



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) DD (11) 219 869 A1

4(51) G 01 N 21/64

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	WP G 01 N / 258 015 6	(22)	16.12.83	(44)	13.03.85
------	-----------------------	------	----------	------	----------

(71)	Akademie der Wissenschaften der DDR, 1199 Berlin, Rudower Chaussee 5, DD
(72)	Berndt, Klaus, Dr. Dipl.-Phys., DD

(54) Fluoreszenzdetektor für die Kurzeitspektroskopie

(57) Die Erfindung bezieht sich auf das Gebiet der zeitaufgelösten Fluoreszenzspektroskopie im Picosekunden- und Nanosekundenbereich. Ziel der Erfindung ist, die Abklingzeit laser-angeregter Fluoreszenzprozesse mit großer Zeitauflösung und hoher Nachweisempfindlichkeit zu messen und direkt anzuzeigen. Die Aufgabe besteht darin, eine Detektoranordnung anzugeben, in der die Fluoreszenzstrahlung ein elektrisches Signal erzeugt, das zur Abklingzeit proportional ist. Die mit der Folgefrequenz des modensynchronisierten Anregungslasers erfolgende sinusförmige Ablenkung in einem strichförmig mit Fluoreszenzlicht bestrahlten elektronenoptischen Bildwandler mit Ablenkensystem wird niederfrequent getastet. Bei scharfkantiger Abbildung des halben Bildwandlerschirmes auf einen Photomultiplier steuert ein an diesen angeschlossener Lock-in-Verstärker eine Verzögerungseinheit im Ablenktrakt so, daß der Photomultiplierstrom unabhängig vom Tastzustand wird. Die sich einstellende Verzögerungszeit ist direkt proportional zur Fluoreszenzabklingzeit. Figur

Dr. Klaus Berndt

Berlin, den 12. 11. 1983

Zustellungsbevollmächtigt:

Akademie der Wissenschaften der DDR
Zentralinstitut für Optik und
Spektroskopie - Patentbüro
1199 Berlin-Adlershof, Rudower Chaussee 6

Fluoreszenzdetektor für die Kurzzeitspektroskopie

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung bezieht sich auf das Gebiet der zeitaufgelösten Fluoreszenzspektroskopie im Picosekunden- und Nanosekundenbereich mit Hilfe von modensynchronisierten Lasern. Die Anwendung ist in Fluoreszenz-Spektrometern möglich und zweckmäßig.

16.01.1983*136955

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Für die Registrierung laser-angeregter Fluoreszenzprozesse mit großer Nachweisempfindlichkeit und Zeitauflösung werden als Detektoren vorteilhaft elektronenoptische Streak-Kameras eingesetzt. Extrem hohe Nachweisempfindlichkeiten sind erreichbar, wenn die Streak-Kamera im Synchronscan-Regime betrieben wird. Zur Fluoreszenzanregung dient dabei ein modensynchronisierter kontinuierlich arbeitender Laser. Im Strahlengang des Lasers ist die Probe angeordnet, deren Fluoreszenzlicht über ein optisches System strichförmig auf die Photokathode eines elektronenoptischen Bildwandlers mit Ablenkensystem abgebildet wird. Die Ansteuerung des Ablenkensystems erfolgt mit einer sinusförmigen Spannung, deren Frequenz mit der Folgefrequenz des modensynchronisierten Lasers identisch ist. Auf diese Weise ergibt sich eine Transformation des zeitlichen Intensitätsverlaufes der Fluoreszenzstrahlung in eine räumliche Intensitätsverteilung auf dem Schirm des Bildwandlers.

Die Signalgewinnung kann durch photographische Registrierung der räumlichen Intensitätsverteilung realisiert werden /Bradley, D.J., US-PS 3,761,614/. Wesentlich bequemer ist die Registrierung mit Hilfe eines optischen Vielkanalanalysators anstelle der photographischen Kamera möglich /Adams, M.C.u.a., Opt. Commun. 26, 273, (1978)/. Die Nachweisempfindlichkeit sinkt hierbei jedoch ab, da der optische Vielkanalanalysator ein relativ großes Eigenrauschen besitzt. Wesentlich höhere Nachweisempfindlichkeiten lassen sich erzielen, wenn über ein optisches System hinter dem Bildwandler ein strichförmiger Bereich des Bildwandler-Fluoreszenzschirmes auf einen Photomultiplier abgebildet wird, und man die räumliche Intensitätsverteilung über den abgebildeten Bereich zieht /Berndt, K., DD-PS 136,540; Berndt, K., Proc. VIII. IMEKO Symp. Photon Detectors, Prag, CSSR, 22.-25. 8. 1978; Sleat, W.E.u.a., Opt. Commun. 45, 411, (1983)/. Eine weitere Verbesserung der Nachweisempfindlichkeit ist erreichbar durch Abbildung einer scharfkantig begrenzten Hälfte des Bildwandler-Fluoreszenz-

schirmes auf einen Photomultiplier /Berndt, K., DD-PS 157,284/. Allen genannten Lösungen haftet als gemeinsamer Nachteil an, daß die Bestimmung der Fluoreszenzabklingzeit der untersuchten Probe relativ umständlich aus dem registrierten Zeitverlauf der Fluoreszenz erfolgt. Soll beispielsweise die Fluoreszenzabklingzeit in ihrer Abhängigkeit von der Temperatur oder anderen physikalischen bzw. chemischen Größen untersucht werden, so ist dies mit einem erheblichen Zeitaufwand verbunden. Eine Direktanzeige der Fluoreszenzabklingzeit ohne Registrierung des gesamten Zeitverlaufes wird bei einer Lösung erreicht, in der jeweils eine Hälfte des Bildwandler-Fluoreszenzschirmes auf einen Photomultiplier abgebildet wird. Die Signalausgänge der beiden Photomultiplier sind mit den Eingängen eines Differenzverstärkers verbunden, dessen Ausgangssignal die Verschiebung der räumlichen Intensitätsverteilung auf dem Bildwandler-Fluoreszenzschirm steuert /Berndt, K., DD-PS 157,831/.

Nachteilig bei dieser Lösung ist der Umstand, daß Verstärkungsschwankungen in den beiden Photomultipliern zu Verfälschungen des Meßergebnisses führen. Darüber hinaus bereitet die exakte Abbildung je einer Hälfte des Schirmes auf einen Photomultiplier erhebliche Probleme.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist, die Abklingzeit laser-angeregter Fluoreszenzprozesse mit großer Zeitauflösung und hoher Nachweisempfindlichkeit zu messen und direkt anzuzeigen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Detektoranordnung für die Kurzzeitspektroskopie anzugeben, in der die von einem modensynchronisierten Laser in einer Probe erzeugte Fluoreszenzstrahlung ein elektrisches Signal bewirkt, das zur Fluoreszenzabklingzeit proportional ist.

Die Aufgabe wird gelöst durch einen Fluoreszenzdetektor für die Kurzzeitspektroskopie mit einem im Strahlengang des modensynchronisierten Lasers befindlichen Strahlteiler, in dessen einem Teilstrahl ein Hilfsphotodetektor angeordnet ist, und in dessen anderem Teilstrahl sich die Probe befindet, wobei im Strahlengang des Fluoreszenzlichtes der Probe eine erste Linse, eine Spaltblende, eine zweite Linse sowie ein elektronenoptischer Bildwandler mit Ablenksystem und hinter dem Bildwandler eine dritte Linse, eine scharfkantige Platte sowie ein Photomultiplier vorhanden sind, und das erfindungsgemäß in nachstehend beschriebener Weise ausgebildet ist.

Der Signalausgang des Photomultipliers ist mit dem Signaleingang eines Lock-in-Verstärkers verbunden, zu dessen Referenzeingang der Ausgang eines im Strahlengang zwischen dem Strahlteiler und dem Hilfsphotodetektor befindlichen Choppers geführt ist, und dessen Ausgang an den Steuereingang einer steuerbaren elektrischen Verzögerungseinheit geführt ist, wobei der Eingang der Verzögerungseinheit mit dem Ausgang des Hilfsphotodetektors verbunden ist, der Ausgang der Verzögerungseinheit zum Eingang eines frequenzselektiven Verstärkers geführt ist, dessen Ausgang mit dem Ablenksystem des Bildwandlers verbunden ist, und die Verzögerungseinheit über einen separaten Ausgang mit einer der eingestellten Verzögerung proportionalen Gleichspannung verfügt, an den ein Spannungsmeßgerät angeschlossen ist.

Im Betrieb wird mittels der ersten Linse Fluoreszenzlicht auf die dahinter befindliche Spaltblende fokussiert. Die zweite Linse bildet die beleuchtete Spaltblende auf die Photokathode des Bildwandlers ab. Mit Hilfe der dritten Linse wird der Fluoreszenzschirm des Bildwandlers in die Ebene abgebildet, in der sich die scharfkantige lichtundurchlässige Platte befindet. Die Kante der Platte verläuft parallel zum elektronenoptischen Bild der mit Fluoreszenzlicht der Probe bestrahlten Spaltblende. Die Platte ist so justiert, daß nur etwa von der Hälfte des Bildwandlerschirmes Licht auf den Photomultiplier gelangen kann.

Zunächst wird bei fehlendem Ablenksignal am Bildwandler der mit Fluoreszenzlicht beleuchtete Spalt vor dem Bildwandler

senkrecht zu seiner Längsachse so justiert, daß sein elektronenoptisches Bild am Ausgang des Bildwandlers von der dritten Linse nicht auf die scharfkantige Platte abgebildet wird. In diesem Falle entsteht am Ausgang des Lock-in-Verstärkers ein Signal, das dem Ausdruck

$$I_1 = \int_0^{\infty} I_0 e^{-t/T} dt$$

entspricht. Das bedeutet, dieses Signal ist proportional dem zeitlichen Integral über den gesamten Fluoreszenzverlauf. Hierbei ist vorausgesetzt, daß es sich um einen einfach exponentiell abklingenden Fluoreszenzprozeß mit der Abklingzeit T handelt, der während einer Periodendauer des modensynchronisierten Lasers sehr stark abklingt.

Der Spalt wird nun so verschoben, daß sein elektronenoptisches Bild von der dritten Linse genau auf die scharfe Kante der Platte abgebildet wird. Das Signal am Ausgang des Lock-in-Verstärkers sinkt bei dieser Operation auf den Wert $I_2 = I_1/2$. In einem weiteren Schritt wird über den Hilfsphotodetektor in dem auf die Folgefrequenz des modensynchronisierten Lasers abgestimmten frequenzselektiven Verstärker eine sinusförmige Ablenkspannung für den Bildwandler erzeugt und durch Einstellung einer geeigneten konstanten Grundverzögerung in der Verzögerungseinheit die elektronenoptische Abbildung des auf den Bildwandler fokussierten Fluoreszenzlichtes in die Schirmhälfte verlagert, deren Licht durch die dritte Linse auf den Photomultiplier gelangt. Am Ausgang des Lock-in-Verstärkers entsteht nun ein Signal mit dem Wert I_1 . Durch geeignete Wahl der Phasenlage des Choppersignals am Referenzeingang des Lock-in-Verstärkers kann man erreichen, daß bei verdecktem Hilfsphotodetektor, das heißt, bei fehlender Ablenkung ein negatives Ausgangssignal am Lock-in-Verstärker entsteht und bei beleuchtetem Hilfsphotodetektor ein positives Ausgangssignal. Da I_1 größer als I_2 ist, entsteht im zeitlichen Mittel ein positives Ausgangssignal am Ausgang des Lock-in-Verstärkers. Die steuerbare variable elektrische Verzögerungseinheit ist so be-

schaffen, daß sich die Verzögerung bei positivem Steuersignal vergrößert und bei negativem verkleinert. Daher kommt es im vorliegenden Falle zu einer Vergrößerung, die zu einer Verschiebung des elektronenoptischen Bildes in die andere Schirmhälfte führt. Eine Zunahme der Verzögerung um den Zeitbetrag t_0 hat eine Abnahme des Ausgangssignals bei Ablenkung von I_1 auf den Wert

$$I_3 = \int_{t_0}^{\infty} I_0 e^{-t/T} dt$$

zur Folge. Das Steuersignal an der Verzögerungseinheit wird daher kleiner, und es stellt sich selbsttätig eine solche Zunahme t_0 der Grundverzögerung ein, die die Bedingung $I_3 - I_2 = 0$ erfüllt. Mit den entsprechenden Ausdrücken für I_3 und I_2 ergibt sich

$$t_0 = T \cdot \ln 2 .$$

An dem angeschlossenen Spannungsmeßgerät kann somit in linearer Anzeige die Fluoreszenzabklingzeit T abgelesen werden. Anstelle des Spannungsmeßgerätes kann beispielsweise auch ein XY-Schreiber eingesetzt werden, dessen zweite Koordinate die Temperatur oder andere Größen der Probe wiedergibt.

Eine Variante der Erfindung besteht darin, daß ein Taktgenerator vorhanden ist, dessen Ausgang sowohl mit dem Referenzeingang des Lock-in-Verstärkers als auch mit dem Steuereingang eines zwischen dem Hilfsphotodetektor und dem Eingang der Verzögerungseinheit eingefügten elektronischen Schalters verbunden ist. Der Chopper ist bei dieser Variante nicht erforderlich.

Eine andere Variante der Erfindung besteht darin, daß der Signalausgang des Photomultipliers zu einem Digitalrechner geführt ist, dessen Taktgenerator mit dem Steuereingang des elektronischen Schalters verbunden ist, und der einen Signalausgang besitzt, der zum Steuereingang der Verzögerungseinheit geführt ist. Der Lock-in-Verstärker ist bei dieser Vari-

ante nicht erforderlich. Seine Funktion wird hier vom Rechner übernommen.

In einer weiteren Variante der Erfindung ist in der Ebene der scharfkantigen Platte die Diodenzelle eines optischen Vielkanalanalysators angeordnet. Über den Rechner des Vielkanalanalysators kann die Wirkung der scharfkantigen Platte nachgebildet werden, indem nur ein Teil der Dioden in der Zeile zur Signalgewinnung benutzt wird. Die scharfkantige Platte und der Photomultiplier sind bei dieser Variante nicht erforderlich.

Die Variante mit Photomultiplier und Digitalrechner kann in der Weise modifiziert werden, daß zwischen dem Photomultiplier und dem Rechner ein Impulshöhendiskriminator angeordnet ist. Dadurch ist es möglich, die störende Wirkung des Photomultiplier-Dunkelstromes zu vermindern und eine extrem hohe Nachweisempfindlichkeit zu erzielen.

In den vorstehenden Ausführungen wurde stillschweigend vorausgesetzt, daß die Impulse des modensynchronisierten Lasers streng periodisch emittiert werden. In der Praxis ist dies jedoch nicht der Fall, denn an allen bekannten modensynchronisierten Lasern weisen die Emissionszeitpunkte der Impulse gewisse Schwankungen auf. Diese Erscheinung wird als Jitter bezeichnet und hat sehr komplexe Ursachen. Der Jitter des modensynchronisierten Lasers führt in der Regel zu einer Verschlechterung der Zeitauflösung von Bildwandler-Detektoranordnungen. Während moderne Bildwandlerröhren Zeitauflösungen von ca. 1 ps ermöglichen würden, liegt die jitter-bedingte Auflösung der Gesamtanordnung üblicherweise im Bereich 10...50 ps.

Im Gegensatz zu den meisten bekannten Bildwandler-Detektoranordnungen wirkt sich der Jitter des modensynchronisierten Lasers in der erfindungsgemäßen Anordnung nicht auf die erreichbare Zeitauflösung aus. Dies ist dadurch begründet, daß nicht der Zeitverlauf des Fluoreszenzprozesses registriert wird, sondern eine Verschiebung der räumlichen Intensitätsverteilung auf dem Fluoreszenzschirm des Bildwandlers in der obengenannten Weise erfolgt. Der Jitter bewirkt zwar eine symmetrische Verbreiterung der Intensitätsverteilung, aber er führt nicht zu einer Verschiebung. Es ist daher mit der er-

findungsgemäßen Detektoranordnung möglich, jitter-behaftete modensynchronisierte Laser anzuwenden und die durch den Bildwandler selbst bedingte Zeitauflösung von ca. 1 ps auszunutzen.

Ausführungsbeispiel

Die Erfindung soll nachstehend an einem Ausführungsbeispiel näher erläutert werden. In der zugehörigen Zeichnung ist das Schema des Fluoreszenzdetektors dargestellt.

Im Strahlengang des modensynchronisierten kontinuierlich arbeitenden Lasers L befindet sich ein Strahlteiler T, in dessen einem Teilstrahl der Hilfsphotodetektor D angeordnet ist, und in dessen anderem Teilstrahl sich die Probe F befindet. Die Probe F ist in einer temperierbaren Küvette K untergebracht, die über einen Temperatursensor S verfügt, an den der X-Kanal eines XY-Schreibers XY angeschlossen ist. Zur Untersuchung anderer als der Temperaturabhängigkeit kann die Probe in entsprechend modifizierten Küvetten mit geeigneten Sensoren angeordnet sein.

Im Strahlengang des Fluoreszenzlichtes der Probe F sind eine erste Linse L1, eine Spaltblende B, eine zweite Linse L2 sowie ein elektronenoptischer Bildwandler mit Ablenkensystem BW angeordnet. Hinter dem Bildwandler BW befinden sich eine dritte Linse L3, die scharfkantige Platte M sowie der Photomultiplier PM, dessen Signalausgang mit dem Signaleingang des Lock-in-Verstärkers LI verbunden ist. Im Strahlengang zwischen dem Strahlteiler T und dem Hilfsphotodetektor D befindet sich ein Chopper CH, dessen Referenzausgang zum Referenzeingang des Lock-in-Verstärkers LI geführt ist.

Der Ausgang des Lock-in-Verstärkers LI ist mit dem Steuereingang der steuerbaren variablen Verzögerungseinheit SV verbunden, deren Eingang mit dem Signalausgang des Hilfsphotodetektors D und deren Ausgang mit dem Eingang des frequenzselektiven Verstärkers A verbunden sind, wobei der Ausgang des Verstärkers A zum Ablenkensystem des Bildwandlers BW geführt ist. Die Verzögerungseinheit SV ist so beschaffen, daß sich bei po-

sitivem Signal am Steuereingang die Verzögerung vergrößert und bei negativem Signal verkleinert. Als Verzögerungseinheit eignet sich beispielsweise eine von einem Stellmotor getriebene, in ihrer Länge veränderbare Koaxialleitung. Die Verzögerungseinheit SV verfügt über einen separaten Ausgang mit einer der eingestellten Verzögerung proportionalen Gleichspannung, der an den Y-Kanal des XY-Schreibers XY geführt ist. Der separate Ausgang kann in Form einer üblichen Längenmeßeinrichtung mit elektrischem Ausgang realisiert werden. An den separaten Ausgang kann außerdem ein Digitalvoltmeter angeschlossen werden, das bei entsprechender Eichung die Fluoreszenzabklingzeit mit hoher Genauigkeit direkt anzeigt.

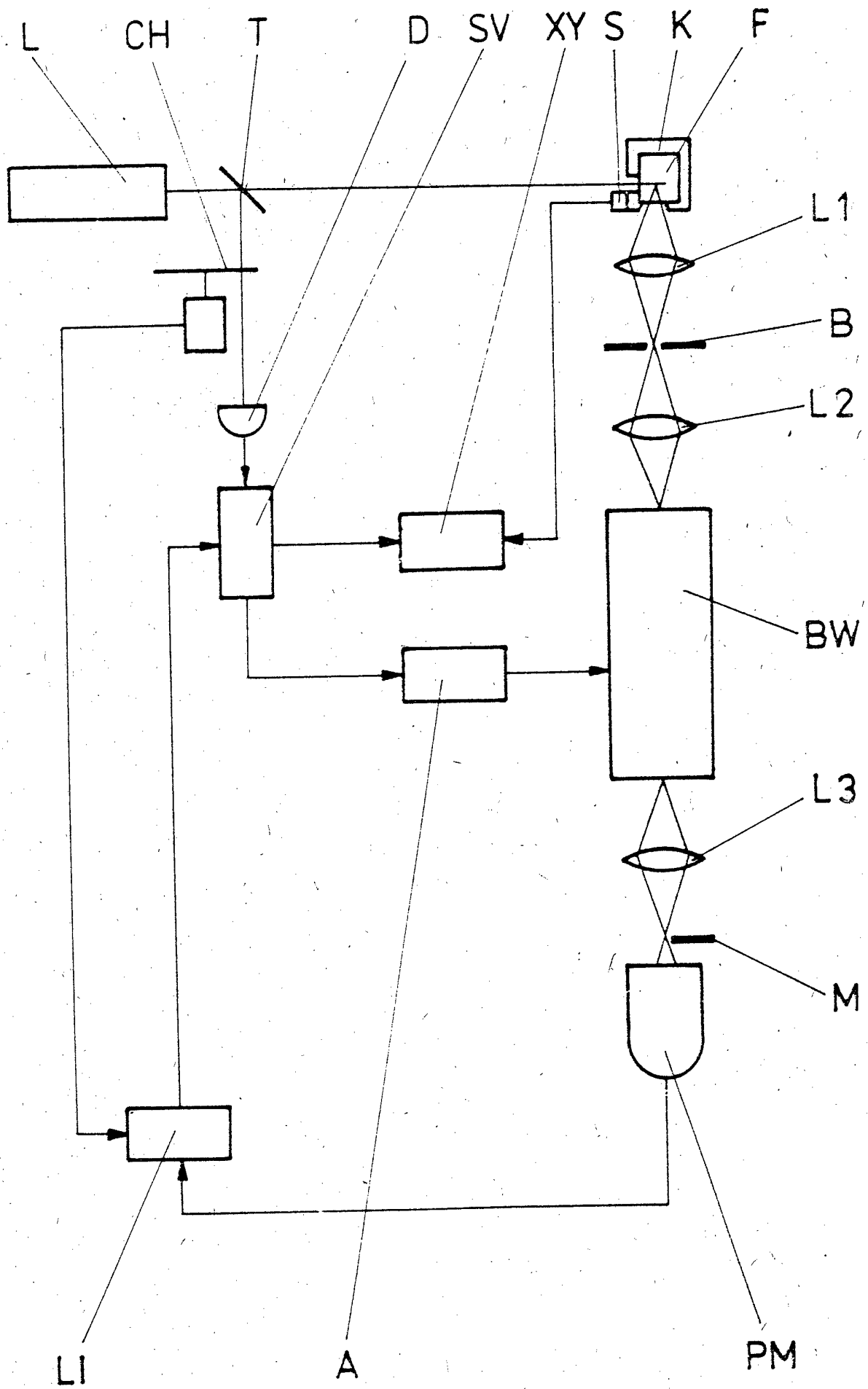
Anstelle des XY-Schreibers XY bzw. eines Digitalvoltmeters können auch Einrichtungen zur drahtlosen oder drahtgebundenen Datenfernübertragung angeschlossen werden. In diesem Fall ist es möglich, den Fluoreszenzdetektor in der Nähe explosionsgefährdeter Reaktoren, in giftiger Atmosphäre bzw. auf fliegenden oder anderen bewegten Objekten zu montieren.

Erfindungsanspruch

1. Fluoreszenzdetektor für die Kurzzeitspektroskopie mit einem im Strahlengang eines modensynchronisierten Lasers (L) befindlichen Strahlteiler (T), in dessen einem Teilstrahl ein Hilfsphotodetektor (D) angeordnet ist, und in dessen anderem Teilstrahl sich die fluoreszierende Probe (F) befindet, wobei im Strahlengang des Fluoreszenzlichtes der Probe (F) eine erste Linse (L1), eine Spaltblende (B), eine zweite Linse (L2) sowie ein elektronenoptischer Bildwandler mit Ablenksystem (BW) und hinter dem Bildwandler (BW) eine dritte Linse (L3), eine Platte (M) mit gerader scharfer Kante sowie ein Photomultiplier (PM) vorhanden sind,
gekennzeichnet dadurch, daß der Signalausgang des Photomultipliers (PM) mit dem Signaleingang eines Lock-in-Verstärkers (LI) verbunden ist, zu dessen Referenzeingang der Referenzausgang eines im Strahlengang zwischen dem Strahlteiler (T) und dem Hilfsphotodetektor (D) befindlichen Choppers (CH) geführt ist, und dessen Ausgang an den Steuereingang einer steuerbaren variablen elektrischen Verzögerungseinheit (SV) geführt ist, wobei der Eingang der Verzögerungseinheit (SV) mit dem Ausgang des Hilfsphotodetektors (D) verbunden ist, der Ausgang der Verzögerungseinheit (SV) zum Eingang eines frequenzselektiven Verstärkers (A) geführt ist, dessen Ausgang mit dem Ablenksystem des Bildwandlers (BW) verbunden ist, und die Verzögerungseinheit (SV) über einen separaten Ausgang mit einer der eingestellten Verzögerung proportionalen Gleichspannung verfügt, an den ein Spannungsmeßgerät (XY) angeschlossen ist.

2. Fluoreszenzdetektor nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß ein Taktgenerator vorhanden ist, dessen Ausgang sowohl mit dem Referenzeingang des Lock-in-Verstärkers (LI) als auch mit dem Steuereingang eines zwischen dem Hilfsphotodetektor (D) und dem Eingang der Verzögerungseinheit (SV) eingefügten elektronischen Schalters verbunden ist.
3. Fluoreszenzdetektor nach Punkt 1 und 2, gekennzeichnet dadurch, daß der Signalausgang des Photomultipliers (PM) zu einem Digitalrechner geführt ist, dessen Taktgenerator mit dem Steuereingang des elektronischen Schalters verbunden ist, und der einen Signalausgang besitzt, der zum Steuereingang der Verzögerungseinheit (SV) geführt ist.
4. Fluoreszenzdetektor nach Punkt 1 und 2, gekennzeichnet dadurch, daß in der Ebene der scharfkantigen Platte (M) die Diodenzeile eines optischen Vielkanalanalysators angeordnet ist, und der Rechner des Vielkanalanalysators mit dem Steuereingang des elektronischen Schalters sowie mit dem Steuereingang der Verzögerungseinheit (SV) verbunden ist.
5. Fluoreszenzdetektor nach Punkt 1 bis 3, gekennzeichnet dadurch, daß zwischen dem Photomultiplier (PM) und dem Rechner ein Impulshöhendiskriminator angeordnet ist.

Hierzu 1 Seite Zeichnungen



16 DEZ 1933 * 136955