



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I867183 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 12 月 21 日

(21)申請案號：110109327

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 03 月 16 日

(51)Int. Cl. : G01N21/64 (2006.01)

(30)優先權：2020/04/01 日本 2020-066068

(71)申請人：日商濱松赫德尼古斯股份有限公司 (日本) HAMAMATSU PHOTONICS K.K. (JP)
日本(72)發明人：岩田直樹 IWATA, NAOKI (JP)；近藤房宣 KONDO, FUSANORI (JP)；松村朋和
MATSUMURA, TOMOKAZU (JP)；竹下照雄 TAKESHITA, TERUO (JP)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

TW 201512648A

US 6384951B1

US 2008/0314114A1

US 2018/0100860A1

審查人員：涂公遠

申請專利範圍項數：14 項 圖式數：26 共 78 頁

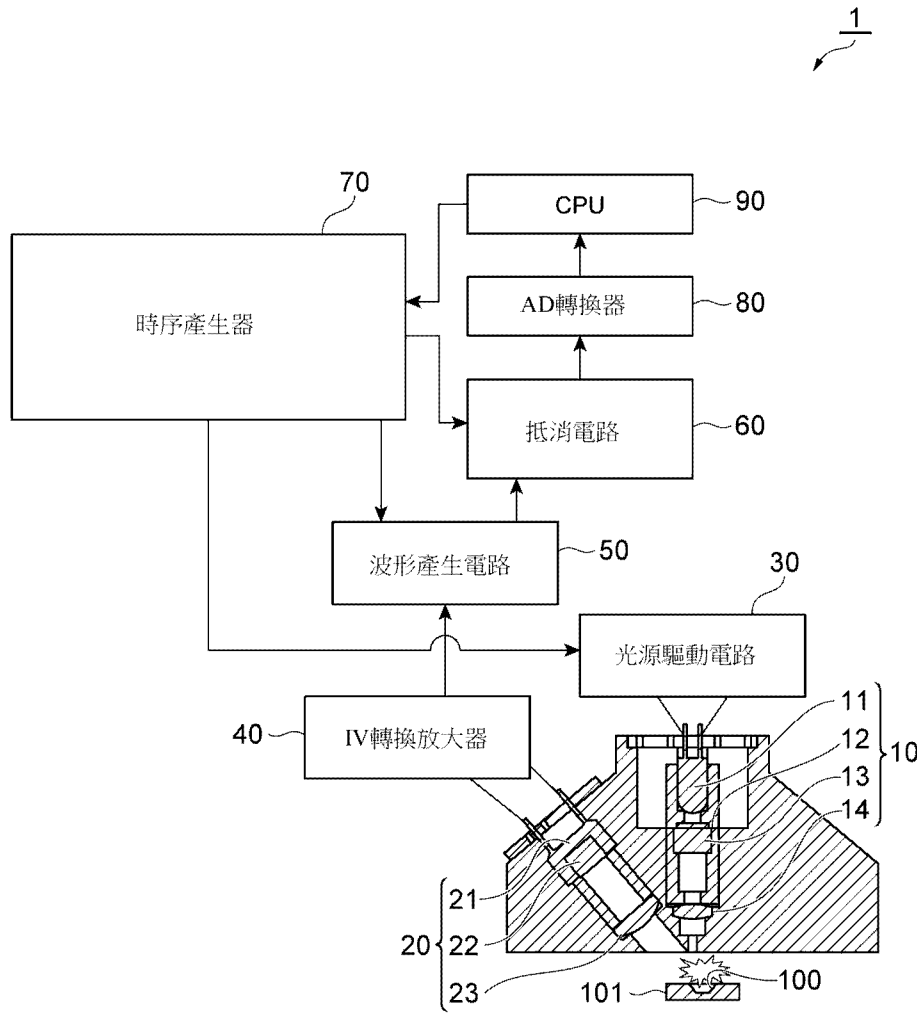
(54)名稱

光學測定裝置及光學測定方法

(57)摘要

本發明之光學測定裝置具備：照射光學系統、檢測光學系統、及抵消電路，且於螢光檢測處理中，以試料為照射對象，朝試料照射照射光，將包含自經照射光照射之試料產生之螢光、及來自經照射光照射之試料之散射光的測定對象光作為檢測光予以檢測，考量預先處理中之校準處理之實施結果，自與測定對象光相應之測定信號去除與散射光相應之信號成分；於預先處理中，基於信號量大於測定信號中之與散射光對應之信號的校準信號，實施用於自測定信號去除與散射光相應之信號成分之校準處理。

指定代表圖：



符號簡單說明：

- 1:光學測定裝置
- 10:照射光學系統
- 11:光源
- 12:光圈
- 13:激發光濾波器
- 14:準直透鏡
- 20:檢測光學系統
- 21:光檢測元件
- 22:螢光濾波器
- 23:集光透鏡
- 30:光源驅動電路
- 40:IV 轉換放大器
- 50:波形產生電路
- 60:抵消電路
- 70:時序產生器
- 80:AD 轉換器
- 90:CPU
- 100:免疫層析試片
- 101:試劑保持具

【圖1】



公告本

I867183

【發明摘要】

【中文發明名稱】

光學測定裝置及光學測定方法

【中文】

本發明之光學測定裝置具備：照射光學系統、檢測光學系統、及抵消電路，且於螢光檢測處理中，以試料為照射對象，朝試料照射照射光，將包含自經照射光照射之試料產生之螢光、及來自經照射光照射之試料之散射光的測定對象光作為檢測光予以檢測，考量預先處理中之校準處理之實施結果，自與測定對象光相應之測定信號去除與散射光相應之信號成分；於預先處理中，基於信號量大於測定信號中之與散射光對應之信號的校準信號，實施用於自測定信號去除與散射光相應之信號成分之校準處理。

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

1:光學測定裝置

10:照射光學系統

11:光源

12:光圈

13:激發光濾波器

14:準直透鏡

20:檢測光學系統

21:光檢測元件

- 22: 螢光濾波器
- 23: 集光透鏡
- 30: 光源驅動電路
- 40: IV轉換放大器
- 50: 波形產生電路
- 60: 抵消電路
- 70: 時序產生器
- 80: AD轉換器
- 90: CPU
- 100: 免疫層析試片
- 101: 試劑保持具

【發明說明書】

【中文發明名稱】

光學測定裝置及光學測定方法

【技術領域】

【0001】

本發明之一態樣係關於一種用於測定試料之光學特性之光學測定裝置及光學測定方法。

【先前技術】

【0002】

於專利文獻1中，曾揭示為了去除在對置放於基板上之螢光樣品照射激發光並測定螢光時所含之螢光雜訊成分(來自基板之螢光成分)，而產生並減去衰減信號之技術。具體而言，於專利文獻1中，藉由產生與基板之螢光相等之相位之衰減信號，自測定到之螢光信號減去該衰減信號，而去除螢光雜訊成分。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0003】

專利文獻1：日本特表2010-518394號公報

【發明內容】

[發明所欲解決之問題]

【0004】

如上述般，於專利文獻1中，自藉由朝試料照射激發光而產生之螢光，去除自試料之測定對象部以外產生之螢光雜訊成分。此處，認為對試

料照射光並檢測來自試料之光時所含之雜訊成分，不僅係因自試料(被照射者)產生之光(例如螢光)者，而且照射光(例如激發光)本身(例如散射光)亦成為雜訊成分。於專利文獻1之技術中，未考量照射光本身成為雜訊成分之情形，無法去除該雜訊成分。

【0005】

另一方面，本發明者等人著眼於檢測光中所含之螢光及散射光(因照射光本身引起之光)之相位之不同，發現了藉由自檢測光，去除具有與照射光相等之相位之信號成分即散射光之信號成分，而去除因照射光本身引起之雜訊成分之光學測定裝置。於如此之光學測定裝置中，例如，預先實施校準處理。於校準處理中，可藉由朝試料之不易產生螢光之部分照射照射光，而檢測校準處理用光(理想上為僅包含散射光之光)，基於與該校準處理用光相應之校準信號，自檢測信號，僅去除大致與散射光成分相應之信號成分。

【0006】

此處，於校準處理中，利用上述之校準信號(與散射光相應之信號)，進行如裝置之輸出成為0之處理。然而，已知在實際之裝置中，在校準處理中難以按裝置之輸出完全成為0之方式進行處理，而產生校準誤差。因此，於基於校準處理之結果進行完螢光檢測處理之情形下，難以自檢測信號完全去除散射光成分，不僅檢測到螢光，亦檢測到散射光。因此謀求提高螢光檢測之精度(自檢測信號更適切地去除散射光)。

【0007】

本發明者等人針對解決上述之問題之方法進行了深入研究。本發明者等人著眼於校準誤差係因裝置之控制精度及檢測精度等之界限而產生

者，且不受朝向光檢測器之入射光量及試料之差異影響，若為同一裝置，則成為一定之值。而且，發現了校準信號本身越變大，校準誤差越變小。

【0008】

本發明之一態樣係鑒於上述實際情況而完成者，目的在於提供一種可去除因照射光本身引起之雜訊成分，高精度地進行螢光測定之光學測定裝置及光學測定方法。

[解決問題之技術手段]

【0009】

亦即，本發明之一態樣之光學測定裝置係對測定對象物之光學特性進行測定者，且具備：照射光學系統，其朝照射對象照射照射光；光檢測部，其檢測因照射光引起之檢測光；及信號處理部；且實施螢光檢測處理、及先於該螢光檢測處理而實施之預先處理；於螢光檢測處理中，照射光學系統以測定對象物為照射對象，朝測定對象物照射照射光；光檢測部將包含自經照射光照射之測定對象物產生之螢光、及來自經照射光照射之測定對象物之散射光的測定對象光，作為檢測光予以檢測；信號處理部自與測定對象光相應之測定信號，去除與預先處理之校準處理中之散射光相應之信號成分；於預先處理中，信號處理部基於校準信號，實施用於自測定信號去除與散射光相應之信號成分之校準處理，該校準信號為在光檢測部中檢測之照射光或照射光之散射光相關之信號，且為信號量大於測定信號中之與散射光對應之信號者。

【0010】

於本發明之一態樣之光學測定裝置中，實施螢光檢測處理、及先於該螢光檢測處理而實施之預先處理。於螢光檢測處理中，基於預先處理之

校準處理之實施結果，自與測定對象光相應之測定信號去除與散射光相應之信號成分。而且，於預先處理中，將信號量大於上述之測定信號之中與散射光對應之信號之照射光或散射光之信號設為校準信號，而實施校準處理。如上述般，校準處理之校準誤差為一定值，校準信號本身越大，校準誤差越變小。因此，如本發明之一態樣之光學測定裝置般，藉由增大校準信號之信號量(大於測定信號之與散射光對應之信號)，而可抑制校準誤差。因此，可去除因照射光本身引起之雜訊成分，高精度地進行螢光測定。

【0011】

於預先處理中，可行的是，照射光學系統朝照射對象照射照射光；光檢測部將校準處理用光作為檢測光予以檢測，該校準處理用光為包含來自經照射光照射之照射對象之照射光之散射光之光，且為光量大於在螢光檢測處理中檢測之測定對象光中所含之散射光者；信號處理部基於與校準處理用光相應之校準信號，實施校準處理。根據如此之構成，可利用螢光檢測所利用之光學系統，檢測校準處理用光，容易產生校準信號。

【0012】

於預先處理中，照射光學系統可以測定對象物為照射對象，朝測定對象物照射照射光。根據如此之構成，可容易產生校準信號。

【0013】

於預先處理中，照射光學系統可將與測定對象物不同之校準處理用之參考構件設為照射對象，朝參考構件照射照射光。藉由朝與測定對象物不同之參考構件照射照射光，而可檢測更適切之校準處理用光。藉此，可基於校準處理之實施結果，於螢光檢測處理中，自測定信號更適切地去除

與散射光相應之信號成分。

【0014】

參考構件可包含反射照射光之反射構件。根據如此之構成，可容易增大檢測光之光量。

【0015】

反射構件較佳為不會因照射光之照射而產生螢光。根據如此之構成，由於即便因照射光之照射，亦不會產生因反射構件引起之螢光(或，僅產生能夠忽視之程度之螢光)，故可自測定信號僅確實地去除與散射光成分相應之信號成分。

【0016】

反射構件可包含將照射光擴散之反射擴散體。根據如此之構成，藉由反射擴散體，可容易產生各種角度之散射光，可更容易增大檢測光之光量。

【0017】

反射構件可包含：反射照射光之反射基材、及由反射基材支持且將照射光擴散之擴散體。根據如此之構成，藉由反射基材與擴散體之攜動，可更容易增大檢測光之光量。

【0018】

反射構件可包含鏡。根據如此之構成，藉由調整鏡相對於光檢測部之反射角度，而可更容易增大檢測光之光量。

【0019】

上述之光學測定裝置可更具備光學構件，該光學構件構成為可於朝向光檢測部之光路上之位置即第1位置、及與光路偏移之位置即第2位置間

移動，且具有提高或降低光之入射效率之功能。藉由設置如此之光學構件，而可以簡易之構成，適切地增大由光檢測部檢測到之校準處理用光之光量(大於測定對象光中所含之散射光)。藉此，可適切地增大校準信號之信號量，進一步提高螢光檢測之精度。

【0020】

於預先處理中，可行的是，照射光學系統以光檢測部為照射對象，朝光檢測部照射照射光；光檢測部將校準處理用光作為檢測光予以檢測，該校準處理用光為照射光，且為光量大於在螢光檢測處理中檢測之測定對象光中所含之散射光；信號處理部基於與校準處理用光相應之校準信號，實施校準處理。如此，藉由在預先處理中，照射光直接由光檢測部檢測，而可容易增大校準處理用光之光量。藉此，可適切地增大校準信號之信號量，進一步提高螢光檢測之精度。

【0021】

照射光學系統可較螢光檢測處理時，更為增大預先處理時照射之照射光之光量。根據如此之構成，可容易增大校準處理用光之光量(大於測定對象光中所含之散射光)。藉此，可適切地增大校準信號之信號量，進一步提高螢光檢測之精度。

【0022】

可行的是，照射光學系統照射與調變信號相應之照射光，於預先處理中，信號處理部根據相當於直至自照射光學系統照射之照射光之散射光由光檢測部檢測作為檢測光為止之延遲，使調變信號之相位變化而產生校準信號。如此，藉由針對照射光之調變信號，產生與照射光學系統之延遲相應之校準信號，而可於不檢測校準處理用光下，實際上獲得與將散射光

作為校準處理用光予以檢測之情形同樣之校準信號(與散射光具有同樣之相位之校準信號)。

【0023】

本發明之一態樣之光學測定方法係對測定對象物之光學特性進行測定者，且包含：實施校準處理之工序；朝測定對象物照射照射光之工序；檢測包含自經照射光照射之測定對象物產生之螢光、及來自經照射光照射之測定對象物之散射光的測定對象光之工序；及自與測定對象光相應之測定信號，去除與校準處理之散射光相應之信號成分之工序；且於實施校準處理之工序中，基於校準信號，實施用於自測定信號去除與散射光相應之信號成分之校準處理，該校準信號為所檢測之照射光或照射光之散射光相關之信號，且為信號量大於測定信號中之與散射光對應之信號者。

[發明之效果]

【0024】

根據本發明之一態樣，可去除因照射光本身引起之雜訊成分，高精度地進行螢光測定。

【圖式簡單說明】

【0025】

圖1係本發明之實施形態之光學測定裝置之概略構成圖。

圖2係說明螢光與散射光之相位差之圖。

圖3係針對散射光之抵消方法進行說明之圖。

圖4係針對螢光測定方法進行說明之圖。

圖5係顯示由光學測定裝置進行之螢光測定處理之流程圖。

圖6係光學測定裝置之概略構成圖。

圖7(a)~(c)係針對雜訊成分之去除進行說明之圖。

圖8係示意性顯示試料之圖。

圖9係針對S/N之定義進行說明之圖。

圖10係針對校準所處理利用之信號進行說明之圖。

圖11(a)~(e)係說明校準處理之圖。

圖12係顯示每一調變頻率之螢光成分之比例之表。

圖13係顯示校準處理之流程圖。

圖14(a)、(b)係說明校準處理之效果之圖。

圖15係針對校準誤差進行說明之圖。

圖16(a)、(b)係針對校準誤差進行說明之圖。

圖17(a)~(c)係說明第1態樣之螢光測定之概要之圖。

圖18係說明第2態樣之螢光測定之概要之圖，且係針對將鏡用作參考構件之情形之散射光取得進行說明之圖。

圖19係說明第2態樣之螢光測定之概要之圖，且係針對將鏡用作參考構件之情形之散射光取得進行說明之圖。

圖20係說明第2態樣之螢光測定之概要之圖，且係針對將鏡用作參考構件之情形之散射光取得進行說明之圖。

圖21(a)、(b)係說明第3態樣之螢光測定之概要之圖。

圖22係說明第4態樣之螢光測定之概要之圖，且係針對藉由光路切換進行之激發光取得進行說明之圖。

圖23係說明第4態樣之螢光測定之概要之圖，且係說明利用另一檢測光學系統之激發光取得之圖。

圖24係說明第4態樣之螢光測定之概要之圖，且係說明利用另一檢測

光學系統之激發光取得之圖。

圖25係第5態樣之光學測定裝置之概略構成圖。

圖26係顯示螢光測定處理之流程圖。

【實施方式】

【0026】

以下，針對本發明之實施形態，參照圖式詳細地說明。此外，於各圖中對同一或相當部分賦予同一符號，且省略重複之說明。

【0027】

圖1係本實施形態之光學測定裝置1之概略構成圖。光學測定裝置1係檢測相應於照射於試料之光而自試料產生之光之裝置。於本實施形態中，假設光學測定裝置1為檢測相應於照射於試料之激發光(照射光)而自試料產生之螢光之螢光測定裝置，而進行說明。激發光為將試料激發之光，螢光為相應於激發光而自試料放出之光，且為波長與激發光不同之光。又，於本實施形態中，假設光學測定裝置1為檢測利用免疫層析法之測定之螢光之裝置，而進行說明。免疫層析法係利用抗原抗體反應之免疫測定法，例如被用於流感病毒之檢測等。

【0028】

如圖1所示，於利用免疫層析法之測定中，準備免疫層析試片100作為試料。免疫層析試片100於試劑保持具101內收容有成為測定對象物之免疫層析膜。於免疫層析試片100之免疫層析膜之特定之位置(測定對象部)，固定對於特定之抗原之捕獲抗體(例如對於流感病毒抗原之抗體)。於試劑保持具101，設置有：用於將檢體滴落至免疫層析膜之開口部即檢體點施窗、及用於測定固定有捕獲抗體之測定對象部之開口部即測定窗。

若檢體滴落至試劑保持具101之檢體點施窗，則檢體中之抗原首先與以螢光試劑標識之檢測抗體結合，其次在與捕獲抗體之間引起抗原抗體反應而被捕集。光學測定裝置1對於自免疫層析試片100之測定窗露出之免疫層析膜照射激發光，藉由自測定對象部之抗原-抗體複合物(詳細而言，抗體之螢光試劑)檢測螢光，而測定螢光強度。此外，作為螢光試劑，可利用例如鎊、Q-dot(註冊商標)、有機染料等。

【0029】

此處，認為於在光學測定裝置1中朝後述之檢測光學系統20入射且被檢測到之檢測光中，不僅包含螢光，亦包含因激發光本身引起之光。如此之光可舉出例如激發光之散射光。如此之散射光例如係激發光藉由朝免疫層析試片100照射、散射而產生之激發光之一部分，係具有與激發光相等之相位(無相位差)之光。免疫層析試片100之免疫層析膜及試劑保持具101由於一般而言為白色，故容易產生上述之散射光。又，亦存在藉由測定之試料及檢測光學系統之配置，檢測到激發光本身之情形。以下，假設於在光學測定裝置1中檢測到之檢測光中包含螢光及散射光，而進行說明。

【0030】

如圖1所示，光學測定裝置1具備：照射光學系統10、檢測光學系統20(光檢測部)、光源驅動電路30、IV轉換放大器40、波形產生電路50、抵消電路60(信號處理部)、時序產生器70、AD轉換器80、及CPU 90。

【0031】

照射光學系統10朝向作為測定對象物之免疫層析試片100(試料)照射激發光(照射光)。照射光學系統10具有：光源11、光圈12、激發光濾波器13、及準直透鏡14。光源11朝免疫層析試片100(試料)照射激發光。光源

11為例如半導體發光元件。於本實施形態中，假設光源11為發光二極體(LED)，而進行說明，但並不限定於此，例如為了確保光量，而可利用LD。光圈12係用於將自光源11出射之光整形為具有所期望之光束剖面之光之光束整形構件。激發光濾波器13係針對經由光圈12到達之激發光，對激發所需之波長予以濾波之波長選擇濾波器。激發光濾波器13為例如介電體多層膜濾波器或有色玻璃濾波器等之光學濾波器，更詳細而言為包含僅使特定之波長頻帶(螢光試劑之激發波長)透過之介電體多層膜濾波器之帶通濾波器。準直透鏡14為使由激發光濾波器13進行之濾波後之激發光成像於免疫層析試片100(詳細而言免疫層析膜之測定對象部)上之透鏡。

【0032】

檢測光學系統20檢測因激發光引起之檢測光。具體而言，檢測光學系統20檢測來自免疫層析試片100之螢光。然而，現實上，於檢測光學系統20中，除入射來自免疫層析試片100之螢光(來自免疫層析膜之測定對象部之螢光)以外，亦入射亦包含因上述之激發光本身引起之散射光之光即檢測光，並檢測該檢測光。檢測光學系統20具有：光檢測元件21、螢光濾波器22、及集光透鏡23。檢測光由集光透鏡23集光，並經由螢光濾波器22向光檢測元件21入射。螢光濾波器22係為了針對來自免疫層析試片100之檢測光，抑制螢光以外之光到達光檢測元件21而設置之波長選擇濾波器。螢光濾波器22為例如介電體多層膜濾波器或有色玻璃濾波器等之光學濾波器，更詳細而言為將僅使特定之波長頻帶透過之介電體多層膜濾波器與有色玻璃濾波器組合之帶通濾波器。然而，於例如激發光波長及螢光波長接近之情形等下，難以一面藉由螢光濾波器22，使具有螢光波長之螢光適切地透過，一面僅將具有激發光波長之散射光有效率地截斷。又，一

般而言，作為效率較高之波長選擇濾波器而被泛用之介電體多層膜濾波器之特性因光之入射角度而變化。因此，於本實施形態中，藉由利用介電體多層膜濾波器與有色玻璃濾波器之組合構成螢光濾波器22，而藉由有色玻璃濾波器，將來自斜向方向之散射光有效地截斷。然而，仍難以僅憑藉波長選擇而獲得充分的效果，難以有效率地防止具有各種條件之散射光之進入。以下，對於假設即便藉由設置螢光濾波器22，於到達光檢測元件21之檢測光中仍包含散射光之情形進行說明。

【0033】

光檢測元件21係對由螢光濾波器22進行之濾波後之檢測光予以檢測之光感測器。光檢測元件21係例如半導體受光元件。於本實施形態中，假設光檢測元件21為光電二極體(PD)而進行說明，但並不限定於此，只要為可與來自後述之光源11之激發光之調變頻率對應地高速應答者，則可為突崩光電二極體(APD)或光電子倍增管(PMT)等。光檢測元件21詳細而言檢測包含自經激發光照射之免疫層析試片100(詳細而言，免疫層析膜之測定對象部之抗原-抗體複合物之螢光試劑)產生之螢光、及為因激發光引起之光、且與激發光無相位差之上述之散射光之檢測光。光檢測元件21將與檢測光相應之檢測信號輸出至IV轉換放大器40。

【0034】

光源驅動電路30係藉由朝為LED之光源11輸出驅動電流而使光源11驅動之電路。光源驅動電路30自時序產生器70接收成為基準之正弦波狀之頻率信號之輸入。光源驅動電路30基於所輸入之成為基準之頻率信號，對驅動電流之頻率進行調變。亦即，光源驅動電路30設定輸出激發光之光源11之調變頻率。相應於其，自光源11輸出之激發光之頻率調變，來自

光源11之光量(激發光量)正弦波狀變化。此外，調變頻率可基於所使用之螢光試劑之螢光壽命而決定。例如，可行的是，於利用螢光壽命為數毫秒之鎔作為螢光試劑之情形下，調變頻率設為1 kHz左右，於利用螢光壽命為數10奈秒之Q-dot之情形下，調變頻率設為100 MHz左右，於利用螢光壽命為數奈秒～數十奈秒之有機染料之情形下，調變頻率設為1 GHz左右。

【0035】

一般而言，螢光壽命設為螢光強度自峰值下降至 $1/e$ (約37%)之時間。根據該螢光壽命之定義進行逆運算，認為例如利用螢光壽命為數毫秒之鎔之情形之最佳之調變頻率較佳為1 kHz，利用螢光壽命為數奈秒～數十奈秒之有機染料之情形之最佳之調變頻率較佳為100 MHz～1 GHz左右。然而，利用鎔試劑測定實際上相對於調變頻率之來自螢光之信號輸出之結果，表明以較根據螢光壽命而決定之頻率為低之頻率進行調變會使螢光強度變高，螢光信號相對於激發光之比例亦變大(參照圖12)。如圖12所示，於較根據螢光壽命而決定之頻率即1 kHz為低頻側，螢光強度變高。具體而言，將螢光壽命定義為「螢光強度之峰值下降至1%之時間」而非 $1/e$ ，藉由根據該時間求得調變頻率，而可提高螢光強度。該情形下，若為鎔，則螢光壽命成為約10 ms，根據其決定之光源11之調變頻率成為約100 Hz。

【0036】

如上述般，光源驅動電路30可考量螢光強度而決定光源11之調變頻率。具體而言，光源驅動電路30使光源11之調變頻率低於與螢光強度自峰值下降至 $1/e$ 之時間即螢光壽命對應之值(詳細而言， $1/\text{螢光壽命}$)。光源

驅動電路30將光源11之調變頻率設定得低於與螢光壽命對應之值、且高於商用頻率(50 Hz、60 Hz)，例如設定為在100 Hz附近、且藉由避開商用頻率之倍波而降低雜訊之影響之110 Hz左右。光源驅動電路30可將光源11之調變頻率設定為100 Hz附近之其他之值、例如90 Hz、80 Hz、70 Hz、或130 Hz等。

【0037】

IV轉換放大器40將自光檢測元件21輸出之電流信號(檢測信號)轉換為電壓信號。IV轉換放大器40將轉換為電壓信號之檢測信號輸出至波形產生電路50。

【0038】

波形產生電路50係基於自IV轉換放大器40輸出之檢測信號產生檢測信號之波形之電路。波形產生電路50自時序產生器70，接收成為基準之頻率信號之輸入。時序產生器70對於光源驅動電路30及波形產生電路50，以相同之時序輸入成為基準之頻率信號。波形產生電路50將產生之波形(檢測信號)之資訊輸出至抵消電路60。

【0039】

抵消電路60係對由波形產生電路50產生之波形(檢測信號)進行處理之信號處理部。抵消電路60基於螢光與散射光之相位之不同(相位差)，自檢測信號去除與散射光相應之信號成分。此外，抵消電路60藉由與光源驅動電路30及波形產生電路50以相同之時序，自時序產生器70接收基準之頻率信號之輸入，而取得激發光(亦即散射光)之相位之資訊。藉此，於抵消電路60中，可進行基於螢光與散射光之相位差的散射光之信號成分之去除。針對抵消電路60之處理之細節，參照圖2～圖4進行說明。

【0040】

圖2係說明螢光與散射光之相位差之概念圖。如圖2所示，出自被照射來自光源部L之正弦波狀之激發光的試料S之正弦波狀之檢測光(於光檢測部D中檢測到之檢測光)中，包含正弦波狀之散射光及螢光。此外，來自光源部L之激發光並不限定於正弦波狀，亦可為矩形波等之週期性調變波形，該情形下，檢測光(散射光及螢光)亦具有與激發光同樣之週期性調變波形。而且，散射光為與激發光無相位差之光，而相對的，螢光則為相應於激發光而自試料S產生之光，其相對於散射光，相位延遲數10毫秒至奈秒左右而被檢測到。本發明者等人著眼於如此之相位差，發現了自檢測光僅去除散射光而僅取出螢光之方法。此外，於圖2中，由於在光源部L之光軸上配置試料S及光檢測部D，故與檢測朝與激發光之光軸相交之方向放出之螢光之圖1不同，而是檢測朝與激發光之光軸同軸之方向放出之螢光。如此之情形下，檢測光中所包含者除了螢光及散射光以外，亦有可能包含激發光本身。又，朝光檢測部D入射之、因激發光引起之光之光量亦變大之可能性較高。因而，本方法對螢光之取出為有效。

【0041】

圖3係針對散射光之去除(抵消)方法進行說明之圖。圖3僅顯示檢測光中之散射光之波形。此外，該波形與激發光之波形相等。於圖3中，橫軸表示時間，縱軸表示振幅。針對圖3所示之與散射光之相位相應之波形，以例如1週期之1/4之時間單位進行分離(將時間區域分離)，若針對各時間區域1~4分別進行積分，則可獲得各時間區域1~4之散射光之輸出。此處，若將各時間區域1~4之積分值各者乘以某一乘數並全部相加，則可將輸出之合計設為0。亦即，當各時間區域1~4之輸出之絕對值相同，且時

間區域1及2之振幅之範圍為正、時間區域3及4之振幅之範圍為負時，如圖3所示般，針對時間區域1，若乘以乘數「-1」而經放大，則時間區域1之輸出因「正×負」而成為負的值；針對時間區域2，若乘以乘數「+1」而經放大，則時間區域2之輸出因「正×正」而成為正的值；針對時間區域3，若乘以乘數「+1」而經放大，則時間區域3之輸出因「負×正」而成為負的值；針對時間區域4，若乘以乘數「-1」而經放大，則時間區域4之輸出因「負×負」而成為正的值。因此，若將乘以特定之乘數而經放大之各時間區域1~4之積分值全部相加，則各值相抵消，輸出之合計成為0。如此，針對與散射光相應之信號成分，藉由以與散射光之相位相應之特定之時間單位進行分離，將經分離之各成分分別放大，將經放大之各成分合成，而可加以去除(將輸出設為0)。

【0042】

圖4係針對螢光測定方法進行說明之圖。圖4顯示檢測信號中所含之散射光及螢光之波形。於圖4中，橫軸表示時間，縱軸表示振幅。如上述般，針對與散射光相應之信號成分，藉由以與散射光之相位相應之特定之時間單位進行分離，將經分離之各成分分別放大，將經放大之各成分合成，而可加以去除(將輸出設為0)。此處，如圖4所示，針對螢光，由於相對於散射光具有相位差，故若以與散射光之相位相應之特定之時間單位進行分離，則各時間區域1~4之積分值不會成為相同之值，故而輸出乘以與散射光同樣之乘數而分別放大並相加之值非為0之值。如此，針對散射光及螢光，藉由分離成相同之時間區域並放大且合成，而可一面去除散射光之信號成分，一面對螢光之輸出強度進行檢波輸出。

【0043】

如此，抵消電路60針對檢測信號，藉由以與散射光之相位相應之特定之時間單位進行分離，將分離之檢測信號之各成分分別放大，並將放大之各成分合成，而可自檢測信號去除與散射光相應之信號成分，獲得螢光之信號成分。抵消電路60將已去除與散射光相應之信號成分之信號(亦即，僅成為螢光之信號成分之信號)即螢光信號輸出至AD轉換器80。此外，作為特定之時間單位，雖然例示1週期之1/4之時間，但並不限定於此，只要為可在合成後去除與散射光相應之信號成分之時間單位，則可為任何時間單位。又，作為放大之乘數，雖然例示「+1」及「-1」，但並不限定於此，只要為可在合成後去除與散射光相應之信號成分之乘數，則可為任何乘數。

【0044】

AD轉換器80針對自抵消電路60輸出之螢光信號，進行AD轉換而轉換為數位值，並輸出至CPU 90。CPU 90針對自AD轉換器80輸出之數位信號(螢光信號)，進行特定之控制、信號處理。CPU 90可以例如串列通訊將信號處理結果傳送至外部之電腦。又，CPU 90可產生決定自時序產生器70輸出之信號、亦即光學測定裝置1之各種動作時序的信號，並輸出至時序產生器70。此外，可利用FPGA，取代CPU 90。根據以上之處理，光學測定裝置1可自檢測光去除散射光之影響，僅獲得與螢光試劑之螢光相關之信號。

【0045】

其次，針對光學測定裝置1進行之螢光測定處理(光學測定方法)，參照圖5進行說明。

【0046】

圖5係顯示由光學測定裝置1進行之螢光測定處理之流程圖。如圖5所示，於螢光測定處理中，首先，照射光學系統10(光源部)之光源11朝向免疫層析試片100(試料)照射激發光(步驟S1)。藉由對免疫層析試片100(詳細而言，免疫層析膜之測定對象部之抗原-抗體複合物)，照射激發光，而自抗原-抗體複合物之螢光試劑放出螢光。另一方面，激發光由免疫層析試片100散射，產生散射光。

【0047】

繼而，檢測光學系統20(光檢測部)之光檢測元件21檢測包含上述之螢光及散射光之檢測光(步驟S2)。光檢測元件21將檢測光輸出至IV轉換放大器40。而後，當於IV轉換放大器40中將自光檢測元件21輸出之電流信號(檢測信號)轉換為電壓信號，於波形產生電路50中產生檢測信號之波形後，抵消電路60(信號處理部)基於螢光與散射光之相位差，自檢測信號去除與散射光相應之信號成分(步驟S3)。具體而言，抵消電路60針對檢測信號，藉由以與散射光之相位相應之特定之時間單位進行分離，將分離之檢測信號之各成分分別放大，並將放大之各成分合成，而自檢測信號去除與散射光相應之信號成分，獲得螢光之信號成分。之後，藉由在AD轉換器80中將螢光信號轉換為數位值，在CPU 90中進行特定之控制、信號處理，而可獲得與螢光相關之信號。

【0048】

此外，於光學測定裝置1中，假設在抵消電路60中自檢測信號去除與散射光相應之信號成分，進行了說明，但並不限定於此。亦即，可如圖6所示之光學測定裝置1A般，不設置抵消電路60，於AD轉換器80之A/D轉換後，於CPU 90A(信號處理部)中進行自檢測信號去除與散射光相應之信

號成分之處理。該情形下，由於無須設置抵消電路60，故可有助於裝置之小型化。

【0049】

其次，關於在上述之實施形態中所說明之特定之信號成分(雜訊)之去除，參照圖7～圖14，更具體地說明。

【0050】

圖7係針對雜訊成分之去除進行說明之圖。圖7(a)顯示未進行與因激發光引起之散射光相應之信號成分(雜訊)之去除之情形之檢測光之強度，圖7(b)顯示已進行與因激發光引起之散射光相應之信號成分(雜訊)之去除之情形之檢測光之強度。於圖7(a)及圖7(b)中，縱軸表示檢測光之強度，橫軸為表示作為試料500之測定區域之測定部501之位置之通道。1通道為例如0.02 mm。圖7(c)係顯示與圖7(a)及圖7(b)之通道之位置對應之試料500之區域之圖。將圖7(c)所示之試料500放大之示意圖為圖8。如圖8所示，試料500自上游朝向下流配置：供檢體滴落之滴落部502、保持以螢光試劑標識之檢測抗體之保持部503、及將捕獲抗體固定於測定對象部504之測定部501。螢光試劑為例如DTBTA-Eu³⁺。測定部501由於為例如白色之免疫層析膜之一部分，故容易將激發光散射。

【0051】

當對於如此之試料500，將檢體滴落至滴落部502時，檢體因毛細管現象向下游側移動。於在檢體中存在被檢測物質之情形下，保持部503之檢測抗體與被檢測物質反應產生複合體，該複合體於測定部501中持續朝下游側移動。而後，當複合體到達測定部501上之測定對象部504時，複合體由測定對象部504之捕獲抗體捕捉，形成由被檢測物質、檢測抗體、

及捕獲抗體之3個形成之複合體。藉由在該狀態下，對於作為測定區域之測定部501，一面使集光位置(通道)變化，一面照射激發光，而可導出如圖7(a)及圖7(b)所示之每一通道之檢測光強度。於圖7(a)及圖7(b)中檢測光強度與其他相比變大之通道為與捕捉到複合體之測定對象部504之位置對應之通道。

【0052】

如圖7(a)所示，由於在未進行與散射光相應之信號成分(雜訊)之去除之情形下，於檢測光中不僅包含螢光，亦包含散射光，故檢測光強度變大。而且，由於如此之雜訊伴隨著增大激發光量而變大，故如圖7(a)所示，當將激發光量設為2倍時，雜訊亦同樣地成為2倍左右。一般而言，作為提高S/N之方法，考量藉由使激發光量增加，而使螢光信號量增加之方法，但於如上述般，如圖7(a)般雜訊亦相應於激發光量而增加之態樣中，難以使S/N提高。進而，亦存在因使激發光量增加而動態範圍縮窄之問題。

【0053】

另一方面，如圖7(b)所示，由於在已進行與散射光相應之信號成分(雜訊)之去除之情形下，於檢測光中大致僅包含螢光，故可僅檢測欲檢測之信號(基於螢光之信號)。該情形下，由於雜訊大致為0，故如圖7(b)所示般，即便使激發光量增加(例如即便設為2倍)，只要光檢測器不飽和，則亦可將激發光(散射光)之影響大致抵消為0，雜訊不會變得極端大。如以上所述般，在如圖7(b)所示之進行雜訊之去除之構成中，由於在使激發光增加之情形下，可於將雜訊成分大致抵消為0之狀態下，僅使信號成分增加，故伴隨著S/N之提高。該構成由於對雜訊成分非常有效，故可實現增

加激發光量、及提高IV轉換放大器之倍增率。

【0054】

圖9係針對S/N之定義進行說明之圖。圖9顯示每一通道之檢測光之強度(測定區域之各位置之檢測光之強度)之一例。如圖9所示，於檢測光之強度10 count附近存在 ± 4 左右之波動成分。如此之基礎光量之波動(標準偏差)係朝未塗佈任何螢光物質等之測定部501(或，與計測狀態同樣地設為濕潤狀態之測定部501)掃描激發光而取得之值。以下，將該基礎光量之波動定義為雜訊N。又，信號S定義為「自測定對象部504之峰值螢光強度減去所有通道之除了測定對象部504之位置以外之雜訊成分之平均值之值」。S/N定義為將上述所定義之信號除以雜訊之值。

【0055】

此外，於圖9所示之例中，雜訊之值偏移10 count左右。藉由進行後述之校準處理，而原理上，雜訊之值大致被抵消為0。然而，雖然與雜訊之值相應之背景存在偏差，但基於利用軟體之解析之觀點，較佳為信號始終為正的值，故而進行背景之偏移處理。此外，偏移量設定為將信號落於動態範圍內(0 ~ 4096 count內)。偏移量基於動態範圍之觀點，儘量減少，且設定為藉由朝測定部501掃描激發光而獲得之背景之信號始終(大致確實地)成為正的值。具體而言，偏移量例如可設為朝未塗佈任何螢光物質等之測定部501(或，與計測狀態同樣地設為濕潤狀態之測定部501)掃描激發光而取得之檢測光之強度平均值+該強度平均值之 6σ 之值。此外，可對上述所計算出之偏移量添加適當的容限而設為最終之偏移量，以防備在電路系統中闖入突發性雜訊之情形。偏移量係以不犧牲動態範圍且信號不會輸出為負之方式選擇，例如可為+20 count左右。

【0056】

其次，針對與散射光相應之信號成分(雜訊)之去除方法，具體地說明。於光學測定裝置1中，在作為鎖定電路之抵消電路60中進行校準處理，考量該校準處理之實施結果，自檢測信號去除與散射光相應之信號成分(雜訊)。

【0057】

具體而言，於利用光學測定裝置1之光學測定方法中，首先，以朝試料500或與試料500不同之校準處理用之參考構件(例如，圖18之鏡600A等)照射激發光之方式，配置照射光學系統10之光學頭。繼而，因來自照射光學系統10之激發光朝試料500或鏡600A等照射而引起之散射光(於試料500或鏡600A等中散射之激發光成分)於檢測光學系統20之光檢測元件21中被檢測到。此處，由檢測光學系統20檢測到之光原則上而言為不包含試料500或鏡600A等之螢光之僅散射光之光，且係用於校準處理之校準處理用光。

【0058】

繼而，實施校準處理。具體而言，光學測定裝置1之抵消電路60基於與上述之校準處理用光相應之校準信號，實施用於自檢測信號去除與散射光相應之信號成分之校準處理。針對校準處理之細節，於後文敘述。而後，於校準處理完成後，藉由在試料500之測定區域(測定部501)上，以照射光學系統10之光學頭進行掃描，而取得測定部501之螢光資訊。具體而言，抵消電路60藉由考量上述之校準處理之實施結果，自檢測信號去除與散射光相應之信號成分，而取得螢光資訊。

【0059】

其次，針對校準處理之細節進行說明。光學測定裝置1之抵消電路60係利用例如FPGA(Field Programmable Gate Array，場可程式化閘陣列)之鎖定電路。於校準處理中，抵消電路60產生鎖定用之開關信號，該鎖定用之開關信號相對於以與由光源驅動電路30設定之光源11之調變頻率(例如DDS(Direct Digital Synthesizer，直接數位合成器)之頻率)相配對應之抵消電路60之動作頻率刻畫週期之週期信號挪移相位。而且，作為鎖定電路發揮功能之抵消電路60將作為測定信號之校準信號、及作為參考信號之開關信號設為輸入，輸出與散射光相應之信號成分，以與該散射光相應之信號成分之電壓值成為近似於0之特定範圍內(斜波位準)之方式，調整開關信號之相位。

【0060】

圖10顯示在抵消電路60之FPGA內部用於校準處理之信號。圖10所示之週期信號係如上述般與DDS之頻率相配對應地刻畫週期之時脈信號。基準信號係與週期信號位於任意之相位(相對於週期信號挪移相位)之與週期信號相同之頻率之信號，且係後述之XY信號用之觸發。XY信號係上述之鎖定用之開關信號，係以基準信號為觸發而製作之信號。X信號(第1信號)係與基準信號無相位差之信號。Y信號(第2信號)係相對於基準信號偏移90度相位之信號。抵消電路60實際上除了X信號及Y信號以外，進一步產生使X信號反轉之X'信號(第3信號)、及使Y信號反轉之Y'信號(第4信號)。X信號、Y信號、X'信號、及Y'信號係由分別獨立之專用之電路產生。以與散射光相應之信號成分之電壓值成為斜波位準之方式調整開關信號之相位亦即指相對於週期信號持續挪移基準信號之相位，直至來自抵消電路60之輸出成為0 V(或近直至似其之值)為止。

【0061】

圖11係說明以相對於週期信號挪移基準信號之相位而輸出成為0 V之方式進行調整之處理之圖。當前，週期信號、基準信號、及開關信號之初始狀態之相位關係為圖11(a)所示之狀態。而且，基於開關信號在圖11中之加網狀之區間進行積分處理，輸出(與散射光相應之信號成分之電壓值)非為斜波位準且為正的值。該情形下，如圖11(b)所示，以使開關信號之相位延遲之方式，調整基準信號之相位。亦即，抵消電路60於校準處理中，在與散射光相應之信號成分之電壓值為正的值而非斜波位準之情形下，以使開關信號之相位延遲之方式進行調整。

【0062】

當前，於已進行開關信號之相位調整之圖11(b)之狀態下，加網狀之區間之積分處理之結果亦為，輸出(與散射光相應之信號成分之電壓值)非為斜波位準且為正的值。該情形下，如圖11(c)所示，以進一步使開關信號之相位延遲之方式，調整基準信號之相位。

【0063】

當前，於已進行開關信號之相位調整之圖11(c)之狀態下，加網狀之區間之積分處理之結果亦為，輸出(與散射光相應之信號成分之電壓值)非為斜波位準且為正的值。該情形下，如圖11(d)所示，以進一步使開關信號之相位延遲之方式，調整基準信號之相位。

【0064】

當前，於已進行開關信號之相位調整之圖11(d)之狀態下，加網狀之區間之積分處理之結果亦為，輸出(與散射光相應之信號成分之電壓值)非為斜波位準且為負的值。該情形下，如圖11(e)所示，以將開關信號之相

位向前移動之方式調整基準信號之相位。亦即，抵消電路60於校準處理中，在與散射光相應之信號成分之電壓值為負的值而非斜波位準之情形下，以將開關信號之相位向前移動之方式進行調整。

【0065】

而後，當以將開關信號之相位向前移動之方式調整後之結果，如圖11(e)所示般加網狀之區間之積分處理之結果為輸出(與散射光相應之信號成分之電壓值)成為斜波位準(近似於0之特定範圍內之值)時，校準處理完成。

【0066】

當校準處理完成時，抵消電路60將與包含螢光成分及散射光成分(激發光成分)之檢測光相應之檢測信號、及於中校準處理中相位經調整之開關信號設為輸入，自檢測信號去除與散射光成分相應之信號成分。

【0067】

圖13係顯示校準處理之流程圖。如圖13所示，於校準處理中，首先，將向AD轉換器之輸入切換為特定之偏移電壓，記憶0位準(步驟S11)。而且，藉由開關之切換，將抵消電路60(鎖定電路)之信號輸入至AD轉換器(步驟S12)。於該狀態下，強制將基準信號之相位挪移一次(步驟S13)。抵消電路60(鎖定電路)之輸出於基準信號相對於週期信號之相位為0度與180度時成為0 V，但於在初始狀態下偶然對準180度之情形下，由於錯誤地完成校準處理，所輸出之信號之正負反轉，故存在無法檢測藉由後段之電路之構成輸出之信號之情形。該點藉由在開始時強制挪移基準信號之相位，而可防止錯誤地完成校準處理。又，藉由如上述般將開始時之相位對準，而所輸出之信號之正負被固定。其結果，無需將所輸出之信

號轉換為數位值時之符號位元，可有效地使用AD轉換器之動態範圍。又，於意圖以負的輸出進行計測時，可將校準完成之相位設為180度而非0度。

【0068】

當步驟S13完成時，記錄當前之AD轉換器之輸入值(步驟S14)，執行校準之循環處理。首先，將當前之AD轉換器之輸入值與0位準進行比較，判定AD轉換器之輸入值是否小於0位準(是否為負的值)(步驟S15)。於在步驟S15中判定為AD轉換器之輸入值為負的值時，將抵消電路60之開關信號(亦即基準信號)相對於與DDS之頻率相應之週期信號之相位向前移動(步驟S16)。另一方面，於在步驟S15中判定為AD轉換器之輸入值為正的值時，將抵消電路60之開關信號(亦即基準信號)相對於週期信號之相位延遲(步驟S17)。

【0069】

而後，基於AD轉換器之輸入值，判定是否符號不變化地成為斜波位準(步驟S18)。當在步驟S18中判定為符號不變化地成為斜波位準時，校準處理結束。另一方面，當在步驟S18中判定為不滿足條件時，判定AD轉換器之輸入之符號是否因挪移相位而改變(步驟S19)。於在步驟S19中判定為未改變之情形下，再次進行步驟S14之處理，在判定為已改變之情形下，將由控制實現之相位之變化寬度變更為當前之一半(步驟S20)，再次進行步驟S14之處理。以上為校準處理。

【0070】

於本態樣中，檢測不包含螢光但包含散射光之校準處理用光，基於與校準處理用光相應之校準信號，實施用於自檢測信號去除與散射光相應

之信號成分之校準處理，考量該校準處理之實施結果，自檢測信號去除與散射光相應之信號成分。藉由基於包含散射光之校準處理用光，預先進行用於自檢測信號去除與散射光相應之信號成分之校準處理，而可自檢測信號適切地去除與散射光相應之信號成分。

【0071】

針對如上述般適切地去除散射光(雜訊)之效果，參照圖14進行說明。圖14(a)顯示未進行與散射光相應之信號成分(雜訊)之去除之情形之檢測光之強度，圖14(b)顯示已進行與散射光相應之信號成分(雜訊)之去除之情形之檢測光之強度。圖14顯示對將DTBTA-Eu³⁺作為螢光試劑塗佈之膜予以計測之情形之結果。如圖14(a)所示，於未進行雜訊之去除之情形下，為了激發光(散射光)之背景(BKG)，而必須要有約330 counts之偏移。而且，雜訊(標準偏差)為2.16，信號強度為404 counts。相對於此，如圖14(b)所示，於進行雜訊之去除之情形下，無須要有對激發光朝膜散射予以考量之偏移，僅進行用於軟體上之處理(將信號之值全部設為正之處理)之最低限度之偏移。而且，雜訊(標準偏差)可設為0.69，信號強度可設為1475 counts。如此，由於在進行雜訊之去除之情形下，偏移量較小，故可提高來自光源之激發光量及IV轉換放大器之放大率，可適宜地提高信號強度。其結果，相對於未進行雜訊之去除之情形之S/N為187，可將進行雜訊之去除之情形之S/N設為2140，可使S/N提高10倍以上。

【0072】

於校準處理中，可產生相對於以與光源11之調變頻率相配對應之抵消電路60之動作頻率刻畫週期之週期信號挪移相位之鎖定用之開關信號，將校準信號及開關信號設為輸入，輸出與散射光相應之信號成分，以與該

散射光相應之信號成分之電壓值成為近似於0之特定範圍內之方式調整開關信號之相位，將檢測信號、及於校準處理中相位經調整之開關信號設為輸入，自檢測信號去除與散射光相應之信號成分。如此，藉由利用鎖定電路，於校準處理中以與散射光相應之信號成分之電壓值成為近似於0之值之方式調整開關信號之相位，而可將相位調整後之開關信號設為輸入，自檢測信號適切地去除與散射光相應之信號成分。

【0073】

於校準處理中，可在與散射光相應之信號成分之電壓值不在特定範圍內而是大於該特定範圍之值之情形下，以使開關信號之相位延遲之方式進行調整，在與散射光相應之信號成分之電壓值不在特定範圍內而是小於該特定範圍之值之情形下，以將開關信號之相位向前移動之方式進行調整。藉此，於校準處理中可將與散射光相應之信號成分之電壓值適切地調整為近似於0之值。

【0074】

可使光源11之調變頻率低於與螢光之強度自峰值下降至 $1/e$ 之時間即螢光壽命對應之值。於將調變頻率提高至與螢光壽命對應之值之程度之情形下，有連續之信號相互重疊之情形，無法將螢光強度最大化。該點藉由將調變頻率低於與螢光壽命對應之值，而可適切地提高螢光強度。

【0075】

可使光源11之調變頻率低於與螢光壽命對應之值，且高於商用頻率。藉此，可一面避免調變頻率變得高於與螢光壽命對應之值而螢光強度減弱，一面避免雜訊之增加。

【0076】

作為鎖定用之開關信號，可利用分別獨立之專用之電路產生X信號、將相位相對於該X信號偏移90度之Y信號、使X信號反轉之X'信號、及使Y信號反轉之Y'信號。藉由以獨立之專用之電路產生反轉信號，而可防止產生在例如藉由否電路產生反轉信號之情形下成為問題之微小的延遲(伴隨著否電路之通過之微小的延遲)。

【0077】

抵消電路60(鎖定電路)可以特定之比例切換設定2種動作頻率。藉此，較將動作頻率設為1種之情形，可更容易使鎖定電路之動作頻率與光源11之調變頻率相配對應，提高其等之同步制度。

【0078】

校準處理用光可藉由朝試料500之較固定於測定對象部504之捕獲抗體靠下游側之區域照射激發光而被檢測到。雖然螢光成分容易滯留於較捕獲抗體靠上游側，但藉由朝補充抗體之下游側之區域照射激發光，檢測校準處理用光，而可適切地檢測降低螢光成分之影響之校準處理用光。

【0079】

於上述之校準處理中，將校準信號及開關信號設為輸入，輸出與散射光相應之信號成分，藉由以與該散射光相應之信號成分之電壓值接近0之方式調整開關信號之相位，而原理上，可於之後之螢光檢測處理中，自檢測信號完全去除與散射光相應之信號成分。然而，實際上，因為裝置之控制精度及檢測精度等，而難以利用校準信號(與散射光相應之信號)，以裝置之輸出完全成為0之方式調整開關信號之相位，產生校準誤差。

【0080】

圖15及圖16係針對校準誤差進行說明之圖。於圖15中，信號波W1表

示校準信號，方形波W2表示開關信號。校準係指將方形波W2與信號波W1之差之積分接近0。嘗試藉由使方形波W2相對於信號波W1移動，而於圖15中以斜線表示之2個區域之面積差成為0(使方形波W2與信號波W1之差之積分接近0)，但如圖15所示，面積差不會完全成為0，產生因校準信號及開關信號之相位之偏移引起之偏移區域CE。該偏移區域CE之面積由圖15可明確得知，係將「校準信號之振幅(信號量)」與「校準信號及開關信號之相位之偏移」相加而導出。若將該偏移區域CE之面積規定為校準誤差，則校準誤差由以下之式表示。

校準誤差=校準信號之振幅(信號量)×校準信號及開關信號之相位之偏移．．．(1)

【0081】

此處，校準誤差係因裝置之控制精度及檢測精度等之界限而產生者，不受朝向檢測光學系統之入射光量及試料之差異影響，若為同一裝置，則成為一定之值。於上述(1)式中，若左邊之校準誤差之值為一定，則校準信號之振幅(信號量)越變大，校準信號及開關信號之相位之偏移越變小。亦即，若校準誤差為一定，則於如圖16(a)所示般將以信號波W1表示之校準信號之振幅(信號量)較為增大之情形下，與如圖16(b)所示般將以信號波W1表示之校準信號之振幅(信號量)較為減小之情形相比，校準信號及開關信號之相位偏移變小。以下，基於如此之考量，針對態樣進行說明，即，藉由盡量增大校準信號之振幅(信號量)，而減小校準信號及開關信號之相位偏移，於螢光檢測處理中更適宜地去除與散射光相應之信號成分。

【0082】

作為用於增大校準信號之振幅(信號量)之具體態樣，以下，參照圖17～圖26，說明第1～第5態樣。於各態樣中，共通地於進行螢光檢測處理之前，實施包含校準處理之預先處理。亦即，於各態樣中，光學測定裝置實施螢光檢測處理、及先於該螢光檢測處理而實施之預先處理。於第1態樣中，藉由增大預先處理之照射光之光量，而增大校準信號之振幅。於第2態樣中，在預先處理中，藉由朝與試料不同之參考構件照射照射光，而增大校準信號之振幅。於第3態樣中，藉由配置光學系統而增大預先處理中所檢測之散射光之光量，而增大校準信號之振幅。於第4態樣中，藉由在預先處理中直接檢測照射光，而增大校準信號之振幅。於第5態樣中，藉由在預先處理中產生偽信號，而增大校準信號之振幅。

【0083】

[第1態樣]

圖17係說明第1態樣之螢光測定之概要之圖。如圖17(a)所示，於第1態樣之螢光測定中，首先，照射光學系統10之光源11朝作為測定對象物之試料500(詳細而言，試料500之測定對象部504以外之區域)照射照射光，檢測光學系統20之光檢測元件21檢測包含來自經照射光照射之試料500之散射光之校準處理用光。而且，作為信號處理部之抵消電路60(參照圖1)基於與校準處理用光相應之校準信號實施校準處理。以上為第1態樣之預先處理。

【0084】

之後，如圖17(b)所示，光源11朝作為測定對象物之試料500(詳細而言，試料500之測定對象部504)照射激發光(照射光)，光檢測元件21檢測包含自經照射激發光之試料500產生之螢光、及來自經激發光照射之試料

500之散射光之測定對象光。而後，作為信號處理部之抵消電路60(參照圖1)考量校準處理之實施結果，自與測定對象光相應之測定信號去除與散射光相應之信號成分。以上為第1態樣之螢光檢測處理。若將圖17(a)及圖17(b)設為前視圖，則圖17(c)係右側視圖。如圖17(c)所示，於取得來自試料500之螢光時，藉由在試料500之測定區域上，以照射光學系統10之光學頭掃描，而取得試料500之測定對象部504之螢光資訊。

【0085】

此處，於第1態樣中，照射光學系統10之光源11較在螢光檢測處理時照射之激發光(照射光)之光量，增大在預先處理時照射之照射光之光量。藉由增大預先處理時之照射光之光量，而可增大主要包含散射光之校準處理用光之光量。藉此，可適切地增大與校準處理用光相應之信號即校準信號之振幅(信號量)。具體而言，校準信號之信號量大於與螢光檢測處理之測定對象光相應之測定信號之與散射光對應之信號之信號量。而且，抵消電路60基於校準信號，實施用於自測定信號去除與散射光相應之信號成分之校準處理，該校準信號為於檢測光學系統20之光檢測元件21中檢測到之散射光之信號，且為信號量大於測定信號之與散射光之對應之信號者。

【0086】

其次，針對第1態樣之作用效果進行說明。

【0087】

第1態樣之光學測定裝置1具備：照射光學系統10，其朝照射對象照射照射光(激發光)；檢測光學系統20，其檢測因照射光(激發光)引起之檢測光；及抵消電路60；且實施螢光檢測處理、及先於該螢光檢測處理而實施之預先處理；於螢光檢測處理中，照射光學系統10以試料500為照射對

象，朝試料500照射激發光，檢測光學系統20將包含自經激發光照射之試料500產生之螢光、及來自經激發光照射之試料500之散射光之測定對象光作為檢測光予以檢測，抵消電路60自與測定對象光相應之測定信號，去除預先處理之校準處理之與散射光相應之信號成分；於預先處理中，抵消電路60基於校準信號，實施用於自測定信號去除與散射光相應之信號成分之校準處理，該校準信號為在檢測光學系統20中檢測到之照射光或照射光之散射光之信號，且為信號量大於測定信號之與散射光對應之信號者。

【0088】

如此，於光學測定裝置1中，實施螢光檢測處理、及先於該螢光檢測處理而實施之預先處理。於螢光檢測處理中，基於預先處理之校準處理之實施結果，自與測定對象光相應之測定信號去除與散射光相應之信號成分。而且，於預先處理中，實施校準處理，該校準處理將信號量大於上述之測定信號之與散射光對應之信號之照射光或散射光之信號設為校準信號。如上述般，校準處理之校準誤差為一定值，校準誤差係將「校準信號之振幅」與「校準信號及開關信號之相位之偏移」相加而導出。因此，如本實施形態之光學測定裝置1般，藉由增大校準信號之信號量(振幅)(大於測定信號之與散射光對應之信號)，而可減小校準信號及開關信號之相位之偏移之影響。因此，可於校準處理中，利用校準信號(與散射光相應之信號)，將裝置之輸出即電壓值更接近0，可於螢光檢測處理中，自測定信號適切地去除與散射光相應之信號成分。藉此，可進一步提高螢光檢測之精度。

【0089】

於第1態樣中，在預先處理中，照射光學系統10之光源11朝照射對象

照射照射光，檢測光學系統20之光檢測元件21將校準處理用光作為檢測光予以檢測，該校準處理用光為包含來自經照射光照射之照射對象之照射光之散射光之光，且為光量大於在螢光檢測處理中檢測到之測定對象光中所含之散射光者，抵消電路60基於與校準處理用光相應之校準信號，實施校準處理。根據如此之構成，可利用螢光檢測所利用之光學系統，檢測校準處理用光，容易且適切地產生校準信號。亦即，可利用既有之裝置構成，以簡單之構成，適切地產生校準信號。

【0090】

又，於第1態樣中，在預先處理中，照射光學系統10之光源11以作為測定對象物之試料500為照射對象，照射照射光。例如藉由朝在試料500中不易產生螢光之部分照射照射光，而即便以試料500為照射對象，亦可檢測主要包含散射光(不包含較多螢光)之校準處理用光。根據如此之構成，可利用既有之裝置構成，以單純之構成，容易適切地產生校準信號。

【0091】

照射光學系統10之光源11較螢光檢測處理時，增大預先處理時之照射之照射光之光量。根據如此之構成，可容易且適切地增大校準處理用光之光量(大於測定對象光中所含之散射光)。藉此，可適切地增大校準信號之信號量，進一步提高螢光檢測之精度。

【0092】

[第2態樣]

其次，針對第2態樣之螢光測定進行說明。於第2態樣中，在預先處理中，照射光學系統10之光源11藉由以與試料500不同之校準處理用之參考構件為照射對象，朝該參考構件照射照射光，而增大校準信號之振幅。

以下，針對參考構件之具體的構成例進行說明。

【0093】

圖18係針對利用鏡600A作為參考構件之情形之散射光取得進行說明之圖。如圖18所示，參考構件可包含鏡600A。鏡600A只要為可反射照射之鏡則可為任何鏡，但更佳為鏡600A由不會因照射光之照射產生螢光(不產生因鏡600A引起之螢光、或僅產生能夠忽視之程度之螢光)之材料形成。鏡600A可為例如表面不易髒污之鏡。鏡600A反射自光源11照射之照射光。鏡600A以反射之照射光(散射光)由光檢測元件21檢測到之方式調整傾斜角度。鏡600A藉由調整機構(未圖示)被固定於特定之傾斜角度。藉由適切地調整鏡600A相對於光檢測元件21之傾斜角度，而可增大在光檢測元件21中檢測到之光量。

【0094】

圖19係針對利用反射擴散體600B作為參考構件之情形之散射光取得進行說明之圖。如圖19所示，參考構件可包含反射擴散體600B。反射擴散體600B例如係由其本身不會因照射光之照射產生螢光(不產生因反射擴散體600B引起之螢光、或僅產生能夠忽視之程度之螢光)之材料形成之構件，係包含向光檢測元件21之入射光量較穩定之白色構件之反射擴散板。反射擴散體600B將自光源11照射之照射光以朝各種角度擴散之方式反射。反射擴散體600B配置於反射之照射光(散射光)以較大之光量由光檢測元件21檢測到之位置。反射擴散體600B較佳為包含例如樹脂或陶瓷之一體成型構件，但可藉由切削加工或複數個構件之組合等形成，亦可藉由例如在板狀構件之表面設置可將照射光朝特定角度散射之膜等而構成。

【0095】

圖20係針對利用鏡611(反射基材)與毛玻璃610(擴散體)作為參考構件之情形之散射光取得進行說明之圖。如圖20所示，參考構件可包含參考構件600C，該參考構件600C包含作為供照射光透過之玻璃構件之毛玻璃610及反射照射光之鏡611。於參考構件600C中，毛玻璃610設置為受鏡611支持(積層於其)，且設置為較鏡611靠前地供照射光入射。毛玻璃610係由例如供380 nm以上之照射光透過之材料形成，於表面(照射光之入射面)形成有凸凹狀之凸凹部610a。或，可於毛玻璃610之表面，設置可將照射光朝特定角度散射之膜等。鏡611只要係反射照射光者即可，為例如包含鋁等之板狀金屬構件、或以鋁等之金屬膜被覆其表面之板狀構件，可以收容毛玻璃610之方式設為箱狀之構件。又，鏡611及毛玻璃610皆更佳為由不會因照射光之照射產生螢光(不產生因鏡611及毛玻璃610引起之螢光、或僅產生能夠忽視之程度之螢光)之材料形成。如圖20所示，在參考構件600C中，入射至毛玻璃610之照射光一面在凸凹部610a中擴散，一面透過毛玻璃610之內部到達鏡611，於鏡611中反射並再次透過毛玻璃610之內部到達毛玻璃610之表面，於該凸凹部610a中朝各個方向擴散並出射(產生各種角度之散射光)。藉由產生各種角度之散射光，而於光檢測元件21中檢測到充分的光量之散射光。此外，於參考構件600C中，可利用表面經粗面化之反射材，該情形下，反射材之表面之粗面部相當於將照射光擴散之擴散體。

【0096】

其次，針對第2態樣之作用效果進行說明。

【0097】

於第2態樣中，在預先處理中，照射光學系統10之光源11以與試料

500不同之校準處理用之參考構件(鏡600A、反射擴散體600B、或參考構件600C)為照射對象，朝該參考構件照射照射光。藉由朝與試料500不同之參考構件照射照射光，而可檢測更適切之校準處理用光。藉此，可基於校準處理之實施結果，於螢光檢測處理中，自測定信號更適切地去除與散射光相應之信號成分。

【0098】

參考構件600可如圖18～圖20所示般包含反射照射光之反射構件(鏡600A、鏡611、反射擴散體600B)。根據如此之構成，可容易增大檢測光之光量。進而，反射構件較佳為不會因照射光之照射產生螢光。根據如此之構成，由於即便因照射光之照射，亦不產生因反射構件引起之螢光(或，僅產生能夠忽視之程度之螢光)，故可自測定信號僅確實地去除與散射光成分相應之信號成分。

【0099】

參考構件600可如圖19所示般包含將照射光擴散之反射擴散體600B。根據如此之構成，藉由反射擴散體600B，可容易產生各種角度之散射光，可更容易增大檢測光之光量。又，由於在如此之構成中，可將參考構件設為單純之構成，故於加工性及成本之點上具有優勢。

【0100】

參考構件600可如圖20所示般包含：反射照射光之鏡611、及由鏡611支持且將照射光擴散之毛玻璃610。根據如此之構成，藉由鏡611與毛玻璃610之攜動，而可更容易增大檢測光之光量。又，由於在毛玻璃610之表面形成有凸凹部610a，故可容易產生各種角度之散射光，可更容易增大檢測光之光量。

【0101】

參考構件600可如圖18所示般包含鏡。根據如此之構成，藉由調整鏡相對於光檢測元件21之反射角度，而可更容易增大檢測光之光量。

【0102】**[第3態樣]**

其次，針對第3態樣之螢光測定進行說明。於第3態樣中，藉由增大藉由光學系統之配置而於預先處理中檢測之散射光(校準處理用光)之光量，而增大校準信號之振幅。

【0103】

圖21係說明第3態樣之螢光測定之概要之圖。於第3態樣中，設置有可配置於自試料500至光檢測元件21之光路之螢光濾波器900(光學構件)。螢光濾波器900於光學上係例如具有與圖1所示之螢光濾波器22同樣之功能者，係為了抑制螢光以外之光到達光檢測元件21而設置之波長選擇濾波器。螢光濾波器900於朝向光檢測元件21之光路上之位置即第1位置(參照圖21(b))、及離開光路之位置即第2位置(參照圖21(a))間可移動地構成。

【0104】

圖21(a)顯示預先處理時之螢光濾波器900之狀態，圖21(b)顯示螢光檢測處理時之螢光濾波器900之狀態。如圖21(a)所示，於預先處理時，螢光濾波器900朝上述之第2位置退避。於該狀態下，來自試料500之散射光可於不受螢光濾波器900之影響下到達光檢測元件21。另一方面，如圖21(b)所示，於螢光檢測處理時，螢光濾波器900配置於上述之第1位置。於該狀態下，作為螢光以外之光之來自試料500之散射光因螢光濾波器900之影響，僅少量地到達光檢測元件21。如此，藉由在預先處理時與螢

光檢測時，變更螢光濾波器900之配置，而與螢光檢測時比較，在預先處理時，可增大由光檢測元件21檢測到之散射光(校準處理用光)之光量，適切地增大校準信號之振幅。

【0105】

其次，針對第3態樣之作用效果進行說明。

【0106】

於第3態樣中，光學測定裝置1具備螢光濾波器900。螢光濾波器900於通常之螢光檢測時配置於朝向光檢測元件21之光路上之位置即第1位置，抑制螢光以外之光(散射光等)到達光檢測元件21。螢光濾波器900可移動地構成，於預先處理時自朝向光檢測元件21之光路退避，配置於離開光路之位置之第2位置。藉此，於預先處理時，散射光可於不受螢光濾波器900之影響下容易到達光檢測元件21。根據如此之構成，可以簡易之構成，適切地增大由光檢測元件21檢測到之校準處理用光之光量(大於測定對象光中所含之散射光)。藉此，可適切地增大校準信號之信號量，進一步提高螢光檢測之精度。

【0107】

此外，用於增大校準處理用光之光量之光學構件不限定於上述螢光濾波器900。例如，光學構件可為照射光之檢測效率上升之光學構件。該情形下，該光學構件於預先處理中配置於至光檢測元件21之光路，於螢光檢測處理中配置於自該光路退避之位置。

【0108】

[第4態樣]

其次，針對第4態樣之螢光測定進行說明。於第4態樣中，藉由在預

先處理中將照射光作為校準處理用光直接予以檢測，而增大校準信號之振幅。亦即，於第4態樣中，在預先處理中，照射光學系統10之光源11以光檢測元件21為照射對象，朝光檢測元件21照射照射光，光檢測元件21將照射光作為校準處理用光直接予以檢測(不經由試料500等而直接予以檢測)。

【0109】

圖22係說明第4態樣之螢光測定之概要之圖，且係針對藉由光路切換進行之激發光取得進行說明之圖。於圖22所示之例中，形成有自照射光學系統10之光源11至光檢測元件21之光路950，設置有可配置於該光路950之快門930。於如此之構成中，在預先處理時中，如圖22所示般快門930配置於自光路950退避之位置。於該狀態下，自光源11出射之照射光於不受快門930之影響下到達光檢測元件21。另一方面，於螢光檢測處理時，快門930移動至光路950上。於該狀態下，自光源11出射之激發光(照射光)僅朝試料500方向照射。如此，藉由利用快門930，而僅於預先處理中，照射光(校準處理用光)由光檢測元件21直接檢測。而且，作為信號處理部之抵消電路60(參照圖1)基於與校準處理用光相應之校準信號實施校準處理。照射光係具有與散射光相同之相位之光。因此，藉由將照射光作為校準處理用光予以檢測，亦可適切地進行用於自檢測信號去除與散射光相應之信號成分之校準處理。此外，於螢光檢測處理時，亦在光檢測元件21中檢測到來自試料500之散射光(與激發光相同之相位之光)，但與自光源11直接照射照射光之情形(預先處理之情形)比較，光量變少。亦即，根據圖22所示之構成，藉由在預先處理中將照射光作為校準處理用光直接予以檢測，而可增大與校準處理用光相應之校準信號之振幅。

【0110】

圖23係說明第4態樣之螢光測定之概要之圖，且係說明利用與光檢測元件21(檢測光學系統20)不同之檢測光學系統720之照射光取得之圖。於圖23所示之態樣之照射光取得中，照射光學系統10之光源11朝與光檢測元件21不同之檢測光學系統720之光檢測元件721照射照射光。藉此，光檢測元件721直接檢測照射光即校準處理用光。於如此之構成中，為了進行預先處理之照射光取得而設置有檢測光學系統720，為了進行螢光檢測處理之螢光取得而設置有檢測光學系統20。於如此之構成中，亦與圖22之構成同樣地，藉由在預先處理中將照射光作為校準處理用光直接予以檢測，而可增大與校準處理用光相應之校準信號之振幅。

【0111】

圖24係說明第4態樣之螢光測定之概要之圖，且係說明利用與照射光學系統10不同之照射光學系統910之照射光取得之圖。於圖24所示之態樣之照射光取得中，與照射光學系統10之光源11不同之照射光學系統910之光源911朝檢測光學系統20之光檢測元件21照射照射光。藉此，檢測元件21直接檢測照射光即校準處理用光。於如此之構成中，為了進行預先處理之照射光取得而設置有照射光學系統910，為了進行螢光檢測處理之螢光取得而設置有照射光學系統10。於如此之構成中，亦與圖22及圖23之構成同樣地，藉由在預先處理中將照射光作為校準處理用光直接予以檢測，而可增大與校準處理用光相應之校準信號之振幅。

【0112】

其次，針對第4態樣之作用效果進行說明。

【0113】

於第4態樣中，在預先處理中，照射光學系統10之光源11以檢測光學系統20之光檢測元件21為照射對象，朝光檢測元件21照射照射光，光檢測元件21將校準處理用光作為檢測光予以檢測，該校準處理用光作為為照射光，且為光量大於在螢光檢測處理中檢測到之測定對象光中所含之散射光者，抵消電路60基於與校準處理用光相應之校準信號實施校準處理。如此，藉由在預先處理中，照射光直接由光檢測元件21檢測，而與如螢光檢測時般檢測散射光之情形比較，可容易且適切地增大校準處理用光之光量。藉此，可適切地增大校準信號之信號量，進一步提高螢光檢測之精度。

【0114】

[第5態樣]

其次，針對第5態樣之螢光測定進行說明。於第5態樣中，在預先處理中，不檢測校準處理用光，藉由產生偽信號(校準信號)，而增大校準信號之振幅。

【0115】

圖25係第5態樣之光學測定裝置801之概略構成圖。第5態樣之光學測定裝置801為與上述之光學測定裝置1(參照圖1)大致同樣之構成，但如圖25所示般，於具備延遲、放大電路802之點上與光學測定裝置1不同。延遲、放大電路802為與抵消電路60一起作為信號處理部發揮功能之構成。此處，如上述般，光源驅動電路30基於自時序產生器70輸入之成為基準之頻率信號，設定光源11之調變頻率。延遲、放大電路802基於自時序產生器70輸入之頻率信號，產生使由光源驅動電路30對光源11設定之調變頻率之信號(調變信號)之相位變化之偽信號(校準信號)。

【0116】

具體而言，延遲、放大電路802考量與直至自照射光學系統10之光源11照射之照射光之散射光作為檢測光由檢測光學系統20檢測到為止相當之延遲，產生使上述之調變信號之相位變化之偽信號(校準信號)。如此，偽信號係在校準處理中，模擬由檢測光學系統20檢測到之散射光(照射光)之信號。進而，延遲、放大電路802基於自照射光學系統10之光源11照射之照射光之散射光作為檢測光由檢測光學系統20檢測之情形之振幅，設定偽信號(校準信號)之振幅。延遲、放大電路802以偽信號(校準信號)之振幅至少大於螢光檢測處理之測定信號之與散射光對應之信號之振幅之方式，設定偽信號之振幅(信號量)。如此，延遲、放大電路802藉由產生將對光源11設定之調變信號之相位及振幅予以加工之偽信號，而於不檢測校準處理用光(不為了校準處理，進行光之照射及檢測)下獲得校準信號。延遲、放大電路802詳細而言具有用於使相位變化之延遲電路及用於使振幅變化之放大電路。

【0117】

其次，針對第5態樣之作用效果進行說明。

【0118】

於第5態樣中，在預先處理中，抵消電路60相應於與直至自照射光學系統10照射之照射光之散射光作為檢測光由檢測光學系統20檢測到為止相當之延遲，使調變信號之相位變化，產生校準信號。如此，藉由針對照射光之調變信號，產生與考量照射光學系統10之延遲相應之校準信號，而可於不檢測校準處理用光下，實際上獲得與將散射光作為校準處理用光予以檢測之情形同樣之校準信號(與散射光具有同樣之相位之校準信號)。

又，由於產生校準信號，故可更適切且容易增大校準信號之信號量。藉此，可進一步提高螢光檢測之精度。

【0119】

最後，參照圖26，說明第1態樣～第5態樣中所說明之螢光測定處理。圖26係顯示螢光測定處理之流程圖。

【0120】

如圖26所示，於螢光測定處理中，首先實施校準處理(步驟S51)。具體而言，基於校準信號，在螢光檢測處理中實施用於自測定信號去除與散射光相應之信號成分之校準處理，該校準信號為在檢測光學系統20中檢測到之照射光或散射光之信號，且為信號量大於與螢光檢測處理對應之散射光之信號者。針對校準處理之細節，由於如參照圖10～圖13等所上述般，故省略說明。

【0121】

繼而，藉由在試料500之測定區域上，照射光學系統10之光學頭以掃描之方式動作，朝試料500之測定對象部504照射激發光(照射光)(步驟S52)，而於光檢測元件21中檢測到包含自經激發光照射之試料500產生之螢光、及來自經激發光照射之試料500之激發光之散射光之測定對象光(步驟S53)。而後，於抵消電路60中，考量步驟S51之校準處理之實施結果，自與上述之測定對象光相應之測定信號去除與散射光相應之信號成分(步驟S54)。具體而言，如上述般，抵消電路60將測定信號、及在校準處理中相位經調整之開關信號設為輸入，自測定信號去除與散射光相應之信號成分。

【符號說明】

【0122】

1, 1A, 801:光學測定裝置

①,②,③,④:時間區域

10, 910:照射光學系統

11, 911:光源

12:光圈

13:激發光濾波器

14:準直透鏡

20, 720:檢測光學系統

21, 721:光檢測元件

22:螢光濾波器

23:集光透鏡

30:光源驅動電路

40: IV轉換放大器

50:波形產生電路

60:抵消電路

70:時序產生器

80:AD轉換器

90, 90A: CPU

100:免疫層析試片

101:試劑保持具

500:試料

501:測定部

502:滴落部
503:保持部
504:測定對象部
600A, 611:鏡
600B:反射擴散體
600C:參考構件
610:毛玻璃
610a:凸凹部
802:延遲、放大電路
900:螢光濾波器
930:快門
950:光路
BKG:背景
CE:偏移區域
D:光檢測部
L:光源部
N:雜訊
S:信號
W1:信號波
W2:方形波
X, Y:信號

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種光學測定裝置，其係對測定對象物之光學特性進行測定者，且具備：

照射光學系統，其朝照射對象照射照射光；

光檢測部，其檢測因前述照射光引起之檢測光；及

信號處理部；且

實施螢光檢測處理、及先於該螢光檢測處理而實施之預先處理；

於前述螢光檢測處理中，

前述照射光學系統以前述測定對象物為前述照射對象，朝前述測定對象物照射前述照射光，

前述光檢測部將包含自經前述照射光照射之前述測定對象物產生之螢光、及來自經前述照射光照射之前述測定對象物之散射光的測定對象光，作為前述檢測光予以檢測，

前述信號處理部自與前述測定對象光相應之測定信號，去除與前述預先處理中之校準處理之前述散射光相應之信號成分；

於前述預先處理中，

前述信號處理部基於校準信號，實施用於自前述測定信號去除與前述散射光相應之信號成分之前述校準處理，該校準信號為在前述光檢測部中檢測之前述照射光或前述照射光之散射光相關之信號，且為信號量大於前述測定信號中之與前述散射光對應之信號者。

【請求項2】

如請求項1之光學測定裝置，其中於前述預先處理中，

前述照射光學系統朝前述照射對象照射前述照射光；

前述光檢測部將校準處理用光作為前述檢測光予以檢測，該校準處理用光為包含來自經前述照射光照射之前述照射對象之前述照射光之散射光之光，且為光量大於在前述螢光檢測處理中檢測之前述測定對象光中所含之前述散射光者；

前述信號處理部基於與前述校準處理用光相應之前述校準信號，實施前述校準處理。

【請求項3】

如請求項2之光學測定裝置，其中於前述預先處理中，

前述照射光學系統以前述測定對象物為前述照射對象，朝前述測定對象物照射前述照射光。

【請求項4】

如請求項2之光學測定裝置，其中於前述預先處理中，

前述照射光學系統以與前述測定對象物不同之校準處理用之參考構件為前述照射對象，朝前述參考構件照射前述照射光。

【請求項5】

如請求項4之光學測定裝置，其中前述參考構件包含反射前述照射光之反射構件。

【請求項6】

如請求項5之光學測定裝置，其中前述反射構件不會因前述照射光之照射而產生螢光。

【請求項7】

如請求項5或6之光學測定裝置，其中前述反射構件包含將前述照射

光擴散之反射擴散體。

【請求項8】

如請求項5或6之光學測定裝置，其中前述反射構件包含：
反射基材，其反射前述照射光；及
擴散體，其由前述反射基材支持，且將前述照射光擴散。

【請求項9】

如請求項5或6之光學測定裝置，其中前述反射構件包含鏡。

【請求項10】

如請求項2之光學測定裝置，其更具備光學構件，該光學構件構成為可在朝向前述光檢測部之光路上之位置即第1位置、及離開前述光路之位置即第2位置間移動，且具有提高或降低光之入射效率之功能。

【請求項11】

如請求項1之光學測定裝置，其中於前述預先處理中，

前述照射光學系統以前述光檢測部為前述照射對象，朝前述光檢測部照射前述照射光；

前述光檢測部將校準處理用光作為前述檢測光予以檢測，該校準處理用光為前述照射光，且為光量大於在前述螢光檢測處理中檢測之前述測定對象光中所含之前述散射光者；

前述信號處理部基於與前述校準處理用光相應之前述校準信號，實施前述校準處理。

【請求項12】

如請求項2之光學測定裝置，其中前述照射光學系統較前述螢光檢測處理時，更為增大前述預先處理時照射之前述照射光之光量。

【請求項13】

如請求項1之光學測定裝置，其中前述照射光學系統照射與調變信號相應之照射光；且

於前述預先處理中，

前述信號處理部根據相當於直至自前述照射光學系統照射之前述照射光之散射光由前述光檢測部檢測作為前述檢測光為止之延遲，使前述調變信號之相位變化而產生前述校準信號。

【請求項14】

一種光學測定方法，其係對測定對象物之光學特性進行測定者，且包含以下工序：

實施校準處理；

朝測定對象物照射照射光；

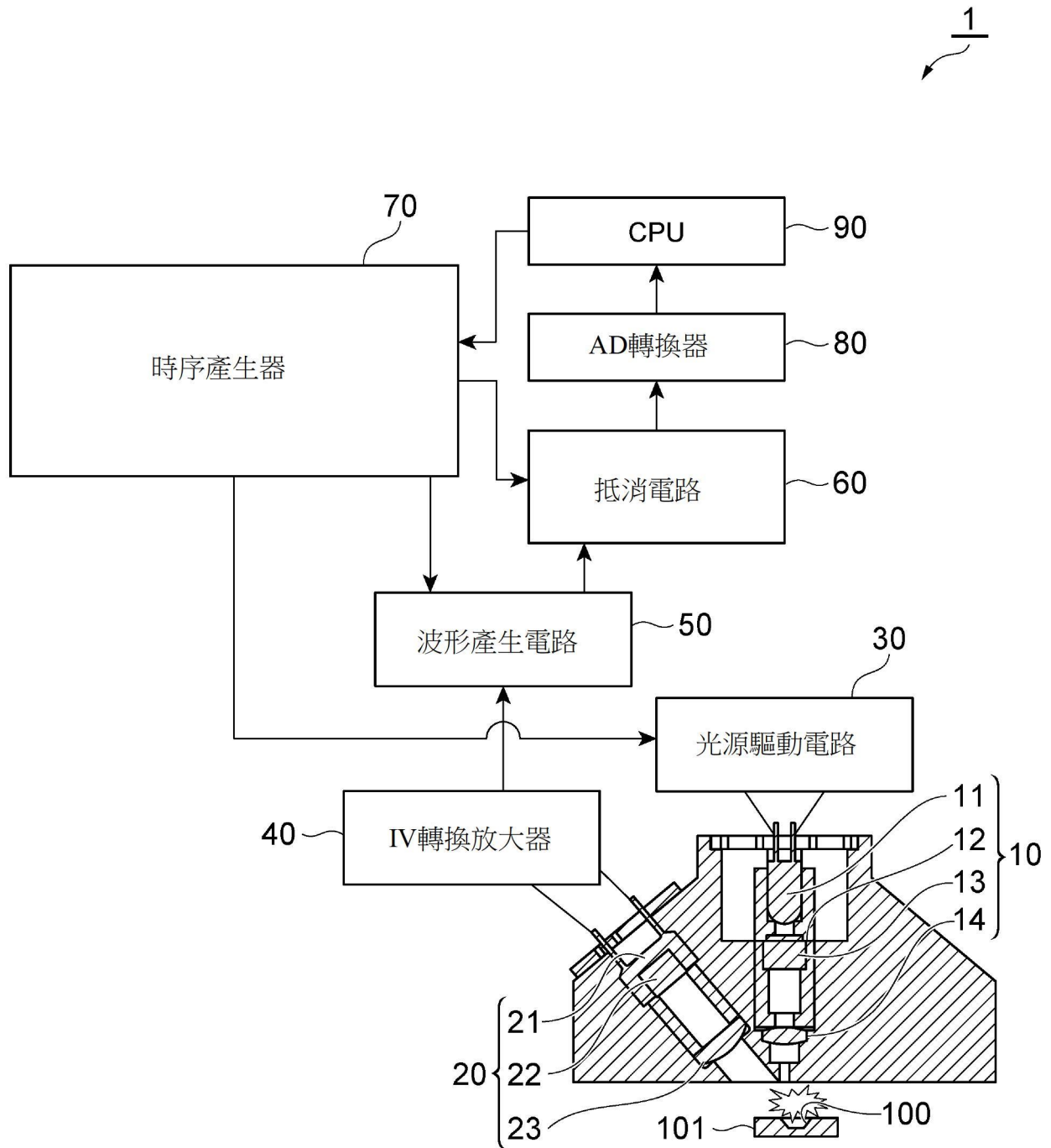
檢測包含自經前述照射光照射之前述測定對象物產生之螢光、及來自經前述照射光照射之前述測定對象物之散射光的測定對象光；及

自與前述測定對象光相應之測定信號，去除與前述校準處理之前述散射光相應之信號成分；且

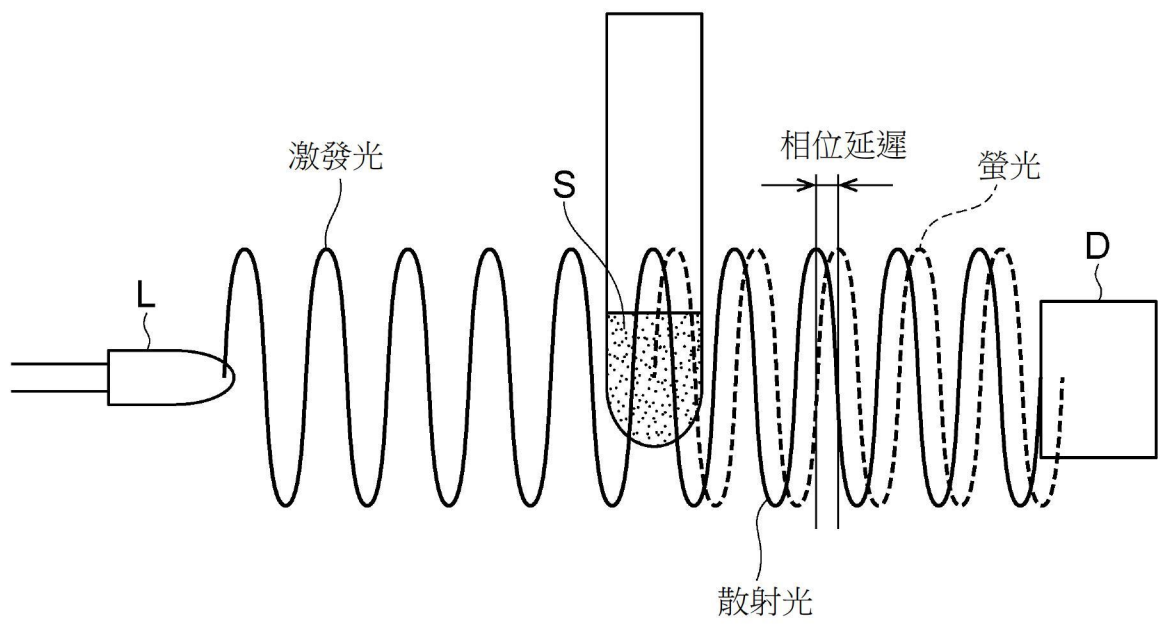
於實施前述校準處理之工序中，

基於校準信號，實施用於自前述測定信號去除與前述散射光相應之信號成分之前述校準處理，該校準信號為所檢測之前述照射光或前述照射光之散射光相關之信號，且為信號量大於前述測定信號中之與前述散射光對應之信號者。

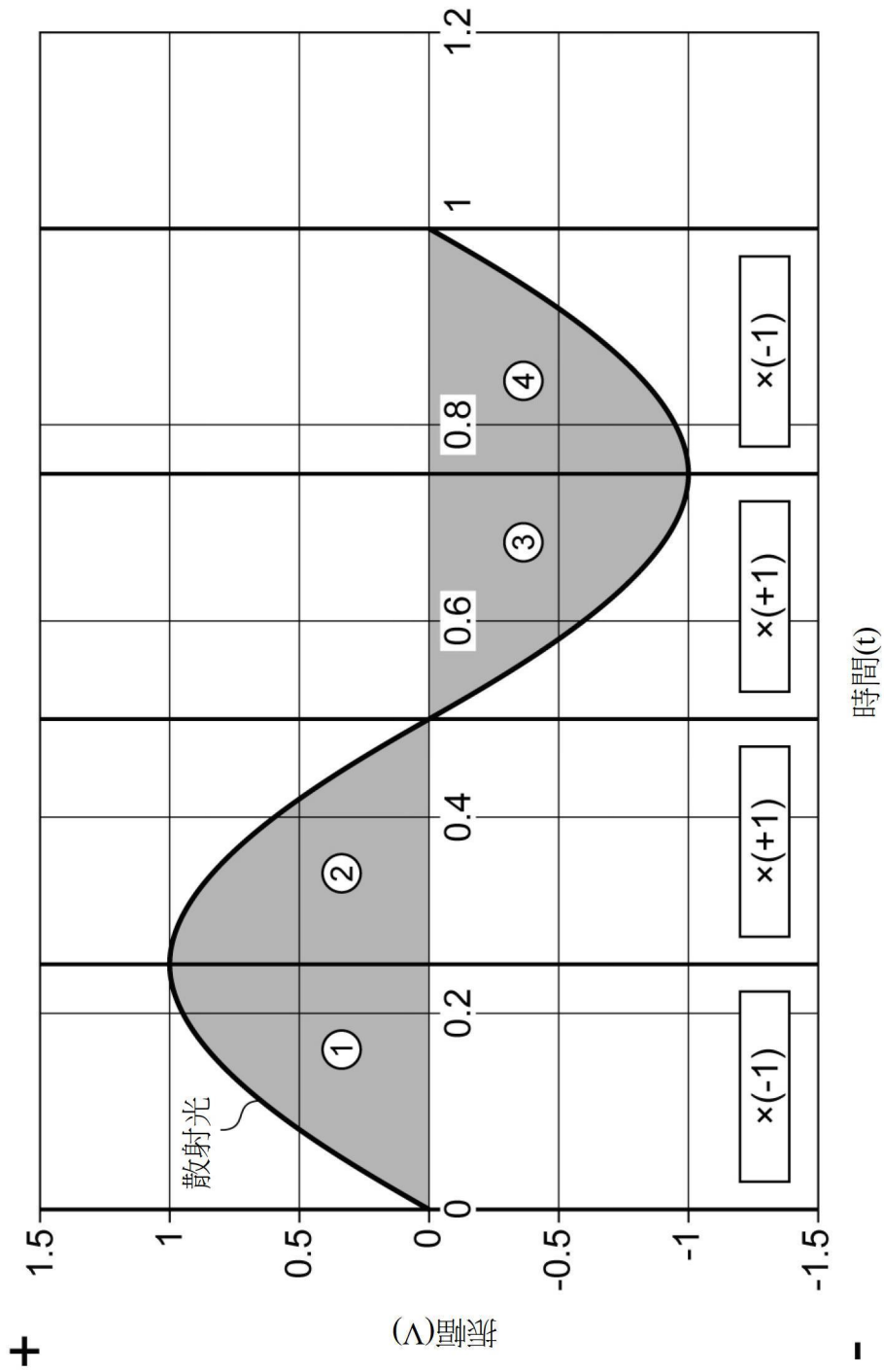
【發明圖式】



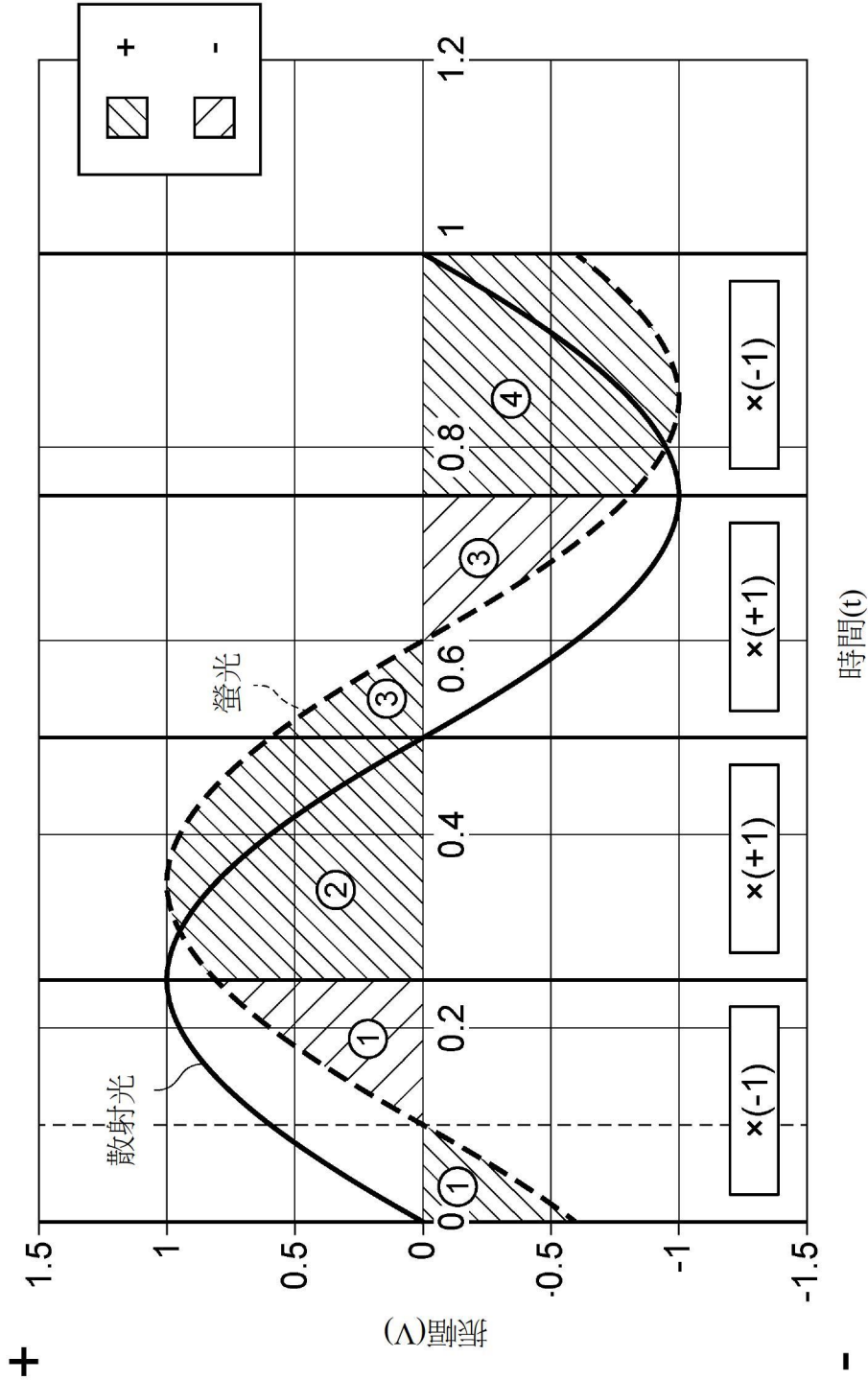
【圖1】



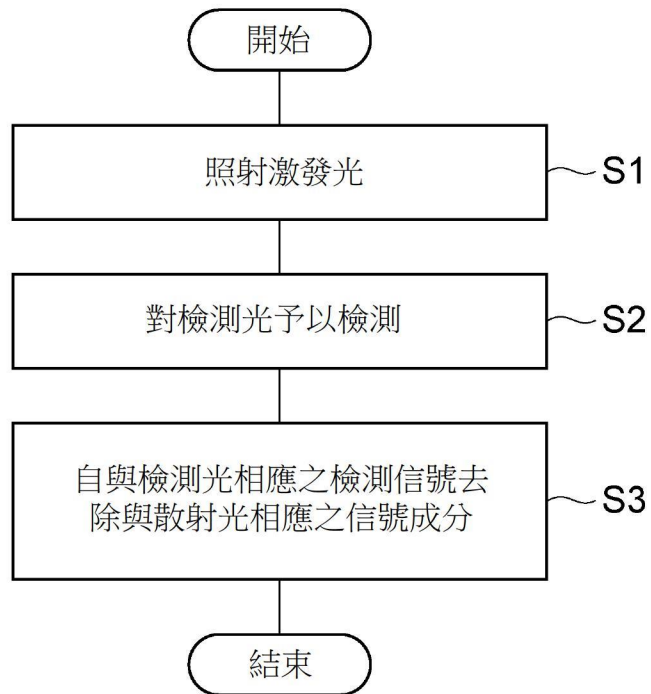
【圖2】



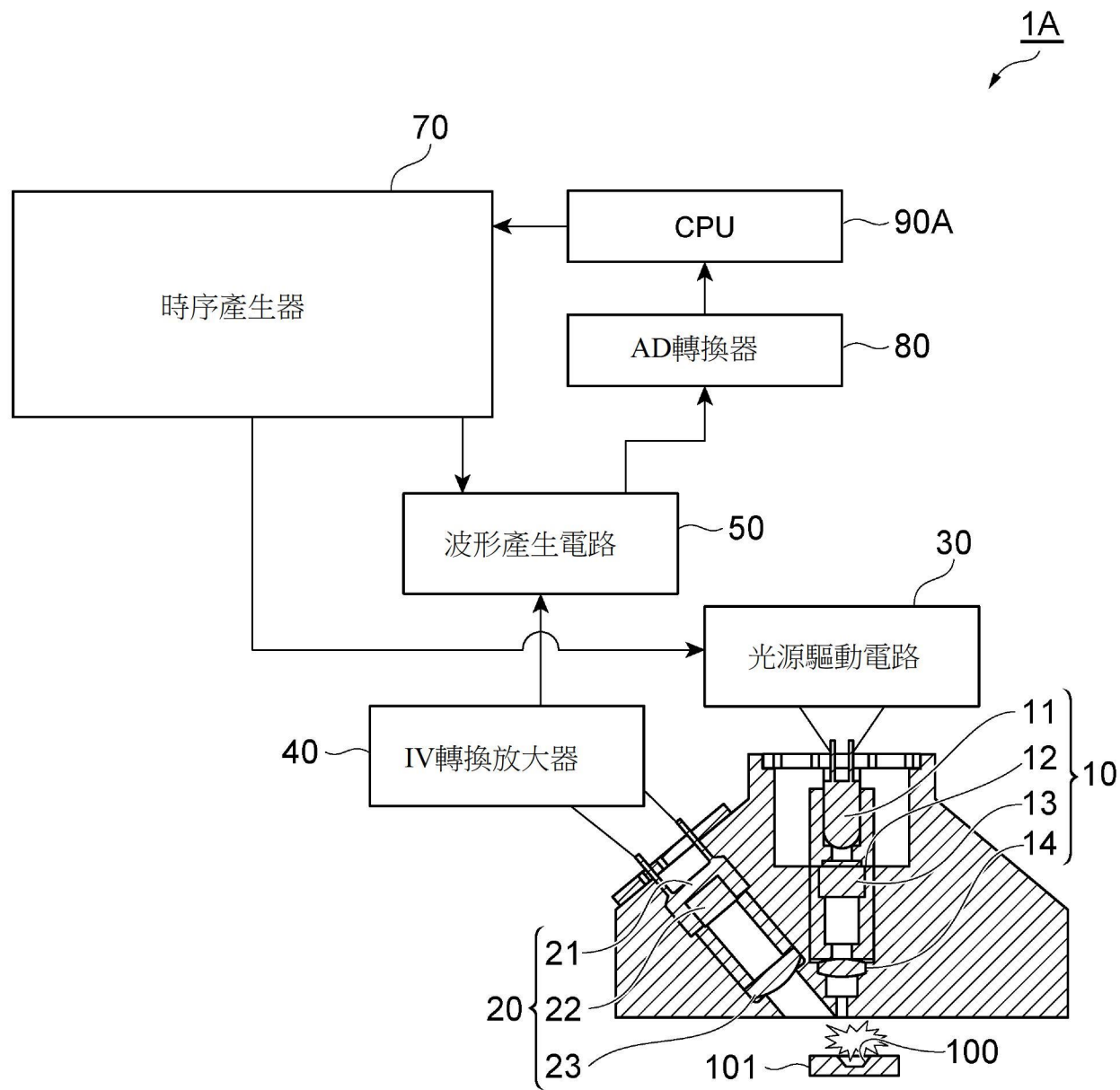
【圖3】



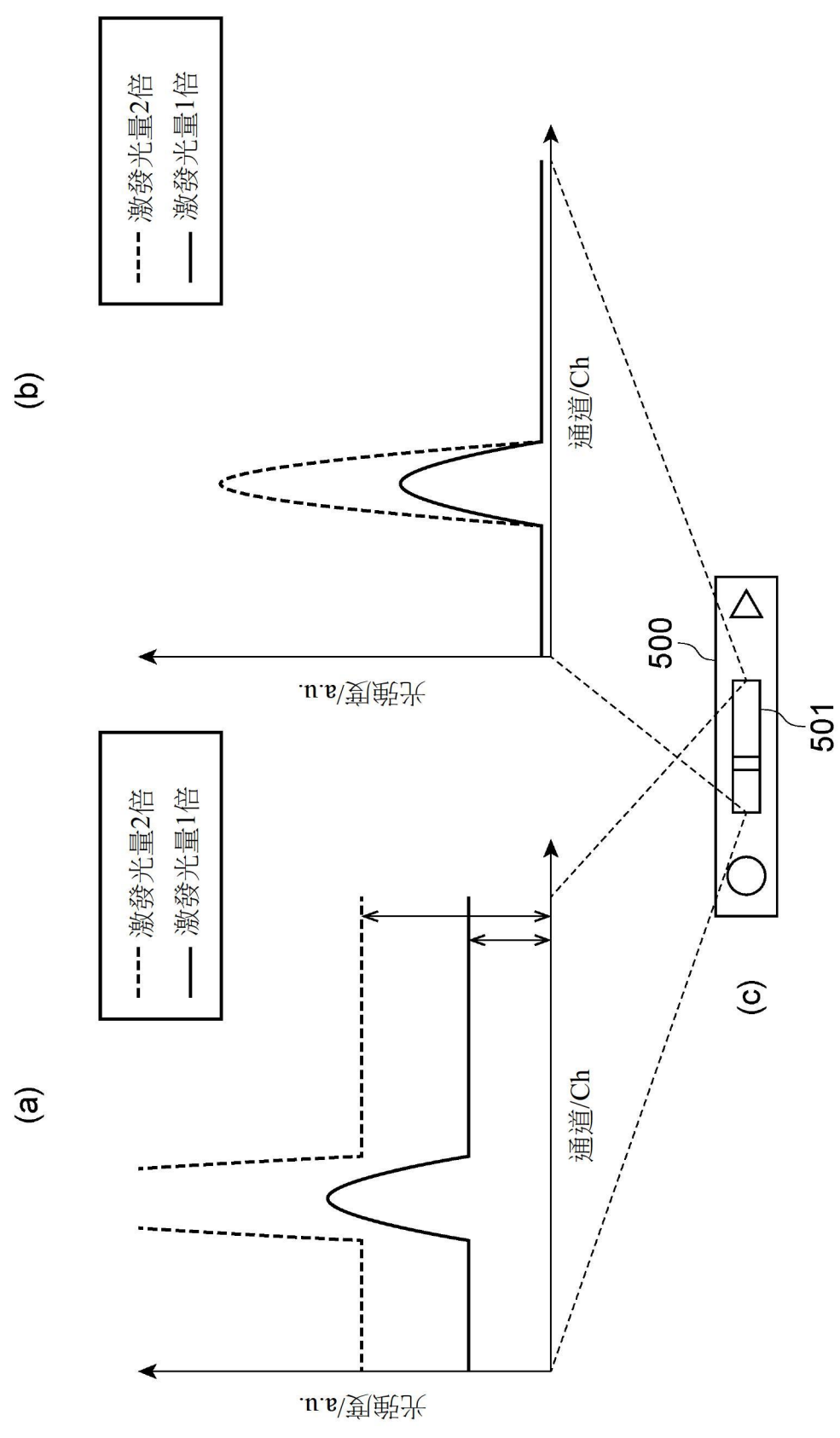
【圖4】



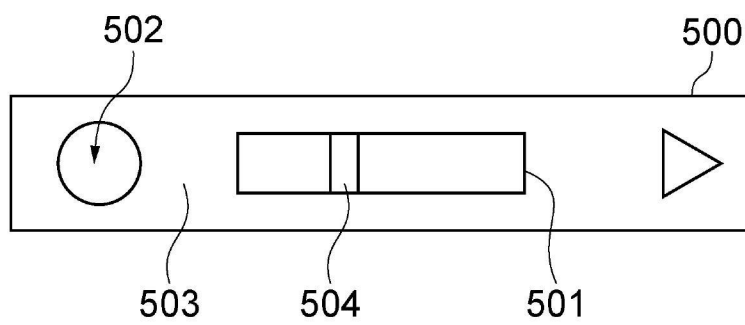
【圖5】



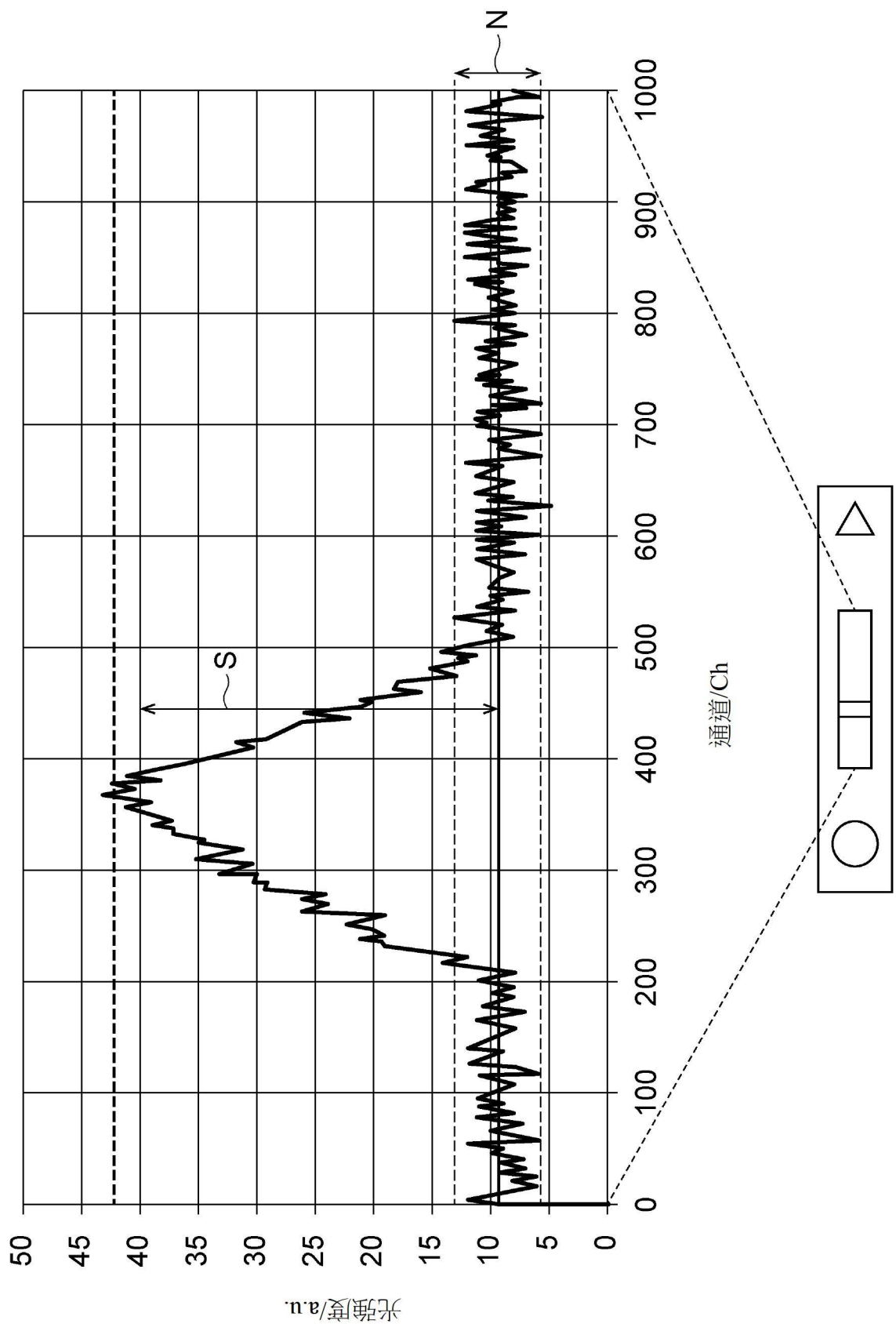
【圖6】



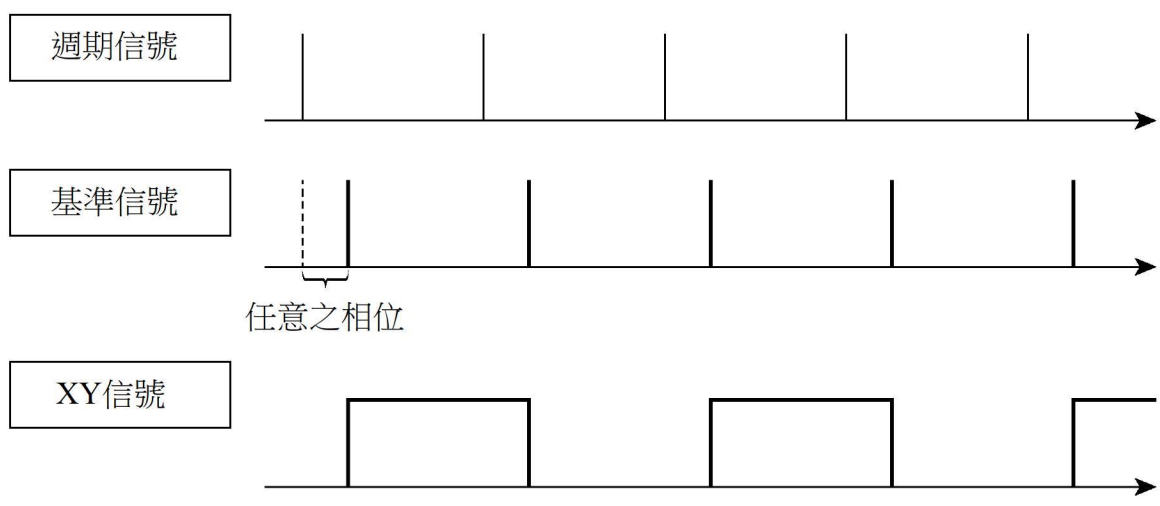
【圖7】



【圖8】

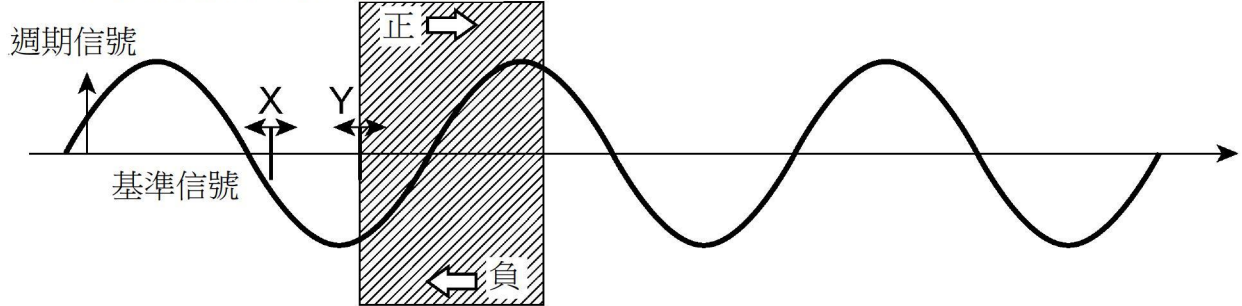


【圖9】

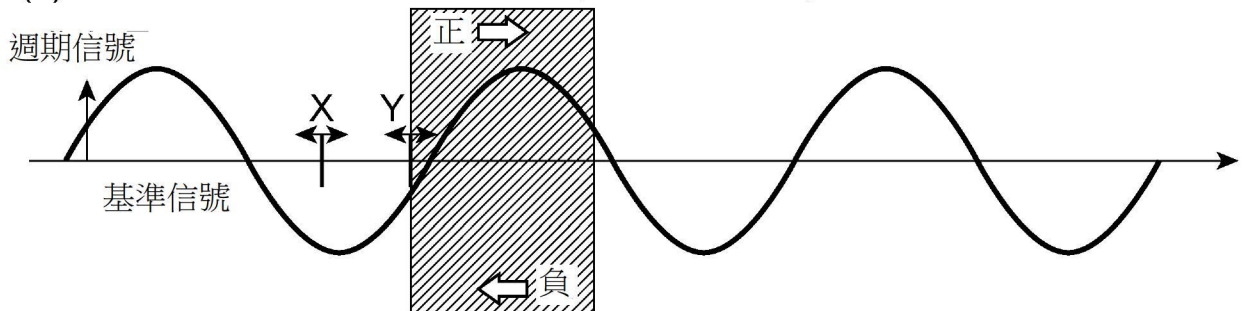


【圖10】

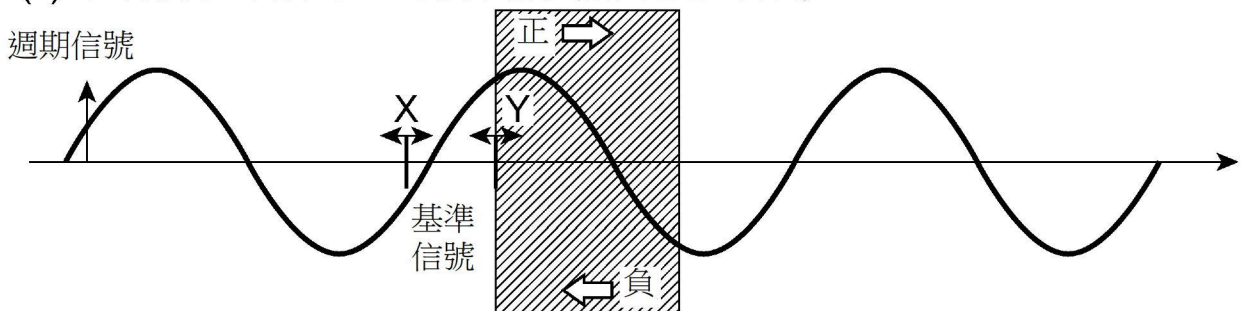
(a) 各信號之初始狀態之位置關係



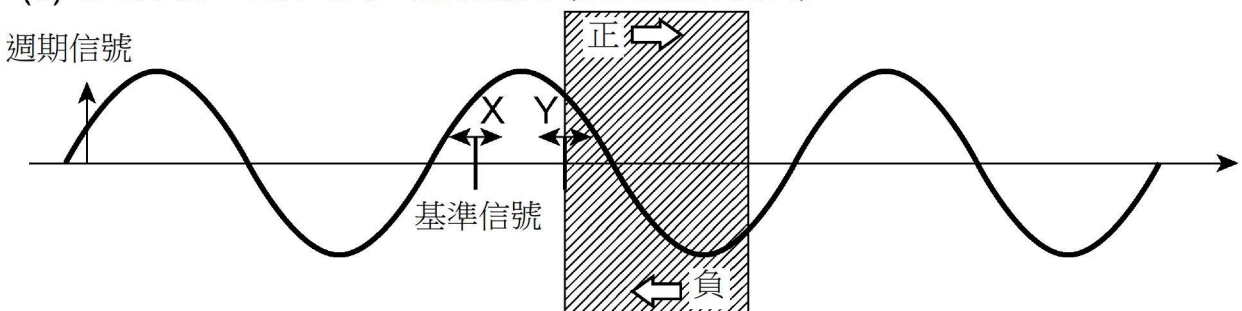
(b) 進行積分，由於為正，故向右挪移(相位延遲之方向)



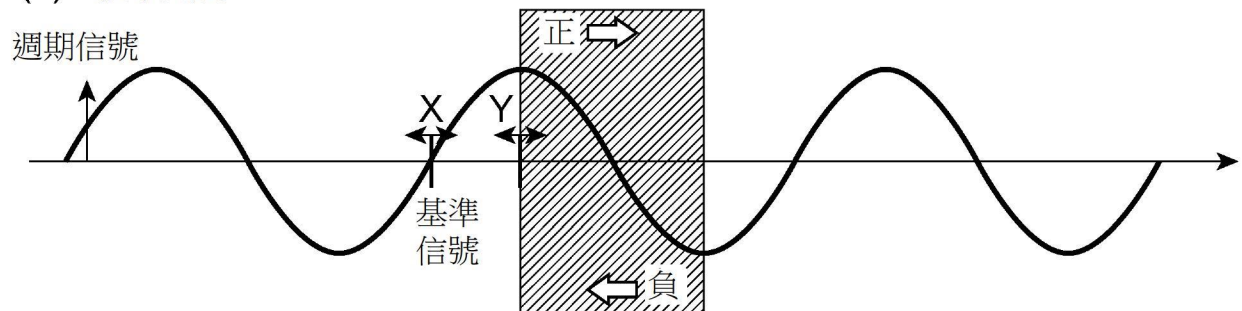
(c) 進行積分，由於為正，故向右挪移(相位延遲之方向)



(d) 進行積分，由於為負，故向左挪移(相位延遲之方向)



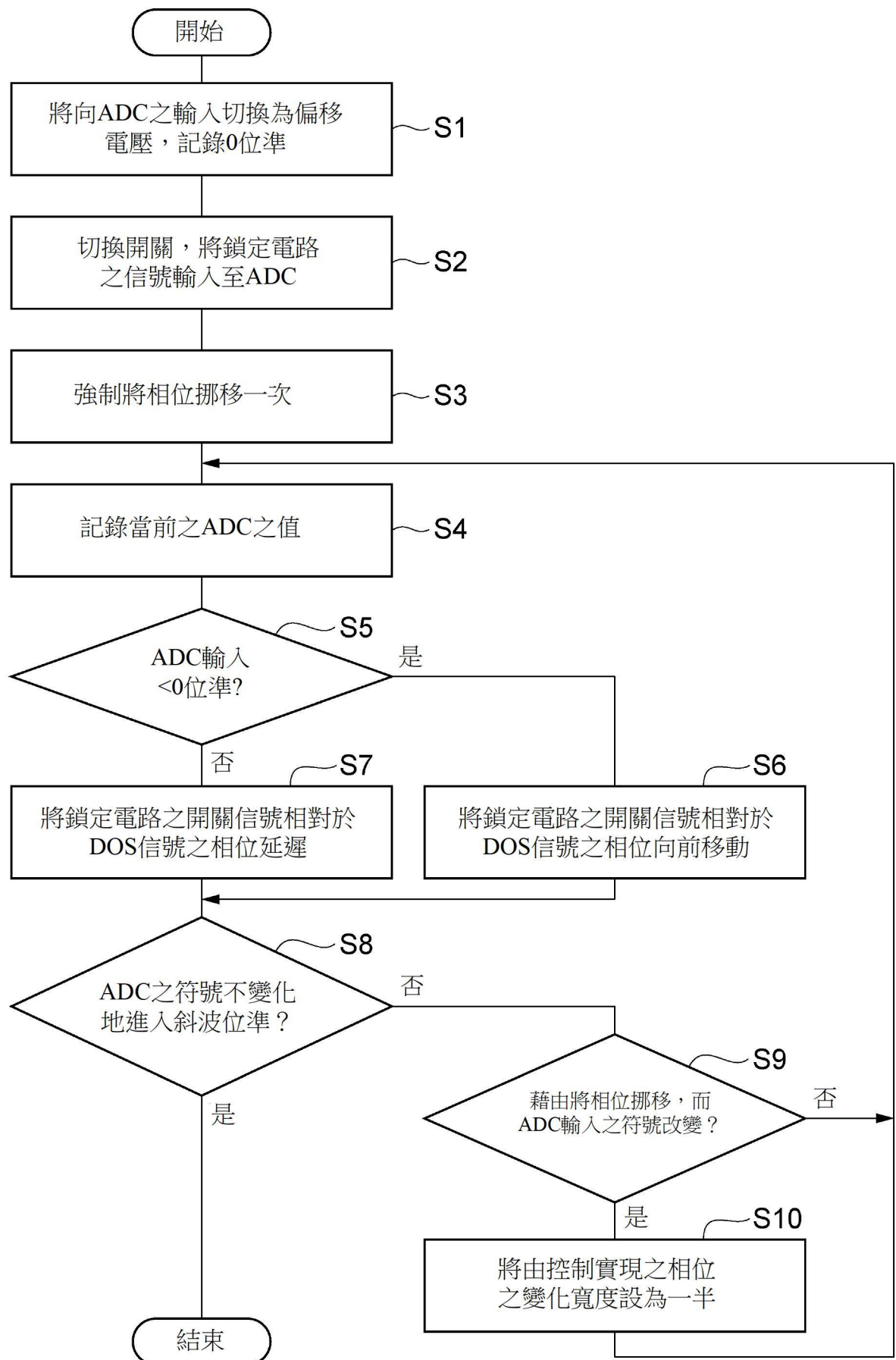
(e) 校準完成



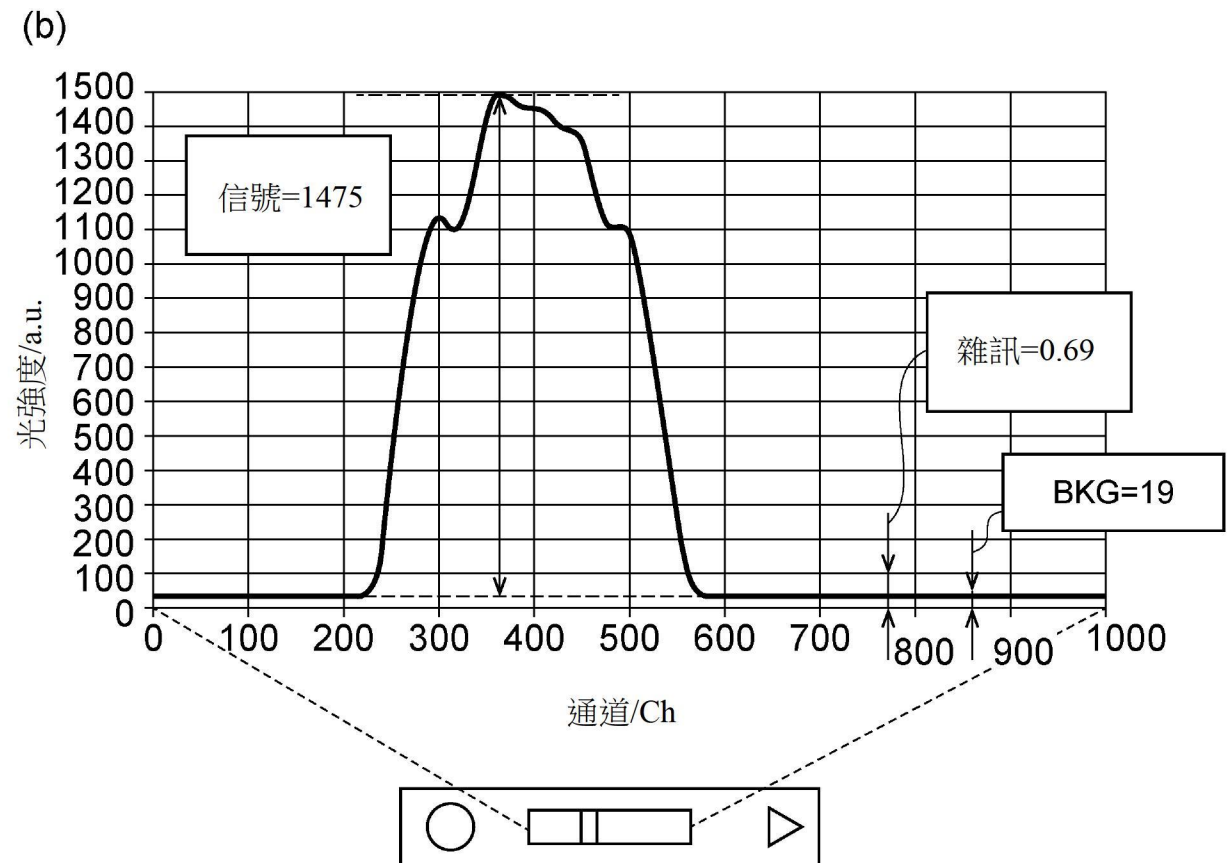
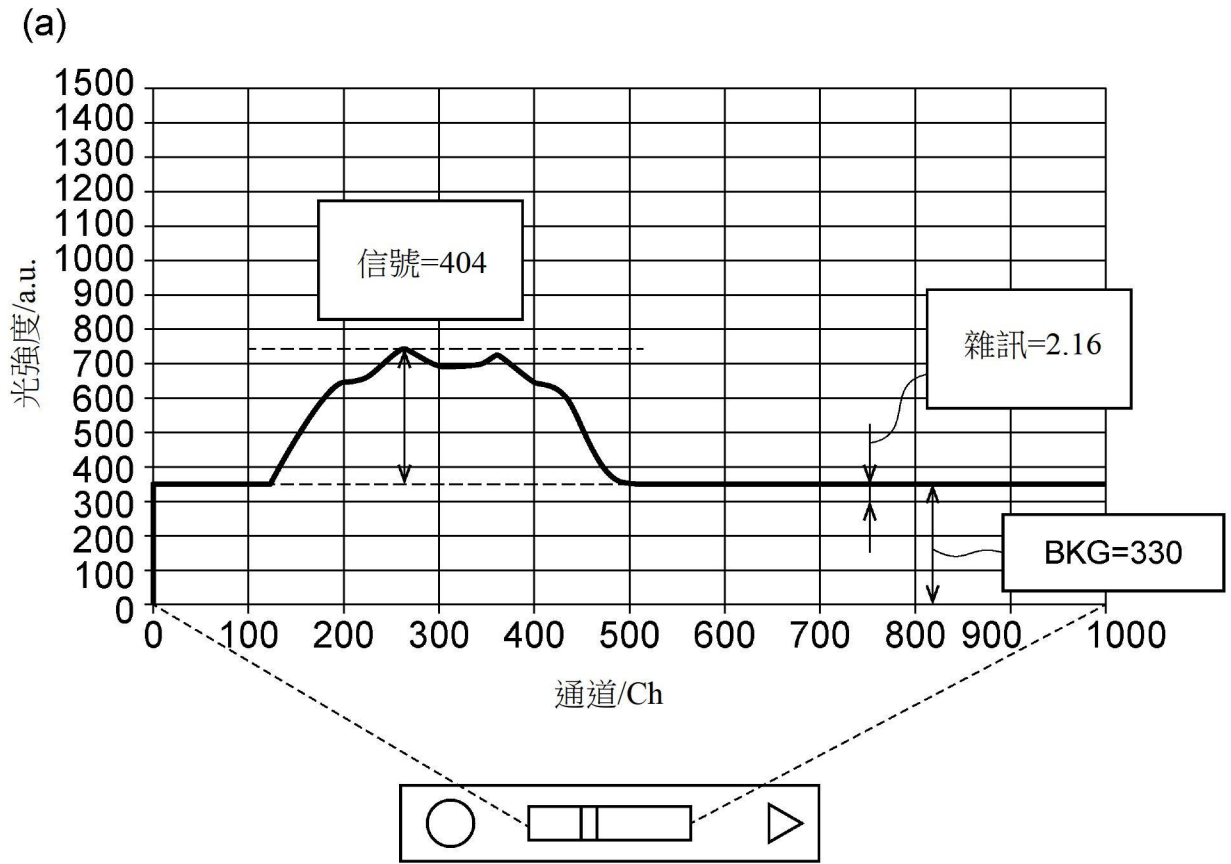
【圖11】

調變頻率[Hz]	100	500	1000
螢光(峰至峰間)[mV]	640	270	140
激發光(峰至峰間)[mV]	33	27	22
螢光/激發光	19	10	6

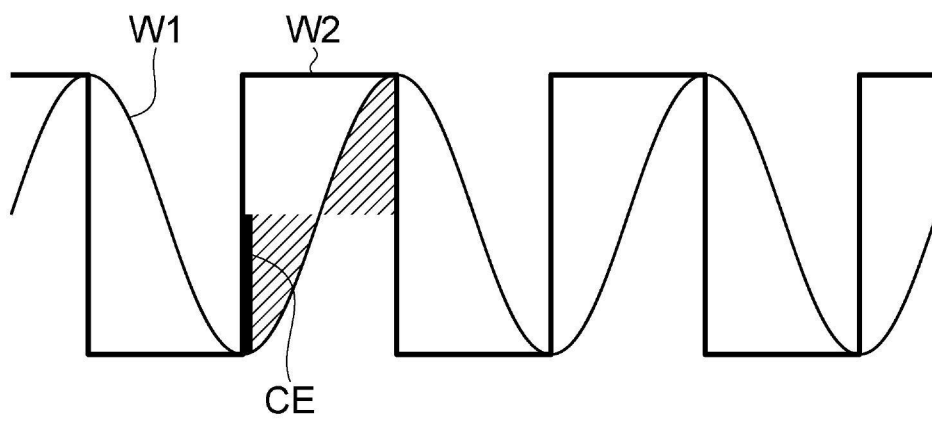
【圖12】



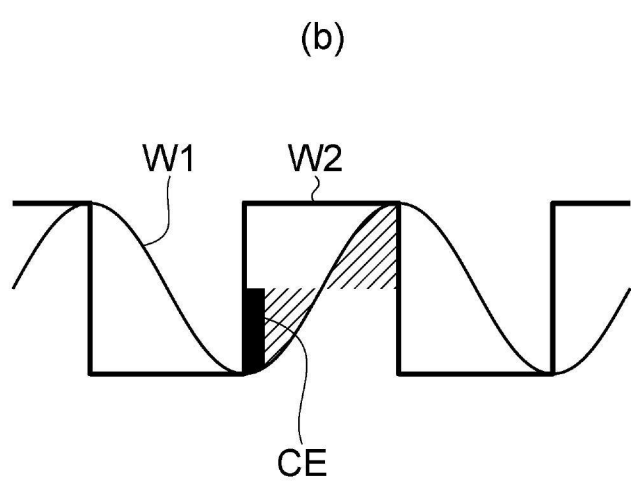
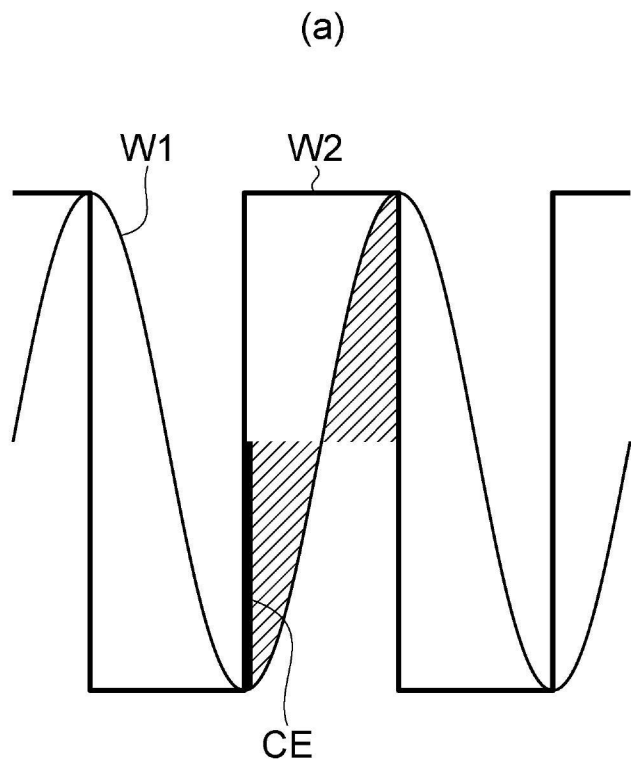
【圖13】



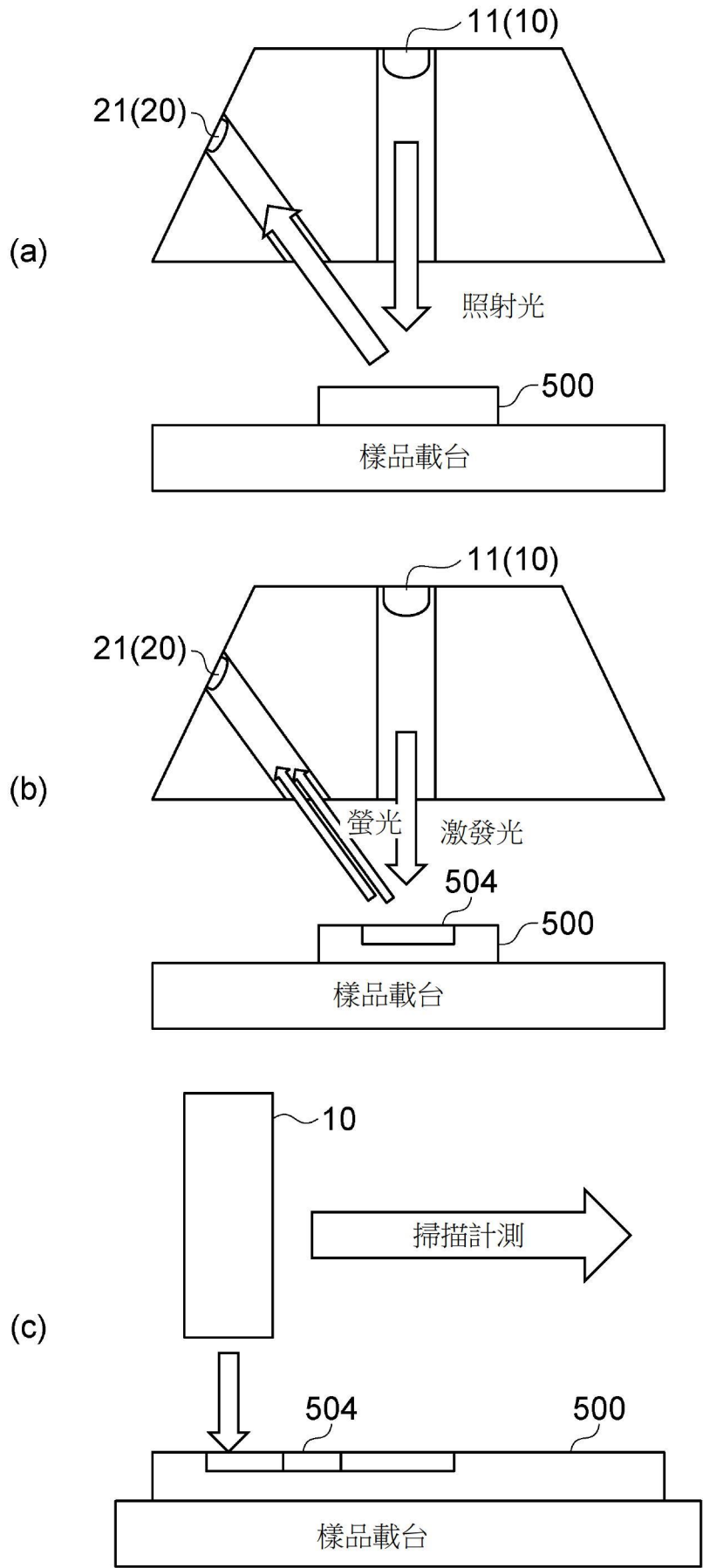
【圖14】



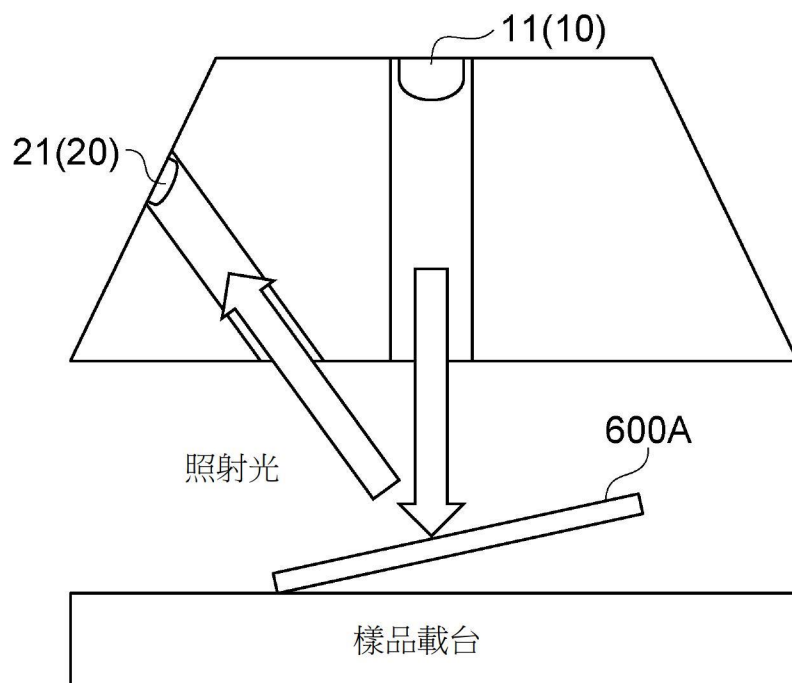
【圖15】



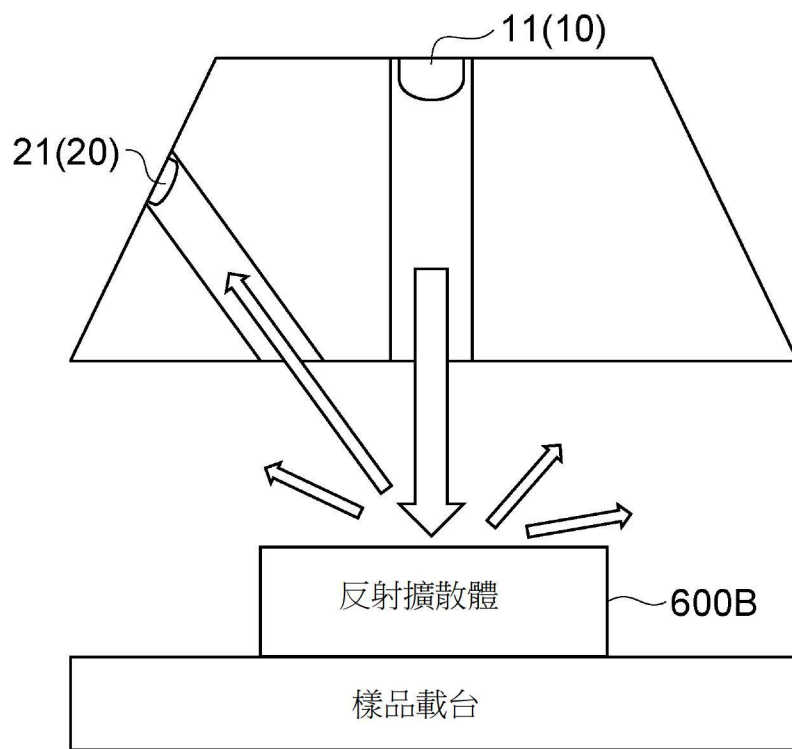
【圖16】



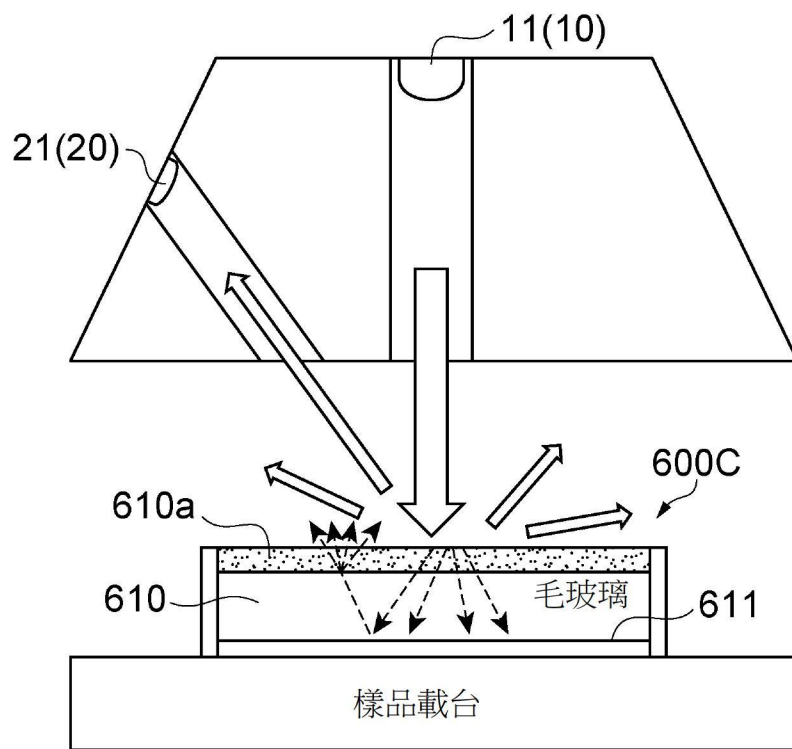
【圖17】



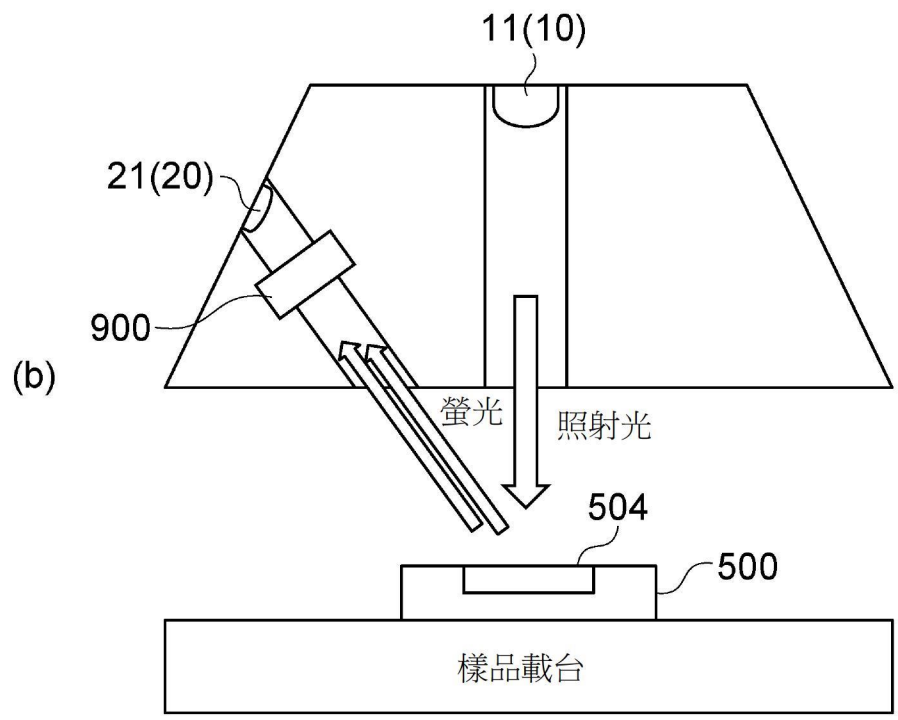
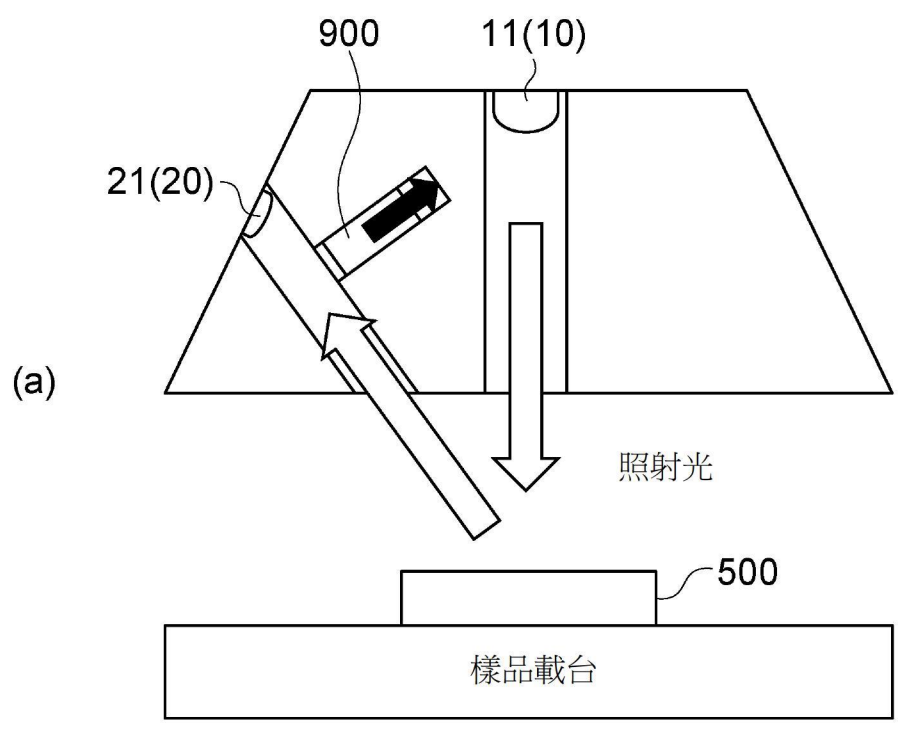
【圖18】



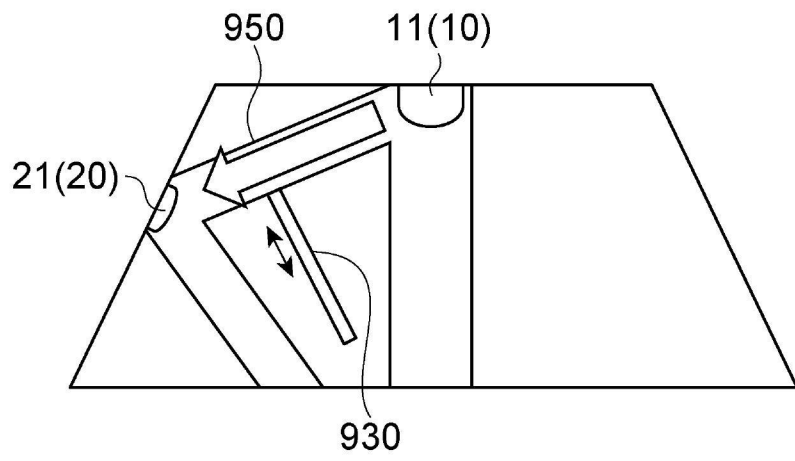
【圖19】



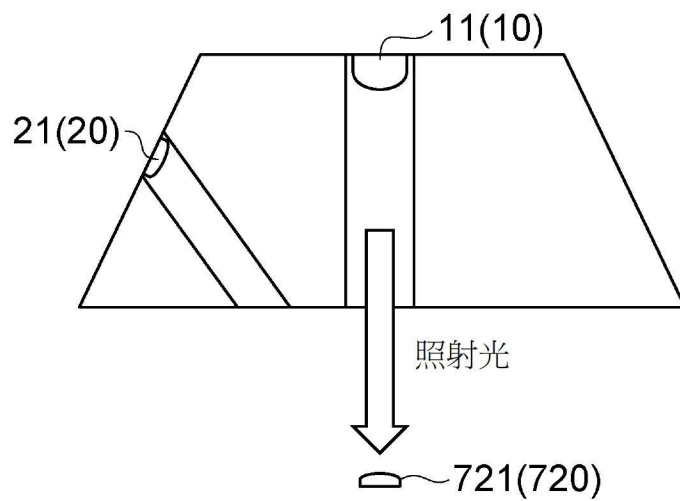
【圖20】



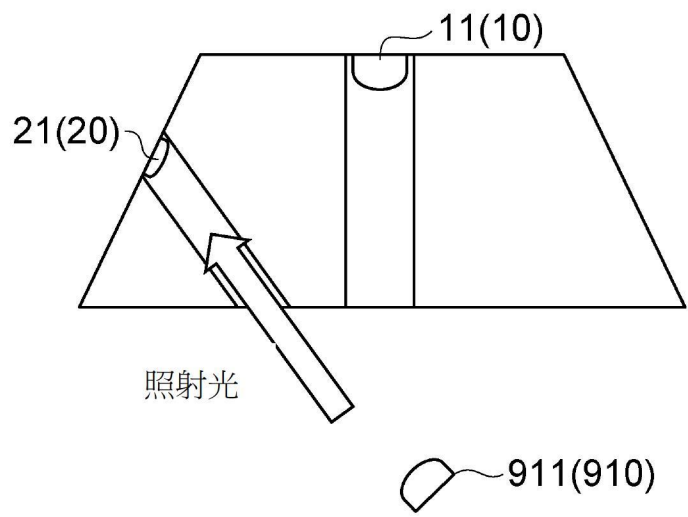
【圖21】



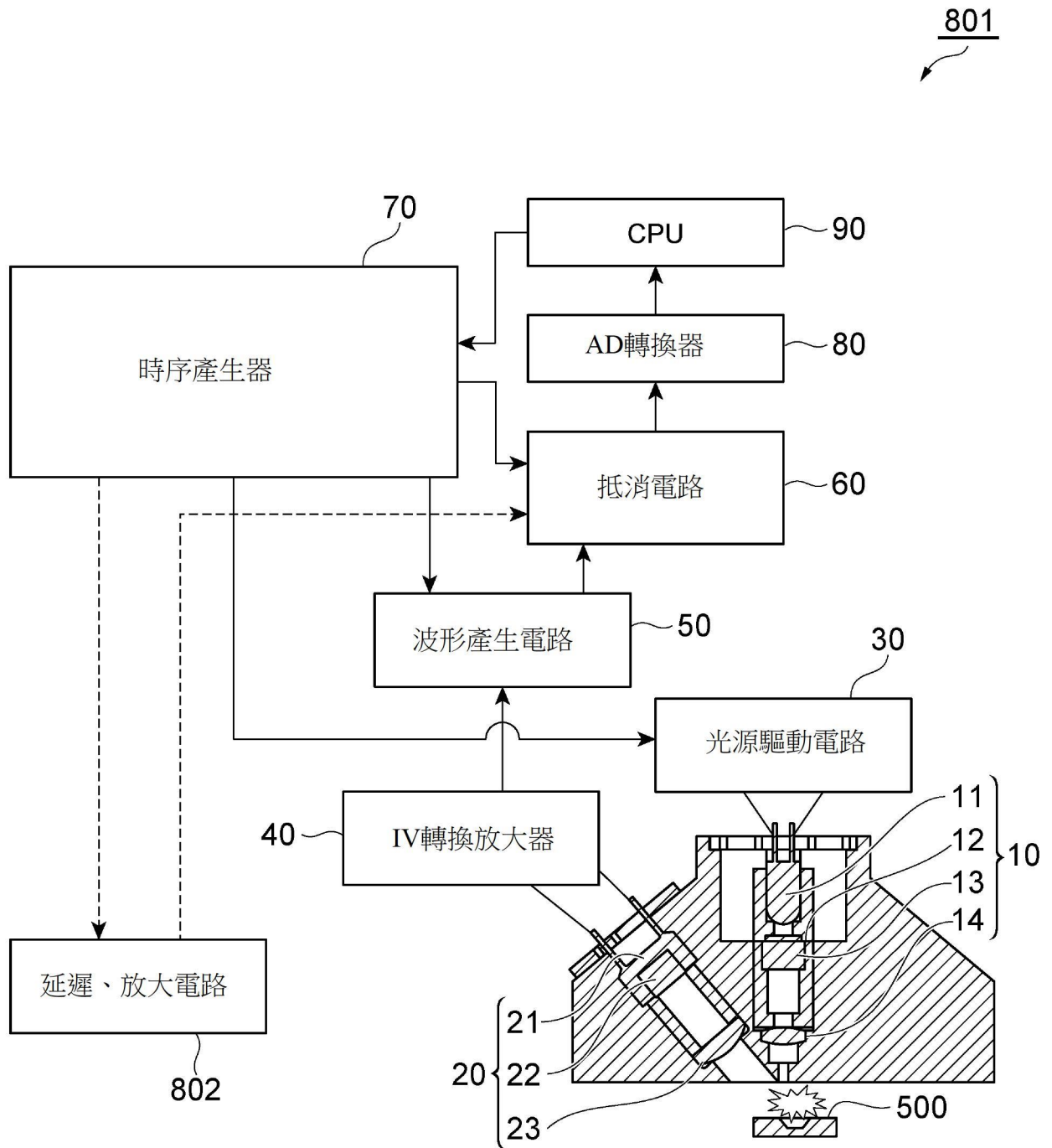
【圖22】



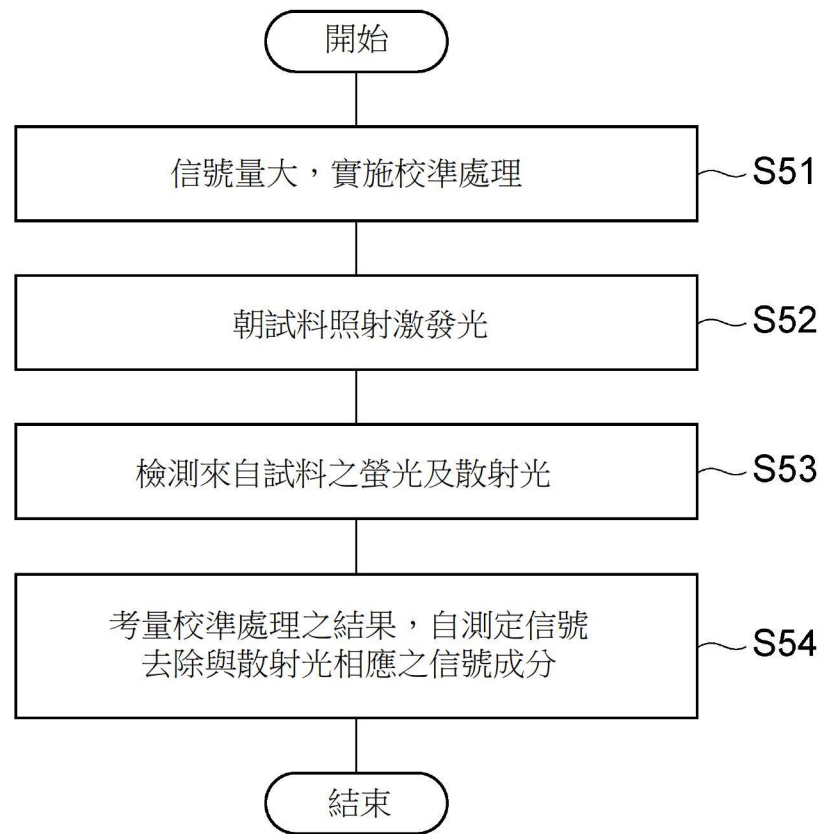
【圖23】



【圖24】



【圖25】



【圖26】