

Titel: Metod och apparat för bestämning av avklingningstider för pulsstimulerade signaler

Inledning

Temporal analys av avklingande signaler efter pulsad stimulering utförs med flera olika mätapparaturer. Om den temporala pulslängden av excitationspulsen är kortare än avklingningstiden hos responssignalen kan responssignalen betraktas som impulsresponsfunktionen för det undersökta systemet.

I naturen finns en uppsjö av system som har impulssvarsfunktioner som liknar exponentiella avklingningar, vilket innebär att avklingningstiden är proportionell mot signalintensiteten. Exempel på sådana system är luminiscens som emitteras från atomer, molekyler och mer komplexa strukturer såsom kvantprickar, sällsynta jordartsmetaller bundna i kristallina strukturer, etc.

Vad det gäller analys av elektromagnetiska signaler konverteras fotoner till elektriska signaler med hjälp av elektro-optiska sensorer. Avklingningstider för denna typ av luminiscenssignaler, som nämns ovan, innehåller ibland information såsom temperatur, tryck, partikelstorlek för de partiklar som sänder ut ljuset, koncentrationer av omgivande molekyler, luminiscensens fysiska natur, vilket/vilka ämnen som sänder ut ljus, osv. Dessa parametrar är inte enbart viktiga inom olika forskningsfält såsom medicin, biologi, fysik och kemi, utan även inom ingenjörskonst samt kommersiella applikationer inom vilka verktyg för att mäta dessa parametrar utvecklas. Sådana applikationer skulle kunna vara; analys av fosforescensavklingningstider för temperaturbestämning, bestämning av fluorescensavklingningstider för att utvärdera medicinska, biologiska, kemiska och fysiska egenskaper hos medicinska och biologiska prov, kartläggning av olika vävnadstyper via autofluorescens, mixningsstudier inom fluidmekanik eller för att bestämma äktheten av konstverk (beskrivet i patent WO2004/001400 A1).

Även om metoden som beskrivs i föreliggande patentansökan kan användas för bestämning av avklingningstider för responssignaler i allmänhet, ges endast exempel på applikationer inom analys av optiska signaler. För att erhålla ett impulssvar i form av luminiscens behövs en excitationspuls av elektromagnetisk natur eller i form av laddade partiklar. Exempel på excitationsskällor är lasrar, diodlasrar och lysdioder (kallade LED för Light Emitting Diode). Vad det gäller analys av elektromagnetiska signaler finns kommersiella detektionssystem tillgängliga som tillhandahåller temporal information hos en signal från en punkt om punktdetektorer såsom fotodioder (PD) eller fotomultiplikatorer (PMT) används. Temporal information i en dimension (längs en linje) kan fås via detektorer som baseras på en array av fotodioder eller fotomultiplikatorer, samt för två dimensioner (bilder) där ICCD-, EMCCD- och C-MOS-kameror samt liknande produkter används. Alla detektorer som konverterar en avklingande elektromagnetisk signal till en elektrisk signal med liknande temporal form som den elektromagnetiska signalen kan användas för att bestämma en avklingningstid eller åtminstone skilja två avklingningstider från varandra.

Vanligtvis behandlas dessa avklingande signaler som om de vore exponentiellt avtagande och betydande insatser har gjorts för att ta fram utvärderingsalgoritmer för bestämmande av avklingningstiden hos exponentialfunktioner.

Det finns ett flertal olika approacher för utvärdering av avklingande signaler, framförallt om rumslig upplösning i en eller två dimensioner är av betydelse.

Generellt sett kan avbildande metoder delas in i två grupper; den ena gruppen är de metoder som har en- eller tvådimensionell detektor (såsom vektor- eller kameran sensorer) samt de metoder som successivt bygger upp en bild genom att skanna excitationssluset över provet och på så sätt separat samla in signal från varje enskild pixel i den slutgiltiga bilden. Oberoende av vilken av dessa två grupper som de etablerade mätmetoderna bygger på kan tre olika koncept identifieras för att mäta avklingningstider hos luminiscenssignaler:

1. Analys i frekvensdomänen (FD)
2. Analys i tidsdomänen (TD)
3. Tidskorrelerad singel-fotonräkning (TCSPC)

Nedan återfinns korta beskrivningar av de tre koncepten.

FD

För bestämning av avklingningstiden hos optiska signaler används i frekvensdomänen en intensitetsmodulerad excitationsskälla. Den består vanligtvis av en lysdiod, diodlaser eller laser och modulationsfrekvensen ligger vanligtvis i kHz-GHz-området beroende på avklingningstider för de signaler som ska mätas. Detektorn kan bestå av en fotomultiplikator, en rad med intilliggande fotomultiplikatorer eller en förstärkt CCD-kamera (ICCD). Efter det att signalen har blivit konverterad från fotoner till elektroner jämförs den detekterade signalen med excitationsmodulationen. Denna jämförelse kan göras antingen genom att modulera detektorns förstärkning med samma frekvens som excitationsskällan eller genom att använda en lock-in-förstärkare. Fas-skiftet och demoduleringen mellan excitationsskällan och detektorns förstärkning kan mätas. Från dessa mätdata kan fas-skiftet och demoduleringen till följd av den optiska signalens livstid erhållas, och livstiden kan bestämmas.

TD

Avklingningstidsbestämning för optiska signaler i tidsdomänen utförs med hjälp av kameror (ICCD, CMOS, etc) med så kallad gate. Excitationsskällan består av en kortpulsad lysdiod, diodlaser eller laser. Kamerans gate sätts till att vara öppen och stängd under olika tidsintervall av signalens avklingning. De flesta kommersiella system innehåller en kamera. Därmed måste minst två excitationer göras för att kunna extrahera avklingningstiden hos den optiska signalen. Det finns flera scheman för ta bilder och analysera signalerna som lagrats i varje kamerapixel. Algoritmer som medger snabb utvärdering kallas Rapid Lifetime Determination (RLD), och livstider bestäms i varje pixel i en bild. Dessa algoritmer utnyttjar kamerans gate för att kontrollera integrationstiden under signalen enligt följande ekvation:

$$D = \int_{t_{open}}^{t_{close}} I_0 e^{-t/\tau} dt$$

där D är det totala antalet integrerade counts, t_{open} är tiden då kameragaten öppnas, t_{close} är tidpunkten då kameragaten stängs, och integranden är exponentialfunktionen med avklingningskonstant τ .

TCSPC

TCSPC är en akronym för time-correlated single photon counting (tidskorrelerad singelfotonräkning) och det kan användas för punktmätningar. En bild skapas genom att excitation och detektion skannas över mätprovets yta. Tidsskillnaden mellan laserexcitationspulsen och signalfotonerna bestäms och sparas i ett minne. Utvärderingen of

luminiscensens avklingningstid görs oftast genom en kurvanpassning med någon typ av felmått, vanligtvis minsta kvadratmening.

Metoden som beskrivs i denna patentansökan kan mycket väl implementeras i mätuppställningar/apparater som utnyttjar TD- eller TCSPC-tekniker eftersom pulsad excitation används. Dock bör det tydligt påtalas att metoden som beskrivs i förevarande patentansökan inte är begränsad till analys av optiska signaler. Metoden kan med fördel användas till alla typer av responsfunktioner som konverteras till elektriska signaler. Vidare behöver inte den avklingande signalen likna en exponentiellt avklingande signal. Även om avklingningarna är linjära, multi-exponentiella, inversa, etc kan metoden som beskrivs i denna patentansökan användas för att skilja olika avklingningstider åt.

Sammanfattning av uppfinningen

Idén bakom uppfinningen är att förstärka/modulera en avklingande signal med hjälp av olika förstärkningskaraktistik och därefter integrera den modulerade signalen. Ett eller flera signalförhållande/signalförhållanden formas ifrån de integrerade värdena som resulterat från de olika förstärkningarna/moduleringarna av signalen. Förstärkningen/modulationen gör signalförhållandet till en funktion av avklingningstiden hos den avklingande signalen. Därmed är det för varje förstärkningsprofil möjligt att integrera hela signalen. Eftersom att det är produkten mellan förstärkningsfunktionerna och signalfunktionen som integreras bestämmer förstärkningsfunktionerna om integranden går mot noll innan signalnivån är noll. De olika förstärkningarna ska vara kända eller mätas tillsammans med excitationspulsen. De förstärkta/modulerade signalerna kan därefter beräknas för olika signalavklingningstider. Först faltas signalen med excitationspulsen. Sådana beräkningar skulle också kunna utföras genom användandet av mer sofistikerade metoder, t.ex. lösande av rate-ekvationer eller densitetsmatrisekvationer. Vidare, typiska signaler skulle kunna mätas och utgöra en databas/ett bibliotek av signaler med olika avklingningstakter som sedan skulle fungera som inputdata i beräkningarna. Om excitationspulsens tidsduration is mycket kortare än signalens avklingningstid är det inte alltid nödvändigt att utföra faltningen. Å andra sidan, om excitationspulsen är av samma storleksordning eller längre än avklingningstiden är det fortfarande möjligt att använda denna metod givet att den temporala formen hos de avklingande signalerna är kända. Dessa skulle kunna bestämmas antingen genom beräkningar eller mätningar, såsom nämnt ovan. Härnäst multipliceras signalen med förstärkningsfunktionerna och samma förhållanden som för mätdatan formas. De beräknade förhållandena jämförs sedan med de uppmätta för att finna avklingningstiden/avklingningstiderna för mätdatan. Detta detektions/utvärderingsschema kan appliceras för punktmätningar, mätningar längs en linje samt för två-dimensionella mätningar. Signalen kan utgöras av en godtycklig avklingande signal; elektrisk, optisk (infraröd, synlig, ultraviolett), radioaktiva partiklar, etc.

Korta figurbeskrivningar

Ytterligare saker, särdrag och fördelar med uppfinningen kommer att bli synbara från följande detaljerade beskrivning av konkretiseringar av uppfinningen med avseende på ritningarna, i vilka:

Figur 1. Schematisk illustration av metoden då en optisk signal omvandlas till en elektrisk signal och därefter delas upp i minst två elektriska signaler.

Figur 2. Schematisk illustration av metoden då en elektrisk signal splittras upp i minst två elektriska signaler som sedan förstärks/moduleras med förstärkningsfunktioner med olika temporal karaktäristik.

Figur 3. Schematisk illustration av metoden då åtminstone två stimulerande pulser används för att få mätprovet att sända ut åtminstone två signaler som konverteras till elektriska signaler.

Figur 4. Schematisk illustration av metoden då minst två sensorer används för att detektera signalen från en enda pulsad stimulering av mätprovet.

Figur 5. Monte Carlo simuleringar av exponentiella avklingningar som uppmäts med två olika set av förstärkningsfunktioner. (a) Den exponentiella avklingningen och rektangelformade (övre) och rampade förstärkningarna (nedre). (b) Meritfiguren för de två seten av förstärkningsfunktioner. Den solida kurvan korresponderar till de rampade förstärkningarna och den är oberoende av avklingningstiden med ett meritvärde lägre än 2. (c) Medelvärdesfelet för bestämda avklingningstider. (d) Det relativa felet i uppmätt avklingningstid är näst intill konstant för den rampade förstärkningskonfigurationen i motsats till de rektangelformade förstärkningarna.

Figur 6. Schematisk illustration av den fulla analysproceduren beskriven i föreliggande patentansökan. Ett referensbibliotek av signalförhållanden för olika avklingningstider formas. Om till exempel funktionstypen för den avklingande mätprovsignalen är känd och excitationspulssignalens funktion samt förstärknings/modulationsfunktionerna har mätts upp kan simulerade mätprovsignaler med olika avklingningstider faltas med excitationspulsfunktionen för att sedan multipliceras med förstärkningsfunktionerna. Ett alternativt angreppssätt är att utnyttja ett set av uppmätta signaler med olika avklingningstider för att generera referensbiblioteket. Efter multiplikation med förstärkningsfunktionerna integreras de simulerade signalerna och signalförhållanden skapas på samma sätt som för mätdata. De ration som erhålles från mätningar jämförs sedan med beräknade ration för att extrahera avklingningstiden/avklingningstiderna för mätprovssignalen.

Figur 7. Schematisk illustration av en experimentell uppställning som använts för livstidsavbildning i två dimensioner av fluorescenssignaler från mätningar i gas. Laserstrålen expanderas med hjälp av ett sfäriskt teleskop (TS) och fokuseras därefter till ett laserark i mätvolymen med hjälp av en cylinderlins (CL). En triggningspuls (TP) skickas till de två ICCD-kamerorna samt till en triggningslåda (TB) som används för att skicka ut triggningspulser till en streackamera och en MCP-PMT.

Figur 8. Simultant tagna laserinducerade fluorescensbilder (LIF) från singel-pulsexcitation av en toluenseedad luftjet med ett omgivningsflöde bestående av kvävgas syns i (aexp) och (bexp), tagna med en kamera med 2 ns bred gate respektive en kamera med 400 ns bred gate. I (asim) och (bsim) återges grafiska beskrivningar av simuleringar av detekterad ICCD-kamerasignal. De tjocka solida gråa kurvorna visar simulerade LIF-signaler, den streckade ljusgrå kurvan i (asim) är den 2 ns långa gatefunktionen medan den stigande flanken för den 400 ns långa gaten syns i (bsim). Areorna är de simulerade signalerna som detekteras av de två ICCD-kamerorna enligt ekvationerna (1) och (2).

Figur 9. Fluorescensavklingningstider utvärderade från 900 streackameraaccumuleringar (streckad och heldragen linje) tillsammans med singel-puls fluorescenslivstidsbilder som

uppmätts med hjälp av konceptet som beskrivs i föreliggande patentansökan (fyllda och öppna cirklar med felstaplar). Två blandningar av syrgas och kvävgas användes som omgivande quenching-molekyler; 10.5/89.5 (öppna cirklar och streckad linje) och 17/83 (fyllda cirklar och solid linje).

Figur 10. En apparat för mätning av avklingningstider hos avklingande optiska signaler. Mätprovet exciteras med hjälp av en pulsad laser, lysdiod eller diodlaser. Strålning som sänds ut från mätprovet detekteras med hjälp av en eller flera sensorer. Fokuseringsoptiken och detektionsoptiken skulle kunna bestå av ett mikroskåp eller fiberkopplad optik alternativt en kombination av lämpliga linser. Lämpliga filterkombinationer används. De optiska signalerna konverteras till elektriska signaler av liknande temporal karakteristik som de från mätprovet utsända optiska, avklingande signalerna. De elektriska signalerna förstärks/moduleras genom användandet av antingen en eller flera detektorintegrerade förstärkare eller en eller flera externa förstärkare. De förstärkta/modulerade signalerna integreras därefter och ett eller flera signalförhållanden bildas. Detta/dessa signalförhållande/signalförhållanden används för extraktion av avklingningstiden/avklingningstiderna hos signalen från mätprovet. Det kan antingen finnas ett analytiskt samband mellan signalförhållande och avklingningstid eller så kan signalförhållandet/signalförhållandena simuleras för olika avklingningstider för den optiska signalen innan jämförelse med den/de experimentellt erhållna förhållandet/förhållandena.

Detaljerad beskrivning av detaljutföranden

Nedan beskrivs ett flertal konkretiseringar av uppfinningen. Dessa konkretiseringar beskrivs i ett illustrerande syfte för att möjliggöra för en person kunnig i ämnet att använda uppfinningen och att röja det mest lämpliga användningssättet. Uppfinningen är emellertid inte begränsad till nedan angivna konkretiseringar. Vidare visas och diskuteras vissa kombinationer och egenskaper. Andra kombinationer med andra egenskaper är emellertid fullt möjliga inom ramen för uppfinningen.

Det finns ett flertal detektions- och signalprocessscheman som skulle kunna användas inom ramen för föreliggande koncept. Dessa sammanfattas i figurerna 1-4. Figur 1 exemplifierar hur en singelpulsstimulering leder till en signal som antingen är av eller konverteras till en signal av elektrisk natur. Den elektriska signalen delas därefter upp i minst två signaler, vilka förstärks/moduleras med hjälp av funktioner som har olika temporal karaktäristik. Sedan integreras de förstärkta/modulerade signalerna. Utifrån de integrerade signalerna bildas ett eller flera förhållande som sedan används för att extrahera avklingningen för signalen från mätprovet. Figur 2 visar hur signalen från en enda pulsstimulering av mätprovet delas upp i minst två signaler innan detektion med minst två sensorer. Signalerna förstärks/moduleras med hjälp av åtminstone två förstärkningsfunktioner med olika temporal karaktäristik. De förstärkta/modulerade signalerna integreras därefter. Ett eller flera förhållanden formas och detta/dessa används för att extrahera avklingningen för signalen från mätprovet. Figur 3 visar hur åtminstone två stimuleringspulser används för att få mätprovet att sända ut åtminstone två signaler. Dessa signaler detekteras med hjälp av en eller flera sensorer med olika förstärknings/modulationsfunktioner för de olika signalerna från mätprovet. Signalerna integreras och de integrerade signalerna används för att forma ett eller flera förhållande som används för att extrahera avklingningen för signalerna från mätprovet. Figur 4 visar hur åtminstone två sensorer används för att detektera signalen från en singelpulsstimulering av ett mätprov. De olika sensorerna kan till exempel beskåda mätprovet från olika vinklar. De olika sensorerna använder sig av olika förstärknings/modulationsfunktioner och de

förstärkta/modulerade signalerna integreras därefter. De integrerade signalerna används för att forma ett eller flera förhållande som används för att extrahera avklingningen för signalen från mätprovet.

I nedanstående konkretiseringar observeras avklingande fluorescenssignaler efter excitation med laserpulser som har pulslängder på pikosekundsskala. Detektions- och analys-schemat som beskrivs är dock inte begränsat till fluorescensavklingningar. Signalen skulle kunna utgöras av vilken avklingande signal som helst.

För enkelhets skull kommer endast två förstärkningsfunktioner att användas i nedanstående konkretiseringar. I realiteten bestäms det övre antalet förstärkningsfunktioner som kan appliceras av hårdvaru- och mjukvarubegränsningar. Om rampade funktioner används kan analytiska uttryck härledas. Det kommer dock att framgå att uppfinningen inte är begränsad till användandet av rampliknande funktioner.

Antag en situation där den effektiva avklingningen för en avklingande signal beskrivs av en enkel exponentialfunktion och beteckna de två förstärkningsfunktionerna G_1 respektive G_2 . Den exponentiella avklingningen utgör emellertid enbart ett exempel. Det skulle kunna vara en godtycklig avklingande signal, men det är dock inte säkert att en godtycklig signal möjliggör analytiska lösningar och är därmed inte lämpligt i illustrationssyfte.

Två signaler, I_1 och I_2 , erhålles. Antingen kan en signal detekteras och sedan delas upp i två delar eller kan två sensorer användas för att erhålla två signaler eller kan två signaler erhållas genom användandet av en enda detektor i kombination med två excitationer. Signalerna kan beskrivas av följande ekvationer:

$$I_1(\tau, t_1, \delta) = \int_{-\infty}^{\infty} s(t, \tau) G_1(t - t_1 - \delta_1) dt \quad (1)$$

$$I_2(\tau, t_2, \delta) = \int_{-\infty}^{\infty} s(t, \tau) G_2(t - t_2 - \delta_2) dt \quad (2)$$

där τ är signalens avklingningstid, t_1 och t_2 är förstärkningsfunktionernas tidsfördröjningar relativt excitationen och δ_1 respektive δ_2 är tidsjittren för förstärkningsfunktionerna relativt excitationen. Integrationsintervallet är satt från $-\infty$ till $+\infty$ för enkelhets skull med tanke på att integranderna är skilda ifrån noll endast i begränsade intervall. Naturligtvis används kortare intervall i realiteten.

Ett signalförhållande, R , kan formas på olika sätt. Tre exempel ges av ekvation (3), ekvation (4) och inversen av ekvation (4), vilken återges i ekvation (5):

$$R = \frac{I_1}{I_2} \quad (3)$$

$$R = \frac{I_1}{I_1 + I_2} \quad (4)$$

$$R = \frac{I_1 + I_2}{I_1} \quad (5)$$

Om integranderna, $S(t, \tau)G_i(t - t_i - \delta)$, i ekvationerna (1) och (2) betecknas $F_1(t, \tau)$ respektive $F_2(t, \tau)$ kan R skrivas på följande sätt:

$$R = \frac{\int_{-\infty}^{\infty} F_1(t, \tau) dt}{\int_{-\infty}^{\infty} F_2(t, \tau) dt} \quad (6)$$

$$R = \frac{\int_{-\infty}^{\infty} F_1(t, \tau) dt}{\int_{-\infty}^{\infty} [F_1(t, \tau) + F_2(t, \tau)] dt} \quad (7)$$

$$R = \frac{\int_{-\infty}^{\infty} [F_1(t, \tau) + F_2(t, \tau)] dt}{\int_{-\infty}^{\infty} F_1(t, \tau) dt} \quad (8)$$

för ekvationerna (3), (4) och (5). I dessa ekvationer kan $F_i(t, \tau)$ tolkas som den icke-normaliserade sannolikhetsfunktionen för tiden vid vilken till exempel en elektron kommer fram från förstärkningselektroniken. Genom att derivera R med avseende på τ samtidigt som det antas att signalen beskrivs av en faltning mellan en Gaussisk funktion (excitationspulsen) och en enkel avklingande exponentialfunktion härleds följande uttryck för ekvationerna (6), (7) och (8):

$$\frac{dR}{d\tau} = \frac{1}{\tau^2} \frac{\int_{-\infty}^{\infty} t F_1(t, \tau) dt \cdot \int_{-\infty}^{\infty} F_2(t, \tau) dt - \int_{-\infty}^{\infty} F_1(t, \tau) dt \cdot \int_{-\infty}^{\infty} t F_2(t, \tau) dt}{\left\{ \int_{-\infty}^{\infty} F_2(t, \tau) dt \right\}^2} \quad (9)$$

$$\frac{dR}{d\tau} = \frac{1}{\tau^2} \frac{\int_{-\infty}^{\infty} F_1(t, \tau) dt \cdot \int_{-\infty}^{\infty} F_2(t, \tau) dt}{\left\{ \int_{-\infty}^{\infty} [F_1(t, \tau) + F_2(t, \tau)] dt \right\}^2} \cdot \left[\frac{\int_{-\infty}^{\infty} t F_1(t, \tau) dt}{\underbrace{\int_{-\infty}^{\infty} F_1(t, \tau) dt}_{E_1(t)}} - \frac{\int_{-\infty}^{\infty} t F_2(t, \tau) dt}{\underbrace{\int_{-\infty}^{\infty} F_2(t, \tau) dt}_{E_2(t)}} \right] \quad (10)$$

$$\frac{dR}{d\tau} = \frac{1}{\tau^2} \frac{\int_{-\infty}^{\infty} t F_2(t, \tau) dt \cdot \int_{-\infty}^{\infty} F_1(t, \tau) dt - \int_{-\infty}^{\infty} t F_1(t, \tau) dt \cdot \int_{-\infty}^{\infty} F_2(t, \tau) dt}{\left\{ \int_{-\infty}^{\infty} F_1(t, \tau) dt \right\}^2} \quad (11)$$

I ekvation (10) är $E_i(t)$ förväntningsvärdet i tiden för $F_i(t, \tau)$. Därmed, för att ekvation (10) ska ha en entydig lösning får inte förväntningsvärdena för $F_1(t, \tau)$ och $F_2(t, \tau)$ sammanfalla. Det framgår även att liknande villkor gäller för ekvationerna (9) och (11) även om distributionsfunktionerna, $F_i(t, \tau)$, i dessa fall inte är ordentligt normaliserade. Till synes kan vilken kombination av två olika förstärkningsfunktioner användas. Det inkluderar även två likadana funktioner med olika t_i .

Utifrån ett teoretiskt perspektiv är emellertid $G_1=At$ och $G_2=A$ den bästa kombinationen för förhållandet som formades i ekvation (3). För ekvation (4) är det optimala valet av förstärkningsfunktioner $G_1=Bt$ och $G_2=-Bt+B$. Med dessa val av förstärkningsfunktioner gäller likhet mellan avklingningstiden τ och förhållandena som formats i ekvationerna (3) och (4), det vill säga fullständigt linjära samband utan någon offset. För förhållandet i ekvation (5) leder rampade förstärkningsfunktioner till ett inversförhållande mellan signalavklingningstid och format förhållande. Ett sådant val av förhållande skulle kunna vara fördelaktigt under vissa omständigheter om signalens avklingningstid ska användas för mätningar av ämneskoncentrationer.

Teoretiskt ger rampade förstärkningsfunktioner lika hög känslighet för alla avklingningstider. Det kan jämföras med standard-RLD-metoder, vilka i princip enbart fungerar bra inom begränsade intervall av avklingningstider. Detta faktum illustreras i figur 5 där valet att använda två rampade och två rektangulära förstärkningsprofiler jämförs. Resultaten som presenteras är framtagna med hjälp av Monte Carlo-simuleringar av 500 emitterade, Poissonfördelade partiklar med en exponentiellt avtagande partikelström. Simuleringarna upprepades 1000 gånger för att generera statistik.

De rektangulära förstärkningsfunktionerna i figur 5a består av två på varandra följande tidsfönster med 3 ns längd. AB är signalens amplitud och LIF återges av de tjocka, solida, avklingande kurvorna. De rampade förstärkningsfunktionerna är definierade inom ett tidsfönster som är 40 ns brett. De två rampernas lutningar har samma absolutbelopp, men olika tecken. Figur 5b visar meritfigurerna för de två valen av förstärkningsfunktioner. Meritfiguren är definierad som $(\sigma_\tau/\tau) \cdot (\sigma_N/N)$, där σ_τ är standardavvikelsen i τ och σ_N är signalens standardavvikelse. För Poissonstatistik gäller att $\sigma_N = \sqrt{N}$. Meritvärdet är ett mått på hur brus förstärks av systemet och ska därmed vara så lågt som möjligt. Figur 5c illustrerar felet i τ och figure 5d visar τ/σ_τ som funktion av τ .

Förutom att ge lika god sensitivitet för alla avklingningstider är ramp-liknande förstärkningsprofiler enklare att realisera än vad rektangulära förstärkningsfunktioner är på grund av de höga frekvenskomponenter som är nödvändiga för att skapa den stigande och den fallande flanken hos rektangulära förstärkningsprofiler. Dessutom är det fördelaktigt att kunna integrera hela signalen eftersom att det ger maximalt signal-till-brusförhållande. Det bör dock ännu en gång betonas att rampade förstärkningskurvor enbart är det optimala valet för vissa signalkurvor. Vidare bör det påtalas att de tre förhållandena i ekvationerna (3), (4) och (5) enbart är exempel. Det finns fler sätt på vilka förhållande kan bildas med hjälp av två signaler.

Oberoende av vilka förstärkningsfunktioner som används är det fördelaktigt att på ett detaljerat sätt karaktärisera excitations- och detektionssystemen. Om förstärkningsprofilerna och excitationsfunktionen är kända eller kan mätas är det möjligt att bestämma avklingningstiden i princip utan några approximationer i analysen. Ett bibliotek av signalförhållanden kan beräknas för olika avklingningstider genom att räkna fram signalen som skulle erhållas för olika signalavklingningstider genom att utnyttja de applicerade förstärkningsfunktionerna och excitationsfunktionen. Genom att jämföra uppmätta signalförhållanden med de beräknade värdena i biblioteket kan avklingningen för signalen från mätprovet erhållas. Det är av största vikt att signalförhållanden bildas eftersom att det innebär att den initiala signalamplituden förkortas bort, vilket är nödvändigt för att beräknade värden på ett enkelt sätt ska kunna jämföras med uppmätta värden. Referensbiblioteket skulle alternativt kunna tas fram genom att förhållanden beräknas utifrån uppmätta avklingningsfunktioner. Figur 6 åskådliggör den generella proceduren.

Figur 7 visar den experimentella uppställning som använts för två-dimensionell avbildning av fluorescensavklingningstider genom användandet av två förstärkta CCD (ICCD) kameror då den optiska signalen delas och en pikosekundslaser används för excitation. Den tredje övertonen (266 nm) från en pulsad (10 Hz) Nd:YAG-laser med 30 ps pulsduration fokuserades till ett laserark som linjerades in i mätvolymen. Toluenseedad gas strömmade ut från ett rör med 2.2 mm diameter. Röret var instuckat i centrum av en porös plugg som möjliggjorde ett kontrollerbart omgivningsflöde som skyddade den centrala gasströmmen. Massflödeskontrollers användes för att generera syrgas/kvävgasblandningar till det centrala gasflödet och till omgivningsflödet via separata gasmatningssystem. Två ICCD kameror positionerades i rät vinkel i förhållande till varandra med en 70/30 stråldelare som för att leda signal till de båda kamerorna. Valet av stråldelare kan göras så att ett maximalt signal-till-brusförhållande erhålles för de två detektorerna, det vill säga för att kompensera för skillnader i till exempel sensitivitet, detektorbrus och signalsamlingseffektivitet. En gatebar MCP-PMT detekterade laserpulserna innan de nådde mätvolymen. Tidsseparationen mellan MCP-PMT-signalen och kamerornas förstärkningsmonitorpulser loggades med hjälp av ett 3 GHz digitalt oscilloskop. Därmed möjliggjordes jitterkorrektion för varje enskild excitationspuls vid dataanalysen. Bilder över avklingningstider verifierades längs en horisontell pixelrad genom gasströmmen genom jämförelse med streakkameramätningar. En streakkamera är en kommersiellt tillgänglig detektor som i en dimension kan upplösa förlopp som sker på pikosekundsskala. Bilder av ett rutsystem togs innan varje mätning för att överlappa bilderna tagna med de två kamerorna. Ett egenhändigt skrivet matlabprogram baserat på simulated annealing användes för att hitta en bildtransformation som pixel-till-pixelöverlappade bilderna tagna med de två kamerorna.

Från en enda excitation togs två LIF-bilder med olika kameraförstärkningskaraktistik. Typiska experimentella resultat vid användandet av en 2 ns gate och en 400 ns gate återges i figurerna 8a_{exp} respektive 8b_{exp}. Laserpulsen mättes med hjälp av streakkameran och den temporala profilen visade sig beskrivas väl av en klockformad kurva med 30 ps full bredd vid halva maxvärdet (FWHM). Förstärkningsfunktionerna mättes genom att sekventiellt stega förstärkningsfördröjningen mellan kameragate och laserpuls samtidigt som Rayleighspridning från ett flöde av dammfri luft mättes. De uppmätta förstärkningsfunktionerna korrigerades för skillnader i våglängdskänslighet mellan Rayleigh- och LIF-våglängderna. För att göra denna korrektion utfördes sekventiell stegning av förstärkningsfördröjningstiden samtidigt som Rayleigh och LIF signaler mättes. Förhållanden mellan dessa båda signaler formades för båda kamerorna och multiplicerades med förstärkningsfunktionerna.

Grafiska beskrivningar av signalsimuleringarna visas i figur 8a_{sim} och figur 8b_{sim}. De tjocka, solida kurvorna visar LIF-signalen, vilken modelleras som en enkel avklingande exponentialfunktion faltad med laserpulsen. Kamerornas förstärkningsfunktioner, G_1 och G_2 , återges i form av de streckade kurvorna. Exponentialfunktionen multiplicerad med förstärkningsfunktionerna visas som de tunna svarta linjerna längs ytterkanterna på de solida gråa ytorna och de solida gråa ytorna illustrerar de integrerade signalerna, det vill säga värdena som erhålles i ett pixelpar för de två kamerorna.

Testsimuleringar av LIF-signalen gjordes för måttliga excitationintensiteter med hjälp av densitetsmatrisekvationer (density matrix equations; DME) och rate ekvationer (RE). Spektralt överlapp och detuning försumrades. Skillnaden som uppstod vid utvärderingen av fluorescensavklingningstider vid användande av faltning, rate ekvationer och densitetsmatrisekvationer var mindre än 0.1%. Därmed har användandet av faltning som är den enklaste av de tre motiverats. Det enklaste alternativet hade varit att helt enkelt använda exponentialfunktionen utan faltning med laserpulsen.

Figur 9 visar fluorescensavklingningstider uppmätta från en enda excitation i enskilda kamerapixlar längs en linje i dessa två-dimensionella gasfasmätningar. Detektions- och evalueringsalgoritmen som beskrivits ovan (förhållande enligt ekvation (4)) användes med förstärkningsfunktionerna som visas i figur 9. I figuren återges även resultatet från 900 medelvärdesbildade signaler uppmätta med streakkameran. Dessa streakkameramätningar gjordes för att validera metoden som beskrivs i föreliggande patentansökan. Det faktum att denna metod tillhandahöll tvådimensionella singel-excitationmätningar av avklingningstider kortare än 1 ns med 120 ps standardavvikelse utan att optimala förstärkningsfunktioner användes illustrerar den signifikant högre känsligheten jämfört med ett jämförbart, tillgängligt instrument såsom en streakkamera. Det ska påpekas att streakkameran enbart tillhandahöll avklingningstider längs en linje medan metoden som beskrivs i föreliggande patentansökan gav data i två dimensioner.

En apparat för bestämning av luminiscensavklingningstider visas schematiskt i figur 10. Ett mätprov exciteras med hjälp av en pulsad strålningskälla, med en laser, diodlaser eller lysdiod. Fokuserings/insamlingsoptiken skulle kunna vara ett mikroskop, fiberkopplad optik, linser, etc. Emitterad luminiscens detekteras i två insamlingar av en enda sensor eller i en enda insamling av två eller fler sensorer. Förstärkningsfunktionerna som multipliceras med signalerna har olika temporal karaktäristik, men åtminstone en beskrivs av en rampliknande funktion. De förstärkta/modulerade signalerna integreras och ett förhållande bildas. Det formade förhållandet jämförs med beräknade förhållanden. Dessa har beräknats antingen genom analytiska uttryck eller genom simuleringar (figur 5). De simulerade signalförhållanden har beräknats genom användandet av samma förstärkningsfunktioner som används för att förstärka/modulera signalerna. Signalavklingningen från mätprovet modelleras som en enkel exponentialfunktion, det vill säga den kan åtminstone approximativt beskrivas av en enkel exponentiell avklingning.