

## **РУКОВОДСТВО ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ ЛЮМИНОМЕТРА ЛЮМ-1 (сокращенное)**

Данное руководство по эксплуатации (РЭ) предназначено для ознакомления с составом, техническими характеристиками, устройством и принципом работы люминометра ЛЮМ-1 в объеме, необходимом для эксплуатации и поверке прибора. Люминометр ЛЮМ-1 - переносной прибор, не требующий от обслуживающего персонала специального уровня подготовки. Данное РЭ распространяется на базовую модель и возможные модификации изделия.

### **ОПИСАНИЕ И РАБОТА**

#### **Назначение изделия**

Люминометр ЛЮМ-1 – высокочувствительный прибор для регистрации биoluminesценции в видимой области спектра - слабых оптических свечений, возникающих в живых организмах и биохимических реакциях. Свечение отражает вредные для организма процессы, в его основе лежат реакции радикалов, которые обладают способностью разрушать клеточные структуры и приводить к развитию болезней человека, поэтому за последние годы исследование люминесценции, сопровождающей биохимические реакции в живых клетках, привлекает большое внимание исследователей. С другой стороны, благодаря простоте регистрации свечения и существованию ряда селективных биохимических систем, с помощью которых можно осуществлять быстрый контроль бактериальной зараженности различных материалов, в том числе продуктов питания, воды и воздуха, биoluminesценция все шире используется в медицине и санитарии. Люминометр ЛЮМ-1 предназначен для быстрого определения общей микробной загрязненности пищевых продуктов. Микробная загрязненность определяется по концентрации аденозин-5'-трифосфата (АТФ). АТФ содержится во всех живых клетках микроорганизмов. Содержание АТФ в образце пропорционально содержанию в образце жизнеспособных клеток, т.е. микробной загрязненности. При определении содержания АТФ люминометр ЛЮМ-1 предназначен для работы с реагентами, содержащими люциферазу светлячков и люциферин, в частности, с реагентами фирмы Люмтек (АТФ-реагент, ТУ 2639-001-17919612-2002). Предел обнаружения АТФ с помощью люминометра ЛЮМ-1 и данного АТФ-реагента составляет 0,005 пикомоль/мл раствора.

Люминометр ЛЮМ-1 может быть использован и для регистрации свечения в других биохимических и химических процессах.

#### **Технические характеристики**

Люминометр ЛЮМ-1 обладает следующими техническими и пользовательскими характеристиками:

1. вариант исполнения – переносной;
2. габаритные размеры (Д×Ш×В) - 180×100×40 мм;
3. вес прибора – без сетевого адаптера 650 г, вес с сетевым адаптером 1100 г;
4. система питания – от сети и/или автономная от батареи типа КРОНА (9 Вольт);
5. низкая потребляемая мощность – не более 2 Вт;
6. безопасность применения – в приборе отсутствуют напряжения выше 9 В;
7. быстрая степень готовности – не более 3 минут;
8. работоспособность в широком диапазоне температур от 10°С до 30°С;
9. чувствительность к квантам света в диапазоне длин волн от 400 нм до 600 нм не менее 20%;
10. в варианте питания от сети - работоспособность и сохранение основных параметров при изменении питающего напряжения от 180 до 240 В;
11. в варианте автономного питания - работоспособность и сохранение основных параметров при изменении питающего напряжения от 5 до 9 В;

12. удобный пользовательский интерфейс визуального считывания результатов измерений с использованием жидкокристаллического индикатора;
13. наличие интерфейса передачи информации из внутреннего запоминающего устройства во внешние устройства протоколирования, обработки и анализа результатов измерений по стандартным COM и/или USB портам;
14. чувствительность обнаружения АТФ (при использовании АТФ-реагента, ТУ 2639-001-17919612-2002) составляет 0,005 пикомоль/мл раствора.

### Состав люминометра ЛЮМ-1

Состав комплекта поставки люминометра ЛЮМ-1 приведен в таблице 1.

Таблица 1

Обозначение	Наименование	Кол. шт	Примечание
ЛЮНС.411216.002	Биолюминометр ЛЮМ-1	1 шт	
	Сетевой адаптер	1 шт	
	Кабель соединительный для COM порта	1 шт	По требованию
	Кабель соединительный для USB порта	1 шт	По требованию
ЛЮНС.411216.003	Диск (дискета) с программным обеспечением	1 шт	По требованию
ЛЮНС.411216.002.РЭ	Руководство по эксплуатации	1 шт	

В зависимости от требования поставки люминометр ЛЮМ–1 поставляется в варианте автономной работы и возможной работы совместно с персональным компьютером, работающим в среде Windows. В случае возможной совместной работы с персональным компьютером люминометр ЛЮМ–1 комплектуется соответствующим интерфейсом с выходным разъемом, программным обеспечением и соединительным кабелем.

### Устройство и работа

Люминометр ЛЮМ-1 является функционально законченным прибором, состоящим из кюветного отделения и системы регистрации, размещенных в едином корпусе.

Кюветное отделение состоит из:

1. фотодетектора;
2. механического привода.

Для обеспечения приведенных требований в качестве фотодетектора необходимо использовать фотосенсор, работающий в режиме счета одиночных фотонов, так называемый счетный режим. В качестве такого фотосенсора выбран фотоэлектронный умножитель (ФЭУ), совмещенный с высоковольтным источником питания и делителем напряжения, называемый модуль ФЭУ японской фирмы Hamamatsu типа H5773P.

Механический привод – устройство, обеспечивающее возможность передвижения исследуемого образца и его фиксированное расположение перед фотодетектором, а также в положении, обеспечивающем свободный доступ к образцу. Конструкция кюветного отделения светонепроницаема. Внешний свет не попадает на фотодетектор в фиксированных положениях и при перемещении образца между этими фиксированными положениями. Передвижение образца обеспечивается возвратно - поступательным перемещением.

Система регистрации включает следующие электронные узлы:

1. сетевой адаптер – готовое изделие;
2. платы предусилителя и компаратора – дискриминатора (ПК1);
3. платы стабилизатора вторичного питания (ПК2);
4. плата визуального интерфейса – готовое изделие, жидкокристаллический индикатор (ЖКИ) типа МТ-16S2Н;
5. плата управления, калибровки и счета (ПУ), на которой также размещаются интерфейсы связи с персональным компьютером (СОМ и/или USB порты).

Люминометр ЛЮМ–1 предназначен для работы с цилиндрическими микрокюветами объемом 0,3 мл, внешним диаметром 9 мм и высотой 13 мм.

### **Средства измерения, инструмент и принадлежности**

Выполнение работ по техническому обслуживанию люминометра ЛЮМ–1 осуществляется с использованием следующих специальных средств измерения:

1. флакон № 1 - АТФ-реагент, лиофилизированный, ТУ 2639-001-17919612-2002;
2. флакон №2 - стерильная деионизированная вода, ГОСТ 6709-72;
3. флакон № 3 - АТФ-контроль, лиофилизированный, ТУ(проект) 2639-002-72144176-06;
4. автоматический дозатор фиксированного объема на 0,05 мл с наконечниками;
5. автоматический дозатор на 1 мл с наконечниками;
6. три пустых чистых флакона для разбавления АТФ-контроля.
7. Источник стабильного света, который может быть помещен в кювету люминометра.

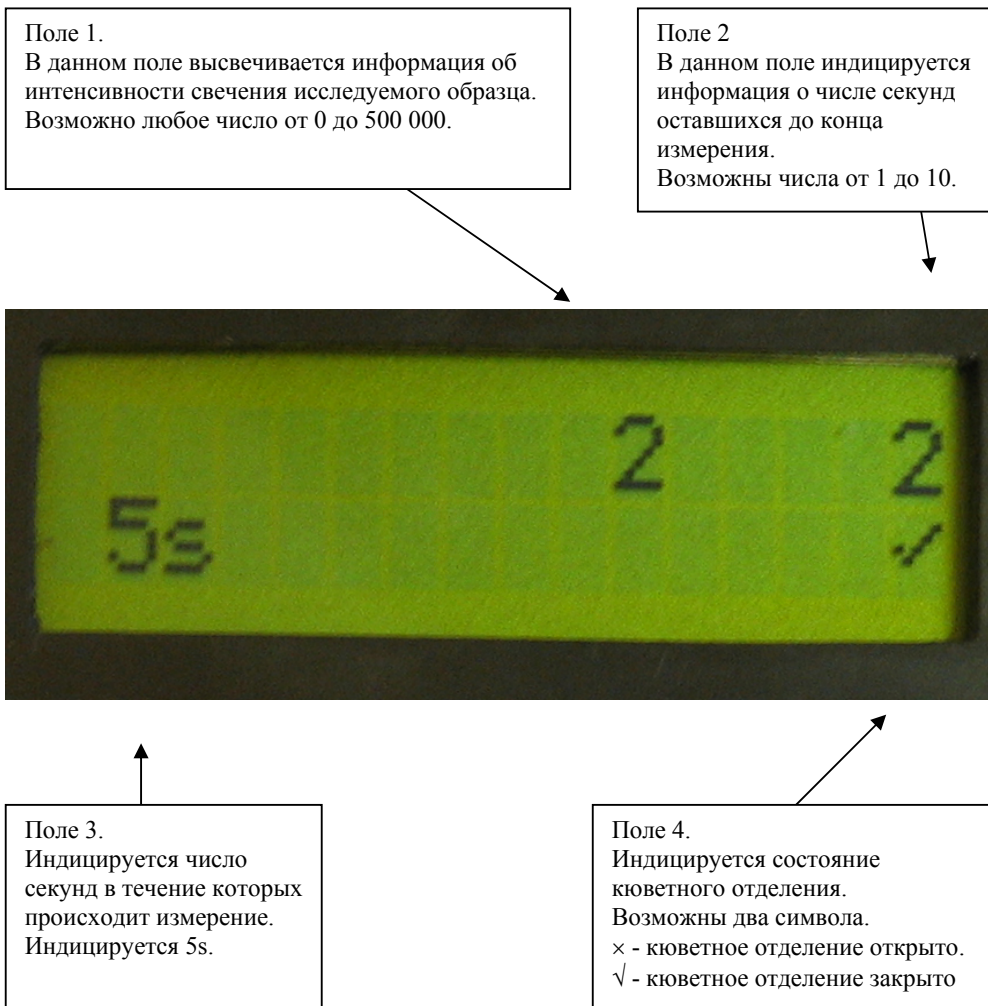
Методика контроля с использованием данных инструментов и принадлежностей описана в разделе «Техническое обслуживание».

### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ**

Люминометр ЛЮМ–1 предназначен для работы при температуре окружающего воздуха в диапазоне от 10°С до 30°С. Не допускается эксплуатация прибора вне этого температурного диапазона. Не допускается попадание воды (внешние осадки) на поверхность прибора. Вблизи люминометра ЛЮМ-1 не должно быть сильных электромагнитных полей.

#### **Использование изделия**

1. Подключить к прибору сетевой адаптер.
2. Подключить адаптер к сети переменного тока 220 В.
3. После включения адаптера в сеть на индикаторе прибора появится информация (пример на рис. 1). На экране может появиться сообщение «заккрыть», это значит, что нужно закрыть кюветное отделение, чтобы прибор мог правильно провести калибровку.
4. Перед началом работы прибор проведёт калибровку. После окончания калибровки на экране в поле 1 появится 0. Если в процессе калибровки произошла ошибка, то на экране появится сообщение «ошибка калибр.»
5. Дать прибору прогреться в течение 3-х минут. Кюветное отделение должно находиться в рабочем состоянии, в поле 4 должен индицироваться символ √.



Порядок работы.

#### А). Работа без передачи информации в персональный компьютер

Перевести кюветное отделение в открытое состояние (в поле 4 индицируется ×), поместить в кюветное отделение исследуемый образец. Перевести кюветное отделение в закрытое состояние (в поле 4 индицируется √). Закрытие кюветного отделения запускает процесс измерений.

После закрытия кюветного отделения проходит пятисекундный интервал, в течение которого не осуществляется набор импульсов. Затем начинается интервал набора данных (в поле 3 происходит обратный счет от 5 до 1), по окончании которого на дисплей в поле номер один выводится измеренный темп счёта в герцах. После чего автоматически запускается отсчёт следующего интервала интегрирования, по окончании которого также осуществляется вывод данных в поле номер один. Процесс набора данных останавливается в момент открытия кюветного отделения (в поле 4 индицируется - ×).

В процессе работы в поле номер 2 осуществляется вывод времени, оставшегося до окончания измерения, в поле номер 4 выводится текущее положение кюветного отделения.

Если темп счёта превысит значение 500 000, на экране появится сообщение «выше диапазона». Для продолжения работы с прибором его необходимо выключить, вынуть из кюветного отделения исследуемый образец и включить повторно.

#### Б). Работа с использованием персонального компьютера

Люминометр ЛЮМ-1 имеет два широко распространенных коммуникационных порта (USB и COM), с помощью которых может быть подключен к любому ПК. Для обеспечения ввода данных в компьютер необходимо установить специальную программу, которая позволяет сохранять данные из люминометра ЛЮМ-1 в постоянную память компьютера. Программа написана для операционных систем Windows 2000 и Windows XP. Набор данных программой проходит практически без участия оператора, при этом сохранение данных происходит в простой доступной форме. После сохранения данных оператор может перенести результаты измерений в любую программу для их обработки (например Excel и MatLab).

*Порядок работы люминометра ЛЮМ-1 с записью данных в ПК.*

Установить программу на ПК (в случае если она ещё не установлена), запустив файл LuminProgSetup.exe.

Подключить прибор к компьютеру с помощью интерфейсного кабеля и включить прибор. Кабель COM-порта подключается при выключенном приборе. Перед подключением USB-порта для исключения появления ошибок измерения рекомендуется остановить измерения.

Запустить программу из меню «Пуск».

**Внимание!** Папка, в которой находится программа, должна быть очищена от файлов данных, сохраненных при предыдущих запусках программы.

Ввести в кюветное отделение испытуемый образец. После закрытия кюветного отделения в поле 2 начнётся отсчёт времени. В момент окончания времени интегрирования значение сигнала высветится на дисплее и передастся в ПК, при этом в окне программы высветится название файла, в котором сохранено измеренное значение, и само значение (Count rate).

После окончания измерения образца открыть кюветное отделение, не выходя из программы, и ввести новый образец. Таким образом, новые измерения будут сохранены в файле с другим именем, которое высветится в окне программы.

Закрыть программу можно двумя способами:

- нажать на любую клавишу на клавиатуре (окно программы при этом должно быть активным). При этом программа закрывается после осуществления ещё одного измерения;

- нажать на крестик в правом верхнем углу окна программы. При этом программа закрывается немедленно.

*Перенос данных в Microsoft Excel.*

Запустить Excel и выделить ячейку, в которую будет записано первое измерение.

В меню «Данные» выбрать подменю «Импорт внешних данных» и выполнить программу «Импортировать данные».

В открывшемся окне указать путь к папке с программой; в окне «Типы файлов» выбрать «Все файлы». Выбрать нужный файл с данными и нажать кнопку «Открыть». В следующих двух окнах нажать кнопку «Далее», затем кнопки «Готово» и «ОК». В результате в таблице появится столбец данных, начинающийся с ячейки, указанной в пункте 1.

### **Техническое обслуживание люминометра ЛЮМ-1**

#### Общие указания

Техническое обслуживание (ТО) для установления пригодности люминометра ЛЮМ-1 к применению разделяется на:

- 1) первичное, проводимое при выпуске люминометра ЛЮМ-1 в обращение из производства и ремонта, при эксплуатации и хранении не реже одного раза в год,
- 2) внеочередное, проводимое при повреждении пломбирования, после длительного хранения и в случаях, когда надо удостовериться в исправности люминометра ЛЮМ-1.

ТО должно проводиться в нормальных климатических условиях:

1. температура  $20 \pm 5^\circ\text{C}$ ;
2. относительная влажность воздуха от 40 до 80%;
3. атмосферное давление от 630 до 820 мм рт.ст.

#### Меры безопасности

При проведении ТО специальные меры безопасности не предъявляются.

#### Проверка работоспособности люминометра ЛЮМ-1

##### *1. Проверка величины биoluminesцентного сигнала для раствора АТФ-контроля и АТФ-реактента*

Во флакон с лиофилизированным АТФ-реактентом вносят 2 мл стерильной деионизованной воды и инкубируют в течение 1 часа при комнатной температуре. После этого раствор АТФ-реактента считается готовыми к работе.

Во флакон с лиофилизированным АТФ-контролем вносят 1 мл стерильной деионизованной воды и перемешивают. Получают раствор АТФ-контроля с концентрацией АТФ  $10^{-8}$  моль/л. Микрокювету при помощи пинцета помещают в кюветное отделение люминометра. В кювету последовательно с помощью автоматического дозатора вносят 0,05 мл раствора АТФ-контроля и 0,05 мл раствора АТФ-реактента. Содержимое кюветы быстро и тщательно перемешивают, кюветное отделение плотно закрывают и измеряют биoluminesцентный сигнал ( $A_i$ ). Измерения повторяют не менее 5-и раз, используя новые порции реактентов и новые микрокюветы. Рассчитывают среднее арифметическое значение измеряемого биoluminesцентного сигнала  $\langle A \rangle$ , величина которого должна быть не менее 150000 для стандартного АТФ-реактента.

Рассчитывают абсолютную погрешность измерений ( $\Delta A = 3\sigma$ ), где  $\sigma$  – дисперсия, которая определяется по формуле:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (A_i - \langle A \rangle)^2}{N(N-1)}}$$

Среднее значение измеряемой величины,  $\langle A \rangle$ , находят по формуле

$$\langle A \rangle = \frac{\sum_{i=1}^N A_i}{N},$$

где  $N$  число измерений,  $A_i$  – текущее измерение.

Величина абсолютной погрешности ( $3\sigma$ ) не должна превышать 10 % от среднего значения биoluminesцентного сигнала ( $\langle A \rangle$ ).

#### **Результаты испытаний люминометра ЛЮМ-1 при госприемке в октябре 2006 г. Использовали стандартные образцы АТФ-контроля и АТФ-реактента**

Таблица 2. Оценка погрешности измерений величины сигнала для различных флаконов АТФ-реактента и величины сигнала для различных флаконов АТФ-контроля.  
Концентрация АТФ в кювете  $5 \cdot 10^{-9}$  моль/л

Реагент	Среднее значение сигнала ( <i>I</i> )*, усл.ед.			Среднее арифметическое значение сигнала ( <i>I</i> ) ±std, усл.ед.	Абсолютная погрешность среднего значения, %
	1 флакон	2 флакон	3 флакон		
АТФ-реагент	217931±3338	221781±2405	220260±2562	219991±1119	3,7
АТФ-контроль	217931±3138	215661±1438	213317±4553	215636±1332	4,1

\* - В таблице представлены средние значения сигнала, измеренные для каждого флакона АТФ-реагента и АТФ-контроля в 3-х повторностях.

Результаты испытания чувствительности измерения концентрации АТФ (рисунок 1). Предел обнаружения АТФ в условиях эксперимента составил  $1,1 \cdot 10^{-12}$  моль/л или  $1,1 \cdot 10^{-15}$  моль/мл, что соответствует требованиям п.4.1.5 ПМ При.

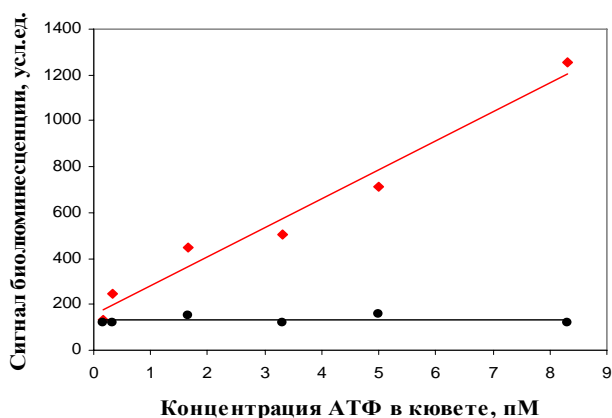


Рисунок 1.  
Градуировочная зависимость биоломинесцентного сигнала от концентрации АТФ в кювете люминометра.

Красным показаны показания для измеряемых растворов, черным – фоновый сигнал.

## 2. Проверка предела обнаружения АТФ и пропорциональности между величиной биоломинесцентного сигнала и концентрацией АТФ

Готовят растворы АТФ с концентрациями  $10^{-9}$ ;  $10^{-10}$ ;  $10^{-11}$  моль/л путем последовательного разбавления раствора АТФ-контроля стерильной деионизованной водой. В кювету последовательно с помощью автоматического дозатора вносят 0,05 мл раствора АТФ и 0,05 мл раствора АТФ-реагента. Содержимое кюветы быстро перемешивают, кюветное отделение плотно закрывают и измеряют биоломинесцентный сигнал ( $A_i$ ). Измерения проводят в трех повторях для каждой концентрации АТФ. Находят среднее значение биоломинесцентного сигнала ( $\langle A \rangle$ ) для каждой концентрации АТФ. Фоновый биоломинесцентный сигнал ( $A_{фон}$ ) определяют аналогично, используя вместо раствора АТФ 0,05 мл стерильной деионизованной воды.

Полученные результаты представляют в виде градуировочной зависимости  $\lg \langle A \rangle$  от  $\lg [АТФ]_{кювет}$ , где  $[АТФ]_{кювет}$  – концентрация АТФ в кювете. Из полученного графика зависимости определяют нижний предел обнаружения АТФ как концентрацию АТФ, при которой биоломинесцентный сигнал в 2 раза превышает фоновый сигнал.

Нижний предел определяемой концентрации АТФ должен быть не выше  $5 \cdot 10^{-12}$  моль/л.

Графическая зависимость между величинами  $\lg(\langle A \rangle)$  и  $\lg[AT\Phi]_{\text{кювет}}$  должна описываться прямой линией. Рассчитывают абсолютную погрешность измерений ( $\Delta A = 3\sigma$ ), как показано выше.

Отклонения величины ( $A_i$ ) от ( $\langle A \rangle$ ) не должны превышать 10 % от величины ( $A_i$ ) для каждой концентрации АТФ.

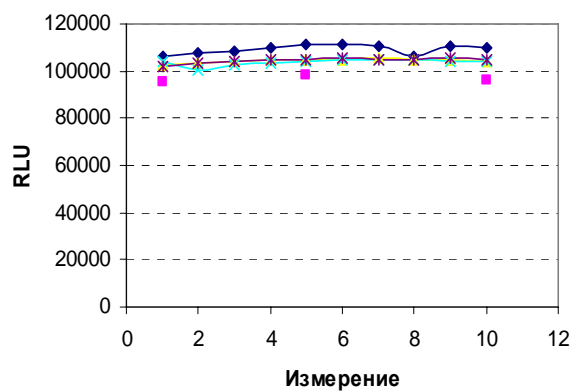
### Результаты испытания люминометра ЛЮМ-1 (серийный номер 07-01-001), проведенные в феврале 2007 года.

Использовали АТФ-реагент, разбавленный примерно в 2 раза по сравнению со стандартным АТФ-реагентом. В процессе измерений в кювету последовательно с помощью автоматического дозатора вносили 0,05 мл раствора АТФ-контроля и 0,05 мл АТФ-реагента. Измерения повторяли 5 раз, рассчитывали среднее арифметическое значение измеряемого сигнала и дисперсию  $\sigma$ .

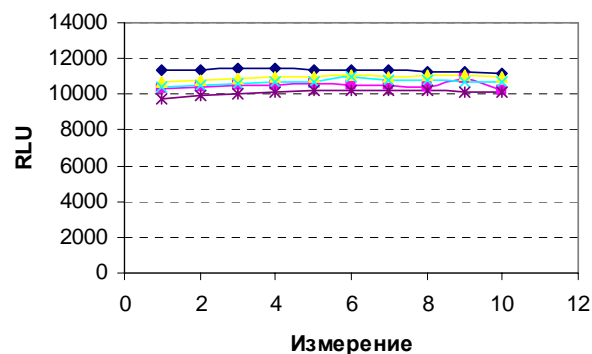
Рис. 2.

Форма биолюминесцентного сигнала, считываемого люминометром ЛЮМ-1 (серийный номер 07-01-001) в течение первых 10 измерений (100 сек) при различных концентрациях запасного раствора АТФ. Концентрация АТФ в кювете была в два раза ниже.

07-01-001 ( $10^{-8}$  М)

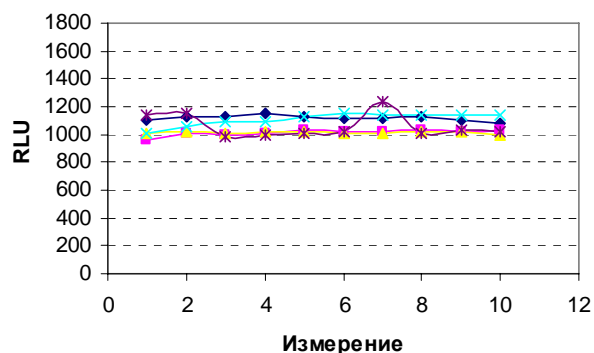


07-01-001 ( $10^{-9}$  М)

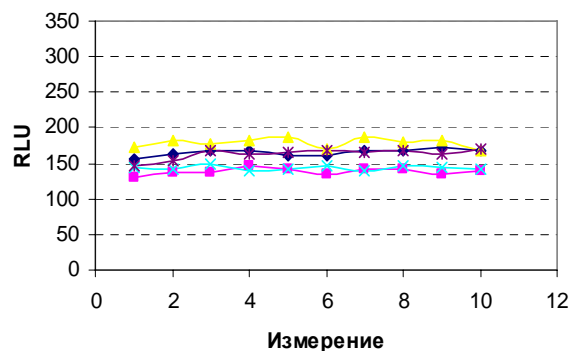




**07-01-001 ( $10^{-10}$  М)**



**07-01-001 ( $10^{-11}$  М)**



Превышение показаний люминометра ЛЮМ-1 над показаниями контрольного люминометра NHD 3560 составило 25-30 раз.

Таблица 3

Концентрация АТФ в кювете, М	Сигнал билюминесценции*), RLU		Соотношение показаний люминометров ЛЮМ-1 (07-01-001) и NHD
	ЛЮМ-1 07-01-001	NHD	
Фоновый сигнал АТФ-реактанта**)	20	0	
$5 \times 10^{-9}$	104933	3885	27,0
$5 \times 10^{-10}$	10864	371	29,3
$5 \times 10^{-11}$	1120	43	26,0
$5 \times 10^{-12}$	164	7	23,4

\*)- В таблице представлено среднее арифметическое значение для пяти повторностей (<A>).

\*\*)- В люминометре ЛЮМ-1 имеется возможность обнуления фонового сигнала по желанию потребителя

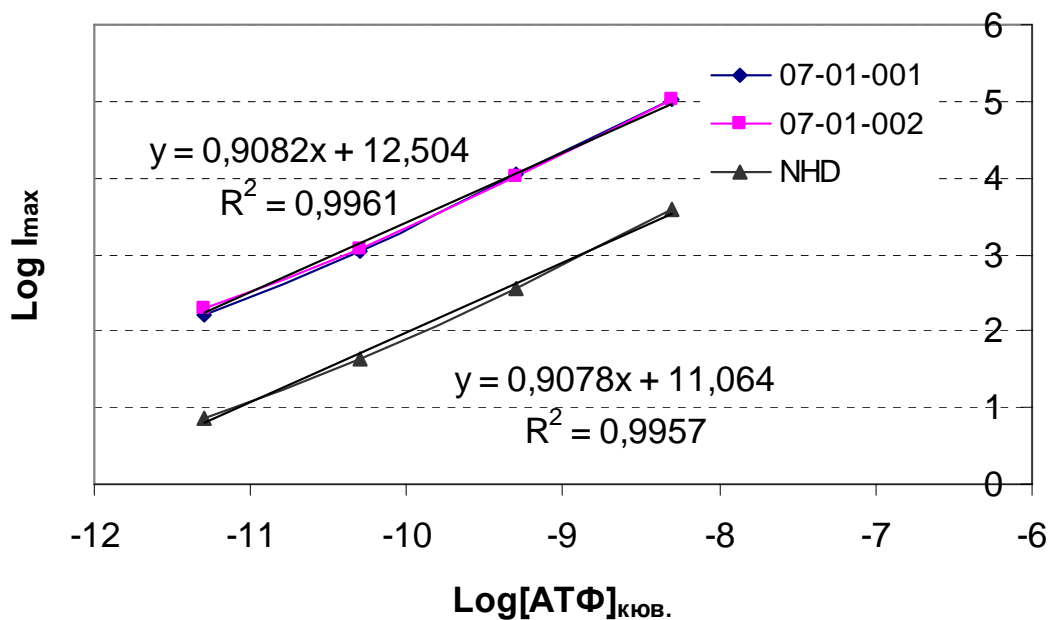
Величина абсолютной погрешности измерений для люминометра ЛЮМ-1 не превышает 10 % от среднего значения билюминесцентного сигнала во всем диапазоне измеряемых концентраций АТФ (таблица 4).

Таблица 4

Концентрация АТФ в кювете, М	Дисперсия, $\sigma$	Абсолютная погрешность измерений ( $\Delta A=3\sigma$ ), % от $\langle A \rangle$
$5 \times 10^{-9}$	2041,6	5,8
$5 \times 10^{-10}$	204,3	5,6
$5 \times 10^{-11}$	40,9	10,9
$5 \times 10^{-12}$	4,8	8,8

Градуировочные зависимости  $\log \langle A \rangle$  от  $\log [AT\Phi]_{\text{кюв.}}$  представлены на рис. 2.

**Рис. 2.**  
Градуировочные зависимости биолюминесцентного сигнала от концентрации АТФ в кювете, полученные для люминометров ЛЮМ-1 и NHD (АТФ-реагент Lot 250107)



Показано, что графическая зависимость между величинами  $\log \langle A \rangle$  и  $\log [AT\Phi]_{\text{кюв.}}$  для люминометров ЛЮМ-1 и NHD описывается прямой линией с величиной достоверности аппроксимации, равной 0,9961 и 0,9957, соответственно. Причем градуировочные зависимости двух люминометров ЛЮМ-1 (07-01-001 и 07-01-002) полностью совпали.