



Wirtschaftspatent

Ertüilt gemæß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

ISSN 0433-6431

(11)

213 301

Int.Cl.<sup>3</sup>

3(51)

G 01 N 21/64

G 01 J 3/00

AMT FUER ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veroeffentlicht

(21) WP G 01 N/ 2473 032

(22) 18.01.83

(44) 05.09.84

(71) AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN DER DDR, BERLIN, DD  
(72) BERNDT, KLAUS, DR. DIPL.-PHYS.; DD;

(54) PHASENFLUOROMETER

(57) Die Erfindung bezieht sich auf das Gebiet der zeitaufgelösten Fluoreszenzspektroskopie im Nanosekunden- und im Picosekundenbereich. Die Anwendung ist in Phasenfluorometern auf der Basis modensynchronisierter cw-Laser möglich und zweckmäßig. Ziel der Erfindung ist, phasenfluorometrische Messungen in einem sehr großen Modulationsfrequenzbereich mit relativ geringem Frequenzabstand durchführen zu können. Die Aufgabe besteht darin, eine Phasenfluorometeranordnung anzugeben, in der die Anregungslichtquelle mit Frequenzen zwischen einigen zehn MHz und ca. 1500 MHz moduliert ist, und der Frequenzabstand einige zehn MHz beträgt. Der Impulszug eines modensynchronisierten cw-Lasers wird mittels eines externen Intensitätsmodulators phasenmäßig optimiert mit Subharmonischen der Impulsfolgefrequenz des Lasers moduliert. Figur

Dr. Klaus Berndt

Berlin, den 9. 12. 1982

Zustellungsbevollmächtigt:

Akademie der Wissenschaften der DDR

Zentralinstitut für Optik und

Spektroskopie - Patentbüro

1199 Berlin-Adlershof, Rudower Chaussee 6

Phasenfluorometer

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung bezieht sich auf das Gebiet der zeitaufgelösten Fluoreszenzspektroskopie im Nanosekunden- und im Picosekundenbereich. Die Anwendung ist in Phasenfluorometern auf der Basis modensynchronisierter kontinuierlich arbeitender Laser möglich und zweckmäßig.

## Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Für die Untersuchung von Fluoreszenzprozessen haben Phasenfluorometer breite Anwendung gefunden. In Phasenfluorometern wird die Probe in der Regel mit sinusförmig moduliertem Licht angeregt. Das Fluoreszenzlicht ist ebenfalls sinusförmig moduliert, weist aber gegenüber der Anregungsstrahlung eine Phasenverschiebung auf, aus der die Fluoreszenz-Abklingzeit berechnet werden kann. Zur Gewinnung aussagekräftiger Meßdaten ist es erforderlich, einen großen Modulationsfrequenzbereich zu überstreichen. Für Untersuchungen an Substanzen mit Abklingzeiten im Picosekundenbereich sind darüber hinaus Modulationsfrequenzen größer 100 MHz wünschenswert, da sie hohe Meßgenauigkeiten ermöglichen.

Die Realisierung sinusförmiger Intensitätsmodulation in einem großen Frequenzbereich und bei sehr hohen Frequenzen bereitet in der Praxis erhebliche Schwierigkeiten. Gewöhnlich nutzt man elektrooptische Modulatoren [Haar, H.P. u.a., Chem. Phys. Lett. 49, 563 (1977)]. Diese Modulatoren haben den Nachteil, daß sie große Modulationsspannungen benötigen. Eine Durchstimmung über größere Frequenzbereiche ist daher mit hohem Aufwand verbunden. Außerdem besteht die Gefahr, daß ein Anteil des Modulationssignals abgestrahlt wird und im Detektorsystem zu Meßfehlern führt.

Es sind auch Phasenfluorometer bekannt geworden, in denen modensynchronisierte cw-Laser als Anregungslichtquelle dienen. [Berndt, K. u.a., Opt. Commun. 42, 419 (1982)]. Diese Laser emittieren im zeitlichen Abstand  $T = 2L/c$  ultrakurze Lichtimpulse und stellen eine Lichtquelle dar, die gleichzeitig mit der Impulsfolgefrequenz  $f = 1/T = c/2L$  und ganzzahligen Vielfachen davon moduliert ist. Nachteilig ist hierbei, daß die kleinste Modulationsfrequenz schon sehr hoch liegt und der Abstand aufeinanderfolgender Frequenzen sehr groß ist. So beträgt beispielsweise für einen Laser von 120 cm Länge die Impulsfolgefrequenz 125 MHz, und der Frequenzabstand ist ebenfalls 125 MHz. Für die Messung von Abklingzeiten im Nanosekundenbereich ist dies sehr ungünstig, da infolge der

hohen Frequenzen der Modulationsgrad des Fluoreszenzlichtes sehr klein wird, und dadurch die Meßgenauigkeit sinkt. Auch für Substanzen mit Abklingzeiten im Picosekundenbereich erweist sich wegen des großen Frequenzabstandes diese Methode als nicht optimal. Eine Verringerung der Impulsfolgefrequenz wäre durch Vergrößern der Laserlänge  $L$  möglich, doch führt dies zu neuen Schwierigkeiten bezüglich der Anforderungen an die mechanische und thermische Stabilität des Resonators. Die größten kommerziell verfügbaren Laser haben Resonatorlängen von ca. 180 cm. Einerseits bedeutet das keinen entscheidenden Gewinn hinsichtlich des erwünschten Effektes, andererseits geben Laser dieser Länge Lichtleistungen ab, die für Phasenfluorometer viel zu groß sind.

#### Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist, phasenfluorometrische Messungen in einem sehr großen Modulationsfrequenzbereich und mit relativ geringem Frequenzabstand durchführen zu können.

#### Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Phasenfluorometeranordnung anzugeben, in der die Anregungslichtquelle mit Frequenzen zwischen einigen zehn MHz und ca. 1500 MHz moduliert ist, und der Abstand der Modulationsfrequenzen einige zehn MHz beträgt.

Die Aufgabe wird dadurch gelöst, daß als Anregungslichtquelle ein modensynchronisierter cw-Laser vorhanden ist. Im Strahlengang des Lasers ist die fluoreszierende Probe angeordnet, deren Fluoreszenzlicht über ein optisches System auf einen Photodetektor gelangt, an dessen Ausgang ein frequenzselektives Voltmeter angeschlossen ist. Im Strahlengang des Lasers befindet sich vor der fluoreszierenden Probe ein erster Strahlteiler zur Ablenkung eines kleinen Anteils der Strahlung über ein variables Graufilter, eine variable opti-

sche Verzögerungseinheit und einen Umlenkspiegel auf den Photodetektor. .

Erfindungsgemäß ist im Strahlengang des Lasers vor dem ersten Strahlteiler ein zweiter Strahlteiler angeordnet, über den ein Anteil der Strahlung auf einen Hilfs-Photodetektor gelangt, dessen Ausgang über eine variable elektrische Verzögerungseinheit, einen Frequenzteiler und einen frequenzselektiven Verstärker mit dem Eingang eines optischen Intensitätsmodulators verbunden ist, der sich im Strahlengang des Lasers zwischen den beiden Strahlteilern befindet.

Im Betrieb bewirkt der mit einer Subharmonischen der Impulsfolgefrequenz betriebene Intensitätsmodulator eine periodische Modulation der Laserimpulsleistungen. Die Anregungsstrahlung ist infolgedessen mit der Modulationsfrequenz des Modulators und mit ganzzahligen Vielfachen davon moduliert. Da die Intensitätsmodulation mit einer Subharmonischen der Impulsfolgefrequenz erfolgt, erreicht man entsprechend kleinere Modulationsfrequenzen und Frequenzabstände.

Eine Variante der Erfindung besteht darin, daß im Falle aktiv modensynchronisierter cw-Laser in der Ansteuerleitung für den Mode-Locker ein Signalkoppler angeordnet ist, dessen Koppelausgang mit dem Eingang der variablen elektrischen Verzögerungseinheit verbunden ist.

#### Ausführungsbeispiel

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

Als Anregungslichtquelle dient ein modensynchronisierter cw-Laser L. Im Strahlengang des Lasers L ist die fluoreszierende Probe F angeordnet, deren Fluoreszenzlicht über ein optisches System aus zwei Linsen L1 und L2 mit dazwischen befindlichem Polarisator P und Wellenlängenfilter W auf einen Photodetektor D gelangt, an dessen Ausgang ein frequenzselektives Voltmeter SM angeschlossen ist. Im Strahlengang des Lasers L befindet sich vor der Probe F ein erster Strahl-

teiler T1 zur Ablenkung eines kleinen Anteils der Strahlung über ein variables Graufilter G, eine variable optische Verzögerungseinheit OV und einen Umlenkspiegel S auf den Photodetektor D.

Im Strahlengang des Lasers L ist vor dem ersten Strahlteiler T1 ein zweiter Strahlteiler T2 angeordnet, über den ein Anteil der Strahlung auf einen Hilfs-Photodetektor HD gelangt, dessen Ausgang über eine variable elektrische Verzögerungseinheit EV, einen Frequenzteiler FT und einen frequenzselektiven Verstärker SV mit dem Eingang eines optischen Intensitätsmodulators M verbunden ist, der sich im Strahlengang des Lasers zwischen den beiden Strahlteilern T1 und T2 befindet. Als Modulator eignet sich beispielsweise ein akustooptischer Typ, der für eine Festfrequenz ausgelegt ist und nur eine minimale Ansteuerleistung benötigt. In der folgenden Tabelle sind für einen Laser von 120 cm Resonatorlänge die erreichbaren Modulationsfrequenzen angegeben, wenn die Intensitätsmodulation fehlt oder mit der Hälfte bzw. mit einem Drittel der Impulsfolgefrequenz erfolgt:

| f/MHz  | f/MHz  | f/MHz  |
|--------|--------|--------|
|        | 62.5   | 41.7   |
|        |        | 83.3   |
| 125.0  | 125.0  | 125.0  |
|        | 187.5  | 166.7  |
|        |        | 208.3  |
| 250.0  | 250.0  | 250.0  |
|        | 312.5  | 291.7  |
|        |        | 333.3  |
| 375.0  | 375.0  | 375.0  |
|        | 437.5  | 416.7  |
|        |        | 458.3  |
| 500.0  | 500.0  | 500.0  |
|        | 562.5  | 541.7  |
|        |        | 583.3  |
| 625.0  | 625.0  | 625.0  |
|        | 687.5  | 666.7  |
|        |        | 708.3  |
| 750.0  | 750.0  | 750.0  |
|        | 812.5  | 791.7  |
|        |        | 833.3  |
| 875.0  | 875.0  | 875.0  |
|        | 937.5  | 916.7  |
|        |        | 958.3  |
| 1000.0 | 1000.0 | 1000.0 |

Die Folge der erreichbaren Modulationsfrequenzen ist in der Tabelle willkürlich bei 1000 MHz abgebrochen worden. Mit Silizium-Avalanche-Photodioden sind gegenwärtig bereits Grenzfrequenzen von ca. 3 GHz erzielbar.

Mit Hilfe der variablen elektrischen Verzögerungseinheit EV ist eine optimale Einstellung des Modulator-Arbeitspunktes möglich. Wird beispielsweise eine Intensitätsmodulation mit der halben Impulsfolgefrequenz angewandt, so dürfen die ultrakurzen Laserimpulse den Modulator nicht in dem Moment passieren, in dem sich die sinusförmige Modulationsfunktion in ihrem Wendepunkt befindet.

Wird mit einem Viertel, Fünftel usw. der Impulsfolgefrequenz moduliert, so ergeben sich entsprechend niedrigere untere Modulationsfrequenzen und geringere Frequenzabstände. Eine Fourier-Analyse zeigt, daß in diesen Fällen einzelne Frequenzen fehlen können. Da jedoch die Zahl der Modulationsfrequenzen dann sehr groß ist, ergeben sich daraus keine prinzipiellen Schwierigkeiten für praktische Messungen.

Die erfindungsgemäße modulierte Anregungslichtquelle gestattet sehr vielfältige und aussagekräftige phasenfluorometrische Messungen. Mittels des frequenzselektiven Voltmeters SM wird eine beliebige Modulationsfrequenz ausgewählt. Dann kann nach erfolgter Eichung die durch den Fluoreszenzprozeß bewirkte Phasenverschiebung gemessen werden, indem in der variablen optischen Verzögerungseinheit eine gleich große Phasenverschiebung eingestellt wird. Richtige Einstellung ist erreicht, wenn am selektiven Voltmeter ein minimales Signal entsteht. Mit Hilfe des variablen Graukeils kann die Genauigkeit schrittweise verbessert werden, indem gleiche Signalamplituden für das Fluoreszenzlicht und das Vergleichslicht eingestellt werden.

## Erfindungsanspruch

1. Phasenfluorometer mit einem modensynchronisierten cw-Laser als Anregungslichtquelle, mit einer im Strahlengang des Lasers befindlichen Probe mit Fluoreszenzlicht-Nachweiseinrichtung und mit einem im Strahlengang des Lasers vor der Probe angeordneten Strahlteiler zur Ablenkung eines Anteils der Strahlung als Vergleichslicht, gekennzeichnet dadurch, daß im Strahlengang des Lasers zwischen dem Laser und dem Strahlteiler ein weiterer Strahlteiler zur Ablenkung eines Anteils der Strahlung auf einen Hilfs-Photodetektor angeordnet ist, und der Ausgang des Hilfs-Photodetektors über eine variable elektrische Verzögerungseinheit, einen Frequenzteiler und einen frequenzselektiven Verstärker mit dem Eingang eines optischen Intensitätsmodulators verbunden ist, der sich im Strahlengang des Lasers zwischen den beiden Strahlteilern befindet.
2. Phasenfluorometer nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß im Falle aktiv modensynchronisierter cw-Laser in die Ansteuerleitung des Laser-Mode-Lockers ein Signalkoppler eingefügt ist, dessen Koppelausgang mit dem Eingang der variablen elektrischen Verzögerungseinheit verbunden ist.

Hierzu 1 Seite Zeichnungen

100 200 300 400 500 600 700 800 900 1000

