотовольтаика
- Катализ

- **Химия**

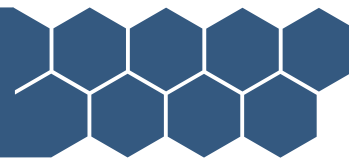
- Фотофизические свойства соединений
- Структурные изменения
- Определение и разделение флуорофоров

- **Биология**

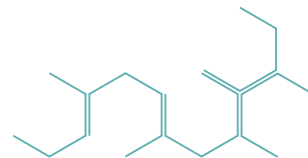
- Структура белков
- Синглетный кислород
- Фермент-субстрат
- Метаболизм
- Биосенсоры

- **Геология**

- Геммологическая экспертиза
- Термолюминесцентное датирование
- Анализ состава углеводородов



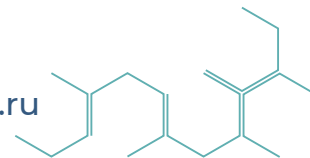
Люминесценция – структурно чувствительное свойство





- **Фотофизические свойства новых соединений**

- Спектры возбуждения и эмиссии —> Идентификация и характеристика
- Времена жизни люминесценции —> Характер электронных переходов
- Абсолютный квантовый выход —> Иначе статью не примут к публикации в Q1
- Анизотропия —> Коэффициент диффузии, вязкость, подвижность





- **Фотофизические свойства новых соединений**

- Спектры возбуждения и эмиссии
- времена жизни люминесценции
- Абсолютный квантовый выход
- Анизотропия

- **Структурные изменения**

- Изменения в окружении атомов —→ Состав комплексов, их взаимодействия
- Определение сингонии —→ Структура координационных соединений
- Ориентация и упаковка —→ Упорядоченность и стабильность структуры
- Свойства 2D и наноматериалов —→ Квантово-размерные эффекты



- **Фотофизические свойства новых соединений**

- Спектры возбуждения и эмиссии
- времена жизни люминесценции
- Абсолютный квантовый выход
- Анизотропия

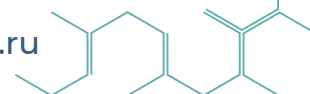
- **Структурные изменения**

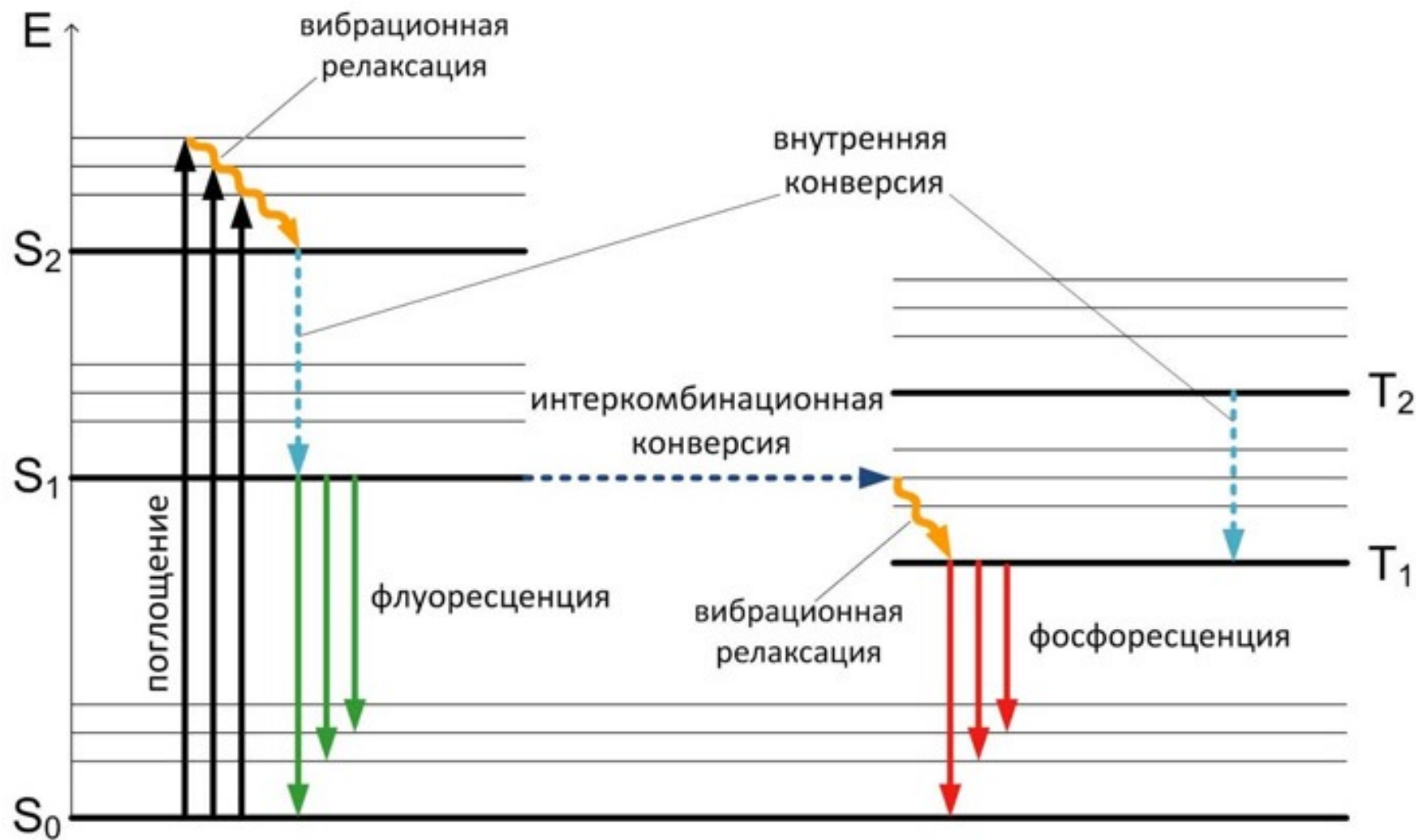
- Изменения в окружении атомов
- Определение сингонии
- Ориентация и упаковка
- Свойства 2D и наноматериалов

- **Определение и разделение флуорофоров**

- Детекция ионов металлов
- Разделение оптически активных веществ
- Сенсоры

→ Контроль состава и чистота образцов
→ Изомеры, таутомерия
→ На кислород, органические молекулы



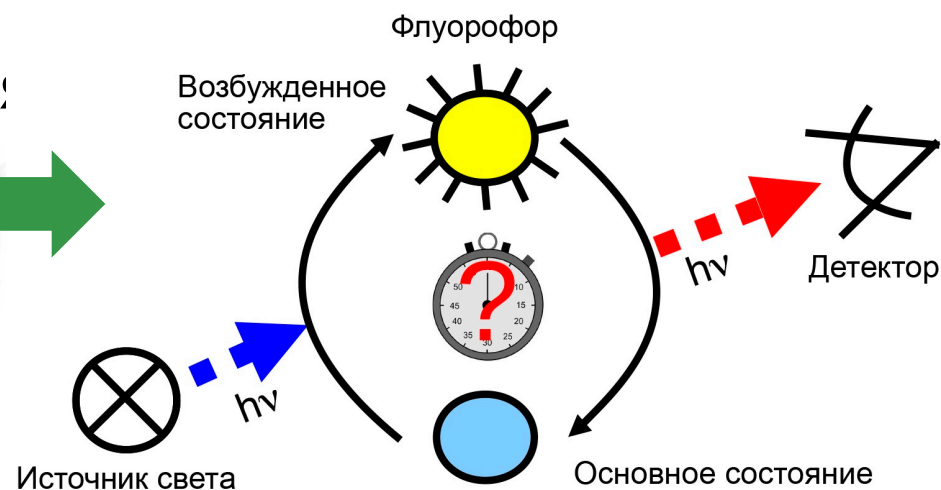




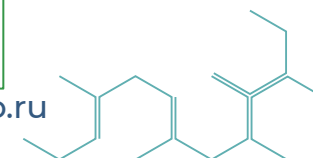
- Интенсивность
- Спектр эмиссии
- Спектр возбуждения
- Время жизни
- Анизотропия
- Квантовый выход

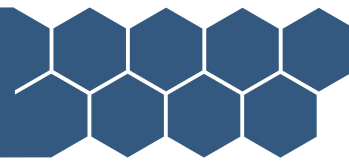
Среднее время, которое молекула проводит в возбужденном состоянии

$$\tau_F = 1 / (k_F + k_{IC} + k_{ISC})$$



Насколько быстр этот процесс?



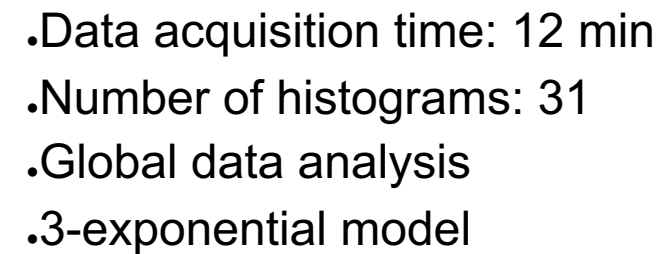
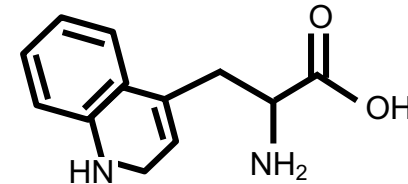


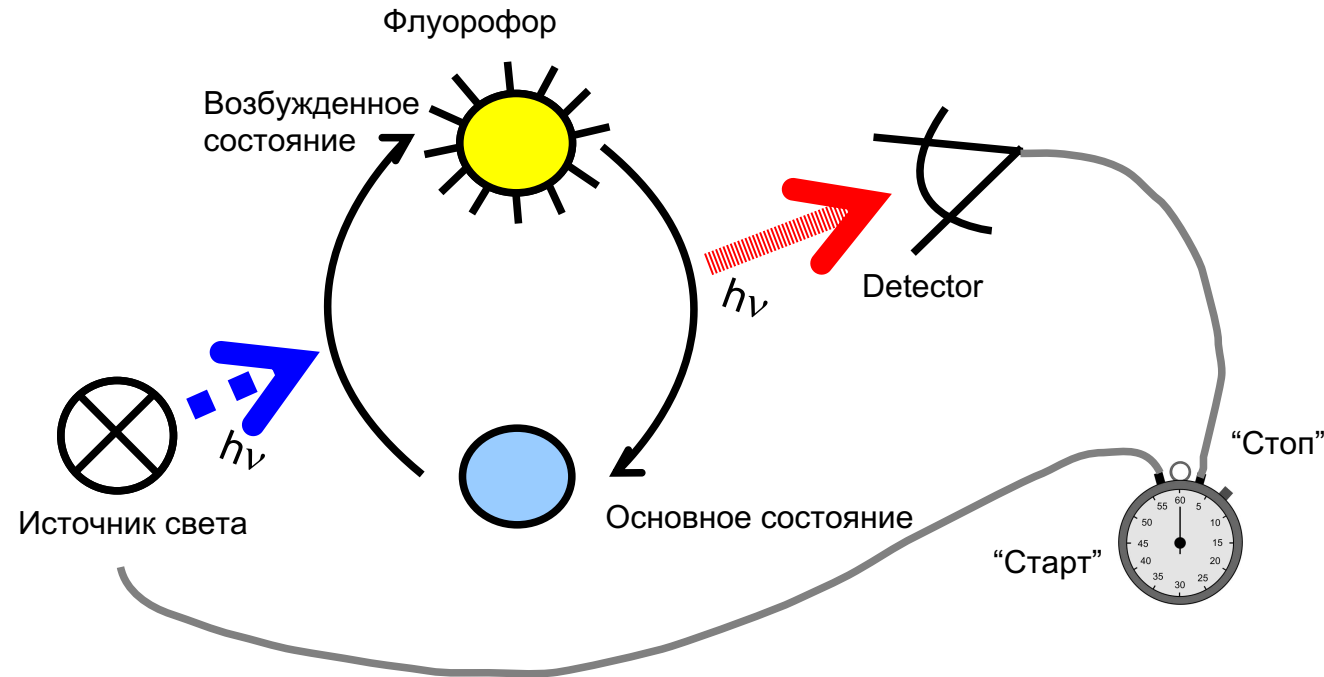
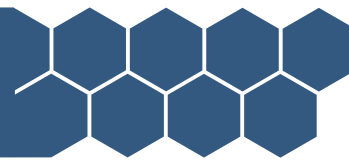
- Зависимость от концентрации
 - Эффект внутреннего фильтра
 - Коэффициент экстинкции

- Зависимость от геометрии
 - Расстояние
 - Толщина образца

- Зависимость от способа регистрации

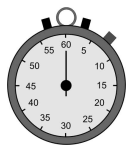
- Низкая чувствительность

[illegible]



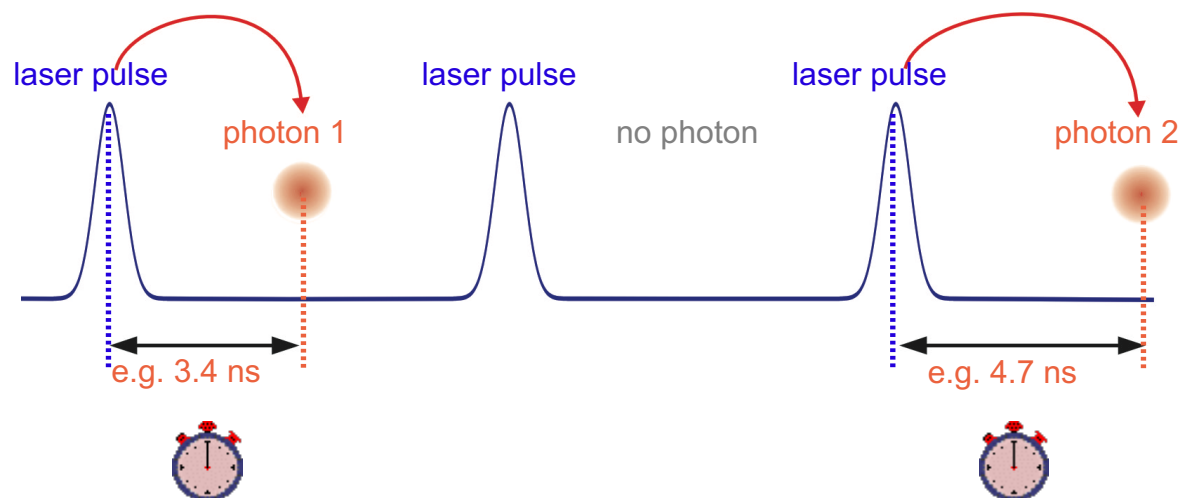
Для TCSPC нам необходимо:

- **Определить время начала эксперимента → каждый импульс это новый "Старт"**
- **Определить время остановки эксперимента → фотон регистрируется детектором**
- **Быстрый секундомер для измерения времени эксперимента**



Принцип секундомера:

1. Начало отсчета с импульсом лазера
2. Остановка при попадании на детектор первого фотона
3. Эксперимент повторяется заново с новым импульсом

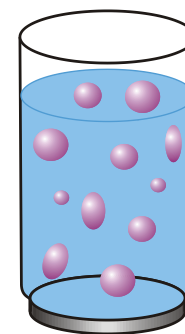
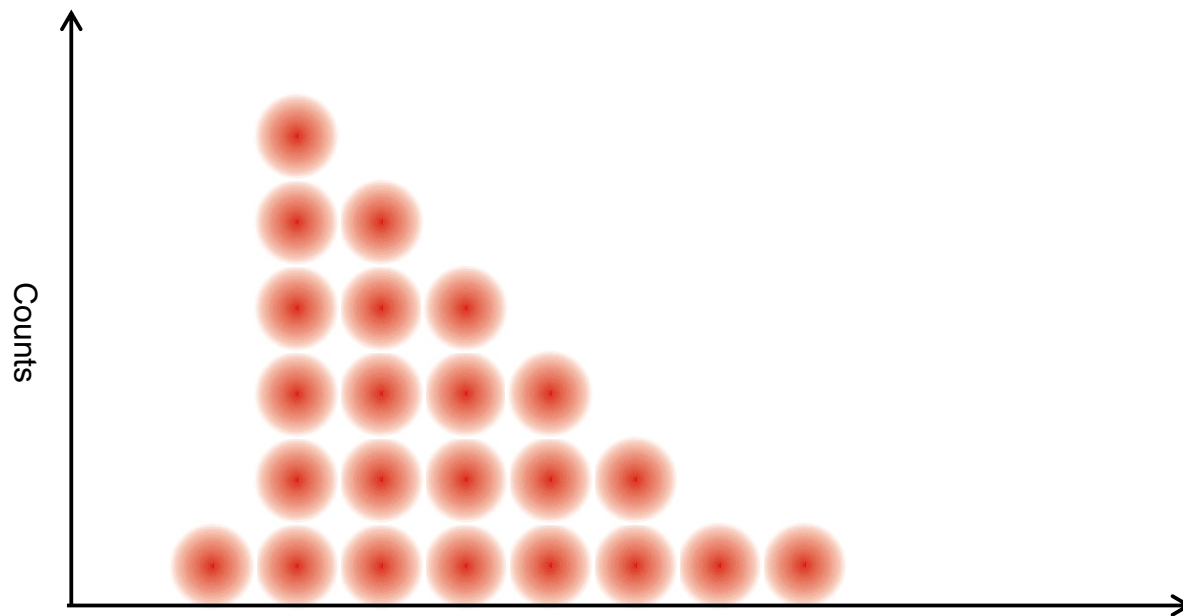


Эмиссия фотонов – стохастический процесс



- Процесс повторяется многократно
- Строится гистограмма

Лишь одна молекула измеряется за один раз, но каждый раз это новая молекула

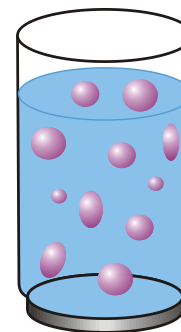
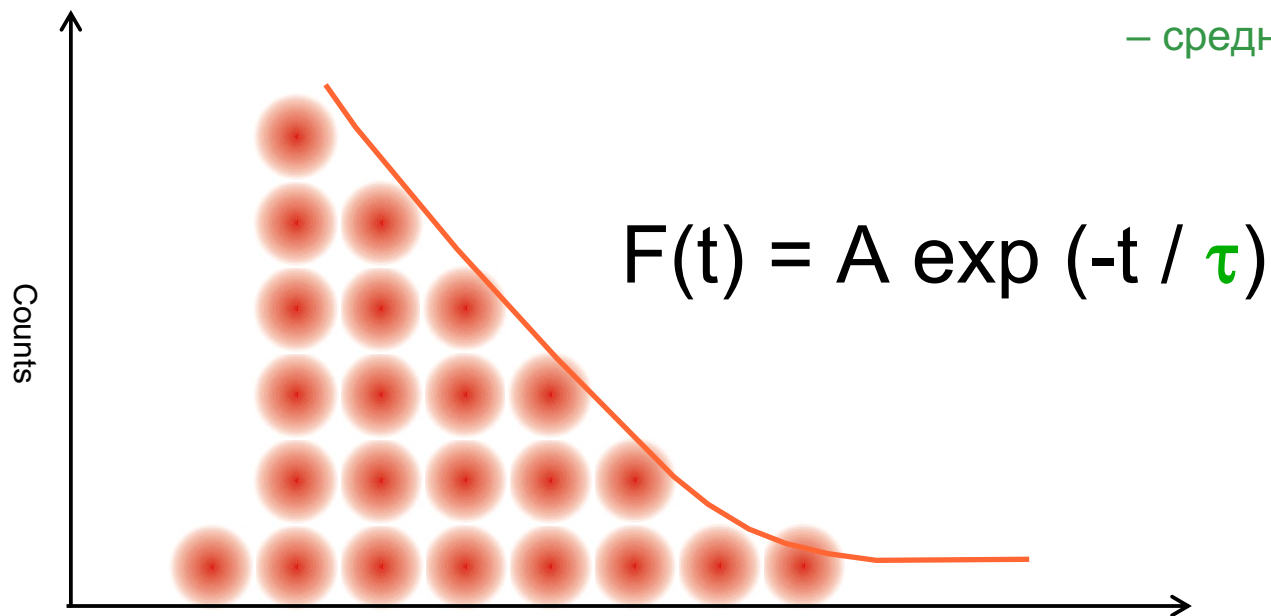




- Процесс повторяется многократно
- Строится гистограмма

Лишь одна молекула измеряется за один раз, но каждый раз это новая молекула

– среднее по ансамблю

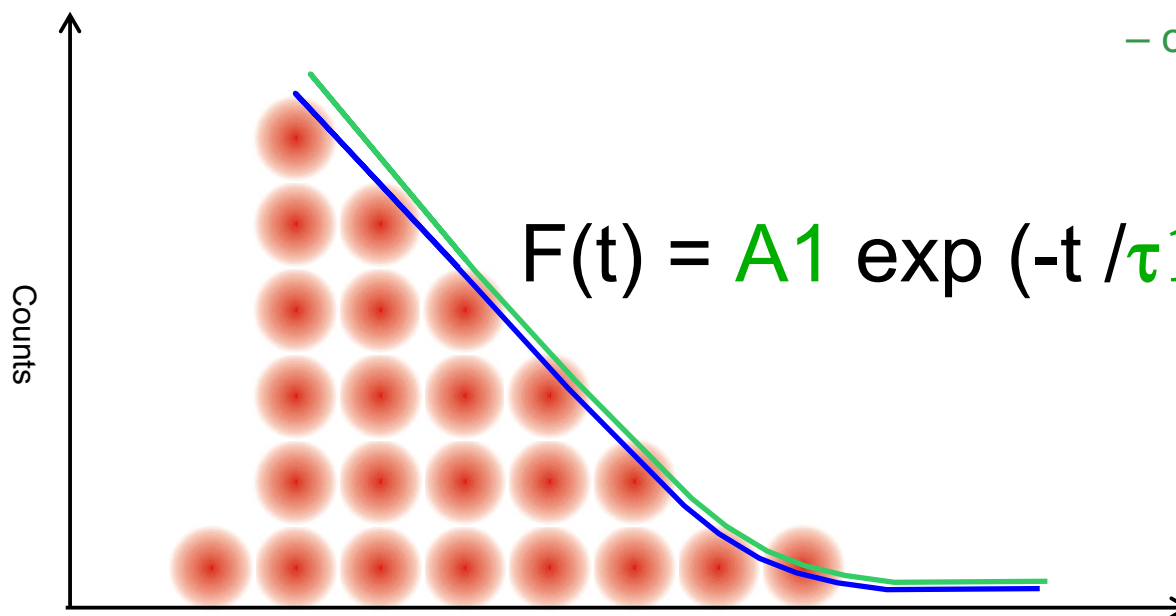




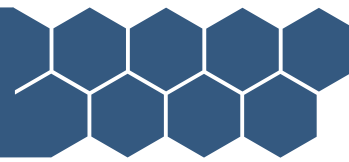
- Процесс повторяется многократно
- Строится гистограмма

Лишь одна молекула измеряется за один раз, но каждый раз это новая молекула

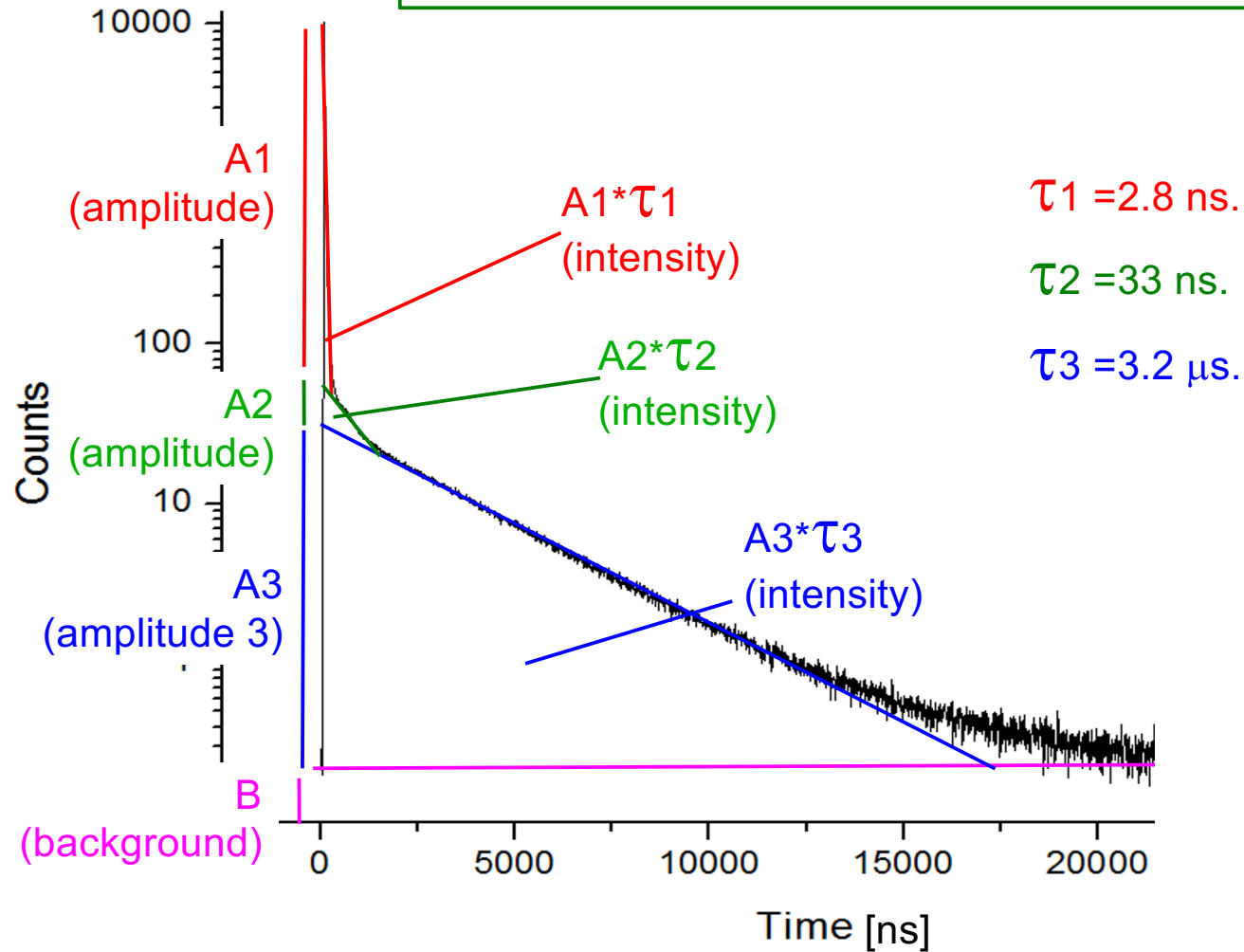
— среднее по ансамблю



Параметры фиттинга мультиэкспоненты



$$F(t) = A1 \cdot \exp(-t/\tau1) + A2 \cdot \exp(-t/\tau2) + A3 \cdot \exp(-t/\tau3) + B$$



Amplitude

99%

0.6%

0.4%



$$\tau_{AV2} = \frac{\sum_i A_i \tau_i}{\sum_i A_i}$$

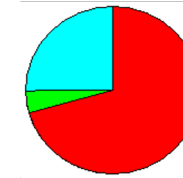
3.8 ns

Intensity

71%

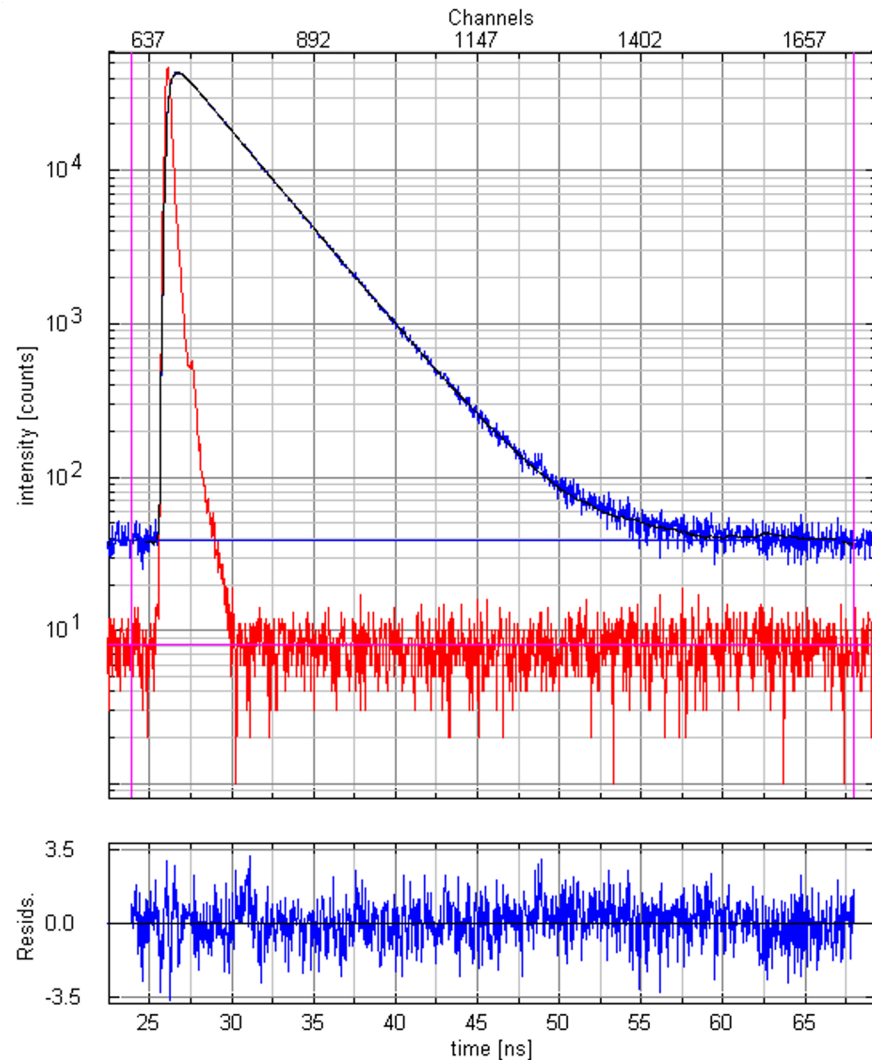
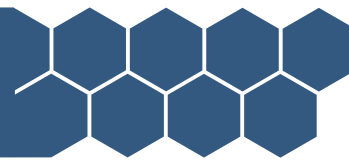
4%

25%



$$\tau_{AVI} = \frac{\sum_i A_i \tau_i^2}{\sum_i A_i \tau_i}$$

84 ns



Convolved data

$$\text{Dec}(t) = \int_0^t \text{IRF}(\hat{t}) \text{Fluor}(t - \hat{t}) d\hat{t}$$

- IRF
- Reconvolution or Tailfit
- Background

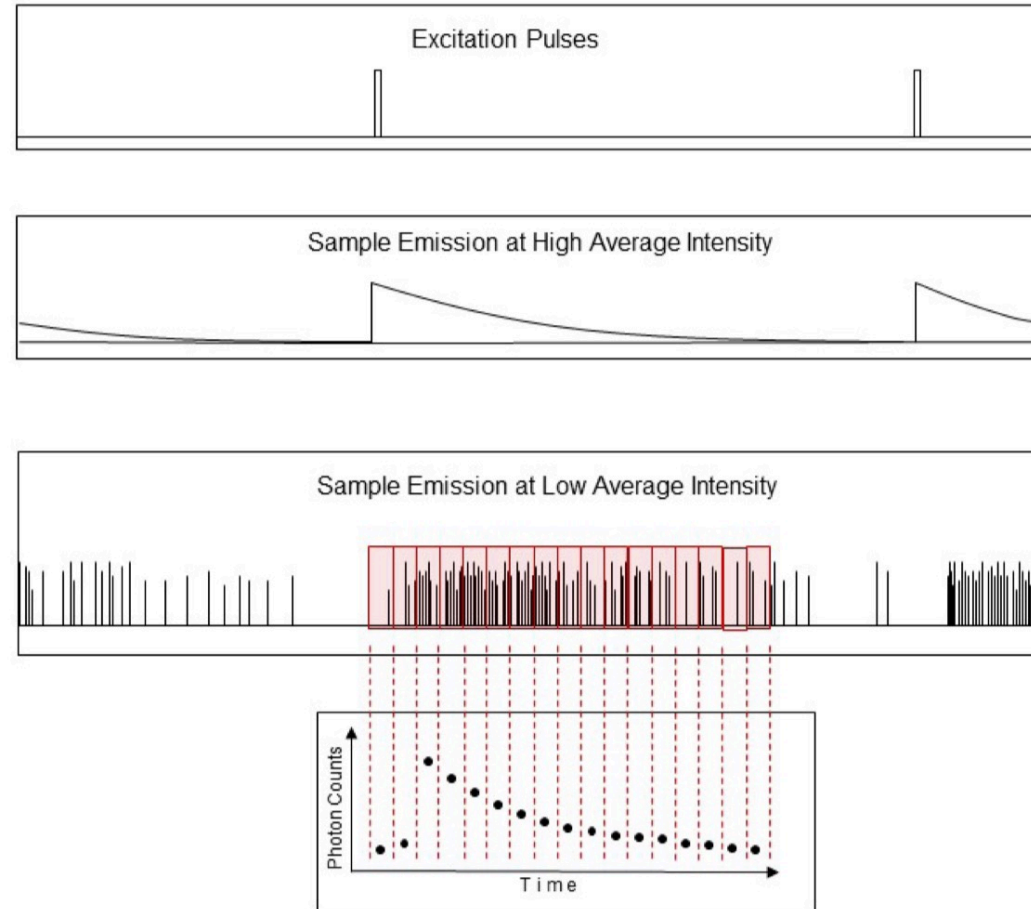
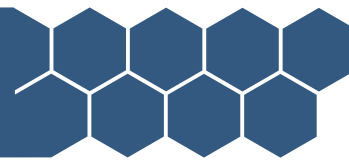
Experimental noise

$$\Delta_i = \sqrt{\text{Dec}_i} \Rightarrow \omega_i = \frac{1}{\sigma_i} = \frac{1}{\sqrt{\text{Dec}_i}}$$

- Weighting

Weighted residuals

- Least squares fitting ($\chi^2 = \text{sum}^2$)
- Distrib. randomly around 0



Считаются все фотоны, пришедшие на детектор.
Временное разрешение определяется размером временного канала.



MCS

- Разрешение до 10 нс
 - Низкая точность
 - Низкая частота Повторения лазера
- Быстрый
 - Регистрирует все фотоны



Фосфоресценция

TCSPC

- Разрешение до 305 фс
 - Высокая точность
 - Высокая частота Повторения лазера
- Медленный
 - Эффект pile up
 - Нужно учитывать мертвое время



Флуоресценция

Рынок и санкции





США/ЕС/Япония

- Производители боятся работать с Россией
- Прямые поставки больше невозможны
- **Нужен End User Certificate**
- **Нет гарантии производителя**
- **Нет гарантий поставки**
- Дорого
- Каналы поставки постоянно меняются
- Риск попасть под санкции лично

Южная Корея

- Производители хотят работать с Россией
- Прямые поставки больше невозможны
- **Не нужен End User Certificate**
- **Есть гарантия производителя**
- **Есть гарантия поставки**
- Стало дороже
- Каналы поставки постоянно меняются

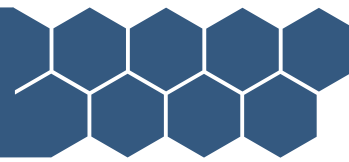


США/ЕС/Япония

- Производители боятся работать с Россией
- Прямые поставки больше невозможны
- **Нужен End User Certificate**
- **Нет гарантии производителя**
- **Нет гарантий поставки**
- Дорого
- Каналы поставки постоянно меняются
- Риск попасть под санкции лично

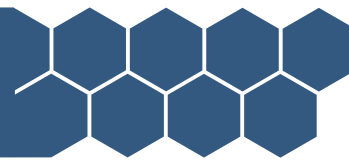
Китай

- Производители хотят работать с Россией
- **Прямые поставки возможны**
- **Не нужен End User Certificate**
- **Есть гарантия производителя**
- **Есть гарантия поставки**
- **Пока дешево**
- **Каналы поставки пока стабильны**
- **Проблемы с платежами**

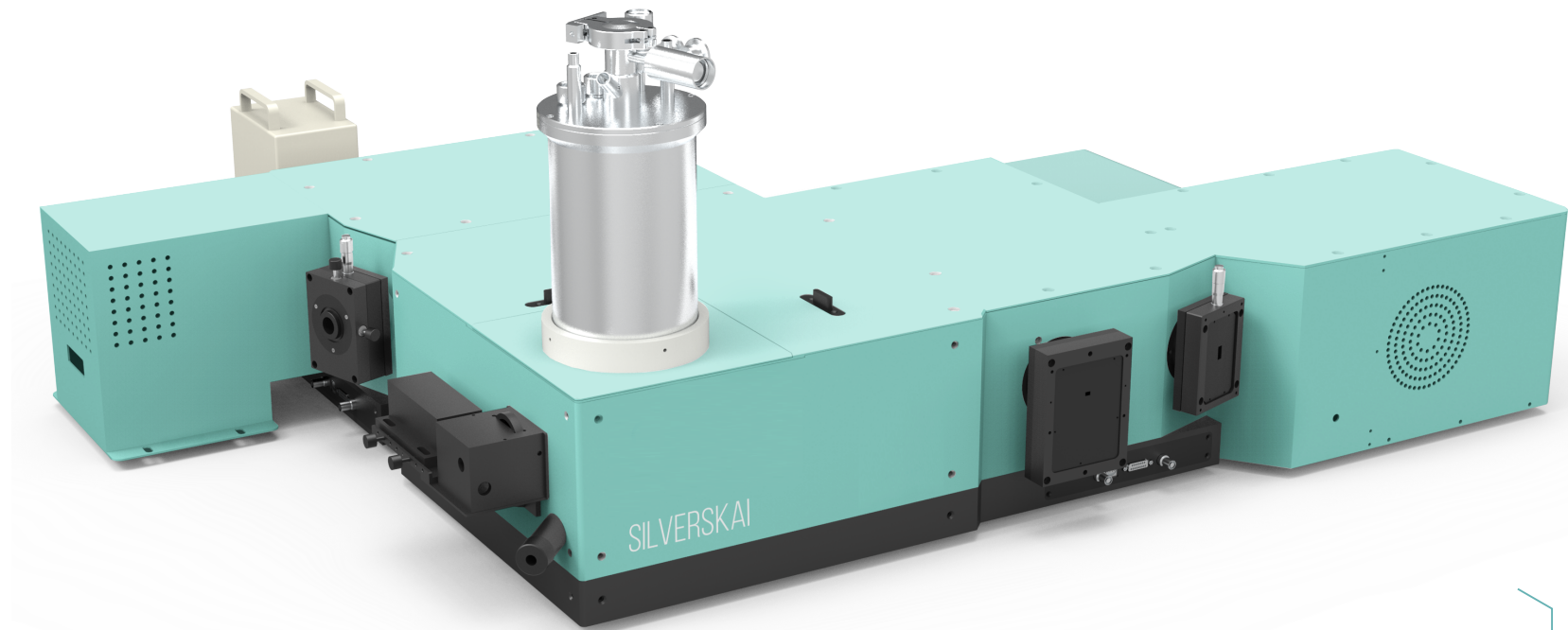


- Риски прекращения поставок из Китая есть
- Каналы поставки будут всегда
- Проблемы с платежами пока решаются
- Российские производители тоже зависят от санкций
- Опираемся на статистику предыдущих поставок
- Сравниваем риск непоставки VS риск сюрпризов с новым оборудованием

Флуоресцентный спектрометр SilverskAI

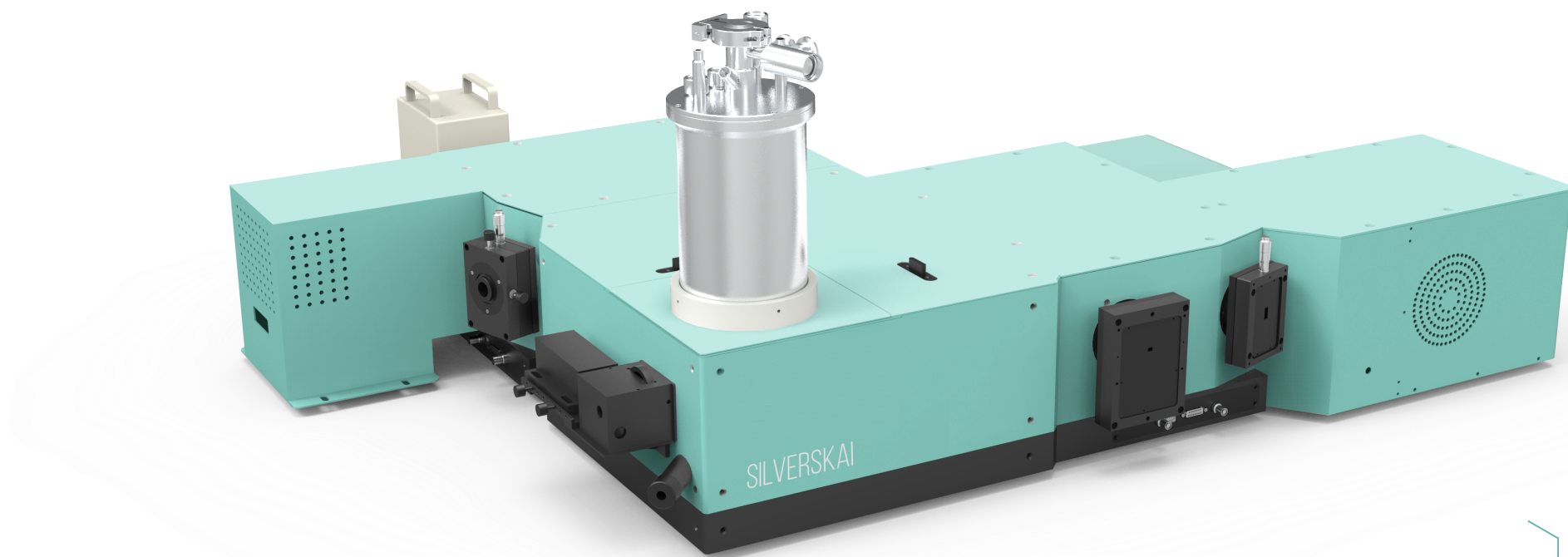


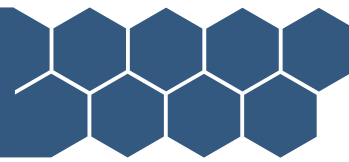
- Российская торговая марка
- Нет проблем с санкциями
- Многолетний опыт Техноинфо
- Полная поддержка оригинального производителя



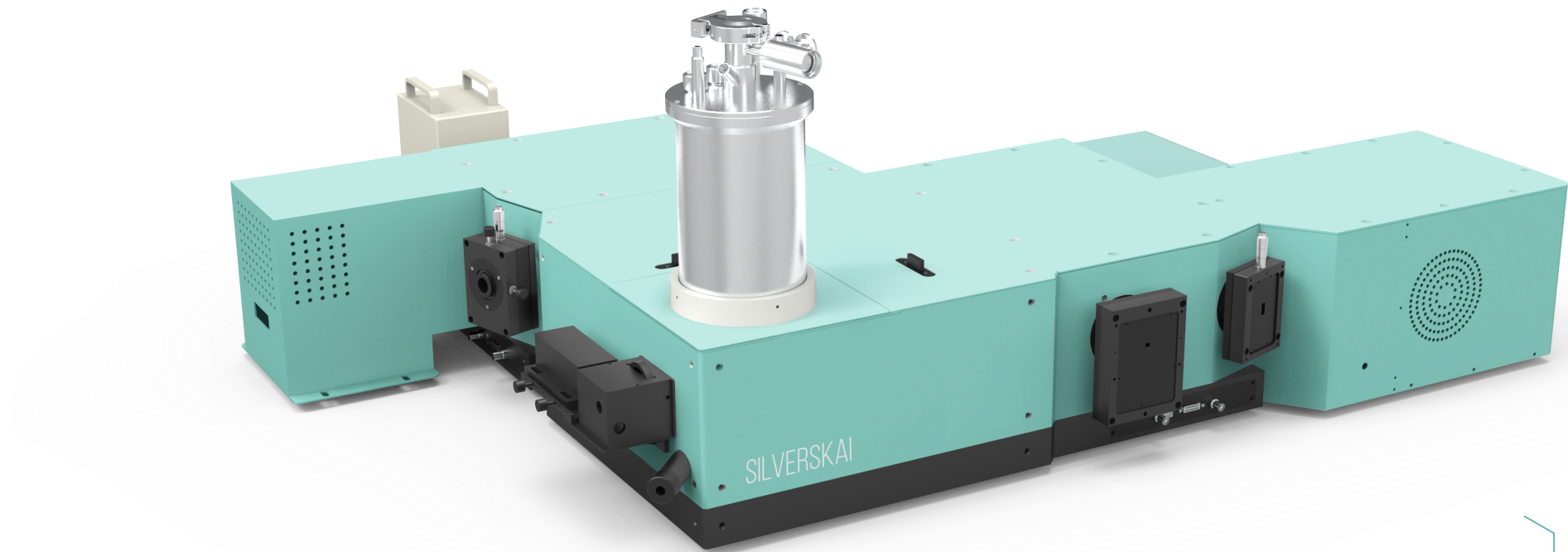


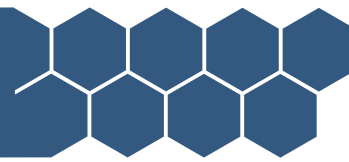
- Детекторы от 200 до 5500 нм



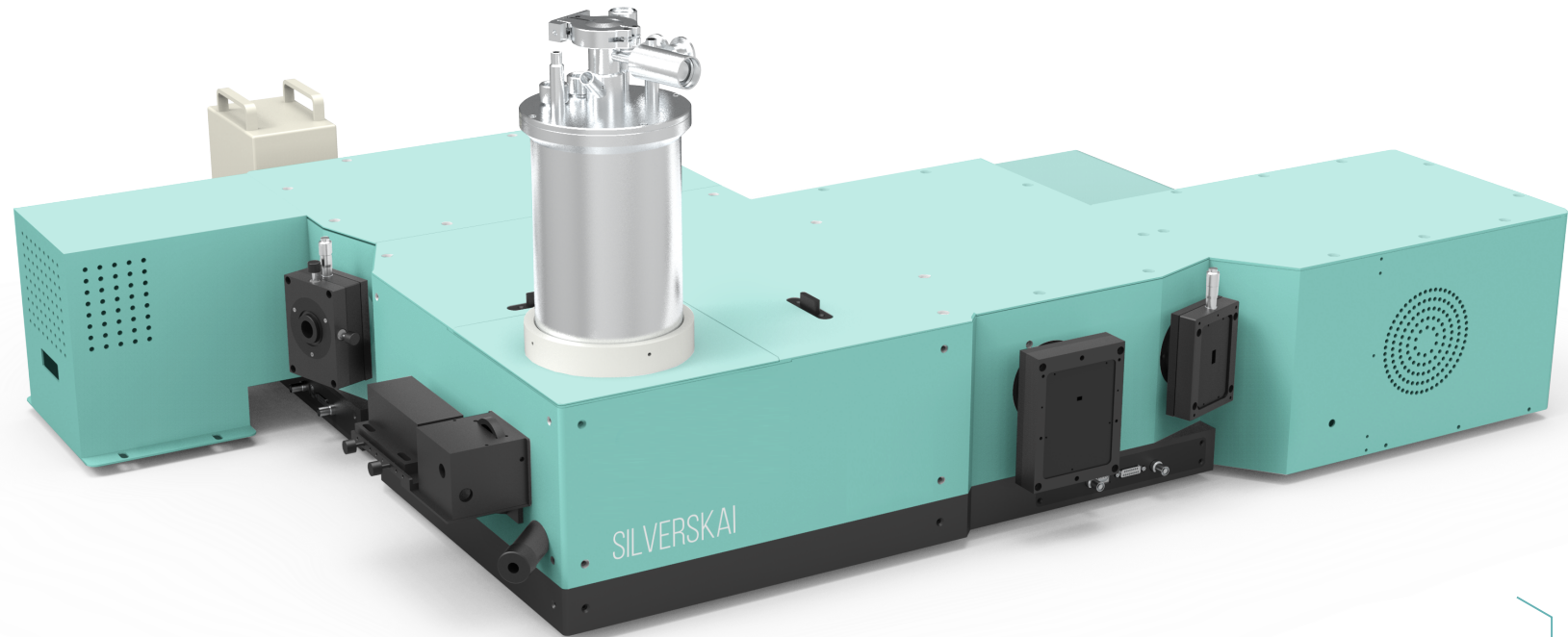


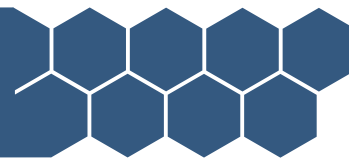
- Детекторы от 200 до 5500 нм
- Монохроматоры 320 мм, возможны двойные



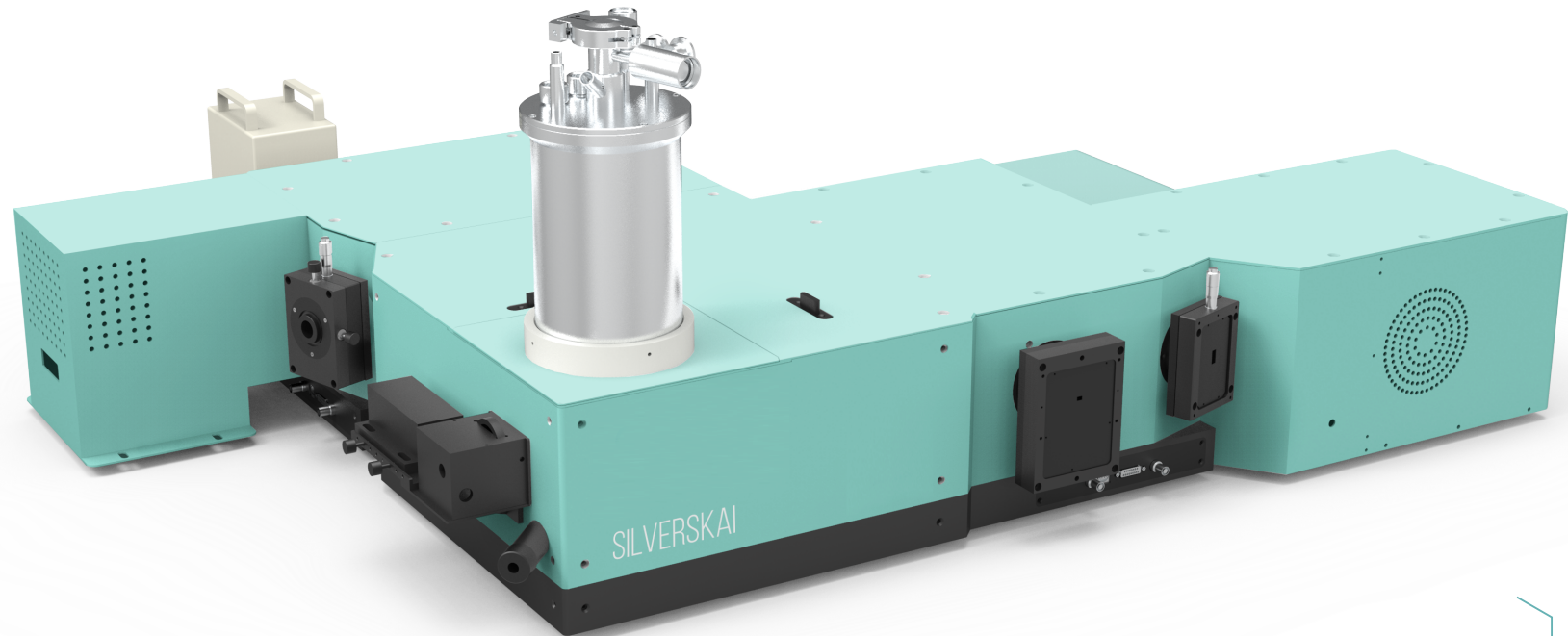


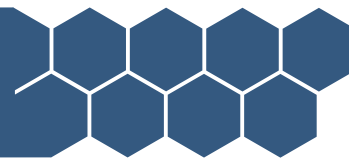
- Детекторы от 200 до 5500 нм
- Монохроматоры 320 мм, возможны двойные
- Держатели для любых типов образцов



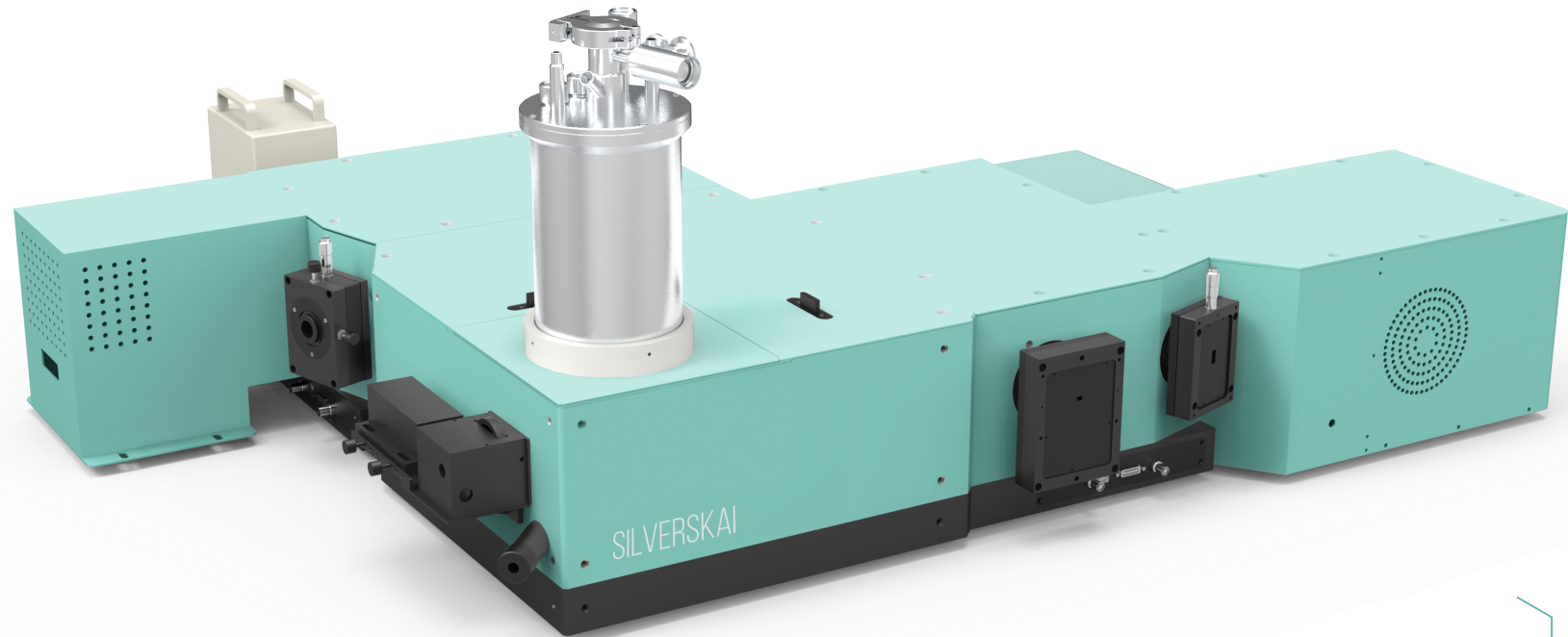


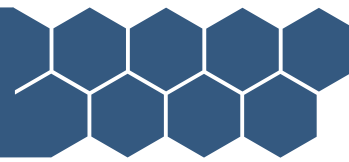
- Детекторы от 200 до 5500 нм
- Монохроматоры 320 мм, возможны двойные
- Держатели для любых типов образцов
- Криостат (азот, гелий)



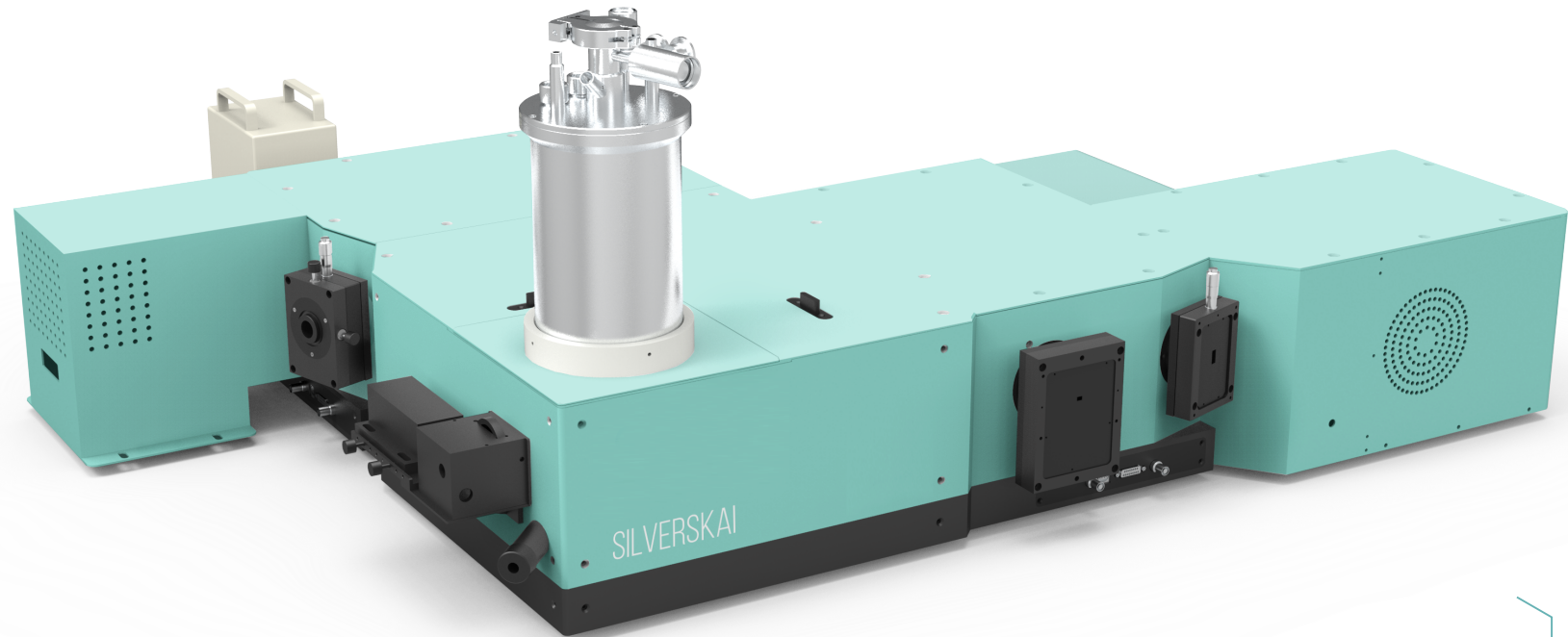


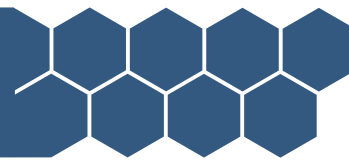
- Детекторы от 200 до 5500 нм
- Монохроматоры 320 мм, возможны двойные
- Держатели для любых типов образцов
- Криостат (азот, гелий)
- Интегрирующая сфера



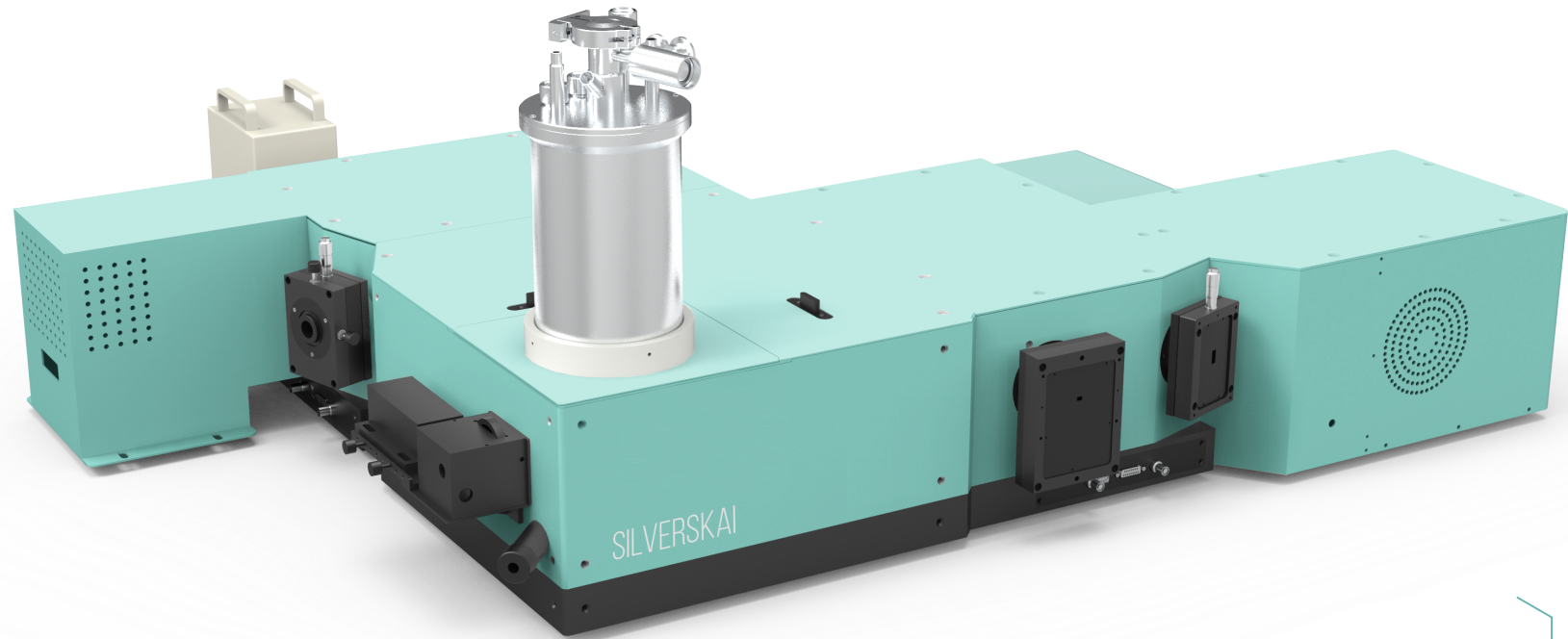


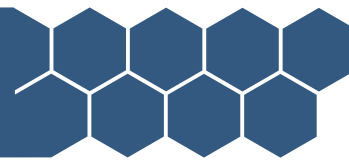
- Детекторы от 200 до 5500 нм
- Монохроматоры 320 мм, возможны двойные
- Держатели для любых типов образцов
- Криостат (азот, гелий)
- Интегрирующая сфера
- Электроника TCSPC и MCS



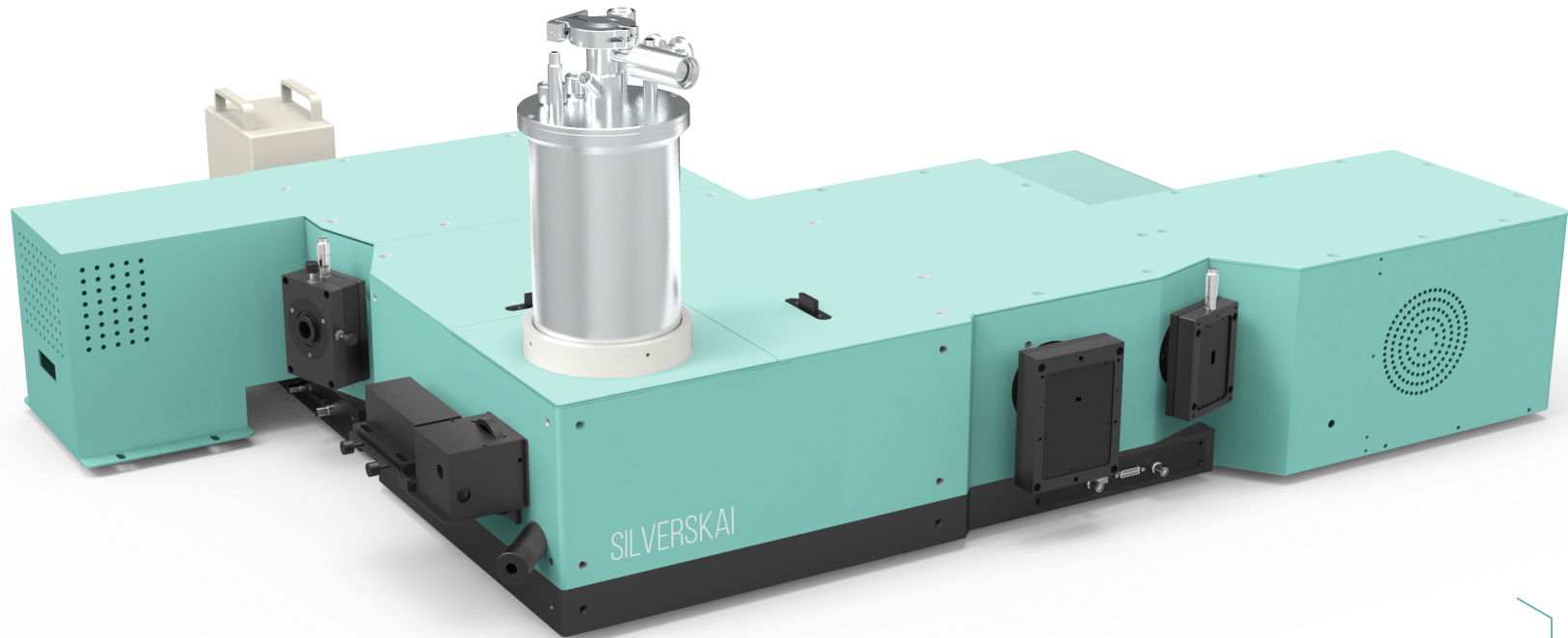


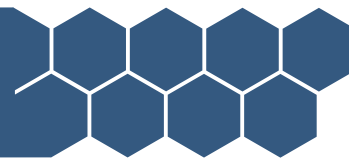
- Детекторы от 200 до 5500 нм
- Монохроматоры 320 мм, возможны двойные
- Держатели для любых типов образцов
- Криостат (азот, гелий)
- Интегрирующая сфера
- Электроника TCSPC и MCS
- Поляризаторы



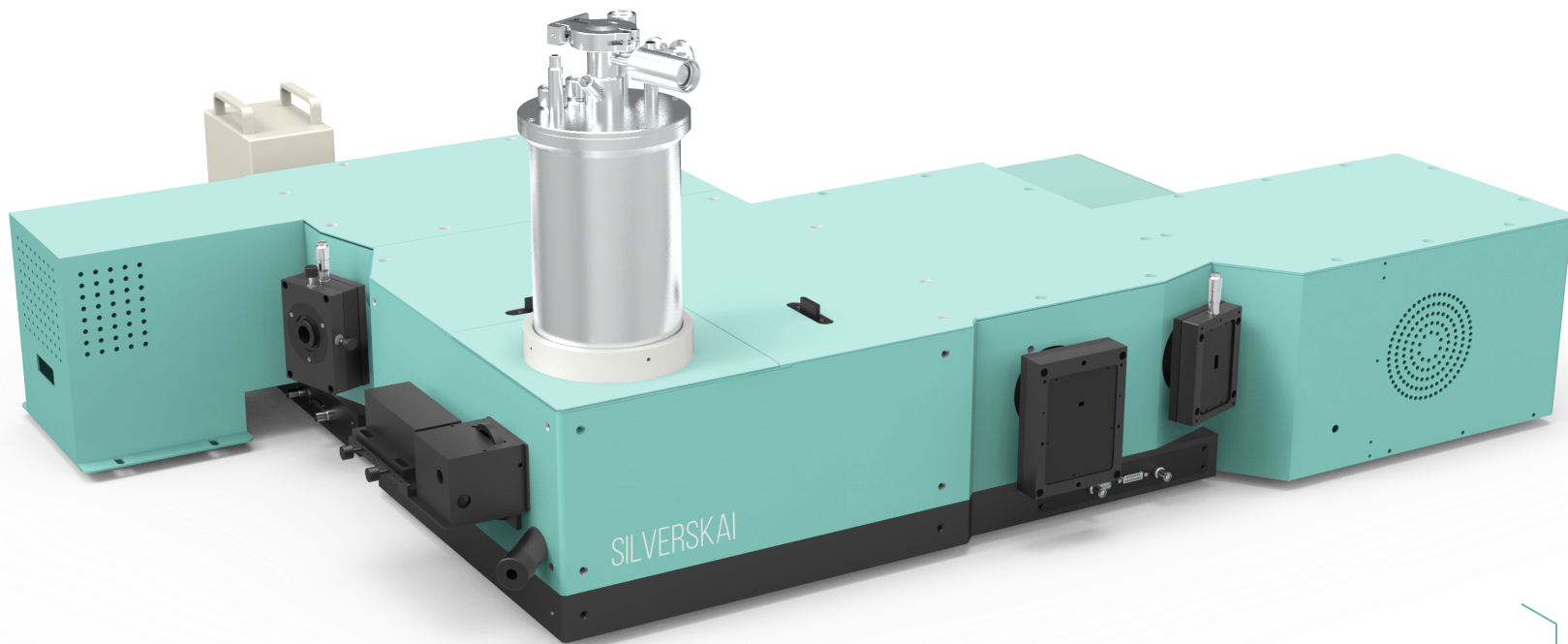


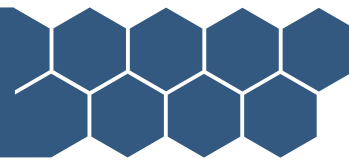
- Детекторы от 200 до 5500 нм
- Монохроматоры 320 мм, возможны двойные
- Держатели для любых типов образцов
- Криостат (азот, гелий)
- Интегрирующая сфера
- Электроника TCSPC и MCS
- Поляризаторы
- Импульсные нс и пс лазеры



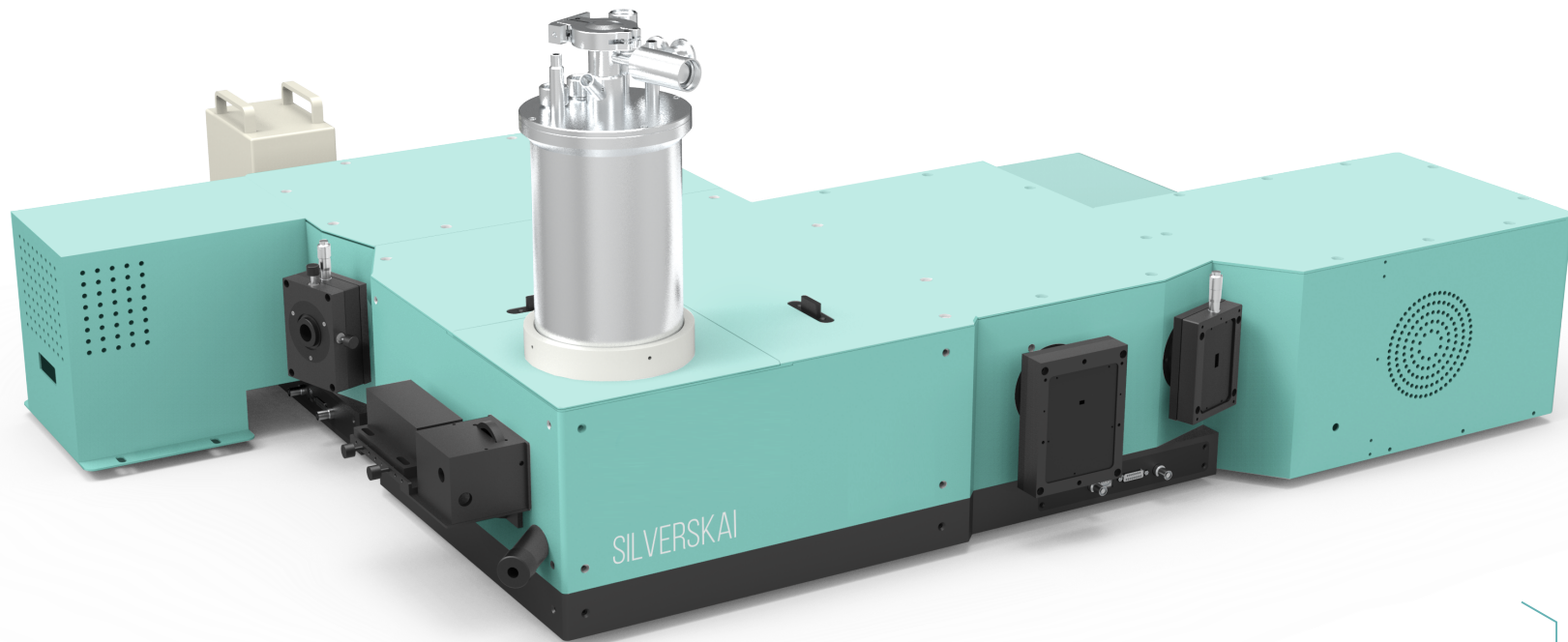


- Детекторы от 200 до 5500 нм
- Монохроматоры 320 мм, возможны двойные
- Держатели для любых типов образцов
- Криостат (азот, гелий)
- Интегрирующая сфера
- Электроника TCSPC и MCS
- Поляризаторы
- Импульсные нс и пс лазеры
- Суперконтинуумный лазер



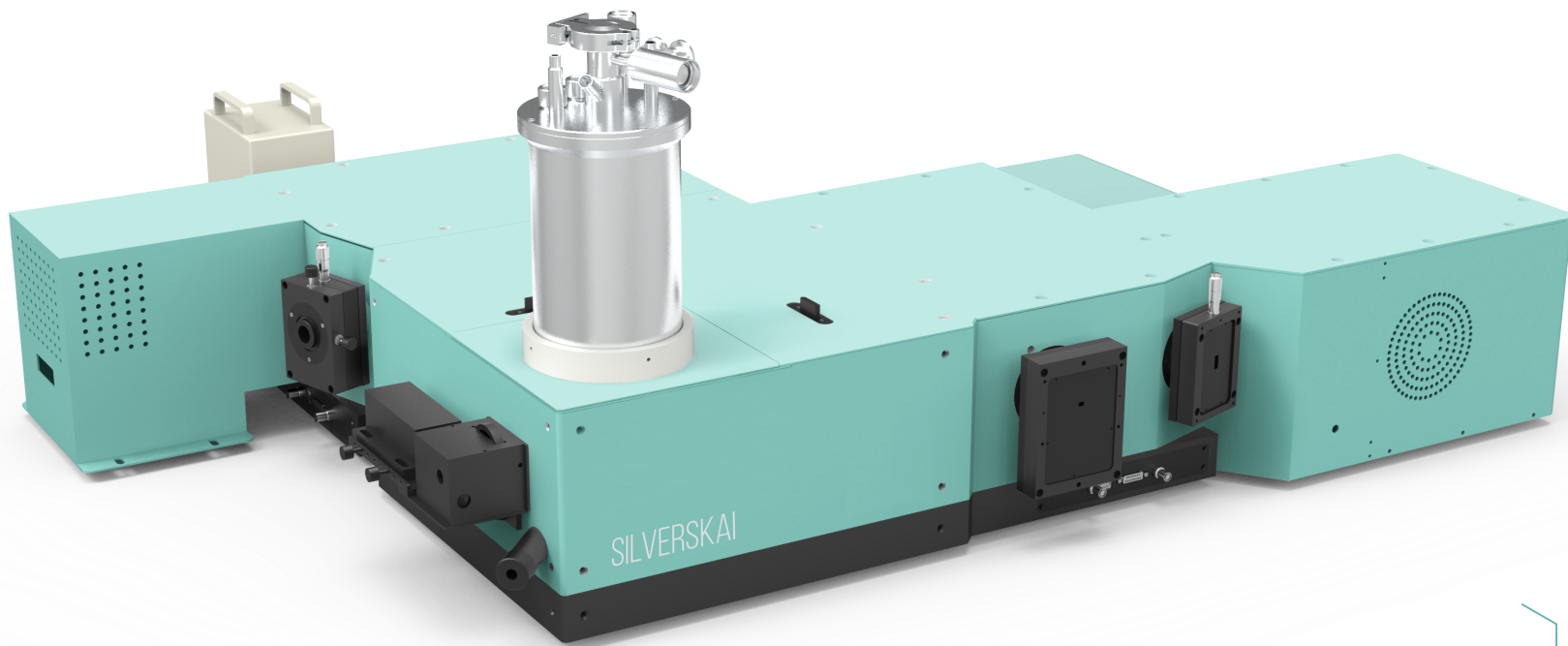
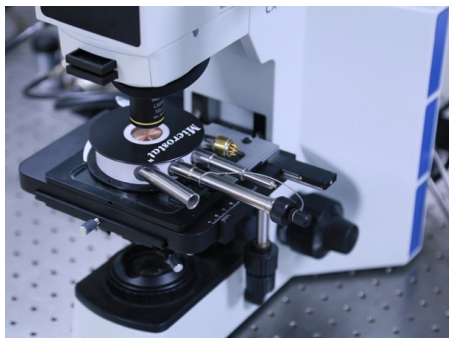


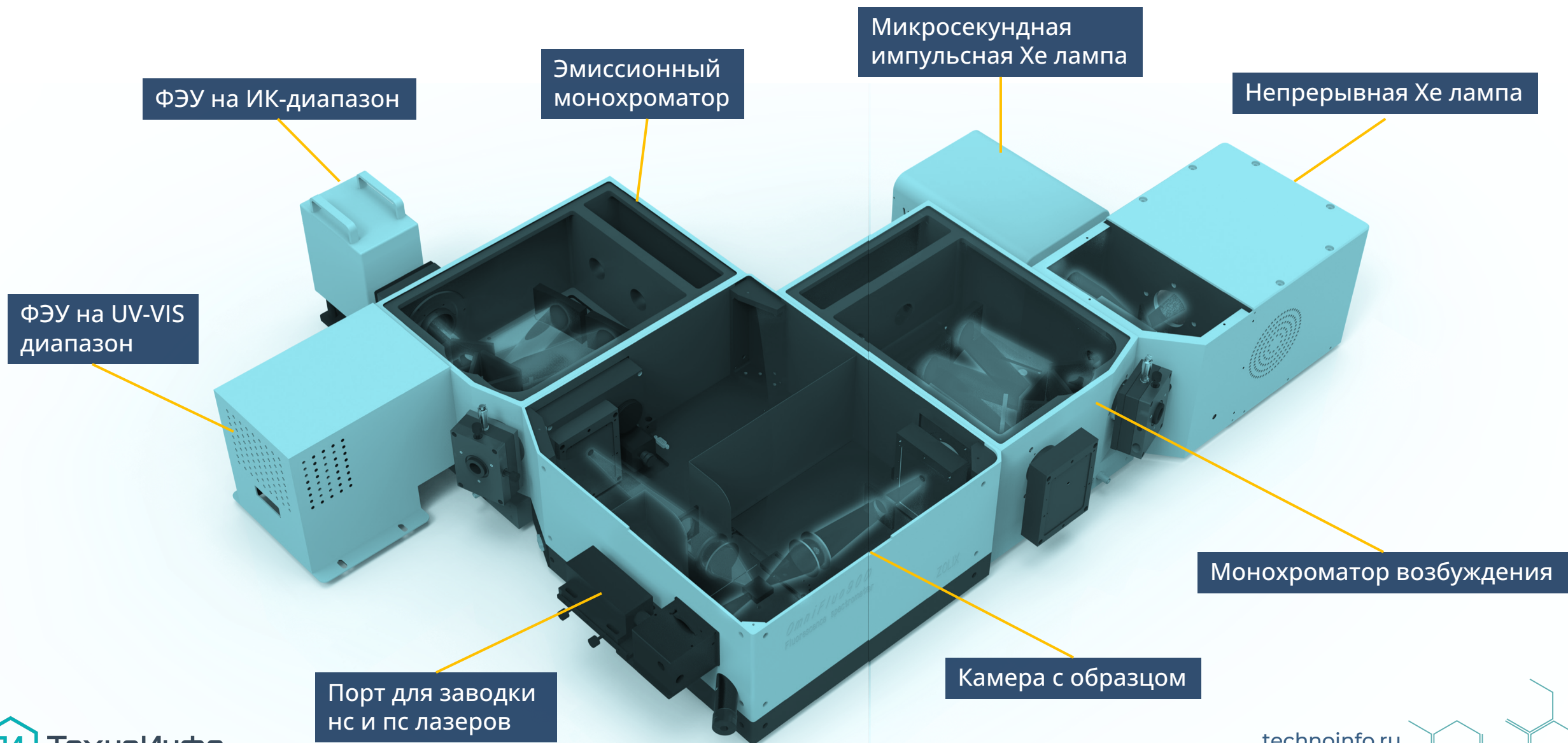
- Детекторы от 200 до 5500 нм
- Монохроматоры 320 мм, возможны двойные
- Держатели для любых типов образцов
- Криостат (азот, гелий)
- Интегрирующая сфера
- Электроника TCSPC и MCS
- Поляризаторы
- Импульсные нс и пс лазеры
- Суперконтинуумный лазер
- Рентгеновская трубка



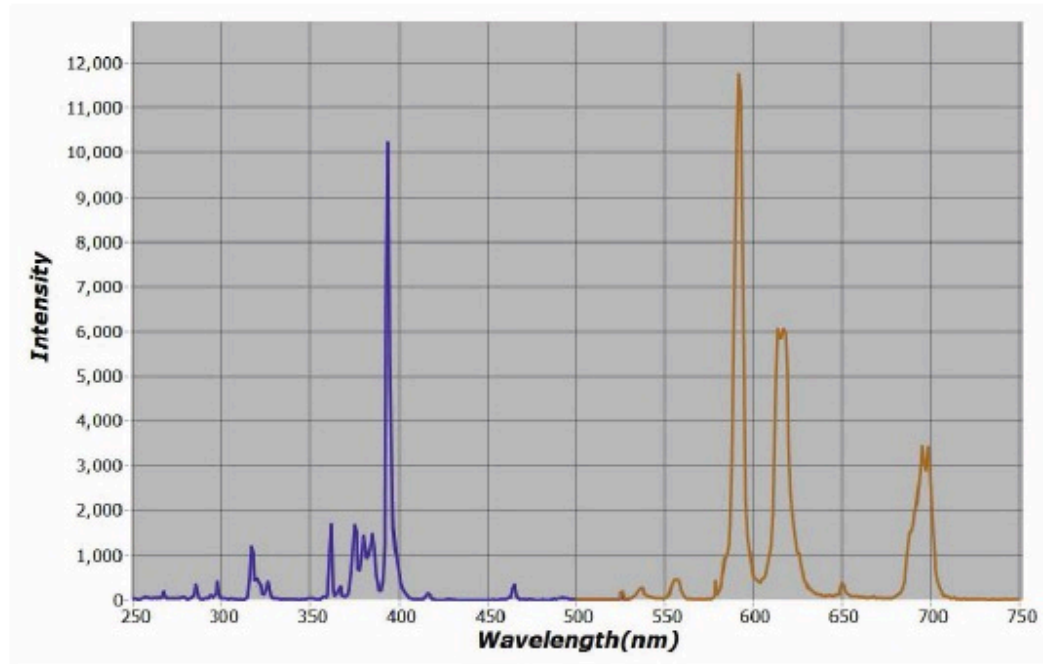
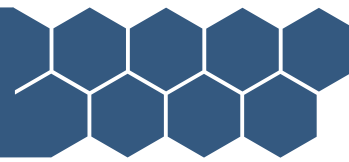


- Детекторы от 200 до 5500 нм
- Монохроматоры 320 мм, возможны двойные
- Держатели для любых типов образцов
- Криостат (азот, гелий)
- Интегрирующая сфера
- Электроника TCSPC и MCS
- Поляризаторы
- Импульсные нс и пс лазеры
- Суперконтинуумный лазер
- Рентгеновская трубка
- Интеграция с микроскопом

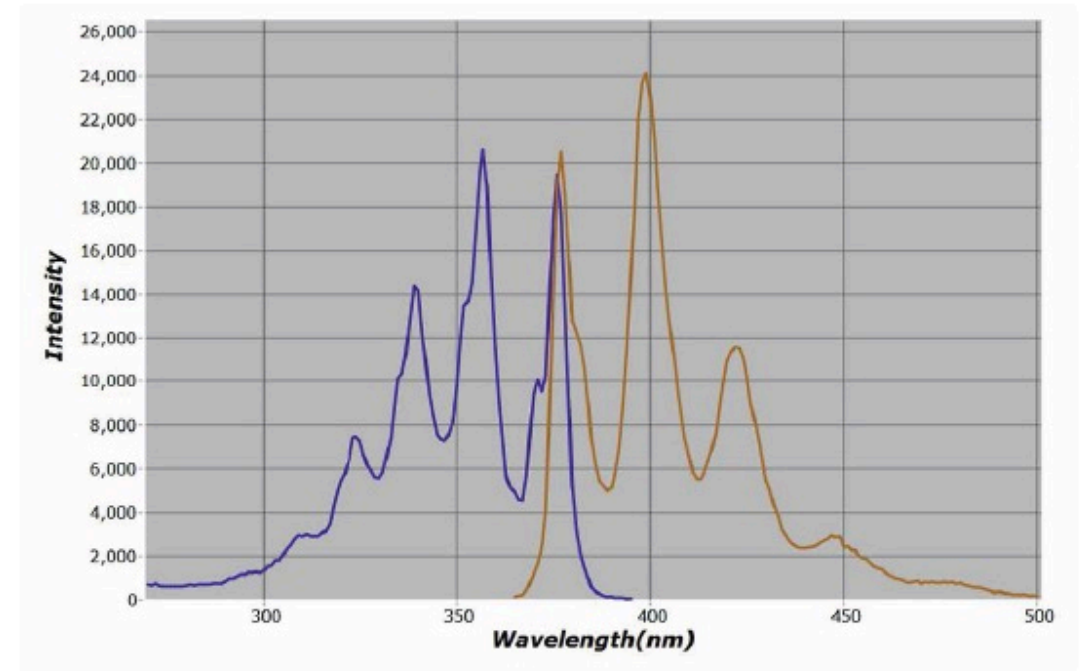




Спектры возбуждения и эмиссии

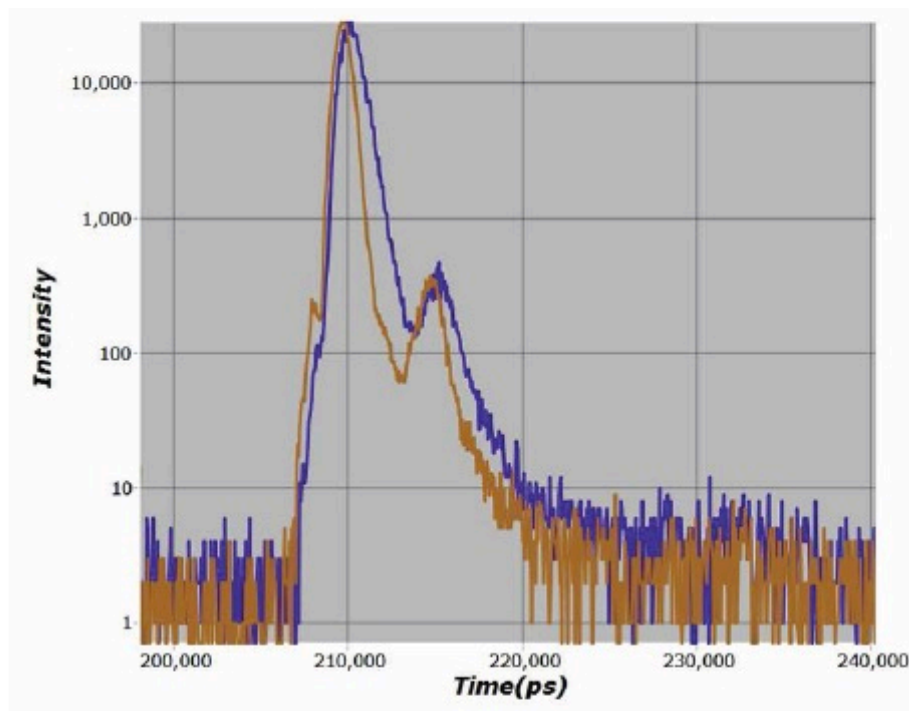


Европий в азотной кислоте. Возбуждение 75Вт ксеноновой лампой, шаг 1 нм. Максимум эмиссии 592,3 нм, длина волны возбуждения 393,5 нм

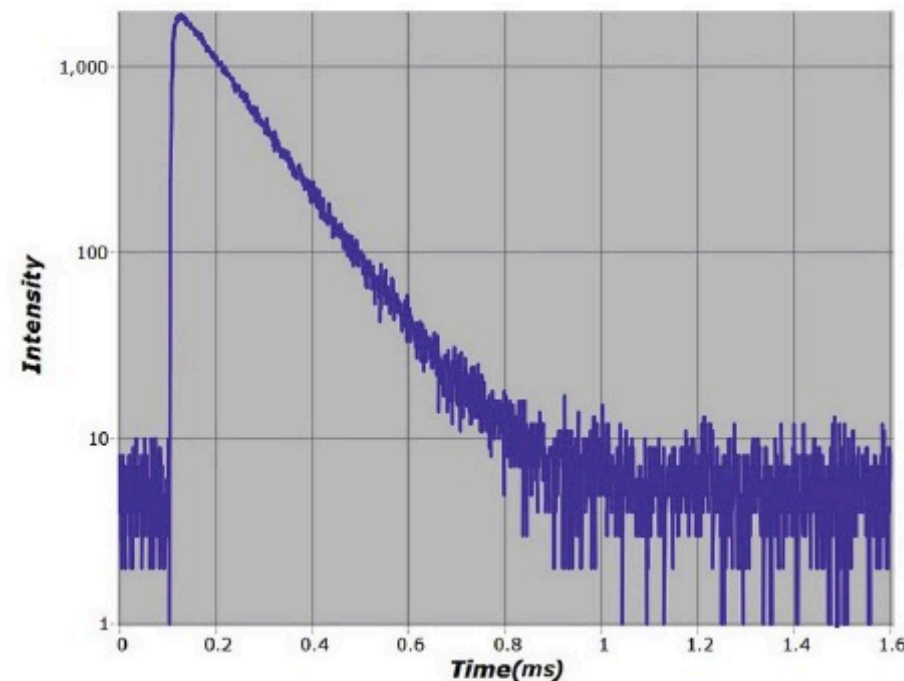


Антрацен. Возбуждение 75Вт ксеноновой лампой, шаг 1 нм. Максимум эмиссии 399 нм, длина волны возбуждения 357 нм

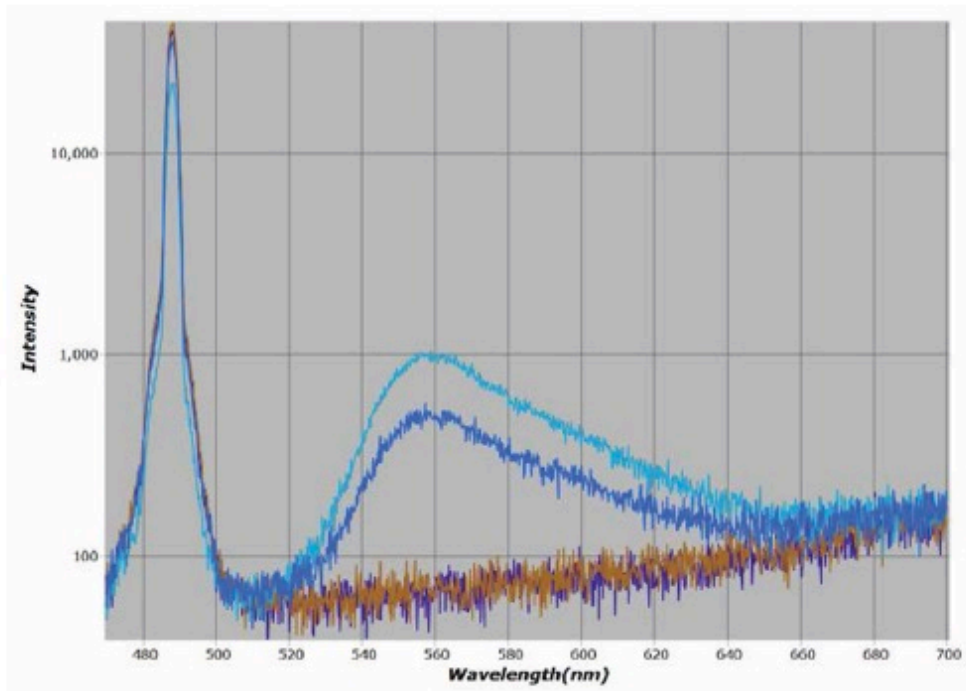
Времена жизни флуоресценции и фосфоресценции



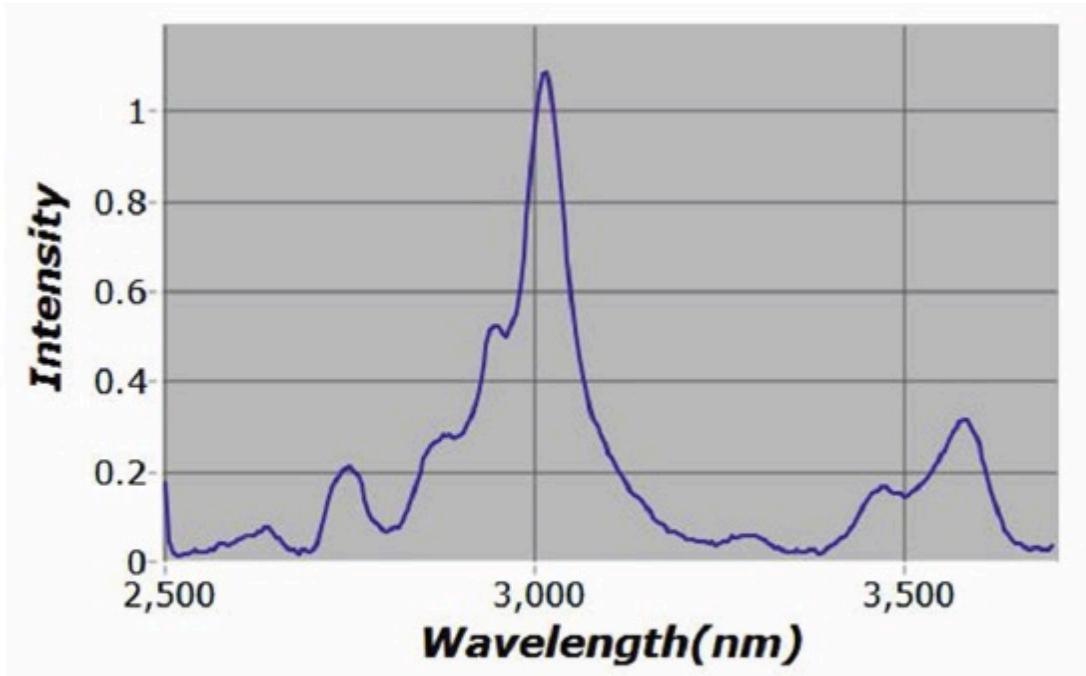
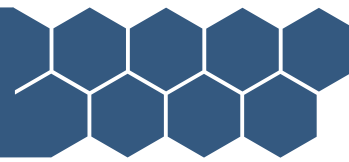
Эритрозин В в метаноле. Возбуждение суперконтинуумным лазером на 510 нм. Частота повторения 1 МГц: максимум эмиссии 540 нм, реконволюция аппаратной функции. Измеренное время жизни 460 пс



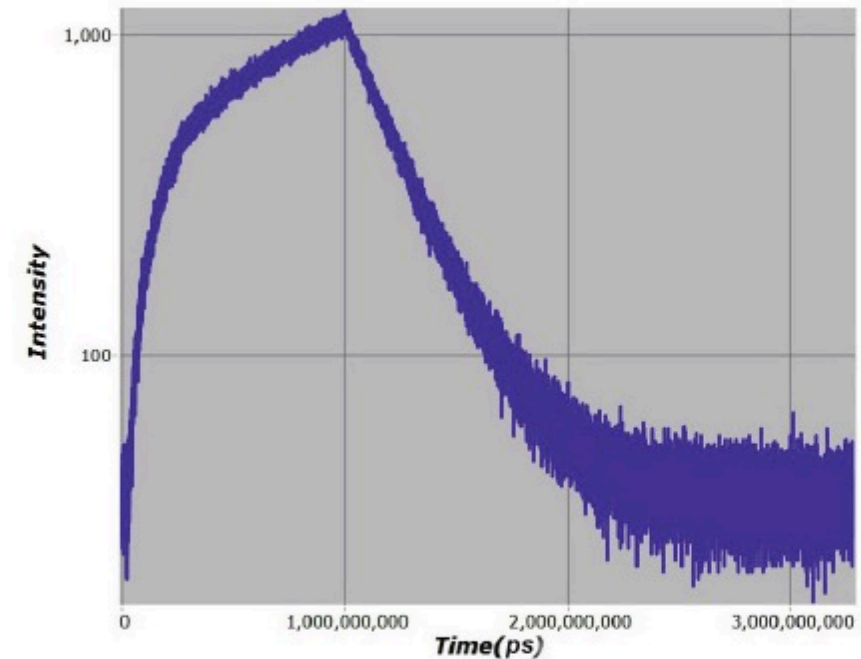
Европий в азотной кислоте. Возбуждение микросекундной импульсной ксеноновой лампой, шаг 1 нм. Максимум эмиссии 592,3 нм. Измеренное время жизни 117 мкс



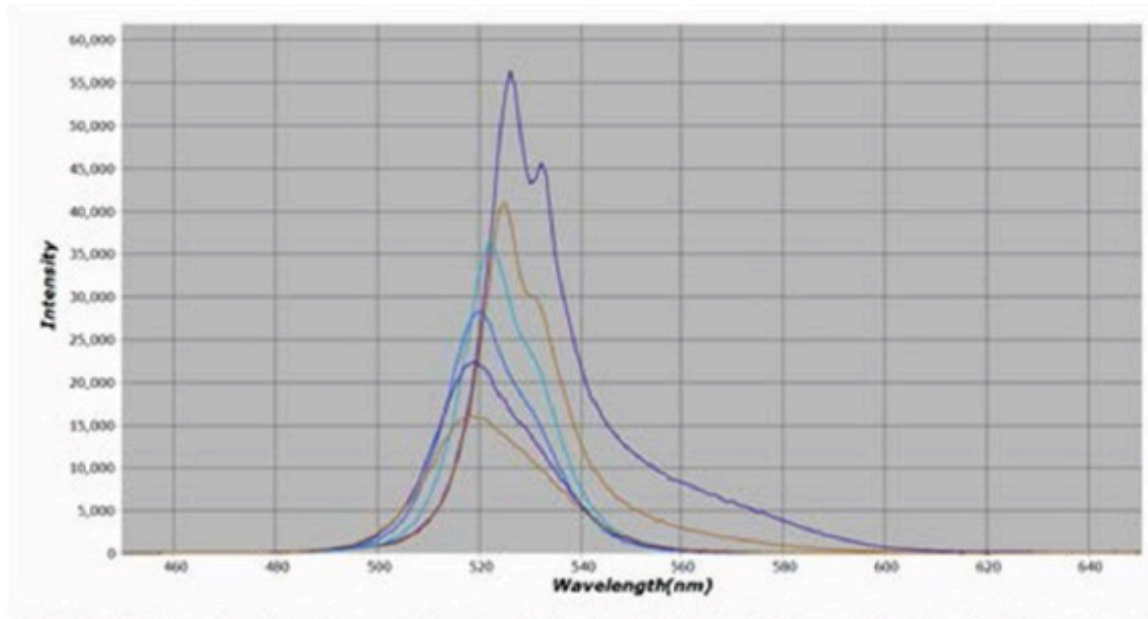
Родамин 6G в этаноле. Возбуждение 75Вт ксеноновой лампой на 488 нм. Шаг 0,2 нм, время интегрирования 100 мс, диапазон сканирования 470-700 нм. Измеренный квантовый выход 95%



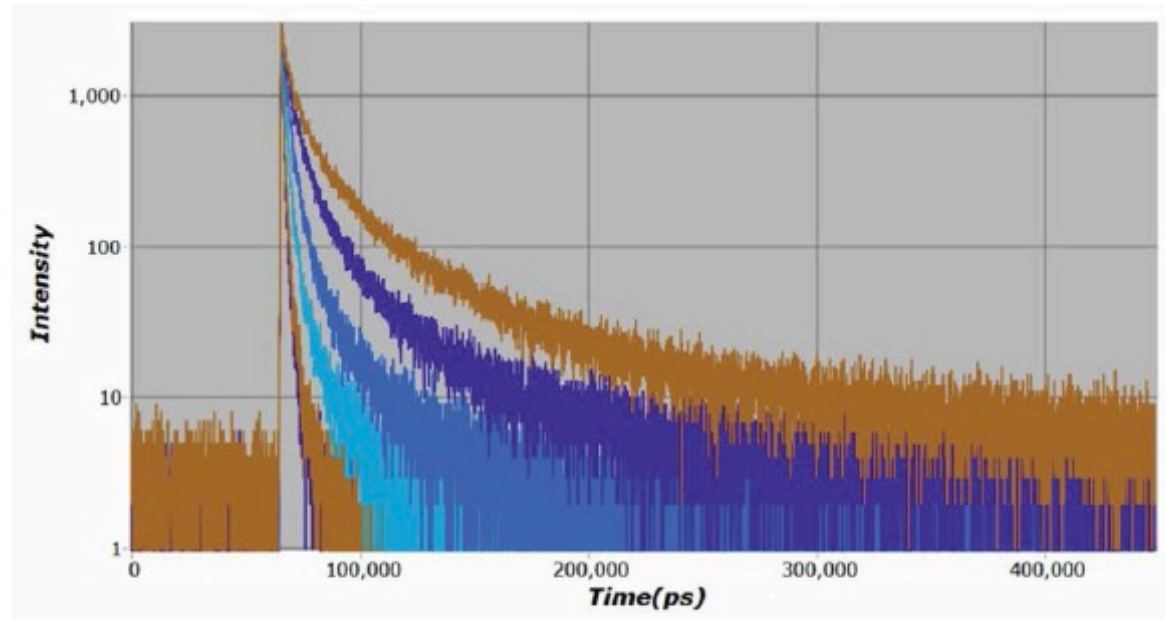
Спектр эмиссии титанатного стекла, допированного сульфатом цинка. Возбуждение непрерывным лазером 532 нм с детекцией аналоговым InSb детектором с синхронным усилителем



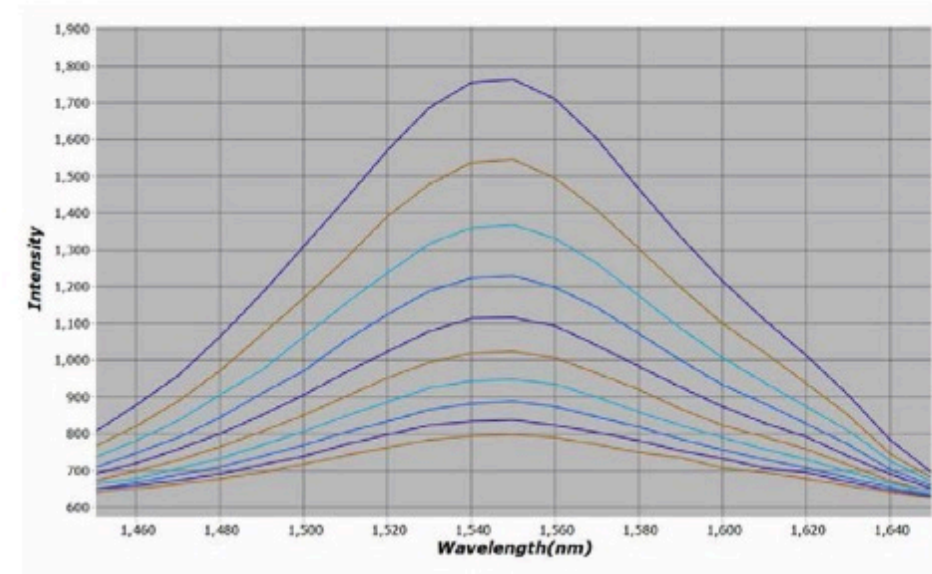
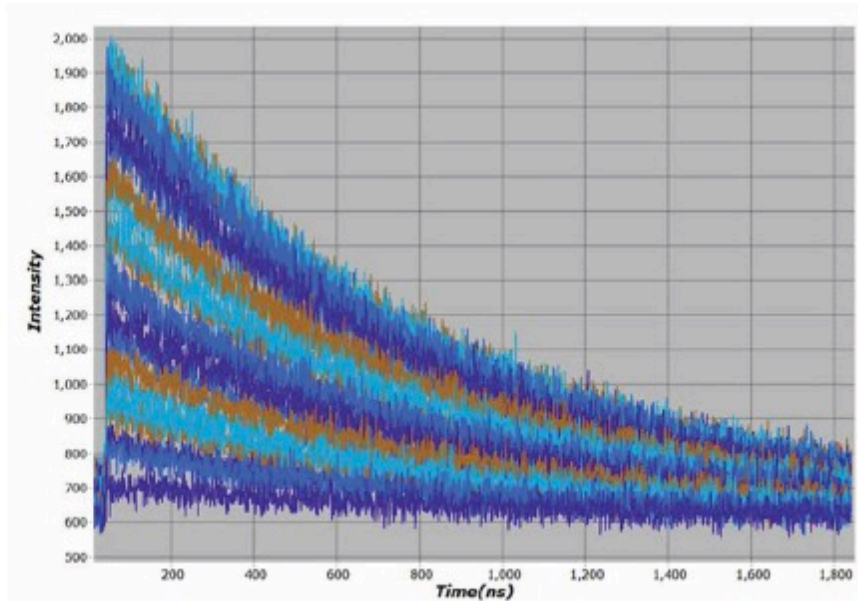
Время жизни образца кристалла YAG:Er. Возбуждение непрерывным лазером с модуляцией, частота повторения 100 Гц, максимум эмиссии 1064 нм



Спектры эмиссии солнечной батареи **CsPbBr₃**. Азотный криостат, диапазон температур 77-300K. Возбуждение 75Вт ксеноновой лампой на 360 нм



Время жизни флуоресценции солнечной батареи **CsPbBr₃**. Возбуждение 375 нм импульсным пикосекундным лазером с частотой повторения 1 МГц. Максимум эмиссии 520 нм



Раствор квантовых точек PbS. Возбуждение импульсным пикосекундным лазером 488 нм Сканирование эмиссии в диапазоне 1450-1650 нм с регистрацией Пельтье охлаждаемым ФЭУ

Основные характеристики



ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТЬ ПРИБОРА

Спектральный диапазон	200–870 нм
Спектральное разрешение	0,08 нм на длине волны 435,84 нм
Соотношение сигнал / шум по рамановскому пику воды	> 10 500 : 1
Диапазон времен жизни	500 пс – 10 с



ИСТОЧНИКИ ВОЗБУЖДЕНИЯ

Непрерывная ксеноновая лампа	75 Вт, 200–1800 нм
Импульсная ксеноновая лампа	60 Вт
Импульсные и непрерывные лазеры	от 266 нм, ширина импульса от 100 пс, мощность до 100 мВт
Рентгеновская трубка	



МОНОХРОМАТОРЫ

Оптическая схема Черни-Тернера	
Фокусное расстояние	320 мм
Воспроизводимость	+/- 0,1 нм
Дифракционная решетка на возбуждение	1200 линий/мм, угол блеска 300 нм, 600 линий/мм, угол блеска 500 нм
Дифракционная решетка на эмиссию	1200 линий/мм, угол блеска 500 нм, 600 линий/мм, угол блеска 750 нм, 300 линий/мм, угол блеска 1250 нм



ДЕТЕКТОРЫ

Стандартный ФЭУ	185–900 нм
Опциональные ФЭУ	185–980 нм, 185–1010 нм, 960–1700 нм, 300–1700 нм
Опциональные твердотельные	800–1700 нм, 800–2600 нм, 1000–5500 нм



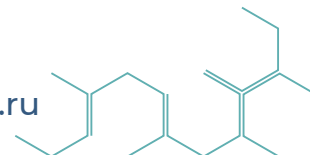
ДЕРЖАТЕЛИ

Стандартные	жидкости, порошки, тонкие пленки
Опциональные	вращающийся, термостатируемый, держатель с магнитной мешалкой
Криостат	азотный, гелиевый
Интегрирующая сфера	



СИСТЕМА СЧЕТА ФОТОНОВ

Скорость счета	100 Mcps
Разрешение	16 / 32 / 64 / 128 / 256 / 512 / 1024 пс
Количество каналов	65 535
Мертвое время	10 нс



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ

ДМИТРИЙ ПЛЕШКОВ

Руководитель отдела биологии и биотехнологий Техноинфо

d.pleshkov@technoinfo.ru



technoinfo.ru