

Bakgrund

Optisk spektroskopi är en kraftfull teknik för undersökning av prover och diagnosticering med applikationer inom ett brett urval av fält såsom analytisk kemi, miljöövervakning, medicin, teknik samt industriella processer. Ett prov karakteriseras av ett antal optiska egenskaper som under ideala förhållanden kan mätas individuellt. När man bestämmer en optisk egenskap såsom brytningsindex, absorption, spridning eller fluorescens kommer mätningen dock vanligen att påverkas av förändringar i de övriga optiska egenskaperna. Problemet kan minimeras genom kemisk behandling och rengöring av provet, men användningen av spektroskopi motiveras ofta av att man kan undvika traditionell kemisk analys av prov. Spektroskopi efterfrågas också ofta för produktövervakning där provet av intresse inte möter de krav som traditionella spektrometrar har. Ovanstående motiverar utvecklingen av ett system för simultan uppmätning av flera optiska egenskaper.

Föreliggande uppfinning innebär en kraftfull teknik som gör det möjligt att undvika traditionella problem vid spektroskopi. Vidare åstadkoms detta med i allmänhet billig utrustning med lång livstid.

Mätproblem inom applicerad optik

Problem med cross-talk och bilateral interferens uppkommer vid nästan alla mätningar av en optisk egenskap i en mätvolym som t ex en kyvett eller tub i en industriell anläggning. Särskilt problematiskt är det i de fall då sammansättningen av provet kan ändras slumpmässigt, vilket ofta är fallet med vätskeprover från processindustri, medicin eller miljöövervakning. För att illustrera detta ger vi några exempel på fall där en optisk egenskap inte kan uppmätas korrekt utan att samtliga andra störande egenskaper mäts. Ju större precision som krävs, desto fler fysiska fenomen måste tas i beaktande.

Mätning av brytningsindex – Den här kategorin av mätningar används ofta inom processkontroll för att uppskatta salt- eller sockerhalt i ett prov. Mätningen baseras på Snells lag för total intern reflektion eller Fresnels ekvationer, där den reflekterade intensiteten $I(\lambda)$ i en given vinkel och polarisation jämförs med den infallande intensiteten $I_0(\lambda)$. Fresnels ekvationer gäller dock bara för ytor mellan två olika icke-absorberande media. Brytningsindex $n(\lambda)$ och absorption beror av varandra enligt Kramer-Kronigs relationer. Precisa mätningar av båda parametrarna kan åstadkommas genom ellipsometri vilket ofta är en tidskrävande mätmetod. När turbiditet eller spridande media, vilka genererar diffus reflektans, eller fluorescens är involverade är ingen av de ovan nämnda teknikerna applicerbar. Då alla provvolymen är ändliga kommer spekulära reflektioner $R(\lambda) = I(\lambda)/I_0(\lambda)$, att påverka ljusmätningar baserade på förhållandet mellan det ljus som kommer in i och det ljus som lämnar provet. Vidare är R också relaterat till det elektriska fältet, U , ifall ett sådant pålägges, samt den optiska emissiviteten, $\epsilon(\lambda)$.

Ytterligare exotiska prover såsom t ex fotoniska kristaller, mikrostrukturella färger, eller ytplasmoner kan också generera spekulära reflektioner.

Uppmätning av absorption – Absorptionen hos ett prov ger information om provets kemiska sammansättning då olika molekyler eller atomer kan ha olika absorptionspektra. I klassiska absorptionsmätningar är den transmitterade intensiteten $I(\lambda)$ relaterad till den infallande intensiteten enligt Beer-Lamberts lag, och bestäms av produkten av absorptionskoefficienten $\mu_{\text{abs}}(\lambda)$, koncentrationen C och sträckan x ljuset färdas genom mediet, x . Transmittansen $T(\lambda)$ erhålls följaktligen enligt

$$T(\lambda) = I(\lambda)/I_0(\lambda) = e^{-\mu_{\text{abs}}(\lambda) \cdot C \cdot x}.$$

Mätningen utförs vanligen enligt standard-additionsmetoden, genom att addera kända koncentrationer av ett prov i till exempel en kyvett. Det är ett tidskrävande förfarande, och som vi redan har konstaterat kommer mängden reflekterat ljus från den första ytan av kyvetten bero på absorptionen. Vidare kommer mängden ljus från den sekundära reflektionen då ljus lämnar provet också att bero på absorptionen. Det finns förstås oändligt många reflektioner fram och tillbaka med minskande signifikans. Det är nu uppenbart att ett givet mått på absorptionen kommer att ändras om man adderar till

exempel icke absorberande socker till provet då detta skulle ändra brytningsindex. Ovanstående är ett klassiskt exempel på spektroskopisk cross-talk. Problemet kan lösas genom användande av integrerande sfärer, där både T och R uppmäts. Detta kräver att provet kan mätas två gånger i tiden eller att två integrerande sfärer - relativt dyr utrustning - används.

Genom att addera spridning av ljus till problemet inser vi att dämpningen också ändras som följd av spridningsprocesser som förändrar ljusets utbredning och delvis förhindrar det från att nå detektorn. Fotonmigration kan till en viss utsträckning approximeras med diffusionsekvationen, eller ännu bättre, genom Monte-Carlo-simuleringar. Återigen finner vi att de ovannämnda metoderna är underbestämda. Vi behöver nu en extra mätpunkt, nämligen kollimerad och icke-kollimerad transmission för att skilja isär brytningsindex, absorption samt spridning. Problemet kan till viss del lösas genom flykttidsspektroskopi, där den sträcka som varje mottagen foton färdats i provet uppskattas. Tekniken involverar pulssade lasrar samt tidsupplöst detektionselektronik. Kostnaden av instrumenten för tids- och frekvensupplöst spektroskop är extremt hög, och tekniken kräver i många fall avsevärd mättid.

När man adderar fluorescens till listan av optiska fenomen som uppträder vid absorptionsmätningar inser vi att absorberat ljus kan återemitteras vid längre våglängder. Om man försummar detta faktum kan det resultera i T och R över 100% eller resultera i negativa koncentrationer då Beer-Lamberts lag appliceras. Ingen av de ovan nämnda tillgängliga teknikerna löser detta problem, då både infallande och resulterande ljus måste upplösas i våglängdsled. Med andra ord kan endast data på diagonalen av emissions-exitations matrisen (EEM; en matris där elementen $E_{\lambda_{em}, \lambda_{ex}}$ anger mängden resulterande ljus vid λ_{em} där det infallande ljuset har våglängden λ_{ex}) av provet borde bidra till absorptionsmätningen. De flesta teknikerna summerar längs rader eller kolumner och försummar fluorescenstoppar som inte ligger på diagonalen. Vidare kommer fotonfördröjningar i flykttidsspektroskopi nu inte bara att bero på färdsträckan utan också på fluorescenslivstider.

Det dynamiska området för en absorptionsmätning är oftast begränsat. Mätningar baserade på T förutsätter att T antar ett värde mellan 0% och 100% och inte ligger nära någon av gränserna. Den minimala mängden av substansen som kan detekteras begränsas av när T inte kan skiljas från 100% och den maximala koncentrationen som kan uppmätas begränsas av när T inte kan skiljas från 0%. Därför måste färdsträckan ofta optimeras för ett specifikt scenario för att T ska variera runt 50%.

Mätning av spridning – Sannolikheten för spridning $\mu_{sca}(\lambda)$, den anisotropiska spridningen samt polarisationsberoendet ger information om mikrostrukturen hos ett prov. Information om partikelstorlek, koncentration samt brytningsindex för partiklar uppmäts ofta i till exempel mejeriprodukter. Spridningsprocesser i det optiska området beskrivs av Rayleigh- och Mie-teori. Spridning är starkt korrelerad med absorption och brytningsindex, vilket vi diskuterat ovan. Ofta förutsätter man ett konstant brytningsindex över olika våglängder och illa konditionerade iterativa algoritmer behövs för att ta fram

spridningen ur de uppmätta egenskaperna. Man gör också antaganden om det spektrala beroendet av spridning.

Mätning av fluorescens – Insamlande av ett eller flera fluorescensspektra i en EEM ger detaljerad information om den kemiska sammansättningen av ett prov. I fall där absorption inte kan användas för att urskilja substansen är fluorescensmätningar ofta ett naturligt nästa steg. Även i fall där man inte kan använda sig av EEM-matriser kan man finna skillnader i fluorescenslivstiden för varje enskilt EEM-element. Klorofyll, koffein, AGE-produkter (Advanced Glycinated End products), oljor och tvålprodukter är typiska fluoroformer. EEMs uppmäts traditionellt med två skannande monokromatorer riktade mot en kyvett i 90° observationskonfiguration. Sådana mätningar är mycket tidskrävande. Livstider mäts med pulssade lasrar i kombination med streak-kameror eller med frekvensdomänmetoder. Följaktligen kan bara några få kolumner i EEM mätas. Generellt sett är EEM mätningar enhetslösa, vilket reflekterar det faktum att mätningen påverkas av alla ovan nämnda optiska egenskaper som inte mäts i en traditionell EEM-uppställning. En EEM-mätning bygger på att excitationsljus med våglängden λ_1 transporteras genom provet till en fluoroform där det absorberas, reemitteras med våglängden λ_2 och transporteras genom provet till detektorn. Transporten styrs av $n(\lambda)$, $\mu_{\text{abs}}(\lambda)$, $\mu_{\text{sca}}(\lambda)$, g , samt polarisationseffekter i spridning samt fluorescens för både λ_1 and λ_2 . Bortsett från svårigheter med modellering kommer vi att finna att vi återigen har en understämd ekvation för att uppskatta den absoluta fluorescensen i EEM. Även i laboratoriemiljöer med ett kemiskt renat prov uppstår cross-talk i professionella EEM-mätsystem där 90° konfiguration används: Fluorescens är en konsekvens av absorption och i de fall där absorptionen är för hög kommer inget excitationsljus att nå synfältet för den i 90° placerade detektorn. Om absorptionen är för låg kommer nästan allt excitationsljus att passera synfältet och generera mycket lite fluorescens. Detta innebär att mätningarna måste tillrättaläggas för intermediär absorption, vilket kan vara svårt i ett scenario med verkliga prover.

Förutom att påverkas av fotontransport kan EEM-mätningar också bero på excitationsexposition såsom blekning och fotokinetik, och vanligen beror EEM-mätningar också på provets temperatur, T_{sample} .

Enligt den ovan förda diskussionen behöver man använda en integrerad mätmetod som inkluderar allt. En lösning på problemen med spektroskopisk cross-talk och många andra svårigheter som uppstår när optisk spektroskopi implementeras på många prover från processkontroll i verkliga livet presenteras i denna patentansökan. LEDs för kommersiellt bruk är ett fält som utvecklas snabbt med bättre emissionsutbyte, snabbare stigtider samt större spektral räckvidd varje år. LEDs utgör kostnadseffektiva och stabila ljuskällor för spektroskopi. Användande av LEDs i kombination med detektorpar för transmission, turbiditet eller fluorescensmätningar har presenterats. Dessa instrument består vanligen av en rektangulär kyvett med 0°, 90° or 180° observationsvinkel i förhållande till ljuskällan och den spektrala upplösningen bestäms vanligen av de använda LED-enheternas emissionsband. Varje detektor uppmäter ett värde typisk tillhörande kategorierna; transmission, lateral spridning eller fluorescens. Från den ovan förda

diskussionen förstår vi att vi behöver så många värden som möjligt för att kunna uppskatta alla involverade processer. Enligt traditionellt tänkande behöver vi alltså ett mycket stort antal detektorer i alla möjliga konfigurationer. Alternativt kan vi ta in idéer angående kombinatorisk ljusstråksmätning från interstitiell fotodynamisk terapi (IPDT) där antalet värden korresponderar mot alla möjliga kombinationer mellan källor och detektorer snarare än bara antalet käll-detektorpar. Den angreppsvinkeln skulle ge så många uppmätta värden som möjligt. De uppmätta värdena fungerar sedan som en bas för uppskattning av ett antal "ortogonala" optiska egenskaper. Vi har också sett flera exempel på snabba tids- och frekvens-domän metoder med LEDs, där mättiden kan komma ner på en tidsskala på under en nanosekund. Genom att applicera sådana metoder till den ovan nämnda LED multiplexingen skulle vi öka antalet uppmätta värden för den optiska karakteriseringen av provet, och fluorescenslivstidsvärden, spridningsfördröjning samt fotoinducerad kinetik skulle vara möjliga att uppskatta.

Vi kommer nu att presentera en möjlig men icke-begränsande implementering av kombinatorisk ljusstråksmultiplexing med LEDs och förklara varför varje fysiskt fenomen inkorporeras av den mätmetoden. Uppmätta värden matas in i multivariata algoritmer och kalibreras med kända träningsset för ortogonalisering, för att göra parametrarna oberoende av varandra. Vi antar att provet flyter i en tub i riktning mot Z (Fig. 1). Tuben kan vara genomskinlig eller av blåstrat spridande mattglass och är optiskt genomskinlig för hela det spektrala område som instrumentet täcker. Rader av LEDs är arrangerade längs Z-axeln och lyser upp tuben som innehåller provet. På varje position längs Z-axeln finns ett spektralt våglängdsband som definieras av bandgapet hos LED-enheten på den Z-positionen. Under en given tidsperiod kommer endast en LED att blixtra till, matad väl över sin kontinuerliga driftsnivå. Intensiteten av ljuset mäts av alla detektorer. Efter en sekvens där samtliga LEDs blixtrar till kommer det totala antalet uppmätta värden att vara produkten av antalet detektorer och källor.

På varje z-position kommer det att finnas åtminstone två källor och två detektorer (Fig. 2): en detektor med bred känslighet som täcker in λ_z på z positionen samt en detektor med ett blockeringsfilter som låter långvågig strålning passera och som hindrar att λ_z detekteras på z positionen. Det följer att det på varje z position uppmäts fyra icke identiska ljussträckor; transmitterat ljus, lateralt spritt ljus, lateralt detekterad fluorescens samt fluorescens detekterad i framåtriktningen. Filtret kan vara av absorptions-, interferens- eller kiltyp.

När vi observerar ljus emitterat i λ_1 på position z_1 i XZ-domänen (Fig. 3) förstår vi hur ljuset sprids längs Z axeln dels av tubens väggar eller själva provet. Detta illustrerar hur varje transmittanskoefficient mäts med flera olika vägsträckor i provet. Detta är lämpligt för att utöka spektrometerns dynamik (se diskussionen ovan). Vi förstår också att vi för varje våglängd får en rumslig profil längs x-axeln för både transmitterat ljus, lateralt spritt ljus, lateralt detekterad fluorescens samt fluorescens detekterad i framåtriktningen. Dessa rumsliga profiler kommer att ha olika former beroende på provets huvudsakliga optiska karaktär (reflekterande, absorberande, grumligt eller fluorescent). Då vi gradvis kan ändra detektortypen från UV-optimerad Si, till synligt, till InAsP, till InGaAs eller till

mikrobolometrar, kan instrumentet täcka en mycket vidare spektralt område än något av de instrument som använder en enda detektortyp.

Då eventuellt fluorescensljus uppmäts inte bara av detektorn vid en och samma z position utan från samtliga z positioner (Fig. 4) är det möjligt att mäta inte bara total fluorescens hos kolumnerna i den övre triangeln av EEM-matrisen, men även varje element. Upplösningen av EEM:en kommer att vara antalet detektorer multiplicerat med antalet källor. Vi kan också notera att cut-off filtren på positionen z är valda så att de bryter i mitten av bandet på $z+1$ (Fig. 5). Den spektrala upplösningen för transmittans, reflektans och spridning kommer alltså att vara högre än antalet källor då transmissionsbanden definieras av produkten av emissionen och känsligheten hos källan respektive detektorn.

I den föredragna men inte begränsade uppsättningen demonstrerar vi spektral täckning från 350 till 1700 nm (Fig. 5). De Gaussiska profilerna indikerar spektrala emissionsband från de utvalda LED-enheterna. Transmissionen av fluorescensfiltren markeras för kantfiltren, som släpper längre våglängder. Flera av banden är delade så att hela, respektive övre delen av bandet isoleras, vilket ger ytterligare spektral information. Streckade linjer indikerar de breda känslighetskurvorna för de utvalda detektorerna. Den tjocka linjen indikerar transmission för 5 mm H_2O . Punktmarkerade linjer indikerar transmissionen för klorofyll och mjölk.

Om provet består av luft, vatten eller kvicksilver är det uppenbart att vi kommer att få olika reflektioner vid kvartstubens yta (Fig. 6). I fallet med Hg, som har noll-transmission förstår vi att vi fortfarande kommer att få en signal då fotonerna rör sig i alla riktningar i själva provtuben. Om man tar formerna av de fyra spatiala profilerna längs Z -axeln i beaktande kan man anta en första ren reflektansprofil (signalerna från detektorerna med cut-off filter vid $z_n, z_{n+1}, z_{n+2} \dots$ kommer väsentligen att bestå av filterfluorescensen från ett reflekterande prov). I ett senare skede då mätningar görs på godtyckliga prov kan vi använda oss av de ovan nämnda profilerna för att skatta ren reflektans och brytningsindex för proven. Ytterligare parametrar för provet kan skattas om man mäter reflektionen vid olika elektriska fält under inverkan av Kerr effekten.

Om vi antar att vi har ett prov med absorption för ett givet spektralband (Fig. 7) kommer den transmittade intensiteten att minska med sträckan av provet som mäts på. Reflektioner och de diffusa provtubsväggarna kommer att skapa en s.k. White-cell och sprida ljuset i alla tre rymddimensionerna. Återigen kommer vi få fyra rumsliga profiler längs Z -axeln. Formen av dessa kommer att vara annorlunda än de reflekterade profilerna. Genom standardiserad addering av vätskor med kända absorptionsegenskaper samt godtyckligt varierande brytningsindex kan rena absorptionsprofiler åstadkommas för att träna systemet att senare karakterisera absorption oberoende av brytningsindex.

För ett spridande prov (Fig. 8) kommer inte bara tubens väggar utan även själva provet att bidra till fotontransporten längs Z -axeln. För prover med hög spridning kommer ljuset längs Z -axeln att beskrivas av en Green-funktion som bestäms av $\mu_{abs}(\lambda)$ och $\mu_{sca}(\lambda)$. Det i framåtriktningen och lateralt observerade ljuset kommer att vara nära identiskt för starkt spridande media. För prov med mindre spridning kommer anisotropifaktorn g (som kan

relateras direkt till partikelstorlek) att spela en större roll, så att det mesta ljuset sprids framåt och en mindre del kan observeras lateralt. Det är ett välkänt faktum att det är ett svårlost problem att lösa ut den rena absorptionen och spridningen från Green-funktioner. Profilen kommer dock att mätas från två vinklar, och vidare kommer vi att ha möjligheten att göra flera mätningar genom att modulera ljuskällan på flera radiofrekvenser (RF). Genom att detektera fasförskjutning mellan drivströmmarna och de detekterade signalerna kan man räkna fram flykttiden. Detta är en till tidsdomänen i frekvensdomänen ekvivalent metod.

När ett absorberande prov sekundärt emitterar fluorescensljus vid en längre våglängd kan det emitterade ljuset detekteras genom cut-off-filtret vid samma z-position (Fig. 9). Fluorescensljus kan detekteras lateralt eller rakt fram. Även själva cut-off-filtret kommer att fluorescera en aning, vilket är anledningen till att minst två uppmätta värden måste bidra till en ren provfluorescens. Som i föregående exempel kommer tubens väggar eller provets spridning att skicka ljus längs Z-axeln. Fluorescensljus detekteras alltså genom ett antal cut-off-filter, vilket antyder att idealt sett är alla element i den övre triangeln av EEM-matrisen inom instrumentets räckvidd. Vi noterar att transmissionen från z till z+1 uppmäts både med och utan filter. Som i fallet med spridning kan ytterligare information angående fluorescenslivstider extraheras från provet genom upprepande av mätningen vid flera RF-modulerade frekvenser och detektion av fasskiftet. Precis som för de andra demonstrationerna kan kalibrering utföras genom att en känd fluorofor med kända absorptions- och fluorescensspektra samt kända livstider adderas. Ytterligare information angående fotoinducerad kinetik och blekning kan erhållas genom att provets temperatur och flöde kontrolleras.

Då de utvalda detektorerna når upp till den kortvågiga infraröd (SWIR) 2.4 μ m regionen och då känsligheten täcker flera band är det realistiskt att förvänta sig en del svartkroppsstrålning från själva provet (Fig. 10). Mätningen kommer till en stor del att bero på provtemperaturen samt svartkroppsegenskaperna såsom emissiviteten $\epsilon(\lambda)$ som är förknippad med absorption och reflektans. Kalibreringen kan utföras genom mätningar av prover med flera olika transmittanser i SWIR regionen samt med olika temperaturer.

Som vi tidigare diskuterat spelar polarisation en stor roll för reflektioner enligt Fresnels formel. Även i spridande och anisotropisk fluorescens kommer polarisationen att påverka. Då källan bara bidrar till en försumbar del av instrumentkostnaden kan konceptet med kombinatorisk mätning av ljussträckor expanderas så det förmår omhänderta polarisationsfenomen (Fig. 12). Förutom att sträcka sig till polarisationsberoende parametrar kan en sådan expansion också användas för att förbättra villkoren för att ortogonalisera icke-polarisationsberoende egenskaper. Då få polariseringsfilter ger kontrast i hela det presenterade instrumentets spektrala bredd kan typen av filter varieras längs Z-axeln. Precis som för polarisationsfilter kan spektrala filter också användas på källorna för att undertrycka emissionen av långa våglängder.

Källorna kan miniaturiseras med "surface mounted devices" (SMD) (Fig. 12). Detta skulle göra instrumentet avsevärt mer kompakt. Detektorerna kan vara multi-element linjära arrays av CCD, CMOS eller PMT typ. Det skulle öka antalet ljussträckor substantiellt. Istället för ett flertal absorptionsfilter kan ett kilfilter med varierande cut-off-våglängder längs Z-axeln användas för fluorescensdetektion. Konceptet kan också kombineras med polarisationsutvidgningen.

Alternativt kan detektorer för elastiskt och fluorescensljus ersättas med ett dispersivt element som t ex ett konkavt diffraktionsgitter i kombination med en 2D avbildande detektor. Fler bild-chips kan användas för att utvidga det spektrala området. Detta koncept är också kompatibelt med excitation i flera polarisationsriktningar.

Flera elektronikmoduler är involverade datatagningsprocessen. Ett föredraget, men inte begränsande utförande presenteras i Fig. 11. Provet sugas in i kvartstuben genom en plasttub för analys. En pump reglerar flödet. Både plaströret och kvartstuben kan bytas ut för att möta speciella krav som till exempel för medicinska material använda i dialyssystem. En spänning kan appliceras på båda sidor av kvartstuben för att undersöka Kerr- koefficienterna. En metallstång på vilken källorna och detektorerna är monterade kan temperaturstabiliseras i båda ändar med en termoelektrisk kylare och en termistor. Detta ger konsistenta mätningar över längre tid samt ändrade yttre betingelser, speciellt då mörkerström och känslighet förändras med temperaturen. De två vinkelrätt monterade LED panelerna får en binär address för att aktivera en enskild LED. Denna adress erhålls från en räknarkrets som arbetar med en frekvens given av ett DAQ kort. LED-panelen får även strömmen för den aktiverade LEDen. Strömmen kan överskrida den statiska gränsen specificerad för varje LED då inkopplingsbråkdelen vanligen är några få procent. Den här typen av blixtopperationer ökar signal-brusförhållandet i transmissionsmätningar. Vidare kan strömmen varieras över ett spektrum av operationsströmmar vilket ger möjlighet att mäta ström-spännings (U-I) karateristiken för varje LED. Med den informationen kan temperaturen samt band-gapet i utarmningsskiktet för varje LED beräknas. Med hjälp av denna information kan ljusutbytet för varje LED förutsägas och stabila mätningar kan erhållas. Slutligen kan strömmen moduleras i flera frekvenssteg i RF i syfte att utföra frekvens-domänsspektroskopi för spridnings- och fluorescensmätningar.

Förstärkning av detektorsignalen kan vara linjär eller logaritmisk med fasskiftdetektion i förhållande till den modulerade drivströmmen. Därmed krävs ingen RF-sampling för uppmätning av fasskiftet.

Analogt kan signaler från LED-enhetens U-I-karakteristik, detekterade ljusintensiteter samt fas-skift bli digitaliserade av ett DAQ-kort. Informationen överförs därifrån till en dator. Som diskuterats ovan täcker instrumentet in samtliga nämnda fysikaliska fenomen. Vi vill dock påpeka att uppgiften i datortolkningen inte är att förklara observationen från en exakt korrekt fysikalisk modell utan snarare att ge en linjär eller icke-linjär förutsägende modell baserad på träningsset och multivariatanalys.

Referenser

- S. Svanberg, *Atomic and Molecular Spectroscopy*, Springer, Heidelberg Berlin (2004)
- J. Rätty, K. E. Peiponen, T. Asukura, *UV-Visible Reflection Spectroscopy of Liquids*, Springer, Heidelberg Berlin, (2003)
- J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3rd ed. Springer, Heidelberg (2006)
- M. Brydegaard, Z., and S. Svanberg, "Broad-band multispectral microscope for imaging transmission spectroscopy employing an array of light-emitting diodes", *Am. J. Phys.*, **77**, 1, (2009)
- P. K. Dasgupta, In-Yong Eom, K. J. Morris, J. Li, "Light emitting diode-based detectors Absorbance, fluorescence and spectroelectrochemical measurements in a planar flow-through cell", *Anal. Chim. Acta.* **500**, (2003)
- J. G. Schnabel, P. J. Grochowski, L. Wilhelm, C. Harding, M. Kiefer, R. S. Orr. *Portable LED-array VIS-NIR Spectrometer Nephelometer*, *Field. Anal. Chem. Tech.* 21-28, (1998)
- P. C. Hauser, T. W. T. Rupasinghe, N. E. Cates, *A Multi-wavelength photometer based on light-emitting diode,s* *Talanta* **42** (4) pp. 605-612 (1995)
- A. Johansson, J. Axelsson, S. Andersson-Engels, J. Swartling, "Realtime light dosimetry software tools for interstitial photodynamic therapy of the human prostate.", *Med. Phys.* **34**(11), pp. 4309-4321, (2007)
- B. Barbieri, E. Terpetschnig, D. M. Jameson "Frequency-domain fluorescence spectroscopy using 280-nm and 300-nm light-emitting diodes: Measurement of proteins and protein-related fluorophores", *Anal. Biochem.* **344**, (2005) 298-300
- B. Montcel, R. Chabrier, P. Poulet, *Time-resolved absorption and hemoglobin concentration difference maps: a method to retrieve depth-related information on cerebral hemodynamics.* *Opt. Expr.* **14** pp.298-300 (2006)
- M. Boukadoum, A. Bensaoula, David Starikav, *A portable Multiband Optoelectric System for Identifying and Measuring the Concentration of Fluorophore Substances*, 113-116, IEEE 2004
- H. Peng, E. Makarona, Y. He, Y. K. Song, A. V. Nurmikko, *Ultraviolet light-emitting diodes operating in the 340 nm wavelength range and application to time resolved fluorescence spectroscopy* *Appl. Phys. Lett.* **85**(8) pp.1436-1438 (2004)

Q. Li, K. j. Morris, P. K. dasgupta, I. M. Raimondo Jr., H. Temkin, *Portable flow-injection analyzer with liquid-core waveguide based fluorescence, luminescence and long path length absorbance detector*, Anal. Chem Acta. **479** pp 151-165 (2003)

P. Herman, J. Vecer *Frequency Domain Fluorometry with Pulsed Light-Emitting Diodes* Ann. N. Y. Acad. Sci. **1130** pp. 56-61 (2008)

P. Herman, B.P. Maliwal. H. J. Lin, . R. Lakowicz, *Frequency-domain fluorescence microscopy with the LED as a light source*. J. Microsp **203** pp. 176-181 (2001).

K. J. Jeon, S. J. Kim, K. K. Park, *Noninvasive total hemoglobin measurement*, J. Biomed. Opt. **7** pp.45-50 (2005)

B. Standish, Bookham Inc. *LEDs for bioanalytical and Medical Instruments* Bio. Phot. Int. (2007)

Jobin Yvon, Horiba *3D Fluorescence*

Jobin Yvon, Horiba *Linearization of the Spex-3D® Spectrofluorometer* Application notes

S. J. Hart, R. D. Jiji, *Light Emitting diode excitation emission matrix fluorescence spectroscopy*, Analyst **127** pp. 1693-1699, (2002)

U. Utzinger, A. J. Drukin, H. Fuchs, A. M. Gillenwater, D. L. Heintzelman, R. R. Richards-kortum, *Combined fluorescence and reflectance spectroscopy*, U.S. patent 6571118, freepatentsonline.com

H. Zeng, H. Lui, C. Macaulay, B. Palcic, D. I. Mclean, *Apparatus and methods relating to optical systems for diagnosis of skin diseases*, U.S. patent 6069689, freepatentsonline.com

M. Gouzman, N. Lifshitz, S. Luryi, O. Semyonov, D. Gavrilov, V. Kuzminskiy, *Excitation-emission fluorimeter based on linear interference filters*, Appl. Opt. **43** pp. 3066-3072, (2004)

R. L. Martineau, B. C. Towe, V. Stout, *An Optical Micro-instrumentation System for Measurement of Fluorescent Proteins in Whole-cell Biosensors*, IEEE pp. 90-93, (2006)

M. Trtilek, D. M. Kramer, M. Koblizek, L. Nedbal, *Dual-modulation LED kinetic fluorometer*, J. Luminescence pp. 72-74, (1997)

C. Moser, T. Mayr, I. Klimant, *Filter cubes with built-in ultrabright light-emitting diodes as exchangeable excitation light sources in fluorescence microscopy*, J. Microsp. **22** pp. 135-140, (2006)

J. S. Kuo, C. L. Kuyper, P. B. Allen, G. S. Fiorini, D. T. Hiu, *High-power blue/UV light-emitting diodes as excitation source for sensitive detection*, *Electrophoresis* **25**, pp. 3796-3804, (2004)

FORCE-A *Real-Time Optical Solutions for Sustainable Agriculture*, 2006
FORCE-A, Multiplex®2, 2007

G. Agati, *Response of the in vivo chlorophyll fluorescence spectrum to environmental factors and laser excitation wavelength*, *Pure Appl. Opt.* **7** pp. 797-807, (1998)

M. S. Kim, Y. Chen, S. Kang, I. Kim, A. M. Lefcourt, M. Kim. *Fluorescence Characteristics of Wholesome and Unwholesome chicken Carcasses* *Appl. Spec.* **60**(10), (2006)

C. Sluszný, E. S. Yeung, *One- and Two-dimensional Miniaturized Electrophoresis of Proteins with Native Fluorescence Detection*, *Anal. Chem.* **76** (5), pp.-1359-1356, (2004)

Laser2000, *Eigenlite™ RS-5B Spectrally Programmable Light Source*, Product Summary

K. Davitt, Y. K. Song, W. Patterson, A. V. Nurmikko, Z. Ren, Q. Sun, J. Han, *UV LED arrays at 280 and 340nm for spectroscopic biosensing*, *Phys. Stat. sol* **204** pp. 2112-2116, (2007)

R. W. Cole, J. N. Turner, *Light-Emitting Diodes Are Better Illumination Sources for Biological Microscopy than Conventional Sources*, *Microsc. Microanal.* **14** pp.243-250, (2008)

J. Xu, B. Yangm H, Tian, Y. Guan, *A windowless flow cell-based miniaturized fluorescence detector for capillary flow systems*, *Anal. Bional. Chem.* **384** pp. 1590-1593, (2006)

E. P. de Jong, C. A. Lucy, *Spectral filtering of light-emitting diodes for fluorescence detection*, *Anal. Chim. Acta* **546** pp. 37-45, (2005)

E. Moreno-García, C. E. Guerra, J. M de la Rosa-Vázquez *Spectrometer to measure steady-state fluorescence emitted by liquid and solid sample*,. IEEE (2008)

S. Ek. B. Anderson, S. Svanberg, *Compact fiber-optic fluorosensor employing light-emitting ultraviolet diodes as excitation sources* *Spectro.Chim. Acta Part B* **63** pp.349-353, (2008)

S. Landgraf, *Use of ultrabright LEDs for the determination of static and time-resolved florescence information of liquid and crude oil samples*, *J. Biochem. Biophys. Methods* **61** pp. 125-134, (2004)

M. Yeary, R. Kelley, I. Meier, A. Snyder, A. Arul, T. Hicks, P. McCann, C. Roller, D. Guidry, *Next-Generation Digital High-Bandwidth Spectroscopy Sensor Systems*, IEEE Instr. Meas. Tech. Conf. (2007)

J. B. Fishkin, P. T. C. So, A. E. Cerussi, S. Fantini, M. A. Franceschini, E. Gratton, *Frequency-domain method for measuring spectral properties in multiple-scattering media: methemoglobin absorption spectrum in a tissuelike phantom*, App. Opt. **34** pp. 1143-1155 (1995)

S. Fantini, M. A. Franceschini, J. B. Fishkin, B. Barberi, E. Gratton, *Quantitative determination of the absorption spectra of chromophores in strongly scattering media : a light-emitting-diode based technique*, App. Opt. **33** pp. 5204-5213 (1994)

E. Gratton, S. Fantini, M. A. Franceschini, G. Gratton, M. Fabiani, *Measurements of scattering and absorption changes in muscle and brain*, Phil. Trans. R. Soc. Lond. **352**, pp.727-735 (1997)

B. Chance, M. Cope, E. Gratton, N. Ramanujam, B. Tromberg, *Phase measurement of light absorption and scatter in human tissue*, Rev. Sci. Instr. **69** pp. 3457-3481 (1998)

Figurtexter

Fig. 1: Perspektivritning av ett möjligt arrangemang av en kombinatorisk ljussträcksspektrometer. a: Metallblock, b: Kvartsrör.

Fig. 2: Bild av ett möjligt arrangemang av en kombinatorisk ljussträcksspektrometer. e: TEC, NTC, kopparblock, kylfläns, f: fluorescensfilter, g: detektorblock, elastiska detektorer.

Fig. 3: Tvärsnitt i XY-planet med möjliga ljussträckor vid en z-position. fl: Fluorescensfilter som blockerar vid våglängden λ_1 , h: prov. PD: detektor, LED: ljuskälla. λ_1 : spektralband nummer 1. De fyra olika pilarna anger möjliga ljussträckor mellan ett ljuskälls-detektor-par. Antalet ljussträckor är $(2 \cdot N)^2$, N är antalet spektralband. Ex. : $N=15$, Antalet sträckor=900.

Fig. 4: Tvärsnitt i ZX-planet och sträckor för elastiska fotoner längs z-axeln. Pilarna anger några av de möjliga kombinationerna mellan första spektralbandet, λ_1 , och motliggande detektorer. Identisk sträckkodning som i figur 3. Korta sträckor kan mäta höga absorptioner, långa sträckor kan mäta låga koncentrationer.

Fig. 5: Tvärsnitt i ZY-planet och sträckor för fluorescensfotoner längs z-axeln. fn: fluorescensfilter som blockerar för motsvarande λ vid position z. Pilar anger några av de möjliga kombinationerna mellan första spektralbandet, λ_1 , och motliggande detektorer. Identisk sträckkodning som i figur 3.

Fig. 6: Emissionsband för utvalda LED-enheter och transmission för filter och ett prov.

Fig. 7: Reflektioner sedda i ett XY-tvärsnitt. Reflekerat ljus är bestämt av vinkel, polarisation och brytningsindex $n(\lambda, T, U)$, enligt Fresnels ekvationer och Kerr-effekten. Sträckkodning anger ljuskällsprång, storlek anger strålintensitet.

Fig. 8: Absorption sedd i ett XY-tvärsnitt. Absorberad intensitet bestäms av koncentrationen, samplad sträcklängd och absorptionskoefficienten $\mu_{abs}(\lambda)$ enligt Beer-Lamberts lag. Sträckkodning anger ljuskällsprång, storlek anger strålintensitet.

Fig. 9: Multipelspridning sedd i XY-tvärsnitt. Spridningsintensitet bestäms av vinkel, spridningskoefficient $\mu_{sca}(\lambda)$, anisotrop spridningsfaktor $g(\lambda)$ och flykttid enligt diffusionsekvationen eller Monte-Carlo-metoder. Sträckkodning anger ljuskällsprång, storlek anger strålintensitet.

Fig. 10: Fluorescens sedd i XY-tvärsnitt. Fluorescensintensitet bestäms av koncentrationen, samplad sträcklängd, vinkel, absorptionskoefficienterna μ_{abs} , och fluorescensutbytet i EEM, $F(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$, livstiden $\tau(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$ och provtemperaturen. Sträckkodning anger ljuskällsprång, storlek anger strålintensitet.

Fig. 11: Emission sedd i XY-tvärsnitt. Emitterad intensitet bestäms av provtemperaturen, λ och emissiviteten enligt Plancks, Stefan-Boltzmanns och Wiens lagar.

Fig. 12: Tvärsnitt i XY med utvidgning för polarisationskänsliga fenomen. i: linjärt polarisationsfilter. Fresnelsekvationer, Mie-spridningsteori, Rayleighspridning och anisotrop

fluorescens ger upphov till att olika polarisationer ger olika intensiter. Totala antalet ljussträckor: $2 \cdot (2 \cdot N)^2$, N = antalet spektralband.

Fig. 13: Minatyrisering med SMD, array-detektor och kilfilter. j: Linjärt CCD eller CMOS-chip. k: Kilfilter med cut-off våglängd ändras kontinuerligt längs z-axeln. l: ytmonterad SMD LED. m: kretskort, PCB. Totala antalet ljussträckor är $2 \cdot \text{Pix} \cdot 4 \cdot N$. Pix = antalet pixlar på CCD eller CMOS-chippet.

Fig. 14: Förslag på dispersion med konkavt gitter och bildchip. n: diffraktionsgitter, o: spalt, p: faskontrollerad (phase gated) bildförstärkare, intensifier, q: CMOS bildchip. Totala antalet ljussträckor: $\text{Pix} \cdot 4 \cdot N$.

Fig. 15: Elektroniskt blockdiagram. r: linjär eller logaritmisk förstärkare med fasdetektion, s: LED strömgenerator, t: temperaturkontrollkrets, u: PC strömförsörjning.

Fig. 16: Uppmätt gemensam anodspänning, d.v.s. våglängd i elektron volt (när man extrapolerar till $I=0$)

Fig. 17: Uppmätt resulterande elastisk signal för luft.

Fig. 18: Transmission för grön livsmedelsfärg.