

位相変調励起光源を用いた光子計数型位相変調方式蛍光寿命測定計

Photon-counting phase-modulation fluorometer using a phase-modulated
excitation-light-source

徳島大学大学院 ○水野 孝彦, 水谷 康弘, 岩田 哲郎

Graduate School of the Univ. of Tokushima ○Takahiko Mizuno, Yasuhiro Mizutani, Tetsuo Iwata

E-mail: c501132043@tokushima-u.ac.jp

1. はじめに

既に報告済の光子計数型位相変調方式蛍光寿命測定計 (PC-PMF; photon-counting phase-modulation fluorometer) [1] に位相変調励起光源 (PM-ELS; phase-modulated excitation-light-source) [2] を導入した。

PC-PMFは、従来のアナログ測光に基づく位相法 (PMF; phase-modulated fluorometer) が微弱蛍光に対応できないという原理的な問題点を解決するために提案したものであるが、時間軸の測定範囲や分解時間など、装置的な面で改善の余地が多く残されていた。一方、PM-ELSはPMFが多成分試料に適用しにくいという原理的な問題点の解決策の一つとして提案した。今回、両者を結合させることにより、互いの特長を兼ね備えた装置を構築したので、その結果について報告する。

PC-PMFの装置構成は、従来型のPMFに時間相関単一光子計数法 (TC-SPC; time-correlated single-photon-counting) のテクニックを導入したものである。したがって、従来のアナログ的なPMFの特長に加えて、TC-SPC法の特徴、すなわち光電子増倍管 (PMT) の帯域を超えた分解時間が達成できるという大きなメリットを有する。

一方、PM-ELSは、限定された時間内で複数個の変調周波数の測定結果を一回の測定で得るために提案した手法である。そのために励起光 $e(t)$ を位相変調する:

$$e(t) = A \cos \{ 2\pi f_c t + \Delta\phi \cos(2\pi f_m t) \}. \quad (1)$$

ここで、 f_c は搬送波周波数、 f_m は変調周波数、および $\Delta\phi$ は最大位相偏移である。その結果、励起光波形は $\Delta\phi$ に応じて搬送波周波数を中心としてその周囲に多くの側波帯を有するようになる。すなわち、複数の変調周波数における同時測定が可能となる。

2. 測定装置

Fig.1に測定システムのブロック図を示す。励起光源は紫外LD (中心波長; 405 nm, NDV4313, Nichia) を用い、PM変調させた。PM波形は任意波形ジェネレータ (AWG520, Tektronix) から得た。ここで、PM波形のパラメータは、 $f_c = 100$ MHz, $f_m = 10$ MHz, $\Delta\phi = 2\pi$ とした。試料からの蛍光は、PMT (R7400U, Hamamatsu Photonics) で検出した。PMTからの出力光電子パルスを定比率型波高弁別器 (CFD, 584, Ortec) に導入し、その出力を時間振幅変換器 (TAC, 566, Ortec), マルチチャネルアナライザ (MCA, PCBCBL1, Ortec) に入力し、ヒストグラム波形を作成した。ここで、TACの測定時間幅は500 nsとし、MCAのチャンネル数を8192とした。したがって、チャンネル当りの形式的な分解時間は61.0 psとなる。

3. 蛍光寿命測定結果

装置の性能評価のために、10 nM クマリン 152 エタノール溶液 (吸収ピーク波長; 400 nm, 蛍光ピーク波長; 505 nm) の蛍光寿命測定を行った。Fig.2 に、取得した励起光および蛍光

のヒストグラム波形を示す。Fig.3の黒丸は、これらの波形から各変調周波数における位相差を算出した結果である。実線は蛍光減衰波形が $\tau = 1.60$ ns の単一指数関数と仮定したときの計算結果である。この結果は文献値[3]とほぼ一致している。

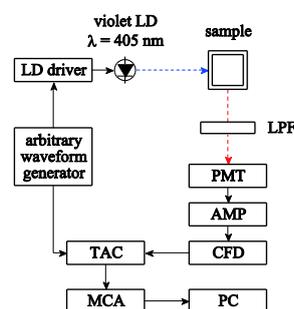


Fig. 1 Block diagram of PC-PMF with a PM-ELS.

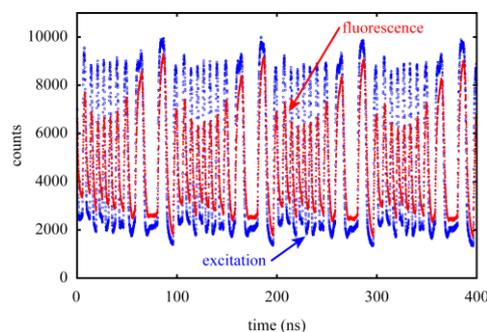


Fig. 2 Excitation and fluorescence histogram waveforms.

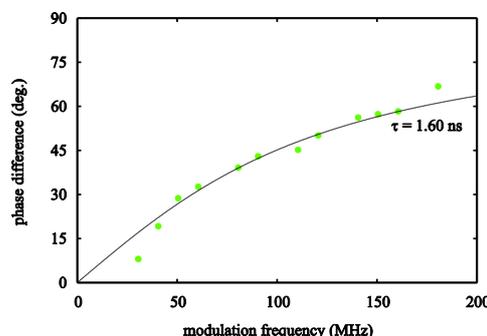


Fig. 3 Plot of phase difference vs. modulation frequency.

文献

- [1] T. Iwata, et. al., Opt. Rev., **8** (2001) 326.
- [2] T. Mizuno, et. al., Opt. Rev., **19** (2012) 222.
- [3] P. Dahiya, et. al., Chem. Phys. Lett., **414** (2005) 148.