

発光ダイオードを光源とする簡易な吸光度及び蛍光検出器

鈴木保任*, 川久保進

山梨大学大学院医学工学総合研究部：400-8510 山梨県甲府市武田 4-4-37

Simple absorbance and fluorometric detectors using light-emitting diodes as light source

Yasutada Suzuki* and Susumu Kawakubo

Interdisciplinary Graduate School of Medicine and Engineering, University of Yamanashi,
4-4-37, Takeda, Kofu, 400-8510, Japan

Light-emitting diode (LED) is an attractive light source for the simple absorbance or fluorometric detector of flow injection analysis (FIA). Although such detectors are quite simple compared to the conventional ones using a monochromator, some considerations for the design of its circuitry and the use of proper components are necessary in order to attain stable operation and reasonable performance required by FIA. In this article, we described the basic points necessary to build an LED-based detector, emphasizing on aspects of electronic circuits.

Keywords light-emitting diode, absorbance detector, fluorometric detector, embedded controller

1. はじめに

発光ダイオード (LED) は、従来から用いられている光源のタングステンランプなどと比較して、小型、堅牢、低消費電力などの特徴がある。従来はパイロットランプ等の表示器としての利用が主であったが、青色 LED の開発とそれを利用した白色 LED の出現、また高出力化と併せて、照明の置き換えも進みつつある。一方で、LED の材料そのものの自己吸収のため、365 nm よりも短波長の発光は困難であると思われていたが、近年 255 nm という水銀ランプの代替となりうるもの市販されている。これは、CE[1]やHPLC[2]の UV 検出器としての利用が報告されている。このように、従来は装置の小型化や可搬化のために制限を甘受しつつ利用せざるを得なかった LED が、通常の光源と遜色なく利用できるようになった。光検出器の小型化とあいまって、高性能な可搬型 FIA 装置の開発が期待される。LED を光源とする検出器の総説は、すでにいくつも優れたものが発表されているが[3,4]、本解説では著者らが製作した検出器について、構成する電子回路を紹介する。なお、回路の定数の決め方や回路の製作そのものについては、成書等を参考にしていきたい。

2. LED の駆動

LED はダイオードの一種であるので、白熱電球のように定格の電圧を掛けただけでは、許容範囲を超えた電流が流

れて壊れてしまう。そのため、何らかの定電流回路を用いる必要がある。最も単純なのは、電流制限抵抗を通じて電源に接続する方式で、その抵抗値は以下の式に基づいて求められる。

$$R = (V_p - V_f) / I_f \quad (1)$$

ここで、 R は電流制限抵抗の値 (Ω)、 V_p は電源電圧 (V)、 V_f は LED の順方向電圧 (V)、 I_f は LED の駆動電流 (A) である。順方向電圧と駆動電流 (順方向電流) の関係は、LED の品種によって異なるだけでなく、同じ型番の LED であっても製品ごとに異なっている。設計の際にはデータシートを確認して、目的とする駆動電流と順方向電圧の関係を把握する必要がある。例として日亜化学製の紫外線 LED、NSPU510CS (375 nm) を 10 mA で駆動する場合は、データシート[4]のグラフより、順方向電圧は 3.5 V であることがわかる。電源が 5.0 V であるとする、必要な抵抗値は $(5.0 - 3.5) / (10 \times 10^{-3}) = 150 (\Omega)$ となる。精密な制御が必要な場合には電流及び電圧を実測して、抵抗値を微調整する必要がある。なお、データシートに示されている「絶対最大定格」は、これ以上の値では素子が壊れる、という意味なので、ここに示されている電流値で使い続けると寿命が短くなってしまう。また、周囲温度が高い場合は、許容電流よりも低くする必要がある、最大定格よりも低いところで使用するのが無難である。

最近では定電流ダイオードが市販されていて、これを使うと簡単に定電流回路を製作できる。例えば、SEMITEC 社製の CRD-E シリーズ[5]は、設計電流値が 0.1~18 mA の複数

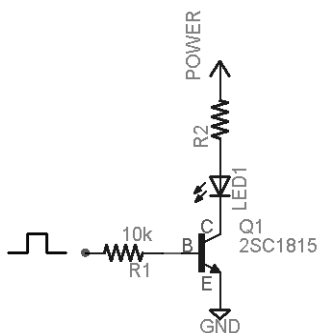


Fig. 1 Pulse driver circuit for an LED

の品種があり、目的の駆動電流に合ったものを選択でき、抵抗と同様に LED と直列に接続するだけでよい。ただし、定電流特性を得るためには、ある程度の電位差が必要となる。定格 10 mA の CRD-E103 においては、3.5 V の電位差が必要である。そのため、LED の順方向電圧が 3.5 V の場合、最低 7.0 V の電源電圧がないと目的の電流で駆動できない。また、表示されている電流は代表値であって、 $\pm 20\%$ の誤差を含んでいる。特性を揃えるためには、選別が必要となる。LED 専用の駆動 IC を使う方法もある。例えば Linear Technology の LTC3202 [6] は外付けコンデンサ 4 個と電流設定用抵抗だけで LED を駆動できるチャージポンプ IC で、電源電圧は 3~4.5 V なので、乾電池 2 本でも動作する。

蛍光の励起光源として使用する場合には、ピーク出力を稼ぐためにパルス駆動することがよくある。また、複数波長を同時に測定する場合には、異なる周波数で強度変調することがある。マイクロコントローラ（マイコン）を用いて LED の点滅を制御する際には、ポートの吐き出し（source）/吸い込み（sink）電流の定格電流値に注意する必要がある。ポートから数十 mA の電流を取り出せることは稀であるが、Microchip 社の PIC マイコンには、吐き出し 20 mA、吸い込み 25 mA 可能なものもある [7]。ただし、素子全体での許容電流、電力などで別の制限があることが多いので、同時に使用する場合はこれを超えないように設計する。マイコンからは ON/OFF の信号のみを送り、実際の LED の駆動はトランジスタを使用すれば、このような電流の制限を考えなくてもよい (Fig. 1)。トランジスタは、NPN 型の小電力用であれば、特に何であっても問題ない。抵抗 R1 はベース電流を決定するためのもので、パルスの電圧が 5 V で LED の駆動電流が 50 mA 程度以下であれば、10~47 k Ω でよい。R2 は先程の計算によって求める。また、定電流ダイオードを使用してもよい。POWER 端子の電圧は、他の回路と異っていても問題ない。例えば、制御回路が 5 V で、POWER 端子が 12 V とすることができる。マイコン以外に、発振器などと接続するのにも使用できる。

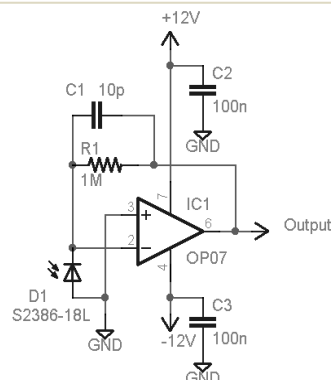


Fig. 2 Preamplifier for photodiode (Gain: 10^6 V A^{-1})

3. 検出器及び増幅器

吸光度検出器のように、ある程度光強度が高い場合には、フォトダイオード (PD) が小型、低電圧駆動が可能で便利である。PD の出力は微弱な電流であるので、電流・電圧変換と増幅が必要になる。基本的な回路は Fig. 2 の通りで、抵抗 R1 の値に比例して増幅率が大きくなる。オペアンプの種類によるが、10 M Ω ($=10^7 \text{ V A}^{-1}$) 程度までは安定に動作する。これ以上の増幅率が必要な場合は、別途オペアンプ回路を追加する。コンデンサ C1 の容量を大きくすると周波数特性が悪くなるが、高周波の雑音の影響を受けにくくなる。ここで示したオペアンプ、OP-07 は両電源タイプなので負電圧が必要であるが、単電源タイプであれば正電圧のみでもよい。コンデンサ C2, C3 はバイパスコンデンサ（パスコン）と呼ばれ、電源電圧の変動に由来する雑音を防ぐ目的で、IC の電源ピンの直近に置く。浜松ホトニクス Web サイトにも、参考となる回路例が示されている [8]。PD とアンプが一体になったものを利用すれば、回路を簡素化できるのみでなく、光検出と増幅が同時に行われるため、雑音の影響も小さくなる。Texas Instruments の OPT101 は、通常の IC のパッケージと同一の DIP 8 ピン形状に PD とアンプ、1 M Ω の抵抗、3 pF のコンデンサなどが内蔵されている。抵抗を外付けすれば、任意の増幅率も得られる [9]。

化学発光、蛍光などの検出には、PD では感度が不足するので、光電子増倍管 (PMT) が必要となる。通常は高圧電源と増幅回路が必要であるが、それらを内蔵し、かつ非常に小型の光電子増倍モジュールが市販されている [10]。浜松ホトニクスの H10722 シリーズは $\pm 5 \text{ V}$ で動作する。他に 0.5~1.1 V の制御電圧を与えることで、増幅率を $5 \times 10^3 \sim 4 \times 10^6$ の範囲で変更でき、さらに、プリアンプを内蔵しているので、出力を直接アナログ-デジタルコンバータ（ADC）に接続できる。

複数の LED を異なる周波数で変調し、同時検出した後に各信号に分離する場合、信号処理に PC や DSP (Digital Signal Processor) を使用する場合は、高速フーリエ変換

Table 1. Specification of several ADCs.

Manufacturer	Part No.	Resolution / bits	Ch.	Sampling rate /ksps	Voltage range /V	Interface	Package*	Supply Voltage / V
Microchip	MCP3204	12	4	100	0~V _{ref}	SPI	DIP14	+2.7~5
Linear Technology	LTC1861	12	2	250	0~5	SPI/ Microwire	SO8	+5
Analog Devices	AD7898ARZ-10	12	1	220	±10	SPI/ Microwire	SO8	+5
Analog Devices	AD7323	13	4	500	±2.5,±5, ±10, 0~10	SPI/ Microwire	TSSOP16	+5

* DIP, Dual Inline Package; SO, Small Outline (surface mount); TSSOP, Thin Shrink Small Outline Package

(FFT) を用いれば特殊なハードウェアは不要であるので、簡便である。非力なマイコンを用いる場合や、チャンネル数が少ない場合は、ロックインアンプを用いると簡単に信号を分離できる。この目的に使用できる位相検波器モジュールが、NF 回路設計ブロックより入手できる[11]。外付けの抵抗及びコンデンサで周波数特性を変更することができ、目的成分のみを取り出すためのローパスフィルタも内蔵している。一方、古くからロックインアンプとして用いられている平衡変調・復調用 IC もある。Analog Devices の AD630 で、データシート内に参考回路図が記されている[12]。また、Sengupta らによる報告に、詳細な回路例が示されている[13]。AD630 はローパスフィルタを内蔵していないので、別途オペアンプ等を用いて製作する必要がある。これも Sengupta らの論文に示されている。

4. アナログ-デジタルコンバーター (ADC)

測定した信号を取り込むためには、ADC が必要であるが、現在は USB で PC と接続する製品が多数市販されている。ADC を選定するにあたっては、基本的な仕様としてサンプリング速度と変換及び入力範囲、及び分解能を検討する必要がある。元の信号波形が有する周波数情報を再現するには、少なくとも 2 倍以上のサンプリング速度が必要である。変換範囲は、AD 変換される電圧の範囲であり、増幅器から出力される電圧に合わせて選択するか、逆に増幅器の出力電圧を ADC に合わせる。この時ユニポーラータイプは正電圧しか変換できないので、負電圧も取り込む必要があれば、バイポーラータイプを選択しなければならない。入力範囲は ADC が許容する電圧の範囲である。分解能の単位はビットであり、AD の変換範囲を何ビットで表現するか、を意味する。例えば 10 bit であれば変換範囲を 0 から 1023 の 1024 段階で表現する。0~5 V の範囲では、1 段階が約 4.88 mV に相当する。分解能が向上するとより小さい信号変化まで取り込むことができるが、外来ノイズに対する感受性も上がるため、検出器や増幅回路、基板の設計などに十分な配慮をしないと、相応の結果は得られない。通

常の分析装置では 12 bit (4096 段階) で十分である。その他、ADC (及びデジタル-アナログコンバーター、DAC) に関連する用語の解説がコンテック社の Web にあるので参照されたい[14]。これらの製品を選択する際には、Visual C や BASIC 用のサンプルプログラム、LabView 用のドライバーが添付されているかも確認しておく。

PC に内蔵のオーディオインターフェースをそのまま ADC として利用することも可能である。ただし、直流成分がカットされること、マイク用電源電圧が重畳されていることや、入力範囲に制限があるので、利用には注意が必要である[15]。

装置の制御にマイコンを利用する場合は、内蔵の ADC を使用できる。内蔵 ADC は条件設定やデータの取り込みが容易であるが、分解能が 10 bit 程度と小さく、かつマイコン内部のノイズの影響を受けやすい。そのため、外付けの ADC IC を用いた方がよい性能が得られる。前述の分解能などの他に、変換方式、チャンネル数、マイコンとの通信方式などに着目して選択する。変換方式は、近年 Δ - Σ 型などが注目を集めているが[16]、数 10 kHz 程度までのサンプリング速度であれば従来からある逐次変換方式で問題ない。複数の入力が必要な場合、2~16 入力の物がある。通信方式には、パラレルとシリアル方式がある。パラレルは一度に複数 bit 分のデータを通信できるので高速であるが、通信のためにポートを多数使用することになるので、シリアル通信の方が簡便である。シリアル通信には、各社が提唱する SPI, I2C, Microwire などの規格があるが[17]、汎用の入出力ポートを用いて、規格に沿ってポートをコントロールするプログラムを作成すれば、比較的簡単に通信できる。著者らが使用したことのある ADC を Table 1 に示す。

5. マイクロコントローラー (マイコン)

検出器単体で自律的な動作をさせる場合や、検出器と同時にポンプやバルブを制御する際には、マイコンを使用すると柔軟な設計が可能である。マイコンを利用するには、専用の開発環境 (コンパイラやエミュレーター、デバッ

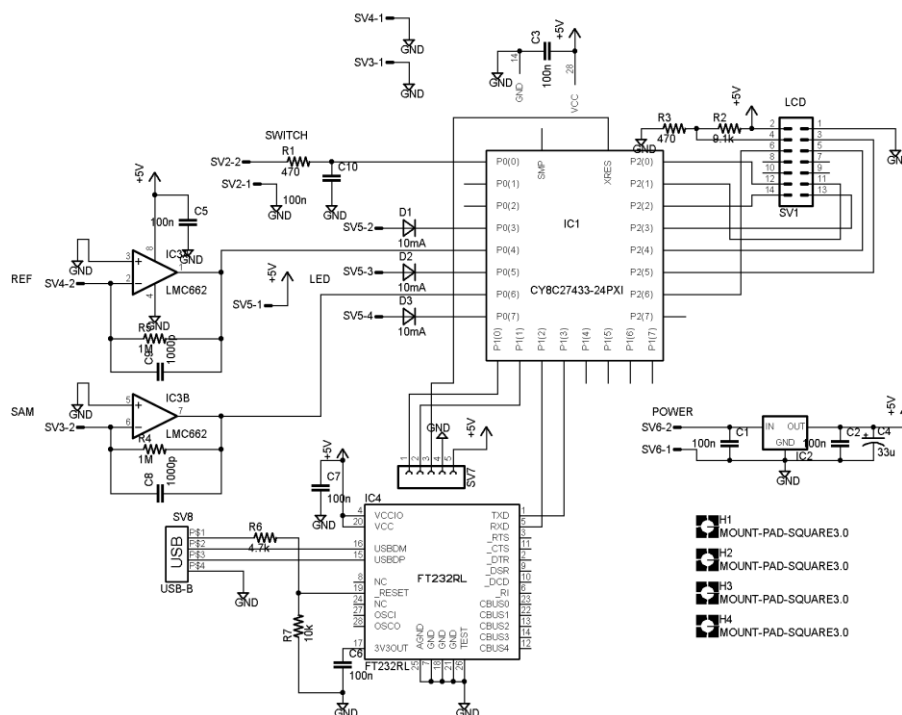


Fig. 3 Circuit diagram for a simple colorimeter using an RGB LED as a light source

ガーなど)を用意する必要があるのに加え、品種ごとに異なる初期設定、操作を理解する必要がある。そのため、一度決定すると他のマイコンに変更するのは非常に手間が掛かる。そのため、どのシリーズのマイコンを利用するかは、慎重に検討しなければならない。

実行速度、RAM 及び ROM の容量、内部に組み込まれたモジュール (ADC, DAC, タイマー、カウンタなど) に余裕のあるものを選んでおけば、当初は必要がないとしても、機能拡張が必要になった時にマイコンの変更なしに対応できる。また、ある程度普及しているものであれば、参考となる Web 上の情報や書籍が豊富である。一方で、あまりに古い物は、製品の供給が打ち切られる恐れがある。

比較的入手の容易なマイコンについて、簡単に説明する。Microchip の PIC は一般的な用途にも幅広く使われている。従来の PIC16 シリーズは非力であるが、PIC24, 32 及び dsPIC などの新しいシリーズが発売されている。dsPIC には DSP の機能も内蔵されているため、信号処理の演算も高速に実行できる。コンパイラなどを含む開発環境は、Microchip よりフリーの MPLAB XC が提供されている。プログラムを書き込むには、専用のライターが必要である。ARM は、タブレット端末にも使用されているコントローラーである。このような高機能な物の他に、低価格で制御用に利用できる小規模な物が、様々なメーカーから販売されている。メーカーによって、ピン配置や内部モジュールなどは異なるので注意が必要である。最近、雑誌の付録として DIP (Dual Inline Package) タイプの ARM マイコンと、開発環境の CD-ROM が添付されたので、興味のある方は

バックナンバーを参照されたい[18]。PSoC は Cypress 社が開発しているマイコンで、内部の機能ブロックを組み合わせ、様々なモジュールを構築できるのが特長である。開発環境は、モジュールなどの設定も含めて設定できるツールが、Cypress より無料で提供されている。PSoC もマイコンそのものの高機能化を図った PSoC3 が発売されていて、従来よりも複雑な制御が可能となっている。いずれも、専用のプログラムライターが必要である。ルネサスの RX シリーズは比較的低価格で高性能である。国産であるので、ドキュメントがすべて日本語なのが利点である。

なお、マイコンと PC を通信する際には、従来 RS-232C などが用いられていたが、PC 側にシリアルポートがあることは稀になってきた。マイコンに USB 機能が内蔵されていない場合は、USB-シリアルコンバーター IC を利用することで、PC と USB 接続で通信が可能となる。FTDI の FT232RL [19]などが利用できる。

6. 回路例

あまり複雑な回路ではないが、著者が岡山大学主催の SPP (サイエンスパートナーシッププログラム) に参加した際に開発した、赤、緑、青の 3 色が一体となった LED を光源とする、簡易比色計[20]の回路図を Fig. 3 に示す。ここには LED や PD は示されていないが、コネクタ番号 SV5 に LED が、SV3 に透過光検出側の PD、SV4 に光源光強度検出側の PD、SV2 に 0 点ボタン、SV1 に液晶ディスプレイが接続される。マイコンは PSoC, CY8C27433 を

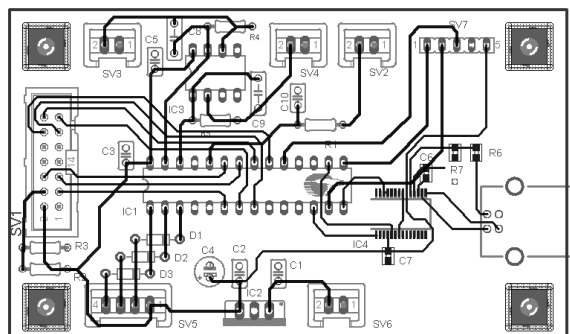


Fig. 4 Schematic of a print circuit board for a simple colorimeter

用いており、前述の通り内部に様々なモジュールを作り込むことができるので、2チャンネル、12 bit の ADC や可変ゲインアンプ 2 個、PC と通信するためのシリアル通信モジュールなどを設定した。透過光強度と光源光強度を同時に測定して補正することで、光源光強度のゆらぎに起因するノイズやドリフトを減少できる。また、LED は逐次点灯することで、3 波長 (470 nm, 530 nm, 635 nm) の吸光度を同時に測定できる。教員あるいは高校生が組み立てることを目的としているため、基板 (Fig. 4) はかなり余裕を持って設計してあるが、主要な周辺機能をマイコン内でまかなうことができるので、かなりの小型化を達成できた。PSoC 内のモジュールは、開発環境の PSoC Designer[21]で配置する。その様子を Fig. 5 に示す。マイコンのプログラム (C 言語) は、ユーザーが書いた部分については 300 行足らずである。しかし、ここに掲載するには紙面が足りないこと、マイコン内部のモジュール構成と密接に関わることから省略する。興味をお持ちの方には、開発環境のプロジェクトファイル一式を提供できるので、お知らせいただきたい。

7. 電子回路 CAD

小規模な回路設計では、手書きの回路図と IC ピッチ基板で十分であるが、最近は低価格あるいは無料の電子回路 CAD が入手できるので、これを利用すると回路の流用やプリント基板の自作が可能となる。以前より広く用いられていた CAD ソフトとして、CadSoft 社の Eagle がある[22]。Eagle は有償のソフトウェアであるが、設計できる基板の大きさが 100×75 mm、層数が 2 層に制限された試供版を無料で利用することができる。ユーザーが非常に多いため、Web 上でも使用に関する参考情報が得られる。また、各種電子部品に対する外形やピン配置などに関するデータである「ライブラリー」も充実している。本稿の回路図及び基板パターン図も Eagle (ver. 4.16r2, standard) を用いて作成した。

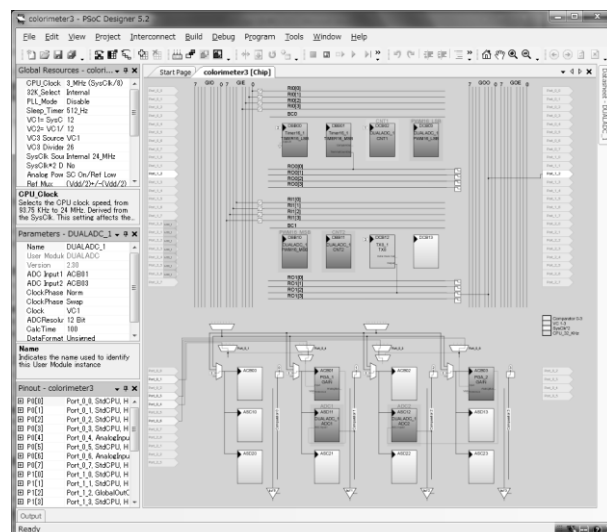


Fig. 5 Hard copy of PSoC Designer for designing a internal modules for a simple colorimeter

一方、電子部品のオンライン販売サイトとして有名な RS コンポーネンツから、無料の CAD である DESIGNSPARK[23]が公開されている。これは無料にも関わらず、基板の大きさやピンの数といった制限がないため、大規模な回路設計にも利用できる。このような特長から、公開から間もないものの、多くのユーザーを獲得しつつあるようである。ライブラリーの充実はこれからと思われるが、Eagle で作成されたライブラリーをインポートする方法も公開されており、これが問題となることはないと思われる。今後新たに CAD を学習するのであれば、Eagle よりも DESIGNSPARK の方がよいのではないかと考える。

これらの CAD で出力したデータは、内外のプリント基板製作会社[24,25]への発注にほぼそのまま利用できる。また、各種試薬と工具類を入手すれば、感光タイプの基板を利用してプリント基板を自作することもできる[26]。露光条件は比較的厳しいため専用の露光機を入手した方がよいが、現像やエッチングには専用の容器は不要で、樹脂のバットがあれば十分である。また、穴開けはホームセンターで入手できる安価なボール盤で問題ないが、ドリルはプリント基板 (ガラスエポキシ) 専用の物の方がよい。また、レジストやシルク印刷までしないのであれば、フラックスと防錆スプレー (ハヤコート) までの処理で構わない。

8. おわりに

紙面の都合で、具体的な回路図やプログラム例を示すことができなかったため、細かな部分についてはわかりにくいと思われる。特に、プログラムについては PC 用のプログラムと共通点も多いものの、マイコンごとに様々なテクニックがあるので、具体的な内容についてはそれぞれの

マイコンについて解説している書籍を参考にさせていただきたい。また、Webを検索すると、様々な回路やプログラム例が得られるので、合わせて活用されたい。

9. 参考文献

[1] L. Krčmová, A. Stjernlof, S. Mehlen, P. C. Hauser, S. Abele, B. Paull, M. Macka: *The Analyst*, **134**, 2394 (2009).

[2] B. Bomastyk, I. Petrovic, P. C. Hauser: *J. Chromatogr. A*, **1218**, 3750 (2011).

[3] P. K. Dasgupta, I. Y. Eom, K. J. Morris, J. Li: *Anal. Chim. Acta*, **500**, 337 (2003).

[4] 日亜化学: “紫外発光 LED 標準仕様書, NSPU510CS”, available from (<http://www.nichia.co.jp/specification/jp/product/led/NSPU510CS.pdf>), (accessed 2012 11 26)

[5] SEMITEC: “CRD-E シリーズ”, available from (http://semitec.co.jp/products/led_device/2011/02/28/pdf/crd_113I_e.pdf), (accessed 2012 11 26)

[6] Linear Technology: “白色 LED 用低ノイズ, 高効率チャージ・ポンプ LTC3202”, available from (<http://cds.linear.com/docs/Japanese%20Datasheet/j3202i.pdf>), (accessed 2012 11 26)

[7] Microchip: “18 ピン フラッシュ/EEPROM 8 ビット マイクロコントローラ, PIC16F8X”, available from (<http://ww1.microchip.com/downloads/en/devicedoc/30430cj2.pdf>), (accessed 2012 11 26)

[8] 浜松ホトニクス: “Si フォトダイオード応用回路例”, available from (https://jp.hamamatsu.com/resources/products/ssd/pdf/tech/si_pd_circuit.pdf), (accessed 2012 11 26)

[9] Texas Instruments: “Monolithic photodiode and single-supply transimpedance amplifier, OPT101”, available from (<http://www.ti.com/lit/ds/symlink/opt101.pdf>), (accessed 2012 11 26)

[10] 浜松ホトニクス: “メタルパッケージ PMT 内蔵, 光センサモジュール H10722 シリーズ”, available from (<https://jp.hamamatsu.com/resources/products/etd/pdf/m-h10722j.pdf>), (accessed 2012 11 26)

[11] エヌエフ回路設計ブロック: “位相検波器 CD-505R2”, available from (<http://www.nfcorp.co.jp/pro/dv/pd/cd505/pdf/cd505.pdf>), (accessed 2012 11 26)

[12] Analog Devices: “Balanced Modulator/Demodulator, AD630”, available from (http://www.analog.com/static/imported-files/data_sheets/AD630.pdf), (accessed 2012 11 26)

[13] S. K. Sengupta, J. M. Farnham, J. E. Whitte: *J. Chem. Edu.*, **82**, 1399 (2005)

[14] コンテック: “アナログ入出力 基礎知識・用語集”, available from (<http://www.contec.co.jp/product/device/analog/basic.html>), (accessed 2012 11 26)

[15] 中江保一, 河合 潤: X線分析の進歩, **41**, 157 (2010)

[16] 清水巖: トランジスタ技術, **40**(9), 201 (2003)

[17] 桑野雅彦: *Interface*, **35**(2), 52 (2009)

[18] 島田義人: トランジスタ技術, **49**(10), 51 (2012)

[19] FTDI: “FT232R USB UART IC”, available from (http://www.ftdichip.com/Support/Documents/DataSheets/ICs/D_S_FT232R.pdf), (accessed 2012 11 26)

[20] 鈴木保任, 高橋 徹, 高柳俊夫, 本水昌二, 川久保 進: 分析化学, **59**, 125 (2010)

[21] Cypress: “PSoC Designer”, available from (<http://www.cypress.com/?id=2522>), (accessed 2012 11 26)

[22] CadSoft: “CadSoft EAGLE PCB Design Software”, available from (<http://www.cadsoftusa.com/eagle-pcb-design-software/?language=en>), (accessed 2012 11 26)

[23] DESIGNSPARK: “DESIGNSPARK ホーム”, available from (<http://designspark.com/jpn/>), (accessed 2012 11 26)

[24] P 板.com: “プリント基板製造サービス”, available from (<http://www.p-ban.com/>), (accessed 2012 11 26)

[25] プリント基板センターピービー: “プリント基板製造・設計”, available from (<http://pcb-center.com/>), (accessed 2012 11 26)

[26] サンハヤト: “クイックポジ感光基板製作システムのご紹介”, available from (<http://www.sunhayato.co.jp/PPCB/index.html>), (accessed 2012 11 26)