

## TCSPC 에 의한 DODCI 의 형광 소멸시간 및 비등방성 측정 연구

이민영·김동호

한국표준연구소 분광·색채연구실

(1990년 2월 3일 받음)

피코초 레이저와 고속 전자장치를 사용하여 subnanosecond에서 microsecond의 넓은 범위에 걸쳐서 발광 소멸 시간을 측정할 수 있는 time-correlated single photon counting(TCSPC) 장치를 개발하였다. 이 TCSPC를 사용하여 색소레이저에 있어서 saturable absorber로 많이 쓰이는 DODCI의 소멸시간 및 회전 완화시간을 측정함으로써 여기상태에서의 동력학과 회전운동에 관해 연구하였다.

### I. 서 론

물질의 laser-induced fluorescence 소멸시간이나 비등방성(anisotropy)을 측정하는 방법에는 streak camera나 frequency conversion, 또는 time-correlated single photon counting(TCSPC) 등이 있다. 이 중에서도 본 연구에서는 모드록킹된 Nd:YAG 레이저로 dual-jet 색소레이저를 동시 광펌핑하여 발생하는 subpicosecond 펄스를 cavity dumping 시킨 후, 시료를 여기상태로 만들어서 발생하는 형광을 time-to-amplitude converter(TAC)와 펄스 판별기 등의 고속 전자장치를 사용하여 탐지하는 TCSPC를 개발하였다. 이 장치는 현재 100 ps-10 μs의 형광 소멸시간을 측정할 수 있는데 본 연구는 saturable absorber로 많이 쓰이는 레이저 색소의 한 종류인 DODCI의 여기상태 소멸시간과 형광 비등방성에 관해 알아보려 한다. 또한 이와 같은 실험 data로부터 DODCI의 여기상태에서의 동력학이나 용액내에서의 회전운동에 관해서도 살펴보았다.

### II. 실험

TCSPC의 실험장치 구성은 크게 레이저 system과 전자장치 및 data 처리의 두 부분으로 나뉜다. Fig. 1은 높은 반복률을 가지면서 짧은 펄스폭(~1 ps)의 레이저 펄스를 발진시키는 장치의 구성도이다. 색소레이저의 광펌핑원으로는 미국 Coherent사의 Antares Nd:YAG 레이저가 사용되었다. 이 레이저가 76 MHz에서 모드록킹 되었을 때 average power는 1064 nm에서 10 W

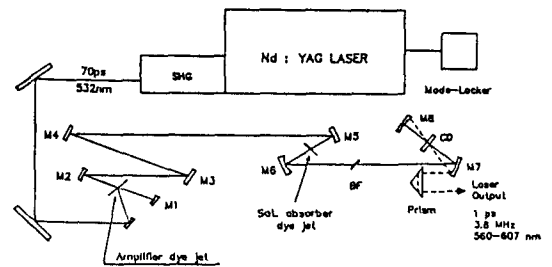


Fig. 1. Schematic diagram for the laser system used in this work. CD denotes cavity dumper.

정도였으며 펄스폭은 100 ps로 측정되었다. 이 파장을 KTP 결정으로 doubling 시켜 얻어지는 532 nm, 70 ps 펄스가 색소레이저를 동시 광펌핑하였다. 또한 색소레이저에 같은 Coherent사의 cavity dumper를 부착시켜서 반복률(repetition rate)을 150 kHz-10 MHz로 조절할 수 있게 하였다. 반복률을 조절해야 하는 이유는 소멸곡선의 decay가 한 excitation cycle 내에서 끝나도록 하기 위해서이다. Cavity dumping 시키면 펄스폭이 약간 증가(30% 정도)하기는 하나 펄스당 에너지가 열 배 이상 커지는 이점이 있다. 이 장치는 Nd:Yag 레이저를 tripling 시켜서 색소레이저를 펌핑하거나 또는 색소레이저 펄스를 doubling 함으로써 200-900 nm 정도까지 파장을 변화시킬 수 있다. 본 실험에서는 gain 색소로서 Rh6G를, saturable absorber로서 DODCI를 사용하였는데 이 때 색소레이저의 파장 변조범위는 560-607 nm 정도였다.

Fig. 2는 시료에서 방출되는 형광을 수집하고 분석하는

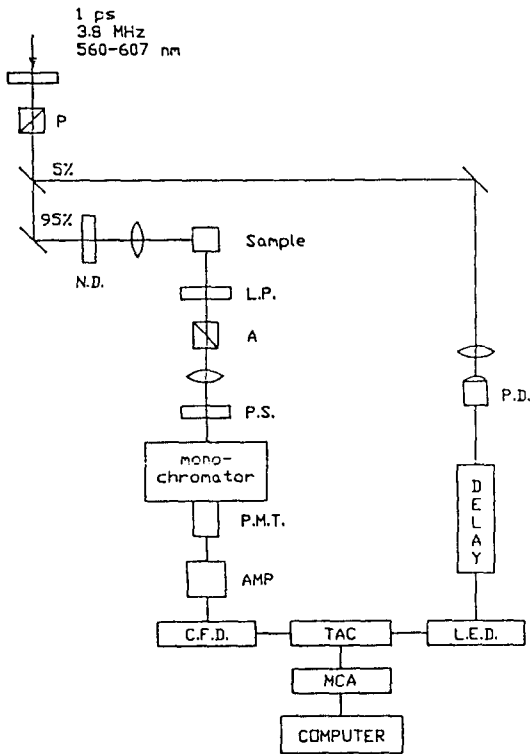


Fig. 2. Schematic diagram for the TCSPC electronics and data collection system. P.D. and P.M.T. are photodiode and photomultiplier tube respectively; N.D. & L.P., optical filters; P & A, polarizer & analyzer; P.S., Polarization scrambler; AMP, amplifier.

장치부분을 도시하였다. 색소레이저 펄스는  $\lambda/2$  mica retardation plate를 써서 수직으로 편광되게 하였으며 이 빛살은 빛살나뉘임장치에 의해 95/5의 비로 나뉘어지게 된다. 95%는 시료를 여기상태로 올리는데 사용되며 5%는 photodiode를 통해 trigger 신호로 사용된다. 필터, 편광분석기, 편광제거기 및 단색화장치 등을 통해 선택된 빛살은 PMT (Hamamatsu R928)를 통해 전기적 신호로 바뀌어지고 증폭되어 constant fraction discriminator(CFD)로 보내진다. 또한 photodiode 신호는 delay line을 거쳐 leading edge discriminator (LED)로 보내진다. TAC은 EG&G사의 biased time-to-amplitude converter(model 457)를 사용하였는데 이 TAC내의 축전기의 전압 charging은 photodiode 신호가 start 하게 되며 형광신호가 charging을 stop 시킨다. 이 voltage 크기가 MCA에서

digitize 되어 각 channel에 수록된다. MCA의 channel 총수는 2048개인데 각 channel은 그 시간 간격에서의 형광세기를 나타내게 된다.

TCSPC는 결국 trigger 광자와 발광광자와의 시간 상관관계를 측정하는 장치이기 때문에 다광자(multi-photon) 검출의 빈도가 높아질수록 data가 나빠지게 된다. 다광자를 검출할 확률은 다음의 Poisson statistics에 의해 주어진다.<sup>(1)</sup>

$$P_n = \frac{m^n}{e^m n!} \quad (1)$$

여기서  $P_n$ 은 들뜸 펄스(excitation pulse)당  $n$  광자를 검출할 확률이며  $m$ 은 들뜸 펄스의 총수에 대한 검출된 광자 수의 비율이다. 이를테면 들뜸 펄스의 수와 시료에 부착된 광검출기에서 검출된 광자 수가 같다면  $m=1$ 이 되는데 이 경우 (1)식에 의해 두 개의 광자 검출할 확률  $P_2$ 는 0.184가 된다. 이는 TCSPC data에 아주 큰 펄스 pile-up 오차를 유발한다. 실제 TCSPC 실험에 있어서는 neutral density filter 등을 사용하여 형광세기를 조절함으로써  $m$ 의 값을 2-3% 정도로 취하는 것이 일반적이다.

실험 data의 수집 및 처리는 퍼스널컴퓨터를 사용하였는데 수집은 EG&G사의 MCA data collection program을, curve fitting 등의 data 처리는 미국 Pennsylvania 대학의 레이저센터에서 개발된 data analysis software(lifetime)를 사용하였다.

### III. 결과 및 논의

#### 1. Instrument Response 및 Deconvolution

레이저 펄스가 물질의 여기상태의 소멸시간보다 충분히 짧아서  $\delta$ -function으로 간주된다 하더라도 관찰된 붕괴곡선은 검출장치의 감응에 의존하게 된다. 즉 실험적으로 얻어진 형광감쇠법칙은 기기감응 함수(instrument response function(IRF))와 실제감응법칙과의 convolution이다.<sup>(2)</sup>

$$I(t) = \int_0^t g(t') i(t-t') dt' \quad (2)$$

여기서  $I(t)$ 는 측정된 붕괴곡선이며  $g(t)$ 는 IRF, 그리고 실제 붕괴곡선인  $i(t)$ 는 일반적으로 지수함수의 선형 합으로 주어진다. 즉

$$i(t) = \sum A_i \exp(-t/\tau_{F,i}) \quad (3)$$

(2)식에서  $A_i$  및  $\tau_{r,i}$ 는 각각  $i$  성분의 진폭과 소멸시간이다. (2), (3)식으로부터 소멸시간을 구하기 위해서는  $I(t)$ 와 함께 IRF  $g(t)$ 도 알려져야만 한다. IRF의 모양은 레이저 펄스, PMT의 transit time spread (TTS) 및 전자장치에서의 time jitter 등에 의해 영향을 받게 되는데 IRF의 시간폭을 결정하는 가장 큰 요인은 바로 TTS이다. IRF는 보통 quartz diffuser나 형광이 없는 물질의 산란 등에 의해 구해진다.

Fig. 3은 590nm에서 quartz diffuser로부터 구한 본 TCSPC system의 IRF이다. 19개의 channel이 IRF의 FWHM에 해당되며 여기에 channel당 시간 52.8 ps를 곱해주면 IRF의 시간폭이 1.0 ns임을 알 수 있다.

실험적으로 얻어진  $I(t)$ 와  $g(t)$ 로부터  $i(t)$ 를 얻는 deconvolution 방법 중 대표적인 것으로는 Simplex, Vector, Fourier 또는 Laplace transform 및 method of moments 등이 있다. 간단한 일차지수 감쇠인 경우 어떠한 algorithm을 사용해도 큰 차이가 없으나 여러 성분의 지수 감쇠나 비등방성 data에는 deconvolution 속도가 빠르고 수렴문제가 없는 algorithm의 사용이 필수적이다. Deconvolution은 (2)식을 통해 계산된 소멸곡선과 실험 data가 가장 잘 일치할 때 까지 반복된다. 이때 fit의 좋은 정도를 판단하는 기준이 되는 것이 바로 weighted residual과  $\chi^2$ 이다.<sup>(3)</sup>

$i$  channel에서의 weighted residual은

$$W_i = \frac{\{I(t_i) - Y(t_i)\}^2}{I(t_i)} \quad (4)$$

여기서  $Y(t)$ 는 IRF와 trial  $i(t)$ 와의 convolution이다. 한편  $\chi^2$ 는

$$\chi^2 = \frac{\sum W_i}{n_2 - n_1 + p} \quad (5)$$

여기서  $p$ 는 변수의 총 수이다.

$\chi^2$ 의 값은 fit이 완전할 경우 1에 접근하게 되나 보통이 값이  $1 \pm 0.3$ 이고 weighted residual이 무작위하게 분포되어 있으면 curve fitting이 만족스럽다고 이야기할 수 있다.

### 2. 소멸시간 측정

원자나 분자가 초단 레이저 펄스의 광자를 흡수하면 여기상태로 존재하게 되는데 이 때의 소멸시간은 다음과 같이 주어진다.

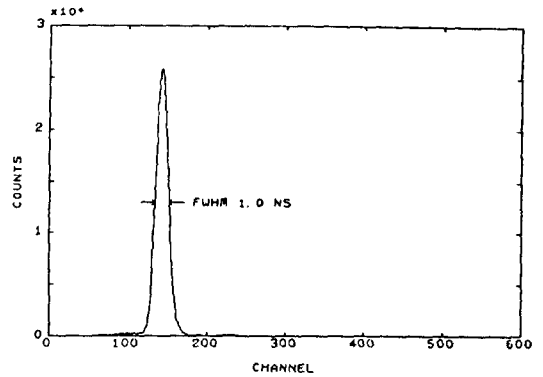


Fig. 3. Instrument response function of the TCSPC system using the Hamamatsu R928 PMT. Time per channel is 52.8 ps.

$$\tau_r = \frac{1}{k_r + \sum k_{nr,i}} \quad (6)$$

여기서  $k_r$ 은 radiative decay rate(natural lifetime의 역수)이며  $k_{nr,i}$ 은  $i$ 에너지 준위로의 non-radiative decay rate이다.  $k_r$ 은 다원자 분자의 경우 Einstein formula를 수정한 다음의 Strikler-Berg 식으로부터 구해진다.<sup>(4)</sup>

$$k_r = 2.880 \times 10^{-9} n^2 \langle \nu_r^{-3} \rangle^{-1} (g_1/g_2) f_\epsilon d l n \nu \quad (7)$$

여기서  $n$ 은 용매의 굴절률,  $g_1$ 과  $g_2$ 는 각각 기저상태와 여기상태의 축퇴(degeneracy)이며  $\epsilon$ 는 흡수계수이다.  $\langle \nu_r^{-3} \rangle$ 는 다음 식에 의해 형광스펙트럼으로부터 구해진다.

$$\langle \nu_r^{-3} \rangle = \frac{\int \nu^{-3} I_f(\nu) d\nu}{\int I_f(\nu) d\nu} \quad (8)$$

윗 식들에서  $\nu$ 의 단위는  $\text{cm}^{-1}$ 이다. 따라서  $k_r$ 값을 시료의 흡수 및 발광스펙트럼으로부터 계산하고  $\tau_r$ 를 실험적으로 측정하면 (6)식으로부터 non-radiative decay process들에 관한 정보를 얻을 수 있다.

Fig. 4에는 DODCI의 측정된 형광 소멸곡선과 IRF를 log scale로 함께 도시하였다. 형광 소멸곡선은 분자의 회전운동에 의한 영향을 제거하기 위하여 analyzer를 magic angle( $54.7^\circ$ )에 놓고 측정하였다. IRF의 최대값으로부터 약 4.5 ns 후에 나타나는 두번째 peak는 형광세기가 1% 미만으로서 이것은 PMT의 response에 기인하는 것이며 13 ns 후에 생기는 작은 peak는 76 MHz로 동시 모드록킹된 색소레이저 펄스의 흔적이다. 이와 같은 사실은 Fig. 4에서 보는 바와 같이 decon-

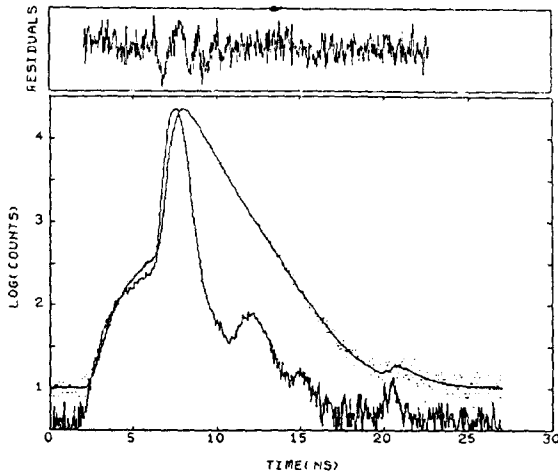


Fig. 4. IRF and fluorescence decay curve of DODCI in ethylene glycol in the logarithm scale. Excitation wavelength and collection wavelength for emission are 580 nm and 650 nm respectively. The solid line is a non-linear curve fit, employing the Vectr fitting routine. No time shift has been observed between IRF and the decay curve.

volution을 통하여 계산된 형광곡선이 실험 data와 잘 일치하는 사실로부터 알 수가 있다. 또한  $\chi^2$ 도 비교적 만족스러운 값인 0.78이 얻어졌으며 weighted residual도 peak부분을 제외하고는 무작위하게 분포되어 있다. Deconvolution을 통해 얻어진  $\tau_f$ 는 1.22 ns이다.

Strikler-Berg 식으로부터 구한 ethylene glycol에 녹아 있는 DODCI의  $k_r$ 은  $0.43 \text{ ns}^{-1}$ 이며 따라서 non-radiative decay rate  $\Sigma k_{nr,i}$ 은  $0.41 \text{ ns}^{-1}$ 임을 알 수가 있다. 여기상태에 있는 분자들의 non-radiative decay channel로서는 기저상태로의 internal conversion, 삼중상태로의 intersystem crossing 등이 존재하는데 DODCI의 경우 isomerization process가 주 붕괴 channel로 알려져 있다.<sup>(5)</sup> 다시말해서 DODCI의 trans 구조에서 cis 구조로 바뀌는 time scale은 여기상태에서 2.5 ns 정도된다. DODCI나 유사한 분자들인 stilbene, diphenylbutadiene 등의 여기상태에서의 동력학적 process를 연구하는 분야는 지난 십여년간 아주 활발하며 본 연구실에서도 현재 추진 중에 있다.<sup>(6,7)</sup>

### 3. 형광 비등방성(Fluorescence Anisotropy)

용액 내에서 시료들의 transition dipole은 무작위하게 분포되어 있기 때문에 비등방성이 존재하지 않는다. 그러나 평면편광된 레이저 빔이 조사될 때 같은 방향으

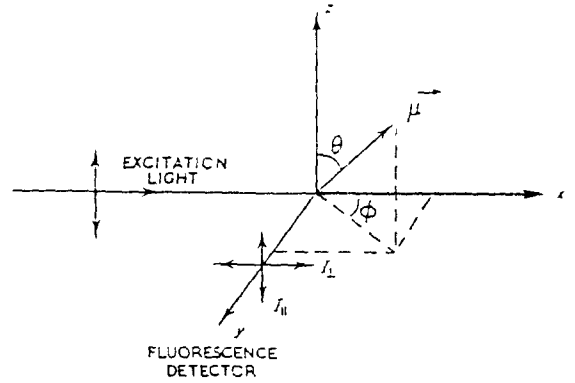


Fig. 5. Polarization geometry to detect the polarization curves,  $I_{||}$  and  $I_{\perp}$ .

로 정렬된 transition dipole을 가지는 시료분자들만이 선택적으로 빛을 흡수하게 되므로 방출되는 빛은 편광되어 있다. 이와 같은 형광을 편광분석기를 사용하여 다른 각도에서 포착하여 시료분자들의 에너지 전이나 회전운동 등을 연구하는 수단으로써 형광 비등방성 방법이 사용된다. 이와 같은 원리를 Fig. 5에 간단한 도식으로 나타내었다.

시간의존성을 갖는 형광의 편광 비등방성은 transition dipole의 이차 Legendre polynomial의 상관관계 함수의 붕괴이다. 즉

$$r(t) = 2/5 \langle P_2(\mu(0) \cdot \mu(t)) \rangle \quad (9)$$

윗 식의 해는 분자의 모양이나 transition dipole과 분자 축과의 각도에 따라 달라지는데 symmetry 축을 가지지 않는 분자의 경우의  $r(t)$ 는 대단히 복잡하다.<sup>(8,9)</sup> DODCI 분자는 근사적으로 타원구로 간주될 수 있으므로 이 때의 해는

$$r(t) = 2/5 \{ A_1(\theta) \exp(-6D_{\perp}t) + A_2(\theta) \exp[-(5D_{\perp} + D_{\parallel}t)] + A_3(\theta) \exp[-(2D_{\perp} + 4D_{\parallel}t)] \}, \quad (10)$$

$$A_1(\theta) = (3/2 \cos^2 \theta - 1/2)^2,$$

$$A_2(\theta) = 3 \cos^2 \theta \sin^2 \theta,$$

$$A_3(\theta) = 3/4 \sin^4 \theta,$$

여기서  $D_{\parallel}$ 와  $D_{\perp}$ 는 각각 장축과 단축을 회전축으로 한 회전 확산상수이며  $\theta$ 는 transition dipole과 symmetry 축과의 각도이다. 특히

$$r(t) = 1/10 [\exp(-6D_{\perp}t) + 3 \exp[-(2D_{\perp} + 4D_{\parallel}t)]] \quad (\theta = 90^\circ) \quad (11)$$

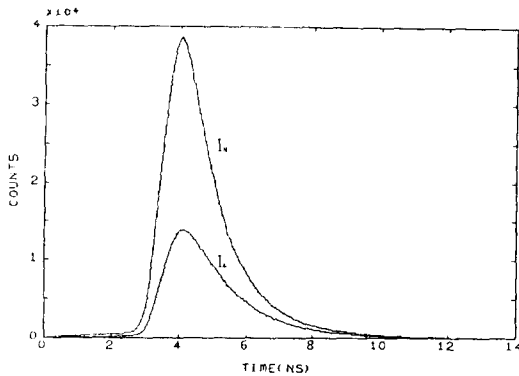


Fig. 6. Polarization decay curves of DODCI in ethylene glycol.

$$2/5 \exp(-6D t) \quad (\theta=0^\circ) \quad (12)$$

관례에 의해 회전 재배열 시간(rotational reorientation time)  $\tau_R=1/6D$ 로 주어진다.

소멸시간의 측정과는 달리 TCSPC에 있어서 형광 비등방성은 직접적으로 측정될 수가 없다. 즉 실험적으로 구한 편광곡선  $I_{||}(t)$ 와  $I_{\perp}(t)$ 로부터 추출되어야 한다. (1)식으로부터  $I_{||}(t)$ 와  $I_{\perp}(t)$ 는 다음과 같이 주어진다.

$$I_{||}(t) = \int g(t') i_{||}(t-t') dt' \quad (13)$$

$$I_{\perp}(t) = \int g(t') i_{\perp}(t-t') dt' \quad (14)$$

Fig. 6에 DODCI/ethylene glycol의  $I_{||}(t)$  및  $I_{\perp}(t)$ 를 도시하였다.

여기상태 붕괴 법칙  $K(t)$  및 비등방성 붕괴법칙  $R(t)$ 는 다음과 같이 정의된다.

$$K(t) = I_{||}(t) + 2I_{\perp}(t) \quad (15)$$

$$R(t) = \frac{I_{||}(t) - I_{\perp}(t)}{I_{||}(t) + 2I_{\perp}(t)} \quad (16)$$

Fig. 7은  $K(t)$  및 계산된 붕괴곡선 그리고 weighted residual을 보여준다. 얻어진  $\chi^2$ 는 1.21로서 magic angle에서 얻은 값과 잘 일치하였다.  $R(t)$ 는 Fig. 8에 도시하였는데 초기 비등방성 값이 0.4에 접근하는 것으로 미루어 보아 580 nm excitation에서는 DODCI의 transition dipole이 symmetry 축에 평행으로 놓여 있음을 알 수가 있다.

소멸시간 측정에서 언급된 바와 같이 실제 비등방성 붕괴곡선도 deconvolution을 통해 얻어져야 한다. 즉

$$r(t) = \frac{i_{||}(t) - i_{\perp}(t)}{i_{||}(t) + 2\alpha i_{\perp}(t)}$$

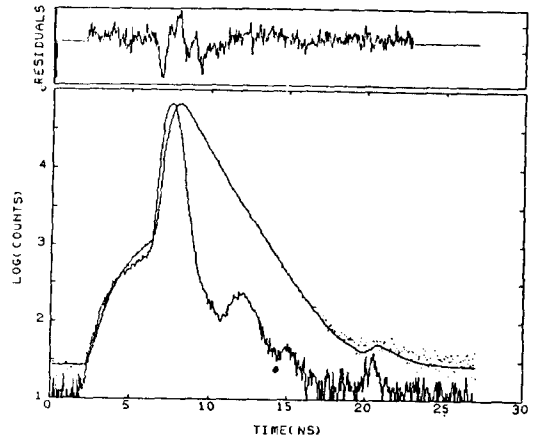


Fig. 7. Sum curve  $K(t)$ , calculated fit, and weighted residuals.

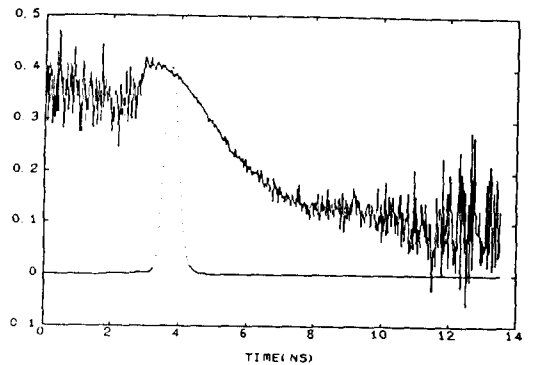


Fig. 8. Anisotropy decay curve  $R(t)$  for the DODCI rotational relaxation process in ethylene glycol solution. Excitation and collection wavelength are 580 nm and 650 nm respectively.

$$= (i_{||}(t) - i_{\perp}(t)) / k(t) \quad (17)$$

$$= \sum b_i \exp(-t/\tau_{R,i}) \quad (18)$$

여기서  $\alpha$ 는 geometrical factor(g-factor)로서 polarization optics가 불완전할 때 이상적인 값 1에서 벗어난다. (17)식을 재배열하면

$$i_{||}(t) = 1/3 k(t) [1 + 2r(t)] \quad (19a)$$

$$i_{\perp}(t) = 1/3 k(t) [1 - r(t)] \quad (19b)$$

$r(t)$ 는 simultaneous fitting을 사용하여 구하였다. 즉 magic angle data로부터  $k(t)$ 를 먼저 구하고 이를 고정시킨 다음  $r(t)$ 의 변수를 변화시키면서 측정된  $I_{||}(t)$ 와  $I_{\perp}(t)$ 와 IRF로부터  $i_{||}(t)$ 와  $i_{\perp}(t)$ 를 구하였다.

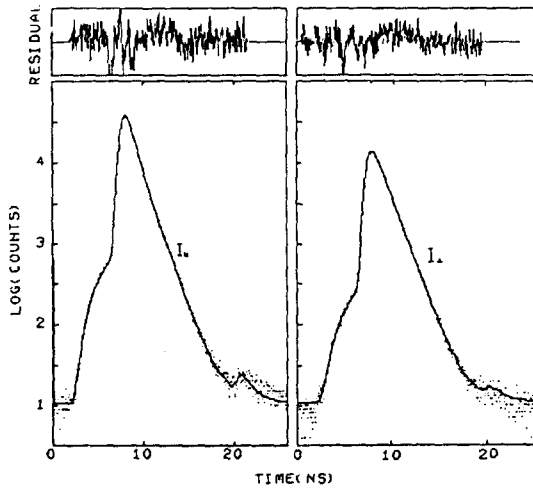


Fig. 9. Simultaneous fitting for  $I_{||}$  and  $I_{\perp}$ .

Fig. 9는 산란 붕괴곡선과 각 편광곡선에 대한  $\chi^2$ 를 나타낸다.  $g$ -factor는 1.0이었으며  $\chi^2$ 는 1.19,  $\tau_F$ 는 2.6 ns이었다.

#### IV. 결 론

피코초 레이저에 고속 전자장치를 연결하여 200-900 nm 파장영역에서 형광 및 인광 소멸시간을 측정할 수 있는 TCSPC를 개발하였다. 색소레이저는 펄스의 peak power를 높이고 반복률을 줄이기 위하여 cavity dumping시켰다. Side-on 형태의 photomultiplier를 사용하였을 때 이 system의 IRF는 1.0 ns으로 측정되었으며 deconvolution을 통하여 100 ps-10  $\mu$ s까지 소멸시간을 측정할 수 있음이 밝혀졌다. 이 장치를 사용하

여 레이저 색소로 많이 쓰이는 DODCI의 여기상태에 있어서의 소멸시간과 회전 동력학에 대해서 알아보았다. Ethylene glycol 상에서의 DODCI의 소멸시간은 1.2 ns, 회전 완하시간은 2.6 ns로 측정되었다. 현재 cavity dumping된 레이저의 펄스폭이 1 ps 정도이므로 transit time이 짧은 microchannel plate tube 형태의 PMT를 쓸 경우 이 장치의 시간 분해능이 10 ps 이하로 좁아질 것이 기대된다.<sup>(10)</sup>

#### 참 고 문 헌

- [1] D. V. O'Connor and D. Phillips, "Time Correlated Single Photon Counting", (Academic Press, New York, 1984).
- [2] C. Lewis and W. R. Ware, Rev. Sci. Instrum. **44**, 107 (1973).
- [3] P. R. Bevington, "Data Reduction and Error Analysis for the Physical Sciences", (McGraw-Hill, New York, 1969).
- [4] S. J. Strikler and R. A. Berg, J. Chem. Phys. **37**, 814 (1962).
- [5] S. P. Velsko and G. R. Fleming, Chem. Phys. **65**, 59 (1982).
- [6] M. Lee, G. R. Holtom, and R. M. Hochstrasser, Chem. Phys. Lett. **118**, 359 (1985).
- [7] W. Lee and R. M. Hochstrasser, in "Ultrafast Phenomena V", edited by G. R. Fleming and A. E. Siegman, (Springer-Verlag, New York, 1986). p.344.
- [8] T. Tao, Biopolymers **8**, 609 (1969).
- [9] T. J. Chuang and K. Eissenthal, J. Chem. Phys. **57**, 5094 (1972).
- [10] I. Yamazaki, N. Tamai, H. Kume, H. Tsuchiya, and K. Oba, Rev. Sci. Instrum. **56**, 1187 (1985).

### Lifetime and Anisotropy Measurements of DODCI in the excited state by TCSPC

Minyung Lee and Dongho Kim

Spectroscopy & Color Laboratory, Korea Standards Research Institute, Daejeon 305-606

(Received: February 3, 1990)

Employing a picosecond laser and fast electronics, we developed a time-correlated single photon counting (TCSPC) system by which luminescence lifetimes can be measured in the subnanosecond to microsecond scale. We also studied non-radiative decay dynamics and rotational motion of DODCI laser dye in solution using this system.