

Opinnäytetyö (AMK)

Elektroniikka

Tietoliikennejärjestelmät/Radiotekniikka

2014

Markus Helander

# LED-VALONLÄHTEEN KÄYTTÖ TRF- MITTAUKSISSA



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU  
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Markus Helander

## LED-VALONLÄHTEEN KÄYTTÖ TRF-MITTAUKSISSA

Työn tarkoituksena oli korvata ArcDia International oy Ltd:n aikaeroitteisen fluoresenssimittalaitteen viritysvälonlähteenä käytetty vihreä laser UV-ledillä. Ledit ovat halvempia, sekä kestävät pidempään, kuin laser välonlähteet. Laitteeseen suunniteltiin samalla uusi optiikka ja vaihdettiin valoilmaisimena oleva CPM-putki välonmonistinputkeen.

Mittauksissa käytettiin näytteenä 100 nM:n liuosta, jossa oli platinakoproporfyriiniä (PtCP) ja sulfiittipuskuria. Näytteet oli pipetoitu 96 kuoppaiseen mikrotiterlevyyn. Mittauksissa havaittiin, että uudessa PMT:ssa oli taustasignaali korkeampi kuin vanhassa CPM-putkessa. Uudella välonmonistinputkella tausta oli helposti 10 kertaa suurempi. Laitteella saatiin mitattua sammumisaikoja, jotka olivat suuruudeltaan 55...62  $\mu$ s. Variaatiokerroin oli kuitenkin pienempi kuin vanhalla järjestelmällä.

Vaikka uudella tavalla toteutetun järjestelmän herkkyys ei aivan yllä samalle tasolle vanhan laserjärjestelmän kanssa, siinä on myös muutamia hyötyjä. Ledin tilaa voi muuttaa erittäin nopeasti. Uusi PMT ei ole kovinkaan herkkä häiriöille, mutta se havaitsee helposti vuotovaloa. Järjestelmän herkkyyttä pystytään varmasti parantamaan pienillä muutoksilla elektroniikkaan sekä optiikkaan.

### ASIASANAT:

TRF, aikaeroitteinen fluoresenssi, luminesenssi, fosforesenssi, fluoresenssi, UV-led

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Electronics | Telecommunication Systems

2014 | 45 pages

Juha Nikkanen

Markus Helander

## LED EXCITATION IN TRF MEASUREMENTS

The purpose of this thesis was to replace the ArcDia International Ltd time-resolved fluorescence devices excitation light source from green laser with UV-led. LED are cheaper and last longer than the laser light sources. A new device was designed with new optics and we also changed the CPM-photomultiplier tube to side window PMT.

The samples used in the measurements had 100 nM solution of platinum coproporphyrin (PtCP) and sulphite buffer. The samples were pipetted to 96 wells microtiterplate. The measurements showed that the new PMT had background signal level higher than that of the old CPM-tubes background. The background level in the new photomultiplier tube was easily 10 times higher. The device measured decay times, which were between 55 and 62 ms. The coefficient of variation was smaller than that of the old system.

Although the sensitivity in the new device does not quite reach the same level as the old laser system, it has few benefits. The status of the LED can be changed very quickly. The new PMT is not very sensitive to disturbances, but it detects leakage of light more easily. The sensitivity of the system can certainly be improved with small changes to electronics and optics.

### KEYWORDS:

TRF, time-resolved fluorescence, luminescence, phosphorescence, fluorescence, UV-led

# SISÄLTÖ

## KÄYTETYT LYHENTEET

<b>1 JOHDANTO</b>	<b>1</b>
<b>2 LUMINESENSSI</b>	<b>2</b>
2.1 Fluoresenssi ja fosforesenssi	2
2.2 Fluoresenssin elinikä	4
2.3 Elinajan mittauksen syitä	6
2.4 Fotoluminesenssin muita ominaisuuksia	6
2.4.1 Kvanttisuhde	6
2.4.2 Intensiteetti	7
2.4.3 Sattuminen	7
2.5 Platinakoproporfyriini (PtCP) ja europium (Eu)	8
2.5.1 PtCP	8
2.5.2 Europium	9
<b>3 MITTALAITTEEN TEKNISET RATKAISUT</b>	<b>10</b>
3.1 Valoilmaisimien	10
3.2 Valomonistinputki	11
3.2.1 Hamamatsu R4632	12
3.3 Optiikka	15
3.3.1 Eksitaatiosuodatin	17
3.3.2 Emissiosuodattimet	17
3.3.3 Dikroistinen peili	18
3.4 Valonlähde ja ohjainpiiri	19
3.5 Laitteen muu elektroniikka	21
3.5.1 CPU-kortti	21
3.5.2 Power-kortti	23
3.5.3 Stepper-kortti	23
3.5.4 TRF-piggypack	24
3.5.5 Valomonistinputken korkeajännitelähde	25
3.5.6 PMT-board	26
<b>4 MITTAUKSIA</b>	<b>27</b>
<b>5 LOPPUPÄÄTELMÄT</b>	<b>31</b>
<b>6 YHTEENVETO</b>	<b>32</b>

## LIITTEET

Liite 1. Hamamatsu R4530 Datasheet

Liite 2. PMT-board kytkentäkaavio

Liite 3. Nichia Datasheet

## KUVAT

Kuva 1. Jablonski kaavio (Visser & Rolinski 2010)	4
Kuva 2. Eliniän emissiokäyrä (Terpetschnig & Jameson 2010)	5
Kuva 3. PtCP:n spektrit (de Haas ym. 1997)	8
Kuva 4. Europium-spektrit (BioTek 2006)	9
Kuva 5. Valomonistinputken rakenne (Hamamatsu 2007, 13)	11
Kuva 6. Sivuikkunaputken rakenne (Hamamatsu 2007, 16)	12
Kuva 7. Hamamatsu R4632 (R4630 Datasheet)	13
Kuva 8. Kytkentä (R4630 Datasheet)	13
Kuva 9. R4632 Vahvistus (R4630 Datasheet)	14
Kuva 10. R4632 Spektrivaste (R4630 Datasheet)	14
Kuva 11. Optinen lohko	15
Kuva 12. Optinen lohko koottuna	16
Kuva 13. Eksitaatiosuodattimen vaste (Omega Optical)	17
Kuva 14. Dikroistisenpeilin vaste (Omega Optical)	18
Kuva 15. NCSU034A (Nichia)	19
Kuva 16. Suhteellinen emissiointensiteetti (Nichia)	20
Kuva 17. Lämpötilan vaikutukset aallonpituuteen ja suhteelliseen säteilyvuohon (Nichia)	20
Kuva 18. Led-ajurin kytkentäkaavio	21
Kuva 19. Arcdia CPU-kortti	22
Kuva 20. Rabbit ethernet-kortti (Arcdia)	22
Kuva 21. Power-kortin liitin puoli	23
Kuva 22. Stepper-kortti	24
Kuva 23. TRF-piggyback	25
Kuva 24. Korkeajännitelähde	25
Kuva 25. PMT-kortti komponenttien puolelta ja takapuolelta	26
Kuva 26. Sulfiitipuskurilla mittaus	28
Kuva 27. Mittaus gating-pulsseilla	28
Kuva 28. Mittauksia ilman sulfiitipuskuria	29
Kuva 29. Taustan mittaus	30
Kuva 30. Tausta vähennettynä	30

# KÄYTETYT LYHENTEET

TRF	Aikaeroitteinen fluoressenssi ( Time-Resolved Fluorescence)
CPU	Keskus prosessointi yksikkö ( Central Processing Unit)
UV	Ultraviolettivalo (Ultraviolet light)
led	Valoa emittoiva diodi ( Light Emitting Diode)
FPGA	Ohjelmoitava logiikkapiiri (Field Programmable Gate Array)
DSP	Digitaalinen signaali prosessori (Digital Signal Processor)
PMT	Valomonistinputki (Photon Multiplier Tube)
CPM	Kanavavalomonistin (Chanel Photon Multiplier)
R	R on datan analysointiin käytetty laskentaohjelma.
CV%	Variaatiokerroin on keskihajonta jaettuna keskiarvolla

Haluaisin kiittää Jori Soukkaa Arcdialta ja Juha Haavistoa ADI:lta laitteen teknisten ratkaisujen ja mekaanisten osien kanssa saamastani avusta sekä Juhani Soinia ArcDialta ohjauksesta. Turun ammattikorkeakoulusta haluaisin kiittää Juha Nikkasta hyvästä ohjauksesta ja neuvoista.

Turku helmikuu 2014

Markus Helander

# 1 JOHDANTO

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli kehittää ja testata miten laservalon voisi viritysvalon korvata huokeammalla UV-ledillä. Opinnäytetyön toimeksiantajana oli ArcDia International Oy Ltd, jonka laitteessa työn tuloksia tultaisiin käyttämään.

Fluoresenssi- ja fosforesenssimittauksissa on yleensä käytetty laseria viritysvalonlähteenä. Laservalon etuna on erittäin koherentti säde, sekä mahdollisuus pulssittaa sädettä korkeillakin taajuuksilla. Markkinoilla on jo olemassa useita fluoresenssin elinikään perustuvia mittalaitteita.

ArcDia International Oy Ltd:llä oli jo olemassa järjestelmä aikaeroitteisen fluoresenssin mittaamiseen. Tämän järjestelmän viritysvalon lähteenä oli vihreää valoa emittoiva laser. Laitteeseen haluttiin huokeampi ja vähemmän rikkoutumisherkkä ratkaisu. Tämän takia päädyttiin kokeilemaan UV-lediä. Lähtökohtana oli se, että lediä tullaan pulssittamaan korkealla taajuudella. Led on ihanteellinen komponentti, koska se pystytään kytkemään päälle ja pois päältä erittäin nopeasti.

Perimmäinen idea laitteessa on virittää testilevyllä olevaa näytettä UV-valolla ja saada se emittoimaan fosforesenssiä, joka kerätään optiikan avulla valomonistinputkelle. Valomonistinputki mittaa valon ja se rekisteröidään mittausohjelmalla. Laitetta ohjattiin ArcDia International Oy Ltd:n mittausohjelmalla, jonka on suunnitellut ja toteuttanut Jori Soukka.

Tässä työssä käsitellään fotoluminessenssin perusteoriaa, miten fotoluminessenssi muodostuu. Työssä käydään läpi myös tutkimuksessa käytetyn laitteen komponentteja ja mittausperiaatteita, jotka olivat pääasioita tutkimuksessa.

Aikaeroitteisesta fluoresenssistä on tehty lukuisia tutkimuksia ja julkaisuja eri tahojen toimesta. Fotoluminessenssi ilmiönä on tunnettu jo kauan ja siitä tehdään uusia tutkimuksia eri käyttökohteisiin jatkuvasti.



## 2 LUMINESENSSI

Luminesenssi on ilmiö jossa, molekyyli virittäytyttyään palaa perustilaansa ja samalla emittoi sähkömagneettista säteilyä. Molekyylin absorboima fotonin aiheuttaa molekyyllille sen, että molekyylin elektroni siirtyy johonkin viritystilaan perustilasta. Kun elektroni palaa perustilaansa voi se tapahtua kahdella eri tavalla, säteilevällä tai säteilemättömällä siirtymällä. Jos paluu perustilaan tapahtuu säteilemättömällä tavalla, silloin energia voi siirtyä seuraavalle molekyyllille tai se voi muuttua lämmöksi. Jos molekyyli sen sijaan emittoi fotonin, kutsutaan sitä silloin säteileväksi siirtymäksi. Säteilevässä siirtymässä on olemassa kaksi eri tapaa, jolla paluu perustilaan tapahtuu. Näitä tapoja miten paluu perustilaan tapahtuu, kutsutaan fluoresenssiksi ja fosforesenssiksi. ([2] Nikkanen 2005)

### 2.1 Fluoresenssi ja fosforesenssi

Alinta elektronienergiatasoa orgaanisilla aineilla kutsutaan perustasoksi  $S_0$ . Perustaso on siglettitila, jossa olevien elektronien spinit ovat pareittain vastakkaisuuntaiset. Perustaso ja sitä energialtaan suuremmat viritetyt tilat jakautuvat edelleen värähtely- ja rotaatioenergiasta johtuviin alatasoihin.(2)

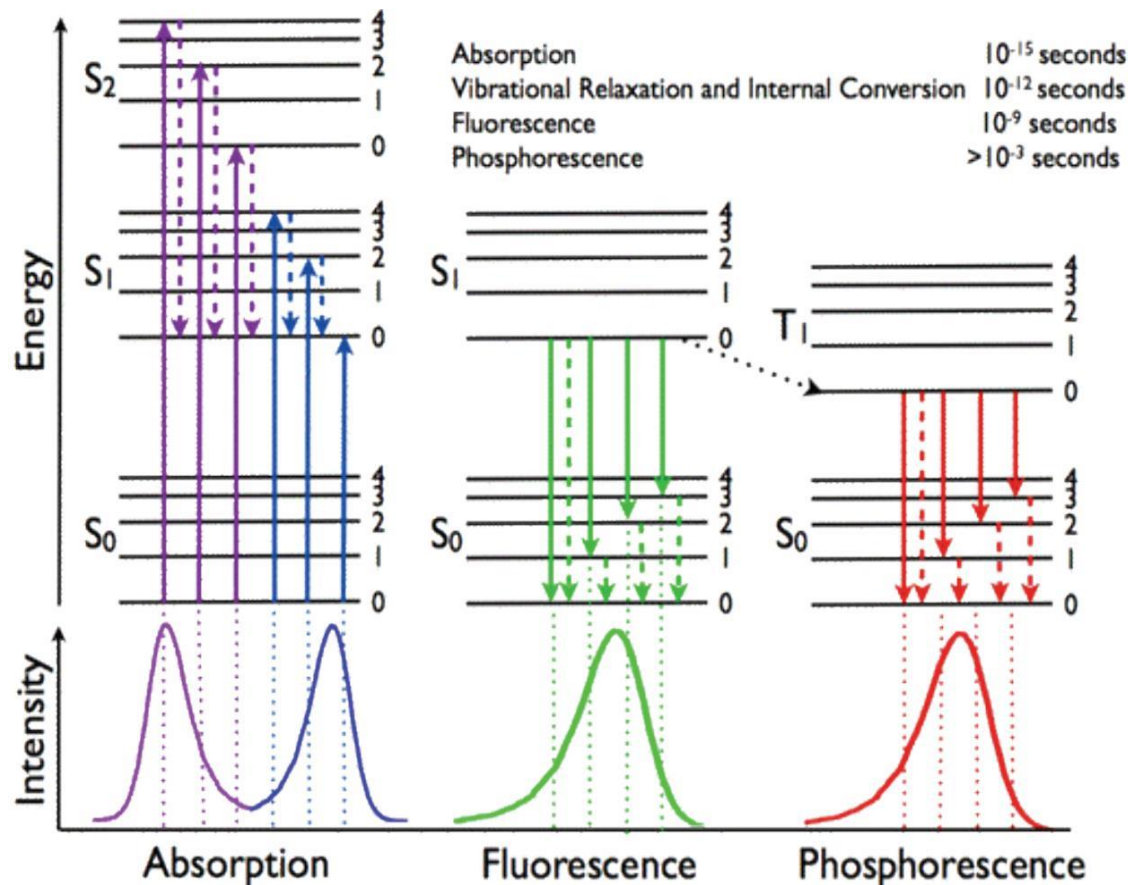
Molekyylin absorboidessa fotonin yksi molekyylin elektroneista siirtyy korkeammalle energiatasolle ja tästä tuloksena on jokin virittyneistä siglettitiloista  $S_1, S_2$ , jne. Tällaisessa siirtymässä valintasääntöjen mukaan elektronin kokonaisspin säilyy. Absorboituneen fotonin energia on yhtä suuri kuin energiatasojen erotus  $\Delta E$ , eli ([1] Soukka 1995)

$$\Delta E = h \cdot \nu = \frac{hc}{\lambda}$$

missä  $h$  on Planckin vakio,  $\nu$  on fotonin taajuus,  $\lambda$  on fotonin aallonpituus ja  $c$  on valonnopeus. Molekyyliin absorboitunut energia alkaa nopeasti kuitenkin siirtyä säteilemättömänä siirtymänä (vibrational relaxation) sigletin alimmalle värähtelytasolle ja sisäisen konversion (internal conversion) avulla alimmalle virittyneelle singlettitasolle ja sen alimmalle värähtelytasolle. ([1] Soukka 1995)

Fluoresenssi on ilmiö missä molekyyli siirtyessään alimmalta virittyneeltä siglettitasolta  $S_1$  perustasolle  $S_0$ , emittoi fotonin. Virittyneessä molekyylissä oleva virittynyt elektroni voi palata mille tahansa perustason värähtelytasolle. Fluoresenssissä osa energiasta kuluu säteilemättömissä siirtymissä ja tästä johtuen emittoituneen valon aallonpituus on viritysvalon aallonpituutta pidempi. Tätä aallonpituuksien eroa viritys- ja emissiomaksimeissa kutsutaan Stokesin siirtymäksi (Stoke's shift). Absorptio- ja emissiospektreistä nähdään, millaisilla aallonpituuksilla molekyyli virittyy ja emittoi valoa. Spekitrit on sitä helpompi erottaa suodattamalla toisistaan, mitä suurempi Stokesin siirtymä on. Energia voi siirtyä myös alimmalta virittyneeltä energiatasolta  $S_1$  ensimmäiseen triplettiliaan  $T_1$  (ISC intersystem crossing) säteilemättömänä siirtymänä. Triplettiliassa elektronit ovat parittomia eli niiden spinit ovat samansuuntaiset toisin kuin singletttiliassa. Singletttilan spinin ei tarvitse muuttaa suuntaansa palautuessaan takaisin perustilaan virittyneestä tilasta. Triplettiliassa elektronin spinin pitää kuitenkin muuttua. Jos triplettiliasta paluussa perustilaan emittoituu fotoni, kutsutaan sitä fosforesenssiksi. Fosforesenssin tapauksessa energia on pienempi kuin fluoresenssissä, joten emittoituneen fotonin aallonpituus on pidempi. ([2] Nikkanen 2005)

Kuvassa 1 on Jablonskin kaavio, joka kuvaa energia tasoja ja spektrejä. Kiinteät nuolet näyttävät fotonien säteilevät siirtymät jotka tapahtuvat joko absorption (violetti, sininen) tai emission (vihreä fluoresenssi, punainen fosforesenssi) kautta. Katkoviiva nuolet kuvastavat säteilemättömiä siirtymiä (violetti, sininen, vihreä, punainen). Sisäinen konversio on säteilemätöntä siirtymistä, joka tapahtuu, kun värähtelytila korkeamman viritystason elektronilla yhdistyy matalamman viritystason värähtelytilaan. ([6] Visser & Rolinski 2010)



Kuva 1. Jablonski kaavio ([6] Visser & Rolinski 2010)

## 2.2 Fluorensenssin elinikä

Fluorensenssin elinikä  $\tau$  on aika, jonka molekyyli viettää virittyneessä tilassa ja palaa takaisin perustasolle. Se, että molekyyli emittoisi fotonin tarkalleen ajassa  $t = \tau$ , on hyvin epätodennäköistä. Sen takia elinikä on keskiarvo molekyylin virittyneessä tilassa vietetystä ajasta.

Jos oletetaan, että molekyylin virittymisen elinikä on huomattavasti virityspulssin taajuutta pienempi, johtaa se virittyneiden fluoroforien populaatioon  $n_0$ . Populaatio vaimenee virittyneessä tilassa nopeudella  $\Gamma + k_{nr}$ , joten tästä päästään lausekkeeseen: ([2] Nikkanen 2005)

$$\frac{dn(t)}{dt} = -(\Gamma + k_{nr})n(t)$$

Lausekkeessa  $n(t)$  on virittyneiden molekyylien määrä ajanhetkellä  $t$ ,  $\Gamma$  on emissionopeus ja  $k_{nr}$  on säteilemätön vaimennusnopeus. Viritetyssä tilassa oleva populaatio vaimenee eksponentiaalisesti: ([2] Nikkanen 2005)

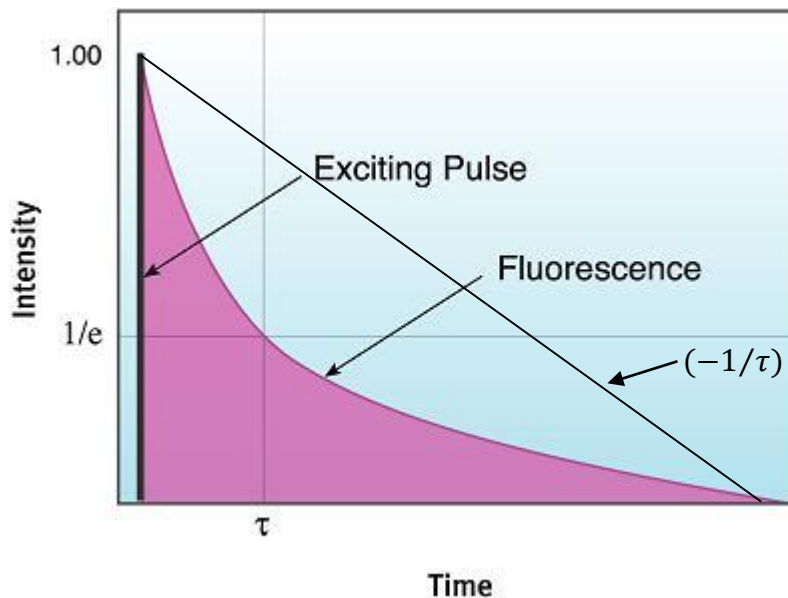
$$n(t) = n_0 e^{(-t/\tau)}$$

Yleensä kokeissa ollaan kuitenkin kiinnostuneita enemmän fluoresenssin intensiteetistä  $I$ , kuin viritettyjen molekyylien määrästä. Intensiteetti on suoraan verrannollinen molekyylien määrään. ([2] Nikkanen 2005)

$$I(t) = I_0 e^{(-t/\tau)}$$

Lausekkeessa  $I_0$  on intensiteetti ajanhetkellä nolla ja elinikä  $\tau = (\Gamma + k_{nr})^{-1}$ . On kaksi eri tapaa, kuinka fluoresenssin elinikä saadaan selville. Ensimmäinen tapa on tutkia ajankohtaa, jolloin emission intensiteetti on pienentynyt  $1/e$  osaan alkuarvostaan. Toinen yleisempi tapa on, määrittää elinikä emissioikäyrän kulmakertoimesta  $(-1/\tau)$ . ([2] Nikkanen 2005)

Kuvassa 2 on esitetty intensiteetti y-akselilla ja x-akselilla on aika.



Kuva 2. Eliniän emissioikäyrä ([10] Terpetschnig & Jameson 2010)

### 2.3 Elinajan mittauksen syitä

Suurin syy siihen minkä takia fluoresenssispektroskopiassa käytetään eliniän mittausta, johtuu siitä, että ajasta riippumattomassa mittauksessa on huomattavasti vähemmän käytettävää dataa kuin eliniän mittauksessa. Suurena etuna elinikämittauksilla ajasta riippumattomiin mittauksiin verrattuna on se, että elinikämittaus on riippumaton luovuttaja- ja vastaanottajamolekyylien paikallisista konsentraatioista. Harvemmin elinikämittausta käytetään ainoana mittaushoiteena. Yleensä se on tuomassa lisäinformaatiota tai tarkkuutta mittauksiin. Eliniän mittauksiin vaikuttavat monet asiat, kuten molekyyllissä ja sen ympäristössä tapahtuvat muutokset. Sen takia elinikämittauksella saadaan tarkkaa tietoa molekyylistä ja sen ympäristöstä. ([2] Nikkanen 2005)

### 2.4 Fotoluminesenssin muita ominaisuuksia

#### 2.4.1 Kvanttisuhde

Kvanttisuhdetta  $\Phi$  käytetään ilmaisemaan absorptiota seuraavien prosessien tehokkuutta.

$$\Phi = \frac{\text{emittoitujen kvanttien lukumäärä}}{\text{absorpoitujen kvanttien lukumäärä}}$$

On olemassa sellaisia fluoresoivia yhdisteitä, joiden kvanttisuhde lähellä yhtä. Kvanttisuhde fosforesenssissä on yleensä paljon pienempi kuin fluoresenssissä. Yksi syy miksi kvanttisuhde on pienempi fosforesenssissä kuin fluoresenssissä on se, että useimmilla molekyyileillä siirtymä  $S_1 \rightarrow T_1$  on todella epätodennäköistä. Valintasäännöistä johtuen fosforesenssissä molekyyli pysyy triplettillassa huomattavan kauan ennen kuin emittoi fotonin. Aika voi olla mikrosekunteja ellei jopa sekunteja. Fluoresenssissä vastaava aika on nanosekunteja. Todennäköistä on se, että jokin muu prosessi voi muuttaa molekyylin. Esimerkiksi molekyyli voi palata takaisin  $S_1$  tilaan vastaanotettuaan lämpö energiaa (viivästynyt

fluoresenssi) tai energia voi siirtyä toiselle molekyylille. On myös olemassa yhdisteitä, jotka ovat voimakkaasti fosforoivia, eli emittoivat fotoneja pitkään. ([1] Soukka 1995)

#### 2.4.2 Intensiteetti

Näyteliuokseen absorboituva viritysvalo noudattaa Lambertin-Beerin lakia, eli ([1] Soukka 1995)

$$I_A = I_0(1 - e^{-\varepsilon lc})$$

missä  $I_A$  on absorboitun ja  $I_0$  viritysvalon intensiteetti,  $\varepsilon$  on luminoivan aineen molaarinen absorptiokerroin,  $c$  on konsentraatio liuoksessa ja  $l$  on liuoksen paksuus. Fotoluminesenssissa intensiteetti saadaan absorboituneen valon määrän ja kvanttisuhteen tulona, ([1] Soukka 1995)

$$I_F = I_A \Phi$$

Laimeassa liuoksessa intensiteetti on lineaarisesti riippuvainen konsentraatiosta. ([1] Soukka 1995)

#### 2.4.3 Sattuminen

Näytteessä liuenneena oleva vapaa happi sammuttaa erittäin tehokkaasti fosforesenssiä. Tämän takia on näytteeseen lisättävä esimerkiksi sulfiittipuskuria, joka sitoo tehokkaasti happiatomit itseensä ja estävät happea sammuttamasta fosforesenssiä. Sattumista voi myös tapahtua niin sanotun uudelleenabsorption kautta. Uudelleenabsorptiossa molekyyli, jota kutsutaan donoriksi eli luovuttajaksi, palaa perustilaan luovuttamalla elektronienergiansa toiselle molekyylille, jota kutsutaan akseptoriksi eli vastaanottajaksi. Energian siirto voi tapahtua kahdella eri tavalla, joko säteilevänä tai säteilemättömänä siirtymänä.

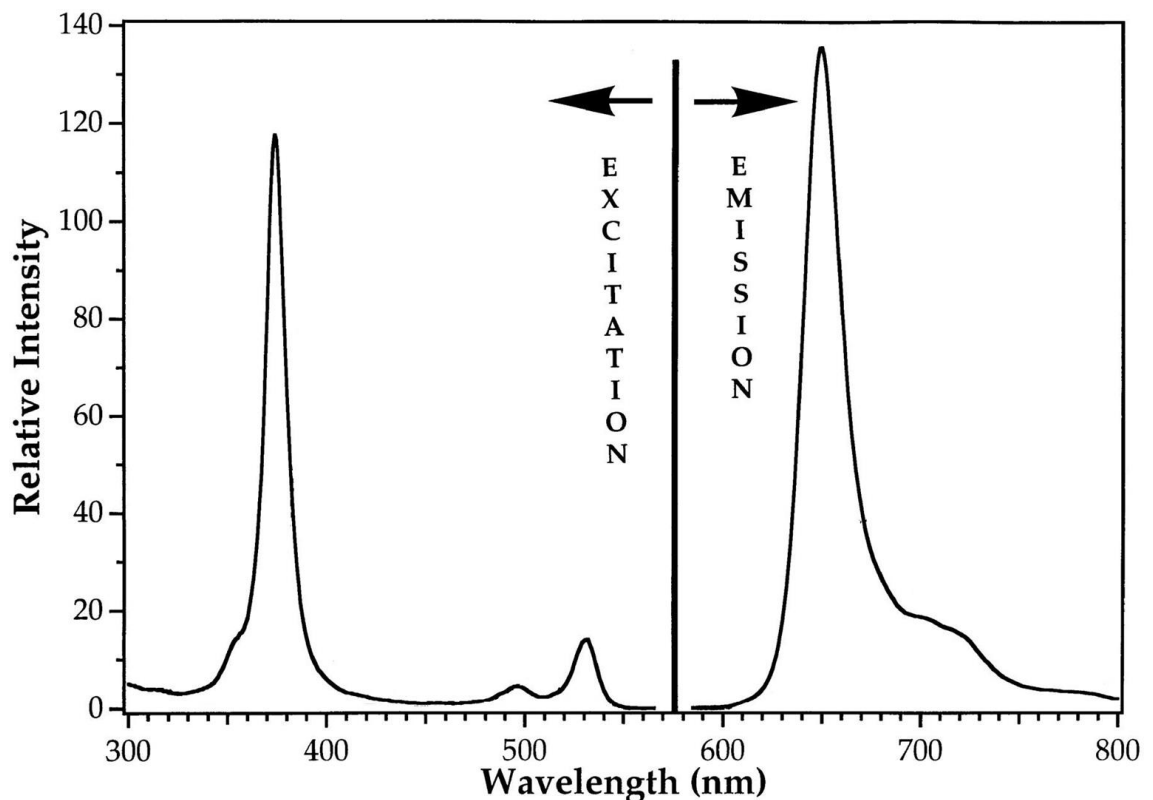
Siirto voi tapahtua vain jos donorin emissio- ja akseptorin viritysspektrit ovat osittain yhtenäiset. Energian saanut molekyyli yleensä palaa perustilaan emittoimatta fotonia, mutta jos fotoni emittoituu, sen aallonpituus on pidempi kuin ensiksi tapahtuneen emission. ([1] Soukka 1995)

## 2.5 Platinakoproporfyriini (PtCP) ja europium (Eu)

Mittalaitteen testeissä käytimme platinakoproporfyriiniä ja europiumia fosforesenssin eliniän mittauksissa.

### 2.5.1 PtCP

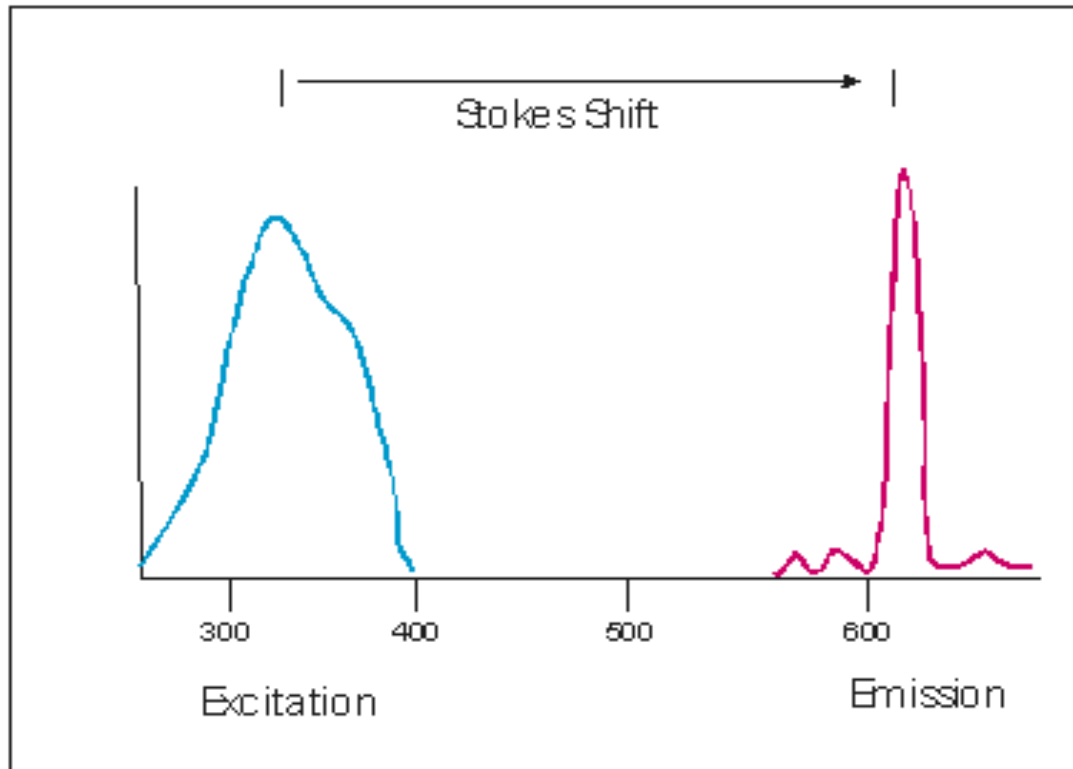
PtCP eli platinakoproporfyriini on metalloporfyriini, jota käytetään yleisesti eliniän tutkimisessa. PtCP:n eksitaatiospektrin maksimi on noin 380nm:n aallonpituudella ja sen emissio spektrin maksimi on noin 650nm:n aallonpituudella.



Kuva 3. PtCP:n spektrit ([7] de Haas ym. 1997)

## 2.5.2 Europium

Europiumista valmistettuja leima-aineita käytetään myös yleisesti fluoresenssi mittauksissa. Europiumin eksitaatiospektrin maksimi on noin 330nm:n aallonpituudella ja sen emissiospektrin maksimi on noin 620nm aallonpituudella.



Kuva 4. Europium-spektrit ([8] BioTek 2006)



## 3 MITTALAITTEEN TEKNISET RATKAISUT

### 3.1 Valoilmaisimien

Valoilmaisimella tarkoitetaan tietyistä valoherkistä materiaaleista tehtyä ilmaisinta, jossa fotonin energia muutetaan sähkövaraukseksi. Fotonin osuessa valoherkkään materiaaliin synnyttää se vapaan varauksen materiaalissa. Vapaa varaus syntyy vain, jos fotonin energia on sopiva. Kvanttitehokkuudeksi (quantum efficiency)  $Q$  kutsutaan sitä, millä todennäköisyydellä vapaa varaus syntyy. Tähän vaikuttaa suuresti se, mitä materiaalia ilmaisimien on sekä millainen on valon aallonpituus. Ilmaisimissa jatkuva fotonivirta aiheuttaa jatkuvan sähkövirran. Sähkövirta  $I$  muodostuu fotonivirrasta  $n$  (fotonia sekunnissa), minkä voi laskea kaavasta: ([1] Soukka 1995)

$$I = nQGe$$

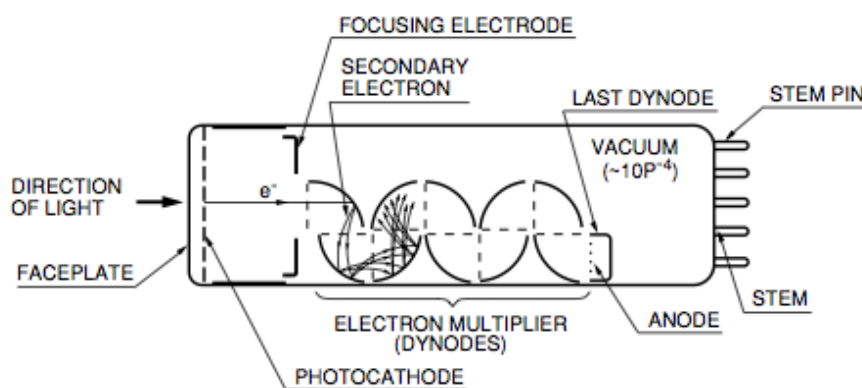
missä  $G$  on ilmaisimen vahvistus ja  $e = 1,6 \cdot 10^{-19}$  eli alkeisvaraus. Ilmaisimen yksi tärkeä parametri on ilmaisimen herkkyys  $S$ , jonka yksikkö on A/W. Herkkyys on ilmaisimen synnyttämän virran ja tulevan valotehon suhde. Ilmaisimen herkkyys saadaan laskettua seuraavasta kaavasta: ([1] Soukka 1995)

$$S = \frac{I}{P} = G \frac{Qe}{h\nu} = G \frac{Qe\lambda}{hc}$$

Ilmaisimen tärkeä parametri on myös kohina. Kohinaksi luokiteltavaa ns. pimeää virtaa (dark current) voi syntyä esimerkiksi termisen virityksen tai kosmisen säteilyn vaikutuksesta. Esimerkiksi valomonistinputkissa pimeä virta on tyypillisesti muutamia nanoampeereja. Ilmaisimissa, jotka ilmaisevat yksittäisiä fotoneja, kohina ilmoitetaan yleensä pimeinä pulsseina (dark count) sekunnissa. Pimeään virtaan voidaan vaikuttaa jäähdyttämällä ilmaisinta tehokkaasti. ([1] Soukka 1995)

### 3.2 Valomonistinputki

Valomonistinputki on tyhjiöputki, jonka sisällä on fotokatodi, fokusointi elektrodeja, kiihdytin elektrodeja eli dynodeja tyypillisesti 8...15 kappaletta sekä anodi. Putken anodin ja katodin välille on asetettu jännite niin, että anodi on positiivisimmassa jännitteessä ja katodi negatiivisimmassa jännitteessä. Dynodien välillä jännite ero on noin 100 V. Jännite kasvaa kuljettaessa katodilta anodille päin. Näin ollen anodin ja katodin välille saadaan 800...2000 V jänniteero. ([1] Soukka 1995)



Kuva 5. Valomonistinputken rakenne ([3] Hamamatsu 2007)

Fotonin tullessa putken ikkunan läpi se voi valosähköiseen ilmiöön perustuen irrottaa fotoelektronin fotokatodista. Fotoelektronin nopeus kiihtyy ensimmäisen dynodin ja katodin välissä olevassa sähkökentässä niin, että fotoelektroni voi osuessaan dynodiin, irrottaa uuden fotoelektronin. Tämä jatkuu dynodilta dynodille ja elektronin virta vahvistuu. Valomonistinputkilla on erittäin korkea vahvistus, mikä riippuu dynodien määrästä  $n$ , anodin ja katodin välisestä jännitteestä  $V$ , vakiosta  $K$  joka on putkelle tyypillinen sekä  $\alpha$  joka on välillä 0,7...0,8.

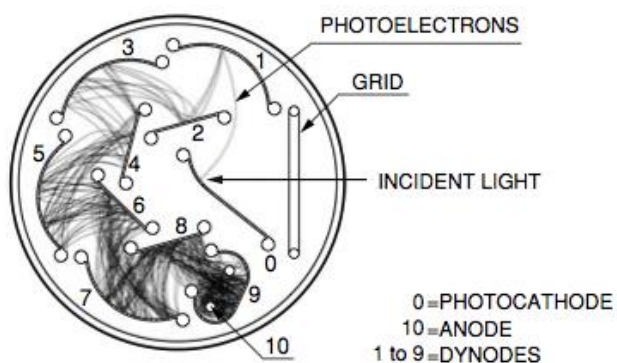
Valomonistinputken vahvistus saadaan lausekkeesta: ([1] Soukka 1995)

$$G = KV^{\alpha n}$$

Valomonistinputkilla on tyypillisesti korkea vahvistus. Esimerkiksi 10-dynodisella putkella, jossa jännite-ero anodin ja katodin välillä on 1000V. 10-dynodisen putken vahvistus on tyypillisesti luokkaa  $10^6$ . Vahvistus riippuu siis korkeasta

jännite-erosta anodin ja katodin välillä. Korkeajännitteen pitää olla erittäin stabiili ja siinä pitää olla mahdollisimman matala hurina.

Valomonistinputkia on pääosin kahta erilaista tyyppiä, sivuikkunaputki (side-on) ja päätyikkunaputki (head-on). Päätyikkunaputkessa valoa läpäisevä katodi on asetettu putken päähän ja dynodit ovat ketjuna sen jälkeen (transmission mode). Päätyikkunaputki ei ole kovinkaan herkkä siitä mihin kohtaan valo tulee katodille toisin kuin sivuikkunaputki. Myöskin vahvistus ja herkkyys ovat hieman matalammat kuin sivuikkunaputkella (Kuva 5). Sivuikkunaputkessa heijastava katodi on putken sivussa ja dynodit on asetettu katodin ympärille (reflection mode) (Kuva 6). Tämän rakenteen ansiosta herkkyys ja vahvistus ovat putkella hyviä. ([1] Soukka 1995)



Kuva 6. Sivuikkunaputken rakenne ([3] Hamamatsu 2007)

### 3.2.1 Hamamatsu R4632

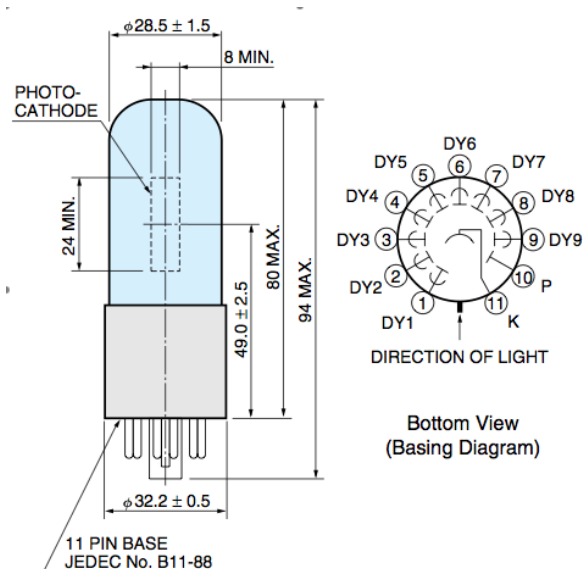
Hamamatsun R4632 valomonistinputki on tarkoitettu yksittäisten fotonien laskeentamiseen ja havaitsemiseen. Putkessa syntyy vähän pimeitä pulsseja, noin 50 sekunnissa. Putki soveltuu hyvin erittäin heikon valon havaitsemiseen. Putken halkaisija on 28mm ja se on sivuikkunaputki. Putkessa on multialkali fotokatodi ja 9 dynodia. Putken havaitsema spektri on 185...850nm.



Kuva 7. Hamamatsu R4632 ([13] R4630 Datasheet)

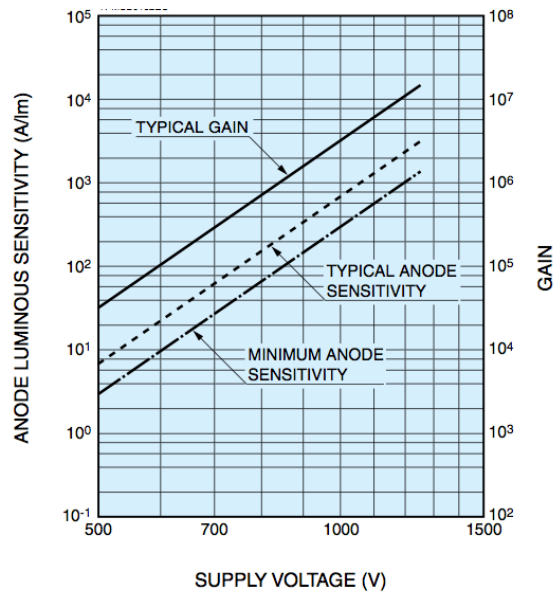
Valomonistinputkessa dynodit on järjestetty niin, että ne ovat ympyrän kehällä. Nastaan 11 on kytketty putken fotokatodi ja nastastaan yksi on kytketty ensimmäinen dynodi ja seuraaviin nastoihin 2...9 on kytketty muut dynodit. Nastaan 10 on kytketty putken anodi.

Putkessa on käyttöjännitteenä 1000V. Käyttöjännite jaetaan dynodeille jännitteenjako kytkennällä.

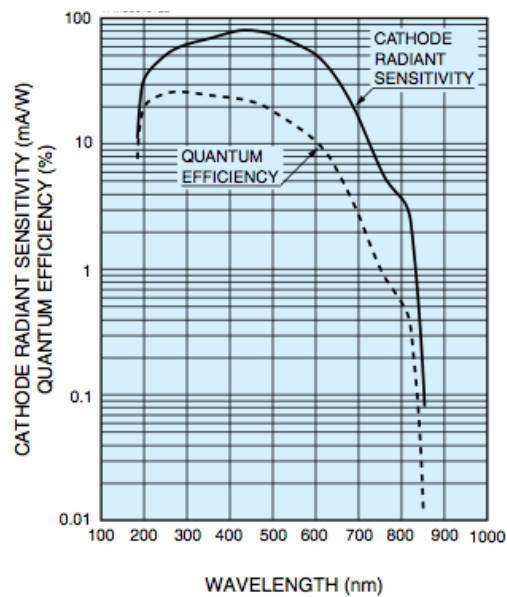


Kuva 8. KytKentä ([13] R4630 Datasheet)

PMT:n vahvistus on tyypillisesti luokkaa  $10^6$  kertainen, joten se on melko herkkä häiriöille. PMT:n näkemän valon alue on noin 200nm...850nm:ä.



Kuva 9. R4632 Vahvistus ([13] R4630 Datasheet)

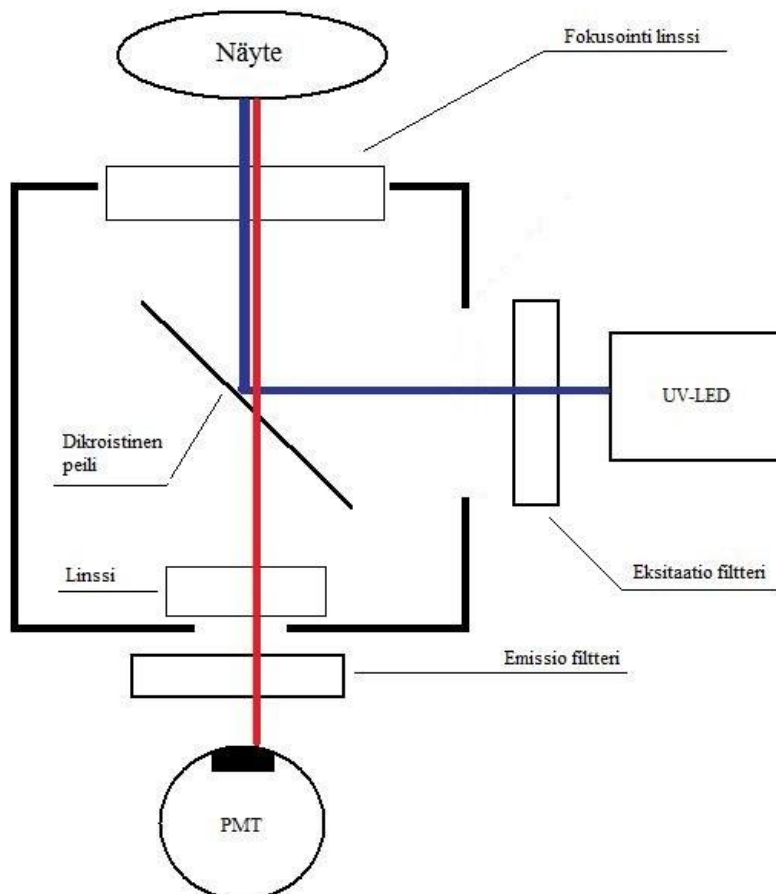


Kuva 10. R4632 Spektrivaste ([13] R4630 Datasheet)

Hamamatsu R4632 tarkemmat spesifikaatiot on esitetty liitteessä 1.

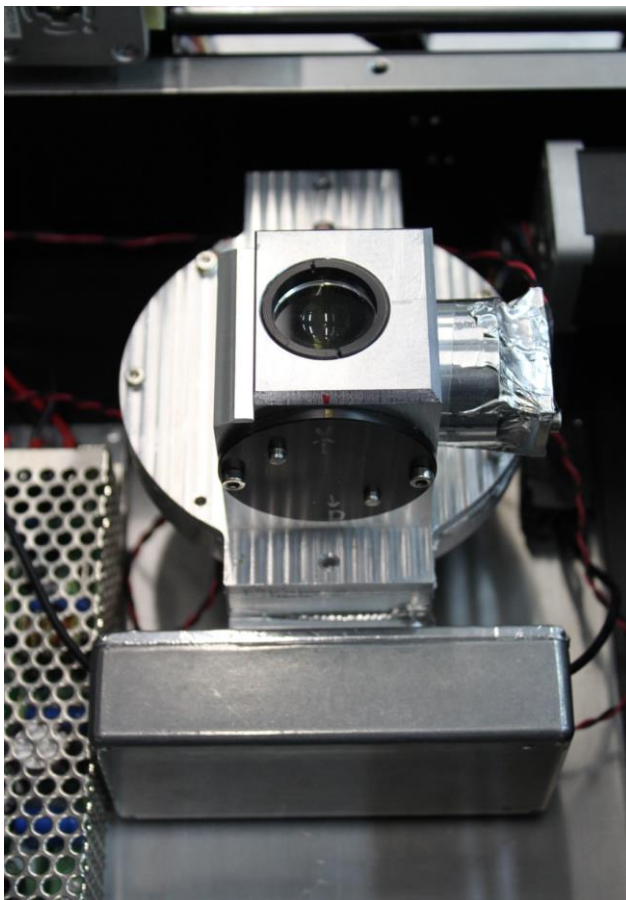
### 3.3 Optiikka

Laitteessa olevan optiikan tarkoituksena on fokusoida UV-lediltä tuleva viritysvalo näytelevyllä olevaan näytteeseen. Optiikan tehtävänä on myös saada kerättyä näytteestä emittoituva valo suoraan valomonistinputkelle. Optiikassa käytetyt komponentit vaikuttavat suurelta osin mittauksen tehokkuuteen. Valopolulla käytetyt optiset komponentit voivat lisätä taustan määrää ja näin ollen huonontaa mittauksen herkkyyttä. Ledistä lähtevä viritysvalo kulkee apertuurin läpi UV-suodattimelle, josta se kulkee ensimmäiselle linssille, joka laajentaa valokeilan. Ultraviolettivalo heijastuu dikroistisesta peilistä kohti fokusointilinssiä, joka fokusoi valokeilan näytelevyn kuopan pohjan kokoiselle alueelle. Näytteestä emittoitunut fluoressenssi valo kulkee suoraan dikroistisen peilin ja emissiosuodatin läpi valomonistinputkelle (Kuva 11).



Kuva 11. Optinen lohko

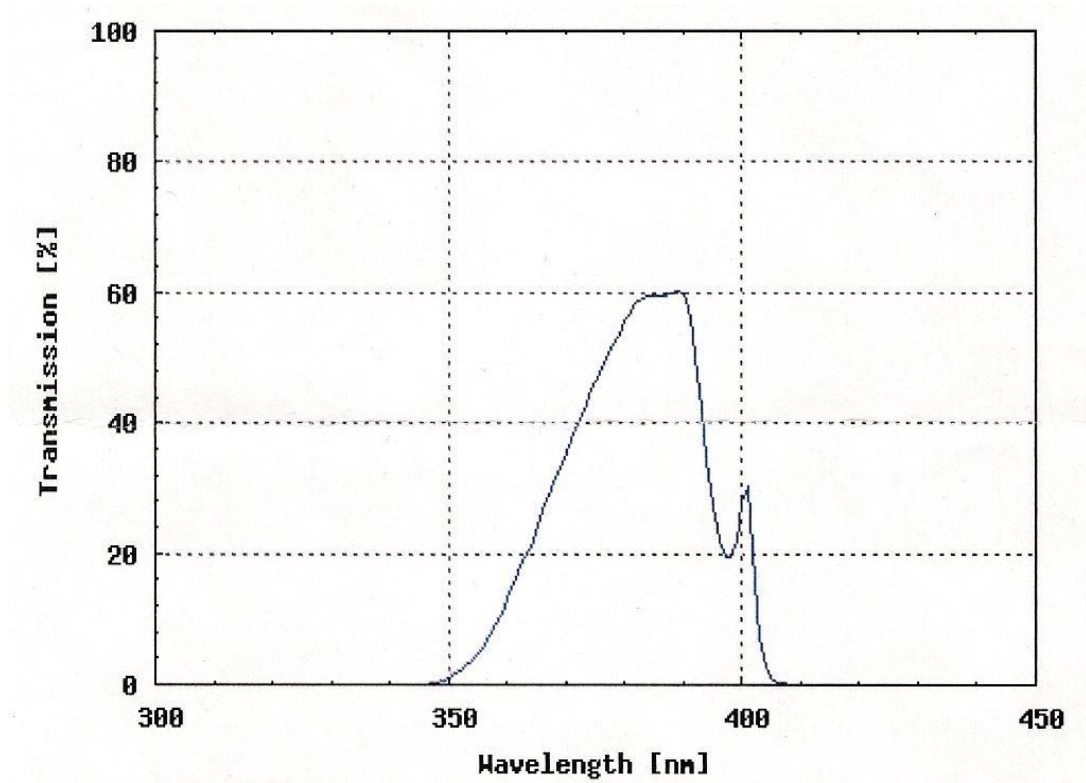
Kuvassa 8 on optinen lohko koottuna. Kuvassa lohkon päällä on fokusointi linssi, joka fokusoi lediltä tulevan valon näytteeseen. Linssin alla on dikroistinen peili, joka heijastaa eksitaatiovaloa ja päästää emissiovalon läpi. Kuvassa oikealla on led kiinnitettynä UV-suodattimen pitimeen. Linssin pitimen alla on pyöreä emissiosuodattimienvaihdin. Kuvassa alhaalla on valomonistinputken elektroniikka koteloituna ja itse putki on suodatinvaihtajan alla kiinnitettynä elektroniikkakorttiin.



Kuva 12. Optinen lohko koottuna

### 3.3.1 Eksitaatiosuodatin

Eksitaatiosuodattimeksi laitteeseen valittiin Omega Opticalin valmistama XF1075 387AF28 suodatin, jonka transmissio on suurimmillaan 387nm:n kohdalla.



Kuva 13. Eksitaatiosuodattimen vaste ([11] Omega Optical)

### 3.3.2 Emissiosuodattimet

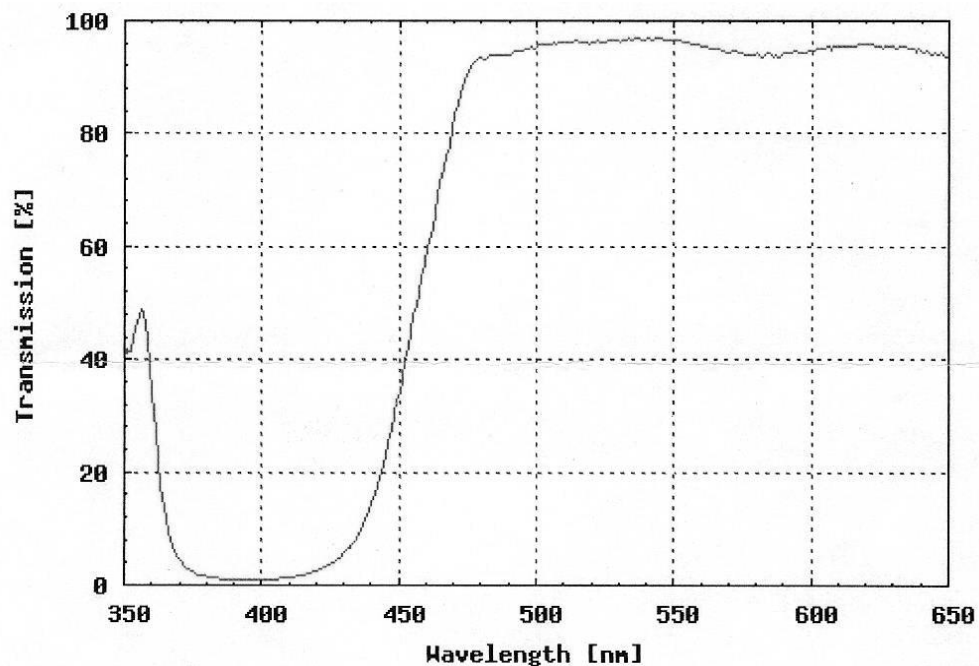
Emissiosuodattimina käytetään kahta erilaista suodatinta. Toinen suodatin on platinakoproporfyriinille (PtCP) ja toinen europiumille (Eu) tarkoitettu suodatin. PtCP suodattimen läpäisy on 650 nanometrissä eli väriltään se on tumman punainen. Eu-suodattimen läpäisy aallonpituus on 620 nanometrissä, mikä on väriltään hieman oranssin sävyinen punainen.



### 3.3.3 Dikroistinen peili

Dikroistisen peilin tehtävä optiikassa on heijastaa viritysvalo, jonka aallonpituus on lyhyt, näytteelle ja päästää näytteestä emittoitunut valo, jonka aallonpituus on pidempi kuin viritysvalon, peilin läpi valomonistinputkelle

Dikroistiseksi peiliksi laitteeseen valittiin Omega Opticalin valmistama XF2006 450DCLP peili. Kuten kuvasta (kuva 10) nähdään, on dikroistisen peilin transmission maksimin raja aallonpituus 45 asteen kulmassa valon tulosuuntaan nähden noin 475 nanometriä. UV-valon aallonpituudella transmissio on lähellä nollaa %.

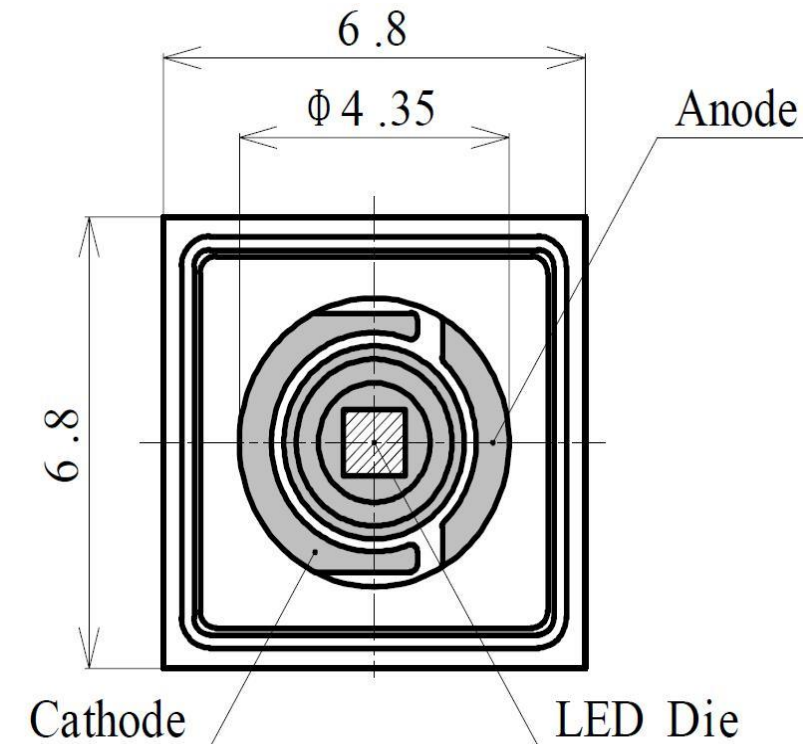


Kuva 14. Dikroistisenpeilin vaste ([12] Omega Optical)

### 3.4 Valonlähde ja ohjainpiiri

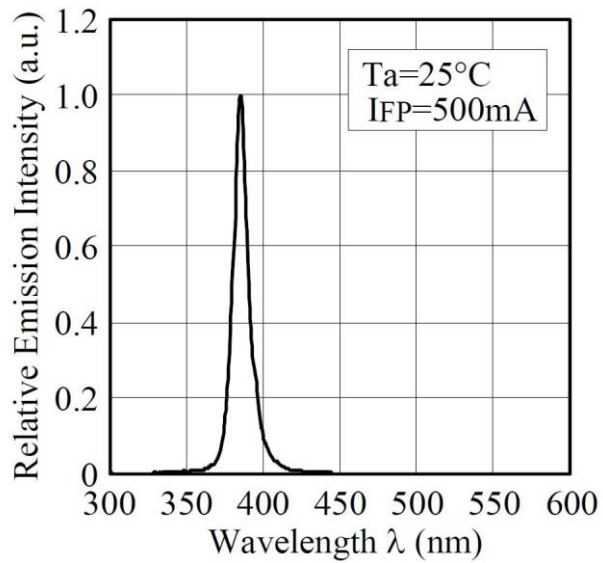
Valonlähteeksi laitteeseen valittiin Nichia Corporationin valmistama NCSU034A ultraviolettivaloa emittoiva UV-aallonpituusalueella oleva led. Kuvassa 11 olevat mitat ovat millimetrejä.

Ledin tyypillinen käyttövirta (forward current) on 500mA. Ledin emittoiman valon



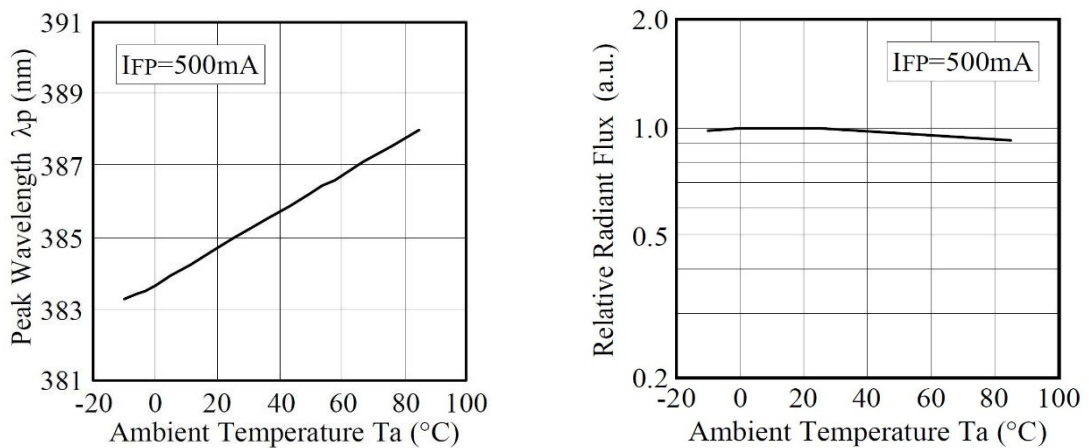
Kuva 15. NCSU034A (Nichia)

spektri on noin 380nm:stä 390nm:iin, joten tyypillinen puoliarvoveveys on noin 10 nanometriä. Korkein piikki spektrissä on huoneen lämpötilassa tyypillisesti 385 nanometriä.



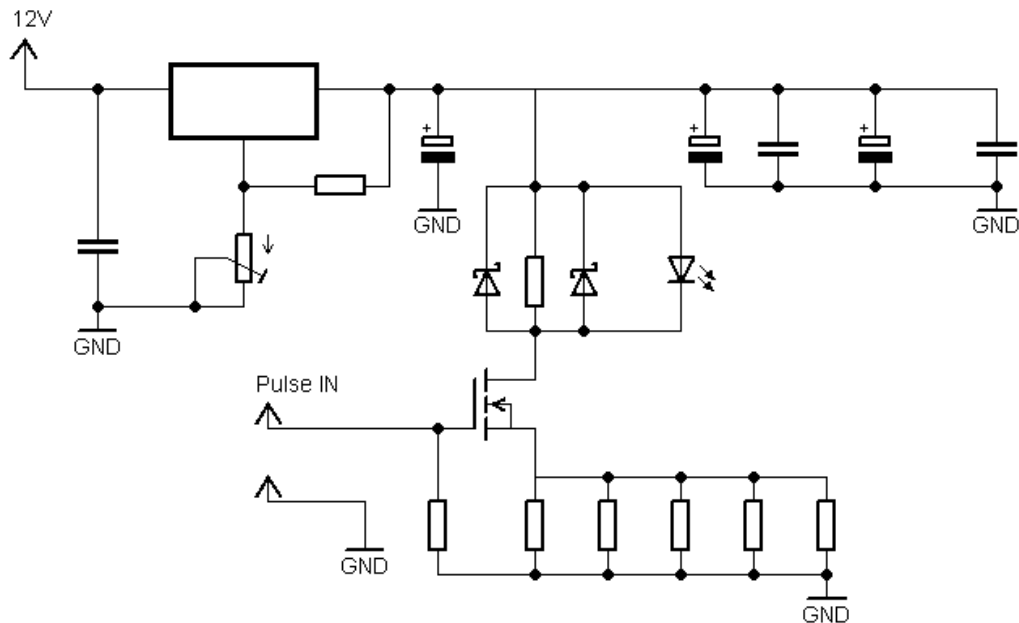
Kuva 16. Suhteellinen emissiointensiteetti (Nichia)

Ledin aallonpituus sekä suhteellinen säteilyvuo eivät ole kovinkaan herkkiä lämpötilan muutokselle. Laitteen käyttölämpötiloissa muutos aallonpituudessa ei ole kuin noin 3nm:ä. Suhteellinen säteilyvuo ei juurikaan muutu käyttölämpötiloissa.



Kuva 17. Lämpötilan vaikutukset aallonpituuteen ja suhteelliseen säteilyvuohon (Nichia)

Lediä ohjataan led-ajurilla (kuva 18), jota säädetään ArcDia Internationalin CPU-korttiin liitetyllä piggyback-kortilta tulevalla ohjauspulssilla. PC:ltä mittausohjelmasta käsin käskytetään CPU-korttia, joka ohjaa piggyback-korttia, mistä ohjaus signaali led-ajurille tulee.

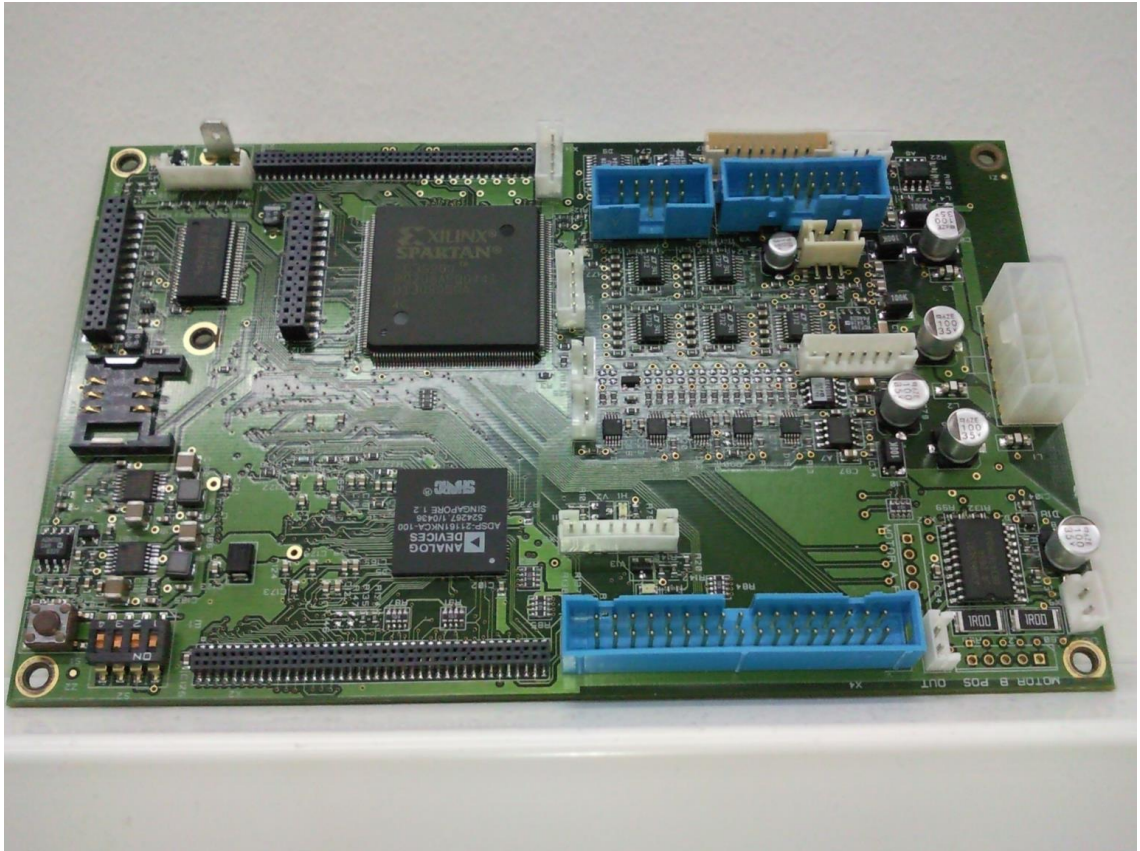


Kuva 18. Led-ajurin kytkentäkaavio

### 3.5 Laitteen muu elektroniikka

#### 3.5.1 CPU-kortti

Proessorikorttina laitteessa on ArcDia Internationalin CPU-kortti (ARCCPU) (kuva 19), jota käytetään myös yhtiön muissa laitteissa. CPU-kortin DSP-järjestelmän prosessorina toimii ADSP-21161 SHARC, joka on Analog Devices Inc:n valmistama. Logiikkapiirinä toimii Xilinxin valmistama Spartan-3 FPGA-piiri. CPU-kortti hoitaa signaalin prosessoinnin, fotonilaskennan sekä laitteen ohjauksen. (Arcdia)



Kuva 19. Arcdia CPU-kortti

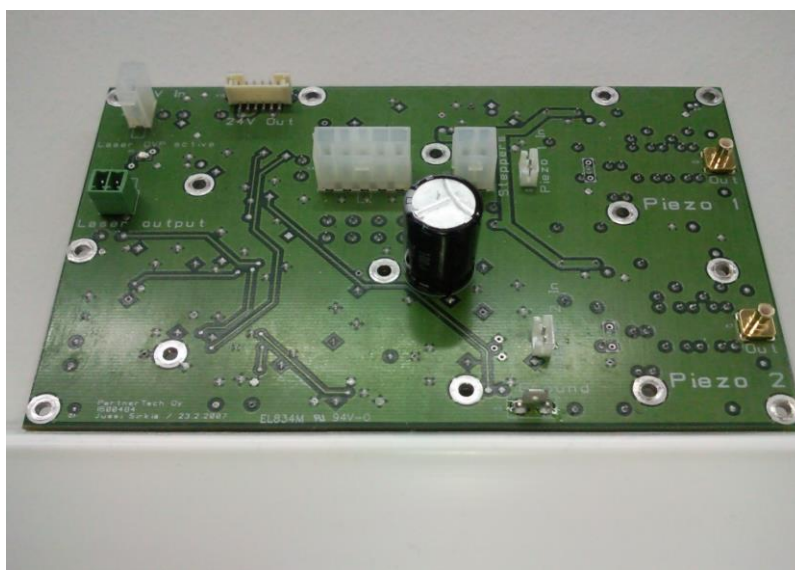
CPU-kortin ja tietokoneen välisestä kommunikoinnista vastaa Rabbit Semiconductorin valmistama Rabbit Core RMC2200 ethernet-moduli (kuva 20).



Kuva 20. Rabbit ethernet-kortti (Arcdia)

### 3.5.2 Power-kortti

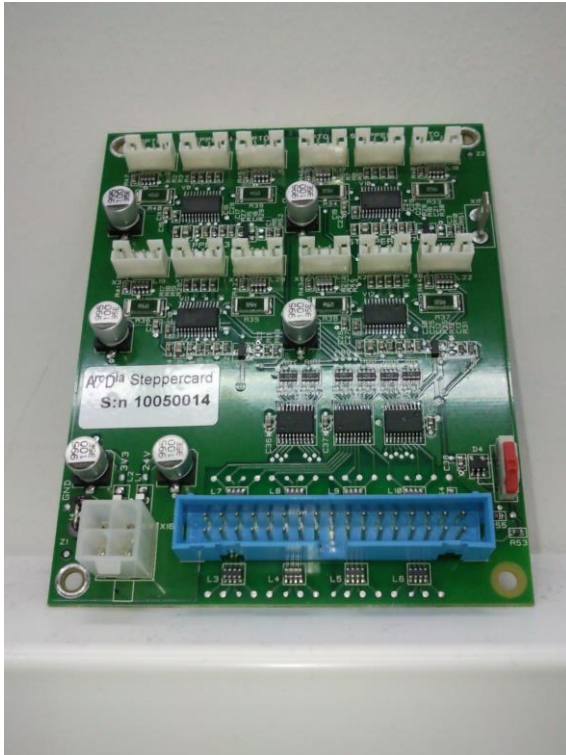
Laitteessa käytetään ArcDia Internationalin power-korttia (ARCPOW) (kuva 21), jonka sisääntulo jännite on 24V, joka saatiin Mascot 9320 virtalähteestä. Power-kortista saadaan käyttöjännitteet laitteen kaikille korteille. Kortissa on myös kaksi piezo ajuria, joita pystytään ohjaamaan 0...165V. Muita jännitteitä joita laite tarvitsee, ovat +5V,  $\pm 3.3V$ , +1.8V, +1.2V sekä +12V. (ArcDia)



Kuva 21 Power-kortin liitin puoli

### 3.5.3 Stepper-kortti

Stepper-korttia (ARCSTEPP) (kuva 22) käytetään näyteradan X ja Y askelmoottoreiden sekä suodatinvaihtajassa olevan askelmoottorin ohjaamiseen. Kortilla on yhteensä neljä askelmoottorinohjainta sekä kahdeksan sensori I/O paikkaa. Askelmoottorinohjaimista oli käytössä kolme ja I/O paikoissa oli kiinni yhteensä viisi optohaarukkaa.



Kuva 22. Stepper-kortti

### 3.5.4 TRF-piggyback

TRF-piggybackkortti (kuva 23) ohjaa CPU-kortilta tulevat ohjaussignaalit ledille ja ottaa vastaan signaalit, jotka tulevat valomonistinputken vahvistimelta. TRF-piggyback-kortilla on pulssi-integraattori, fotonipulssidiskrimaattori sekä valomonistinputken korkeajännitteen manuaalinen säätö. Korkeajännitteen säädöllä pystyttiin hieman vaikuttamaan valomonistinputken vahvistukseen, joka vaikutti siihen millaisia pulsseja valomonistinputkelta tuli.



Kuva 23. TRF-piggyback

### 3.5.5 Valomonistinputken korkeajännitelähde

Korkeajännitelähteenä laitteessa käytetään ArcDia Internationalin ARCCPM korttia (kuva 24). Korkeajännitelähteestä saadaan tarvittava 1kV jännite PMT:lle. Korkea jännitettä ohjataan CPU-korttiin liitetyn TRF-piggyback kortin kautta. Mittausohjelmasta pystyy määrittämään korkeajännitteen arvon. Korkeajännitelähteestä saa maksimissaan ulos 1.5kV:n jännitteen. Mittalaitteessa käytimme kuitenkin 1kV:n jännitettä valomonistinputken anodin ja katodin välissä.

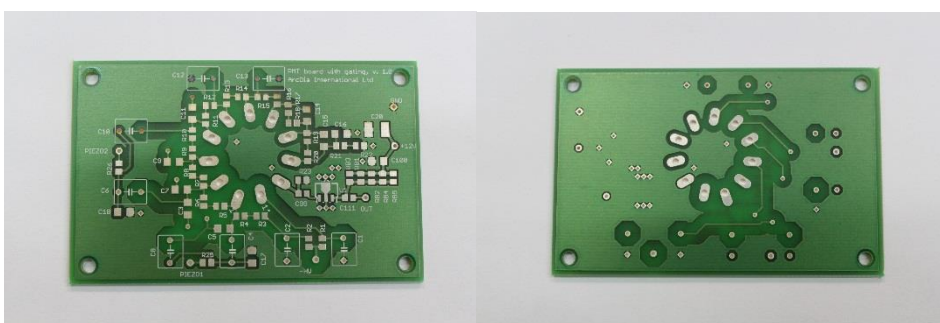


Kuva 24. Korkeajännitelähde



### 3.5.6 PMT-board

TRF-mittalaitetta varten piti suunnitella uusi kortti valomonistinputkea ja sen vahvistinta varten. Valomonistinputken kanta on suoraan juotettu piirilevyyn, joten välimatka valomonistinputkelta vahvistimelle on saatu minimoitua. Jokaiselle dynodille on oma jännitteen jako. Jokaisen dynodin välillä on noin 100V jännite-ero, joten dynodiketjun lopussa jännite-ero on -1000V. Dynodien välillä on vielä lisää-suodatusta, jotta häiriöitä olisi mahdollisimman vähän haittaa. Vahvistimeksi valomonistinputkelle valittiin nopea Mini Circuitsin valmistama Gali 84+, koska valomonistimelta tulevat pulssit ovat lyhyitä. Toisena vaihtoehtona vahvistimeksi oli Gali 74+, mutta Gali 84+ toimi testeissä paremmin. Vahvistimessa on korkea vahvistus, tyypillisesti noin 25,6dB:ä. Vahvistimen taajuusmaksimi on 6GHz:ä, mikä tarvitaan, jotta vahvistin pysyisi mukana nopeissa pulsseissa. Jotta vahvistin toimisi 12V:lla, oli  $R_{bias}$  datalehden mukaan oltava 91 Ohmia. Kuitenkin vahvistin lämpeni melkoisesti ja päädyttiin laittamaan kolme 330 Ohmin vastusta rinnan. Näin saatiin vastukseksi 110 ohmia, jolla vahvistin toimi hyvin eikä lämpötilaongelmia ollut. Piirilevyille laitettiin varmuuden vuoksi viisi paikkaa  $R_{bias}$  vastuksia varten. Näin saatiin hieman "säätövaraa" bias-vastuksille. Liitteessä 2 on kuvattu PMT-kortin kytkentäkaavio



Kuva 25. PMT-kortin komponenttien puolelta ja takapuolelta

## 4 MITTAUKSIA

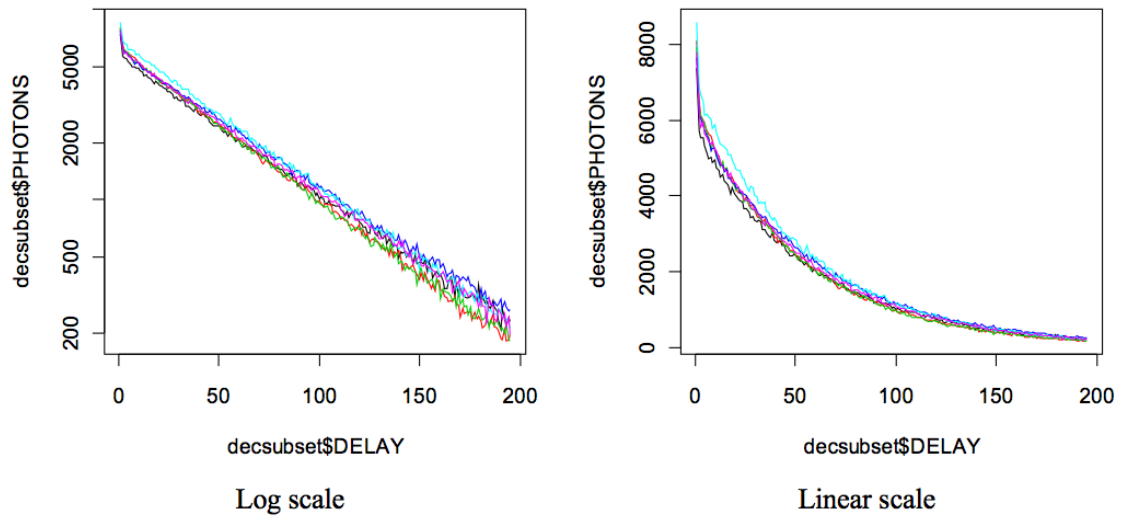
Korvasimme vihreän laserin (532 nm) suuritehoisella Nichian valmistamalla UV-led:llä (385 nm) valonlähteenä ArcDia International Oy Ltd:n PR-007 TRF levynlukijassa.

Saimme nopeasti selville, että taustan signaali laitteessa oli paljon suurempi led-eksitaatiolla. Laserjärjestelmässä taustan signaali oli tyypillisesti noin 200 cps, käyttäen suhteellisen laajalla kaistanleveydellä olevaa emissiosuodatinta. Kuitenkin led-eksitaatiolla tausta oli helposti 10x suurempi kapeakaistaisella emissiosuodattimella. Osa taustasta oli peräisin valomonistinputkesta, jossa oli pimeiden pulssien määrä yli 200 cps. Myös pieni valovuoto oli mahdollista. Kuitenkin merkittävä osa taustasta johtui pitkäikäisestä luminesenssistä, joka oli peräisin optiikasta tai ledin jälkihehkusta. Samalla signaali oli kuitenkin yli 10 kertaa pienempi kuin lasereksitaatiolla. On selvää, että merkittäviä parannuksia tarvitaan, jotta suorituskyky olisi samalla tasolla kuin lasereksitaatio. Seuraavaksi on esitetty tuloksia mitattuna 100 nM PtCP näytteellä, jotka on pipetoitu 96 kaivon mikrotitterilevyille.

### 4.1 Tuloksia kun käytetään sulfiittipuskuria.

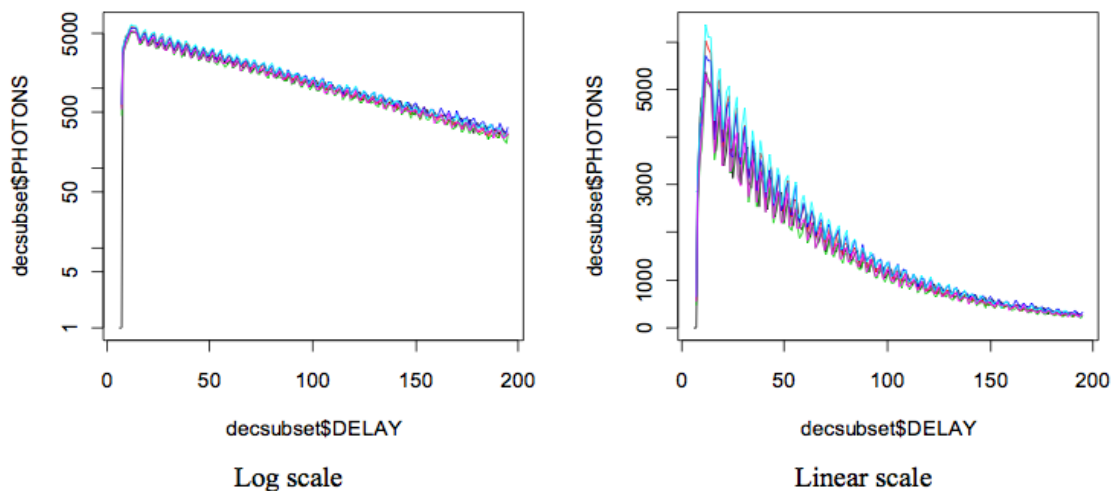
Sulfiittipuskuri oli kuitenkin valmistettu noin viikkoa aikaisemmin, johtuen aikatauluista, joten se ei toiminut aivan täydellä tehokkuudella. Puskuri toimi kuitenkin halutulla tavalla. Kolme kuoppaa levyttä mitattiin ja jokainen mitattiin vielä kahteen kertaan.

Sammumisajat (Decay times) olivat 55...62  $\mu$ s, ja CV% oli 4,7. Tuoreella sulfiittipuskurilla todennäköisesti päästäisiin aikaisempiin sammumisaikoihin (kuva 22).



Kuva 26. Sulfiitipuskurilla mittaus

Yllä näytetyt tulokset oli mitattu ilman gating-pulsseja valomonistinputkelle. Gating-pulsseilla ohjattiin valomonistinputken vahvistusta, toivomuksena saada määrätty pätkä sammumisajasta mitattua. Huomattiin, että Hamamatsun valomonistinputken pienempi vahvistus verrattuna vanhan järjestelmän kanava valomonistinputkeen (CPM) vaikutti Hamamatsu-putken nopeampaan palautumiseen mittauksen jälkeen. Joten 100nM liuksilla ja pienemmillä konsentraatioilla ei gating-pulsseja tarvita. Vertailun vuoksi alla on gating-pulssien kanssa mittauksia

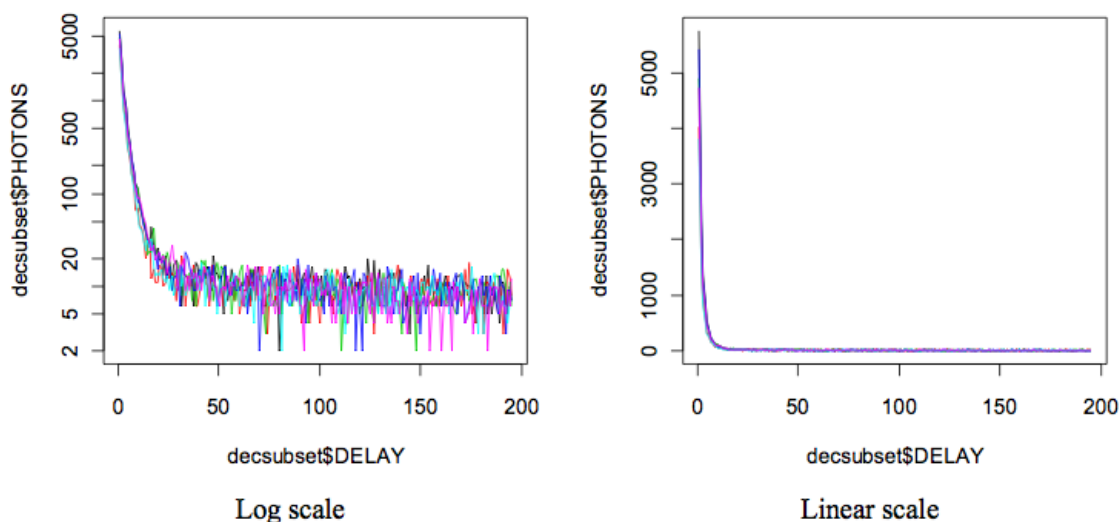


Kuva 27. Mittaus gating-pulsseilla

Gating-pulssi (~150V) aiheutti hieman värähtelyä valomonistinputken dynodeissa. Paremmalla elektronikan suunnittelulla, sekä paremmilla komponenteilla saadaan värähtelyä todennäköisesti vähennettyä. Toinen mahdollisuus on käyttää digitaalista suodatusta mittadataan. Palautumisaika gating-pulsseille on noin 10 $\mu$ s, mutta se voidaan saada pienemmäksi, kuten myös värähtelyä, käyttämällä pienemmän amplitudin omaavia pulsseja.

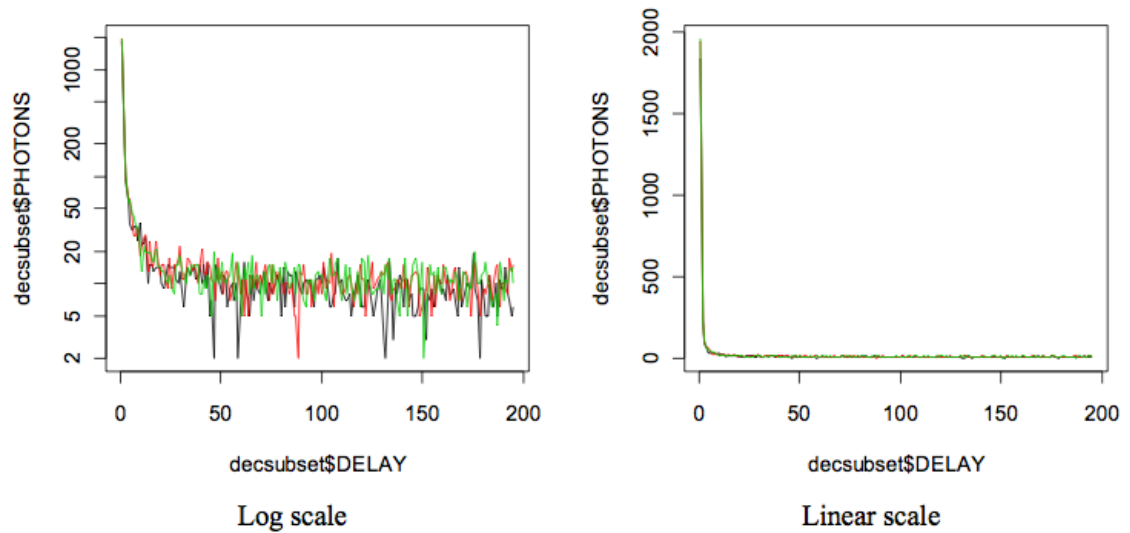
#### 4.2 Tuloksia ilman sulfiittipuskuria

Ilman sulfiittipuskuria mitattu sammuminen oli erittäin nopeaa, muutamia mikrosekunteja. Myös signaalit olivat huomattavan matalia. Syynä tähän oli liuoksessa oleva vapaa happi, mikä toimii tehokkaana fluoresenssin sammuttajana. Juuri hapen takia käytetään mittauksissa vapaan hapen poistajana sulfiittipuskuria.



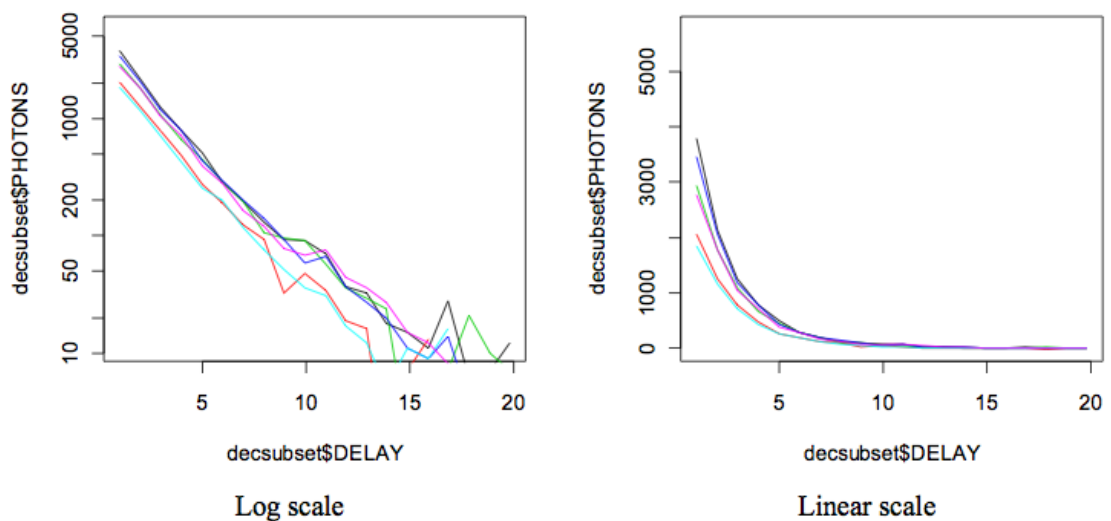
Kuva 28. Mittauksia ilman sulfiittipuskuria

Sammumisaika (decay time) mittauksessa oli luokkaa 2...20 $\mu$ s. Variaatiokerroin CV% oli 3,9. Lopuksi mitattiin pelkkää taustaa levyn tyhjiä kuopista. Tausta koostuu optisissa komponenteissa tapahtuvasta fluoresenssistä ja laitteen ulkopuolelta tulevasta vuotovalosta.



Kuva 29. Taustan mittaus

Seuraavassa on tulokset, kun vähennetään tausta 100nM PtCP mittausdatasta. Mittaus on tehty ilman sulfiittipuskuria. Tästä saatiin sammumisajaksi 2,4...3,1 $\mu$ s ja variaatiokerroin CV% oli 10.



Kuva 30. Tausta vähennettynä

## 5 LOPPUPÄÄTELMÄT

Vaikka uudella tavalla toteutettu järjestelmän herkkyys ei aivan yllä samalle tasolle vanhan laserjärjestelmän kanssa, on siinä myös muutamia hyötyjä. Ledejä voi pistää päälle ja pois päältä erittäin nopeasti. Näin se saadaan pulssittamaan nopeasti, eikä sen tehokkuus kärsi. Suurin hyöty ledeissä olisi laseriin nähden hinta. Ledit ovat vain murto-osan laserin hinnasta.

Myös valomonistinputki (PMT) oli vähemmän altis häiriöille, kuin vanhan laserjärjestelmän CPM-putki. PMT oli herkkä kuitenkin valovuodoille, joten laite oli saatava mahdollisimman tiiviiksi. Apuna tässä käytin alumiinifolioteippiä, jolla kaikki mahdolliset raot saatiin tukittua. Myös PMT vahvistin tarvitsi paljon suodatusta häiriöiden poistamiseksi. Paremmilla komponenteilla olisi kytkennästä varmasti saatu vähemmän herkkä ulkoisille häiriöille.

Laitteessa oli aluksi käytössä PMT:lle gating kytkentä, jolla muutettiin monistimen dynodien jännitettä noin 150V. Tällä toivottiin saada vain määrätty aikaväli sammumisajasta mitattua. Pulssitus aiheutti kuitenkin mitattuun signaaliin värähtelyä, jota ei haluttu. On varmasti mahdollista saada tämä värähtely pois, jos käytettäisiin parempia komponentteja ja pienemmän amplitudin gating pulsseja. Loppumittauksissa gating-pulssit oli kytketty pois käytöstä ja dataa suodatettiin ohjelmallisesti käyttäen R-laskentaohjelmaa.

Mittauksista huomattiin, että laitteella oli kuitenkin mahdollista havaita paljon nopeampia sammumissignaaleja (decay signal) tarkasti. Tämä johtaa siihen, että laitteella pystytään mittaamaan tarkasti sammumisaikoja (decay time).

Lopputuloksena voidaan siis pitää uutta systeemiä toimivana, kuitenkin sen elektroniikkaan ja optiikkaan pitää tehdä pieniä säätöjä. Varsinkin korkea taustavalo pitää saada pienennettyä.

## 6 YHTEENVETO

Työssä rakennettiin Arcdia International oy:n käyttöön uusi aikaeroitteista fluoresenssiä mittaava laite vanhan laitteen rinnalle. Tarkoitus oli verrata vanhan laitteen laserjärjestelmää uuden laitteen UV-lediä käyttävään järjestelmään. Tarkoitus oli saada tehtyä laite halvemmilla komponenteilla ja saada vaihdettua rikkoutumisherkkä laser lediksi.

Laitetta varten suunniteltiin uutta elektroniikkaa valomonistinputkea ja lediä varten. Valomonistinputki vaihdettiin päätyikkuna-CPM-putkesta sivuikkunavalomonistinputkeen. Uudella putkella toivottiin saavutettavan parempi suorituskyky. Laitteeseen asennettiin myös suodattimia, jotka olivat erilaisia, kuin joita oli käytetty edellisessä laitteessa. Suorituskyky laitteella oli hyvä, mutta hienosäätöä pitäisi vielä tehdä, jos laite tulisi tuotantoon. Uuden testijärjestelmän teossa onnistuttiin hyvin ja siitä saatiin kustannustehokkaampi verrattuna vanhempaan laservaloa käyttävään laitteeseen.

Tulevaisuudessa laitteesta lisäsuunnittelulla ja optimoinnilla tullaan saamaan hyvä aikaeroitteisen fluoresenssin mittaukseen tarkoitettu laite, jolla olisi kysyntää markkinoilla.

## 7 LÄHTEET

- [1]Soukka, J. 1995. Fotoluminesenssiin perustuva mittausjärjestelmä moniparametrisiä immuno-määrittämiä varten. Turku: Turun yliopisto; Sovelletun fysiikan laitos.
- [2]Nikkanen, A. 2005. Fluoresenssin eliniän mittaus ohjelmoitavalla logiikalla. Tampereen teknilinen yliopisto; sähkötekniikan laitos.
- [3]Hamamatsu Photonics. 2007. Photomultiplier tubes; Basics and Applications
- [4]Hamamatsu Photonics. Photomultiplier Tubes; Construction and operating characteristics; Connections to external circuits
- [5]<http://www.arcdia.com> (Luettu 1.3.2011)
- [6]<http://www.photobiology.info/Visser-Rolinski.html#TOP> (Luettu 1.3.2011)
- [7]<http://jhc.sagepub.com/content/45/9/1279.full> (Luettu 2.3.2011)
- [8]<http://www.biotek.fr/fr/resources/articles/time-resolved-fluorescent-compounds.html> (Luettu 11.5.2011)
- [9]<http://www.invitrogen.com/site/us/en/home/References/Molecular-Probes-The-Handbook/Ultraviolet-Detection-Technology/Microspheres.html> (Luettu 11.5.2011)
- [10] [http://www.iss.com/resources/research/technical\\_notes/K2CH\\_FLT.html](http://www.iss.com/resources/research/technical_notes/K2CH_FLT.html)(Luettu 21.9.2013)
- [11]Omega Optical Datasheet, XF1075 387AF28
- [12]Omega Optical Datasheet, XF2006 450DCL
- [13]Hamamatsu Datasheet, Photomultiplier tube R4632
- [14]Nichia Datasheet, NCSU034A



# HAMAMATSU

## PHOTOMULTIPLIER TUBE R4632

For Single Photon Counting, Dark Counts 50 s<sup>-1</sup> Typ. at 25 °C  
 For Extremely Low Light Level Detection  
 28 mm (1-1/8 Inch) Diameter, 9-stage, Multialkali Photocathode, Side-On Type  
 185 nm to 850 nm Spectral Response

### SPECIFICATIONS

#### GENERAL

Parameter	Description/Value	Unit	
Spectral Response	185 to 850	nm	
Wavelength of Maximum Response	430	nm	
Photocathode	Material	Multialkali	
	Minimum Effective Area	8 × 24	mm
Window Material	UV glass	—	
Dynode	Structure	Circular-cage	
	Number of Stages	9	
Direct Interelectrode Capacitances	Anode to Last Dynode	Approx. 4	pF
	Anode to All Other Electrodes	Approx. 6	pF
Base	11-pin base JEDEC No. B11-88	—	
Weight	Approx. 45	g	
Operating Ambient Temperature	-30 to +50	°C	
Storage Temperature	-30 to +50	°C	
Suitable Socket	E678-11A (Sold Separately)	—	
Suitable Socket Assembly	E717-63 (Sold Separately)	—	



#### MAXIMUM RATINGS (Absolute Maximum Values)

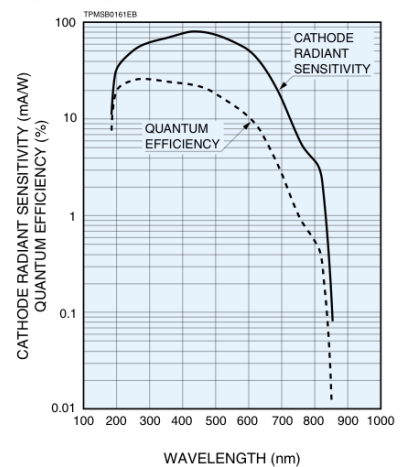
Parameter	Value	Unit
Supply Voltage Between Anode and Cathode	1250	V
Voltage Between Anode and Last Dynode	250	V
Average Anode Current	0.1	mA

#### CHARACTERISTICS (at 25 °C)

Parameter	Min.	Typ.	Max.	Unit	
Cathode Sensitivity	Luminous (2856K) at 400 nm	140	200	—	μA/lm
	Quantum Efficiency at 500 nm	—	23.7	—	%
	Quantum Efficiency at 600 nm	—	18.3	—	%
	Quantum Efficiency at 700 nm	—	10.7	—	%
	Quantum Efficiency at 800 nm	—	2.7	—	%
	Quantum Efficiency at 850 nm	—	0.56	—	%
Red/White Ratio	0.1	0.15	—	—	
Blue Sensitivity Index (CS 5-58)	—	7.5	—	—	
Anode Sensitivity Luminous (2856K)	300	700	—	A/lm	
Gain	—	3.5 × 10 <sup>6</sup>	—	—	
Dark Counts *	—	50	100	s <sup>-1</sup>	
Anode Dark Current (After 30 min Storage in Darkness)	—	0.2	1	nA	
Time Response	Anode Pulse Rise Time	—	2.2	—	ns
	Electron Transit Time	—	22	—	ns
	Transit Time Spread (TTS)	—	1.2	—	ns

\* Measured at the voltage producing the gain of 1 × 10<sup>6</sup>

Figure 1: Typical Spectral Response



#### VOLTAGE DISTRIBUTION RATIO AND SUPPLY VOLTAGE

Electrodes	K	Dy1	Dy2	Dy3	Dy4	Dy5	Dy6	Dy7	Dy8	Dy9	P
Ratio	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Supply Voltage: 1000 V, K: Cathode, Dy: Dynode, P: Anode

Subject to local technical requirements and regulations, availability of products included in this promotional material may vary. Please consult with our sales office. Information furnished by HAMAMATSU is believed to be reliable. However, no responsibility is assumed for possible inaccuracies or omissions. Specifications are subject to change without notice. No patent rights are granted to any of the circuits described herein. ©2006 Hamamatsu Photonics K.K.

## PHOTOMULTIPLIER TUBES R4632

Figure 2: Anode Luminous Sensitivity and Gain Characteristics

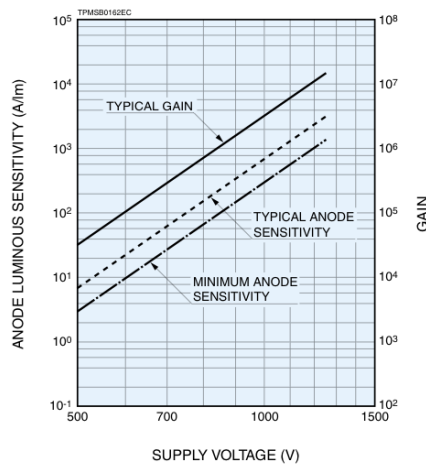


Figure 3: Dimensional Outline and Basing Diagram (Unit: mm)

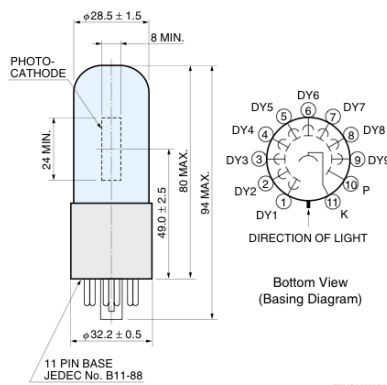
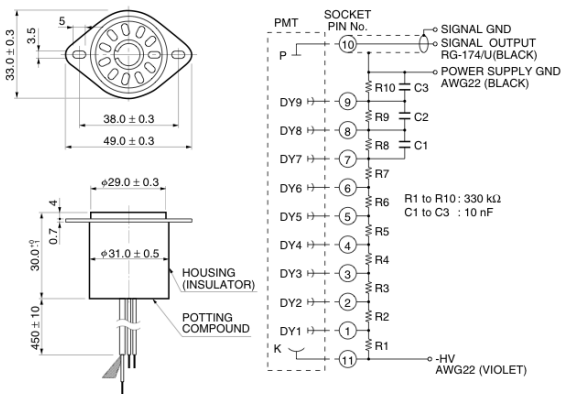


Figure 4: Accessories (Unit: mm) **Sold Separately**

### D Type Socket Assembly E717-63



\* Hamamatsu also provides C4900 series compact high voltage power supplies and C6270 series DP type socket assemblies which incorporate a DC to DC converter type high voltage power supply.

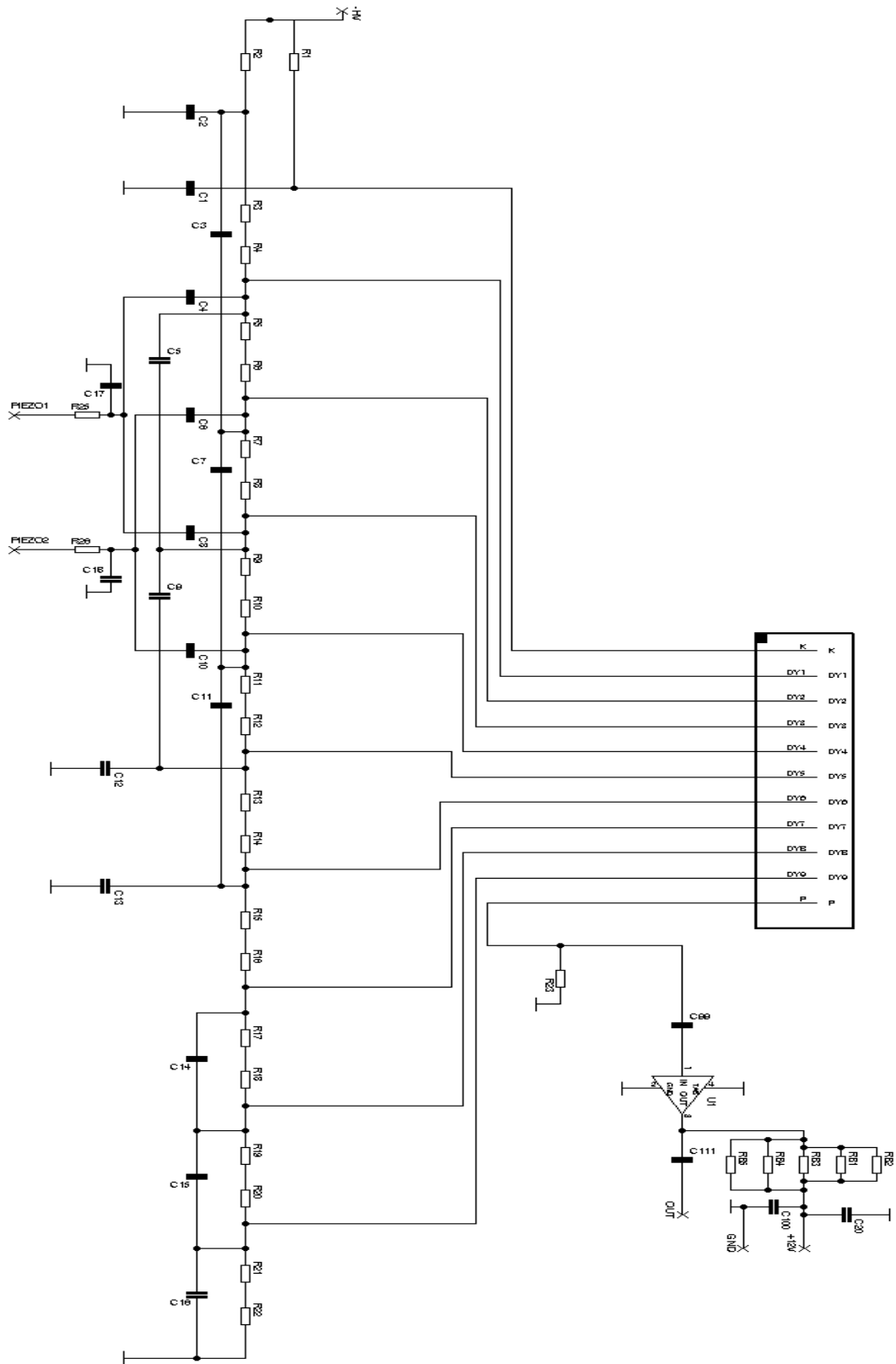
**Warning—Personal Safety Hazards**  
Electrical Shock—Operating voltages applied to this device present a shock hazard.

# HAMAMATSU

WEB SITE [www.hamamatsu.com](http://www.hamamatsu.com)

HAMAMATSU PHOTONICS K.K., Electron Tube Division  
314-5, Shimokanzo, Iwata City, Shizuoka Pref., 438-0193, Japan, Telephone: (81)539/62-5248, Fax: (81)539/62-2205  
U.S.A.: Hamamatsu Corporation, 360 Foothill Road, P. O. Box 6910, Bridgewater, N.J. 08807-0910, U.S.A., Telephone: (1)908-231-0960, Fax: (1)908-231-1218 E-mail: [usa@hamamatsu.com](mailto:usa@hamamatsu.com)  
Germany: Hamamatsu Photonics Deutschland GmbH, Arzbergstr. 10, D-82211 Herrsching am Ammersee, Germany, Telephone: (49)8152-375-0, Fax: (49)8152-2658 E-mail: [info@hamamatsu.de](mailto:info@hamamatsu.de)  
France: Hamamatsu Photonics France S.A.R.L., 19, Rue du Saule Trappu, Parc du Moulin de Massy, 91852 Massy Cedex, France, Telephone: (33)1 69 53 71 00, Fax: (33)1 69 53 71 10 E-mail: [infos@hamamatsu.fr](mailto:infos@hamamatsu.fr)  
United Kingdom: Hamamatsu Photonics UK Limited, 2 Howard Court, 10 Tewin Road Welwyn Garden City Hertfordshire AL7 1BW, United Kingdom, Telephone: 44-(0)1707-294888, Fax: 44(0)1707-325777 E-mail: [info@hamamatsu.co.uk](mailto:info@hamamatsu.co.uk)  
North Europe: Hamamatsu Photonics Norden AB, Smidesvägen 12, SE-171-41 SOLNA, Sweden, Telephone: (46)8-509-031-00, Fax: (46)8-509-031-01 E-mail: [info@hamamatsu.se](mailto:info@hamamatsu.se)  
Italy: Hamamatsu Photonics Italia S.R.L., Strada della Moia, 1/E, 20020 Aresè, (Milano), Italy, Telephone: (39)02-935 81 733, Fax: (39)02-935 81 741 E-mail: [info@hamamatsu.it](mailto:info@hamamatsu.it)

TPMS1046E0;  
JUL. 2006. IP



## 1. SPECIFICATIONS

(1) Absolute Maximum Ratings (T<sub>s</sub>=25°C)

Item	Symbol	Absolute Maximum Rating	Unit
Forward Current	I <sub>F</sub>	700	mA
Pulse Forward Current	I <sub>FP</sub>	1000	mA
Allowable Reverse Current	I <sub>R</sub>	85	mA
Power Dissipation	P <sub>D</sub>	3.1	W
Operating Temperature	T <sub>opr</sub>	-10 ~ + 85	°C
Storage Temperature	T <sub>stg</sub>	-40 ~ +100	°C
Dice Temperature	T <sub>j</sub>	130	°C
Soldering Temperature	T <sub>slid</sub>	Reflow Soldering : 260°C for 10sec.	

I<sub>FP</sub> Conditions : Pulse Width ≤ 10msec. and Duty ≤ 1/10

(2) Thermal Characteristics (T<sub>s</sub>=25°C)

Item	Symbol	Typ.	Unit
Heat resistance	R <sub>ja</sub>	(35)	°C/W
	R <sub>js</sub>	(7)	°C/W

\* R<sub>ja</sub> = Heat resistance from Dice to Ambient temperature (T<sub>a</sub>)

R<sub>js</sub> = Heat resistance from Dice to Measure point of solder (T<sub>s</sub>)

\* Using Nichia standard circuit board FR4, t=1.6mm, Copper foil, t=70μm

(3) Initial Electrical/Optical Characteristics (T<sub>s</sub>=25°C)

Item	Symbol	Condition	Min.	Typ.	Max.	Unit	
Forward Voltage	Rank H	V <sub>F</sub>	I <sub>F</sub> =500[mA]	3.9	-	4.3	V
	Rank M	V <sub>F</sub>	I <sub>F</sub> =500[mA]	3.5	-	3.9	V
	Rank L	V <sub>F</sub>	I <sub>F</sub> =500[mA]	3.1	-	3.5	V
Peak Wavelength	Rank U <sub>c</sub>	λ <sub>p</sub>	I <sub>F</sub> =500[mA]	380	(385)	390	nm
Spectrum Half Width		Δλ	I <sub>F</sub> =500[mA]	-	(10)	-	nm
Optical Power Output	Rank P9	P <sub>o</sub>	I <sub>F</sub> =500[mA]	350	-	390	mW
	Rank P8	P <sub>o</sub>	I <sub>F</sub> =500[mA]	310	-	350	mW
	Rank P7	P <sub>o</sub>	I <sub>F</sub> =500[mA]	270	-	310	mW

\* T<sub>s</sub> : The solder temperature of products (Please refer to the drawing, 070725769501.)

\* Forward Voltage Measurement allowance is ± 3%.

\* Peak Wavelength Measurement allowance is ±3nm.

\* Optical Power Output Measurement allowance is ±10%.

## 6.RELIABILITY

## (1) TEST ITEMS AND RESULTS

Test Item	Standard Test Method	Test Conditions	Note	Number of Damaged
Resistance to Soldering Heat (Reflow Soldering)		Tsld=260°C, 10sec.	2 times	0/10
Temperature Cycle	JEITA ED-4701 100 105	-40°C ~ 25°C ~ 100°C ~ 25°C 30min. 5min. 30min. 5min.	100 cycles	0/10
High Temperature Storage	JEITA ED-4701 200 201	Ta=100°C	500hrs.	0/10
Low Temperature Storage	JEITA ED-4701 200 202	Ta=-40°C	500hrs.	0/10
Steady State Operating Life Condition 1		Ta=25°C, If=500mA Tested with Nichia standard circuit board.*	500hrs.	0/10
Steady State Operating Life Condition 2		Ta=25°C, If=700mA Tested with Nichia standard circuit board.*	500hrs.	0/10
Steady State Operating Life of High Temperature		Ta=85°C, If=300mA Tested with Nichia standard circuit board.*	500hrs.	0/10
Steady State Operating Life of High Humidity Heat		60°C, RH=90%, If=450mA Tested with Nichia standard circuit board.*	500hrs.	0/10
Steady State Operating Life of Low Temperature		Ta=-10°C, If=500mA Tested with Nichia standard circuit board.*	500hrs.	0/10
Vibration	JEITA ED-4701 400 403	100 ~ 2000 ~ 100Hz Sweep 4min. 200m/s <sup>2</sup> 3directions, 4cycles	48min.	0/10
Electrostatic Discharge	JEITA ED-4701 300 304	R=1.5kΩ, C=100pF Test Voltage=2kV	3 times Negative/Positive	0/10

\* Thermal resistance of LED with Nichia standard circuit board : R<sub>ja</sub> ≒ 35°C/W

## (2) CRITERIA FOR JUDGING DAMAGE

Item	Symbol	Test Conditions	Criteria for Judgement	
			Min.	Max.
Forward Voltage	V <sub>F</sub>	If=500mA	-	Initial Level × 1.1
Optical Power Output	P <sub>o</sub>	If=500mA	Initial Level × 0.7	-

\* The test is performed after the board is cooled down to the room temperature.