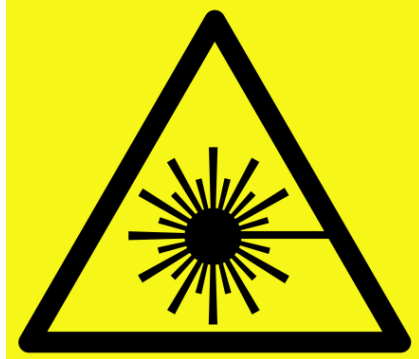


VILNIAUS UNIVERSITETAS  
FIZIKOS FAKULTETAS  
LAZERINIŲ TYRIMŲ CENTRAS

Laboratorinis darbas **Nr. KS – 2**

**FLUORESCENCIJOS LAIKINIŲ PRIKLAUSOMYBIŲ  
MATAVIMAS LAIKE KORELIUOTŲ PAVIENIŲ FOTONŲ  
SKAIČIAVIMO METODU**

Metodiniai nurodymai



**Dėmesio! Darbo metu naudojami lazerinės spinduliuotės šaltiniai – būtina susipažinti ir griežtai laikytis atitinkamų saugos reikalavimų**

## 1. Darbo tikslas

Susipažinti su laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo metodo taikymu medžiagų spektroskopiniū ir relaksaciniū charakteristikų tyrimams.

## 2. Kontroliniai klausimai:

1. Laikinės skyros spektroskopijos metodai.
2. Nuo ko priklauso laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo metodo laikinė skyra?
3. Laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo metodo pritaikymai.

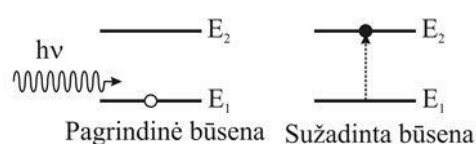
## 3. Darbo užduotys:

1. Išsiaiškinti laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo metodo spektroskopinio medžiagų tyrimo principus.
2. Susipažinti su eksperimento metu naudojama laboratorine įranga.
3. Surinkti laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo metodo matavimo grandinę.
4. Iširti DCM etanolio ir etanolio/vandens tirpalų spektrines ir laikines charakteristikas.

## 4. Teorinis įvadas

### 4.1. Sugertis ir spinduliavimas

Molekulė, esanti pagrindinėje būsenoje  $E_1$  ir turinti sužadintą būseną su energija  $E_2$ , gali sugerti išorinio elektromagnetinio lauko fotoną, kurio energija  $h\nu = E_2 - E_1$ . Šuolio metu molekulė yra sužadinama ir pereina iš



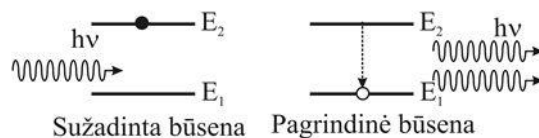
1 pav. Sugertis

pagrindinės būsenos į sužadintąją. Šis procesas vadinamas sugertimi. Fotonų sugerties tikimybė (sugertų fotonų skaičius per laiko vienetą) proporcinga išorinio elektromagnetinio lauko fotonų skaičiui vienetiniame tūryje:

$$\frac{dP_{12}}{dt} = B_{12}^{\nu} \rho(\nu), \quad (1)$$

kur  $B_{12}^{\nu}$  yra sugerties Einšteino koeficientas.

Išorinis elektromagnetinis laukas taip pat gali priversti molekulę, esančią sužadintoje būsenoje  $E_2$ , pereiti į pagrindinę būseną  $E_1$  išspinduliuojant fotoną, kurio energija  $h\nu$ . Šis procesas vadinamas indukuotu (priverstiniu) spinduliavimu. Išspinduliuotas šviesos



2 pav. Priverstinis spinduliavimas

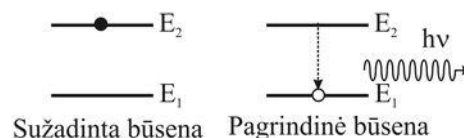
fotonas yra visiškai tapatus šį šuolį sukėlusios išorinio elektromagnetinio lauko fotonui, t.y. dažnis, fazė, poliarizacija ir sklidimo kryptis sutampa. Tikimybė, kad viena molekulė per laiko vienetą

išspinduliuos fotoną dėl priverstinio spinduliavimo proporcinga išorinio elektromagnetinio lauko fotonų skaičiui vienetiniame tūryje:

$$\frac{dP_{21}}{dt} = B_{21}^{\nu} \rho(\nu), \quad (2)$$

kur  $B_{21}^{\nu}$  yra indukuoto (priverstinio) spinduliavimo Einšteino koeficientas.

Molekulė, esanti sužadintoje būsenoje  $E_2$  taip pat gali spontaniškai (savaimiškai) pereiti į pagrindinę būseną  $E_1$



išspinduliuodama fotoną, kurio energija  $h\nu$ . Šis procesas vadinamas spontaniniu (savaiminiu) spinduliavimu. Toks

3 pav. Savaiminis spinduliavimas

spinduliavimas yra nekoherentinis. Tikimybė, kad viena molekulė per laiko vienetą išspinduliuos fotoną nepriklauso nuo išorinio elektromagnetinio lauko:

$$\frac{dP_{21}^{sp}}{dt} = A_{21}, \quad (3)$$

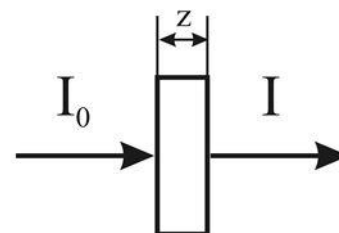
kur  $A_{21}$  yra spontaninio (savaiminio) spinduliavimo

Einšteino koeficientas.

Šviesos sugertis homogeninėje terpėje yra aprašoma empiriniu Beer'o - Lambert'o - Bouguer'io dėsnium:

$$I = I_0 e^{-\alpha z} = I_0 e^{-\sigma N z}, \quad (4)$$

kur  $z$  - optinis kelias (bandinio storis),  $I$  ir  $I_0$  - bandinį praėjusios ir į bandinį kritusios šviesos intensyvumas,  $\alpha$  - sugerties koeficientas ( $\text{cm}^{-1}$ ),  $N$  - sugeriančių molekulių koncentracija ( $\text{cm}^{-3}$ ),  $\sigma$  - sugerties skerspjūvis ( $\text{cm}^2$ ). Taip



4 pav. Spinduliuotės, praeinančios bandinį, kurio storis  $z$ , sugerties schema

pat sugerties aprašymui naudojama dešimtainė molinė ekstinkcija  $\epsilon$  ( $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ). Tuomet (4) dėsnis užrašomas taip:

$$I = I_0 10^{-\epsilon c z}, \quad (5)$$

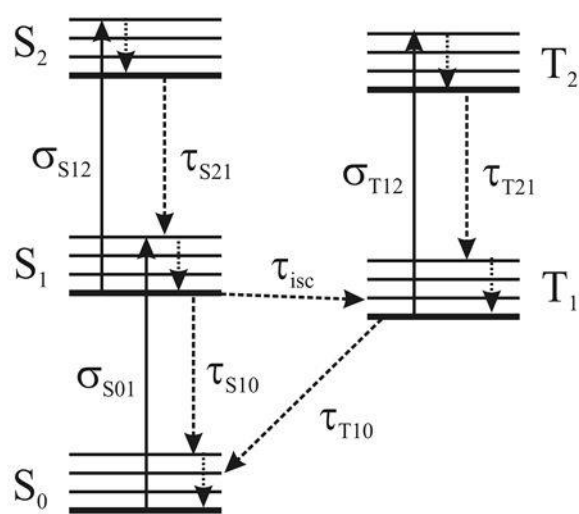
čia  $c$  - molinė sugeriančių molekulių koncentracija (M),  $\epsilon c z = A$ , kur  $A$  - bandinio optinis tankis ( $A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right)$ , kur  $T$  - pralaidumas).

Beer'o - Lambert'o - Bouguer'io dėsnis galioja visais atvejais, kai turime tiesinę sugerties tikimybės priklausomybę nuo elektromagnetinės spinduliuotės intensyvumo arba spinduliuotės įtėkio spartos .

#### 4.2. Organinių molekulių Jablonskio diagrama

Pusiausvyros būsenoje dauguma molekulių užima pagrindinės (mažiausios energijos) singuletinės elektroninės būsenos mažiausios energijos virpesinius lygmenis. Molekulių pasiskirstymas pagal energijas pagrindinėje elektroninėje būsenoje pusiausvyros sąlygomis aprašomas Bolcmano pasiskirstymo funkcija. Dėl elektromagnetinės spinduliuotės sugerties molekulės yra sužadintos į

aukštesniašias (arba sužadintas) didesnės energijos elektronines būsenas priklausomai nuo sugerto fotono energijos pakliūdamos į įvairius tų elektroninių būsenų virpesinius energijos lygmenis. Sužadintos elektroninės būsenos nėra pusiausvyros - molekulės per tam tikrą laiką sugrįžta į pagrindinę elektroninę būseną ir galų gale nusistovint pusiausvyrai dauguma jų atsiduria pagrindinės elektroninės būsenos žemiausios energijos virpesinėje būsenoje, t.y. toje, kurioje buvo iki šviesos kvanto sugerties. Šis pusiausvyros nusistovėjimo procesas vadinamas elektroninių sužadintų būsenų relaksacija ir paprastai yra sudėtingas keletą ar net daugelį stadijų turintis vyksmas, kuriame dalyvauja daugelis fizikinių procesų, apibūdinamų tikimybėmis. Be spontaninių spindulinių šuolių, kurių tikimybė  $A_{21}$  griežtais sąryšiais (Einšteino sąryšiai) susijusi su kitais molekulės sąveiką su šviesa apibūdinančiais Einšteino koeficientais (sugerties  $B_{12}^{\nu}$  ir priverstinio spinduliavimo  $B_{21}^{\nu}$ ), galimi ir kiti būdai sugrįžti į pagrindinę elektroninę būseną, kurie vadinami nespinduliniais. Nors sužadinimo šuolio metu molekulės atomų branduolių koordinatės nepakinta, dėl išorinių elektronų tankio persiskirstymo kintant molekulės elektrinei būsenai sužadintos molekulės nebūtinai yra pusiausvyros su aplinka. Dažnai sužadintoje būsenoje termodinaminę pusiausvyrą atitinka kitos nei pagrindinės būsenos molekulę sudarančių branduoliu koordinatės, arba kita molekulės geometrinė forma. Todėl sužadintoje būsenoje molekulės branduolių koordinatės gali kisti, tuo pačiu sąlygodamos jos erdvinės struktūros pasikeitimus. Vyraujantys vidinės energijos, kurią molekulė įgyja sužadinimo metu praradimo mechanizmai ir keliai priklauso nuo konkrečios molekulės savybių, įvairių cheminių ir fizikinių sąveikų su aplinka pobūdžio. Pagal išorinių elektronų sukinių konfigūraciją skiriamos dvi skirtingos sužadintos elektroninės būsenos. Būseną su suporuotais sukiniiais vadinama singuletine būseną ( $S$ ), o nesuporuotų sukinių būseną vadinama tripletine ( $T$ ). Pagrindiniai praradimo keliai yra vibracinė relaksacija, nespinduliniai ir spinduliniai šuoliai. Vibraciniai šuoliai vyksta tarp molekulių elektroninę būseną sudarančių vibracinių ir rotacinių lygmenų į žemiausią elektroninės būsenos vibracinį lygmenį. Nespindulinius šuolius galima suskirstyti į vidinę konversiją ir interkombinacinę konversiją. Vidinė konversija yra nespindulinis šuolis tarp vienodo multiplietiškumo



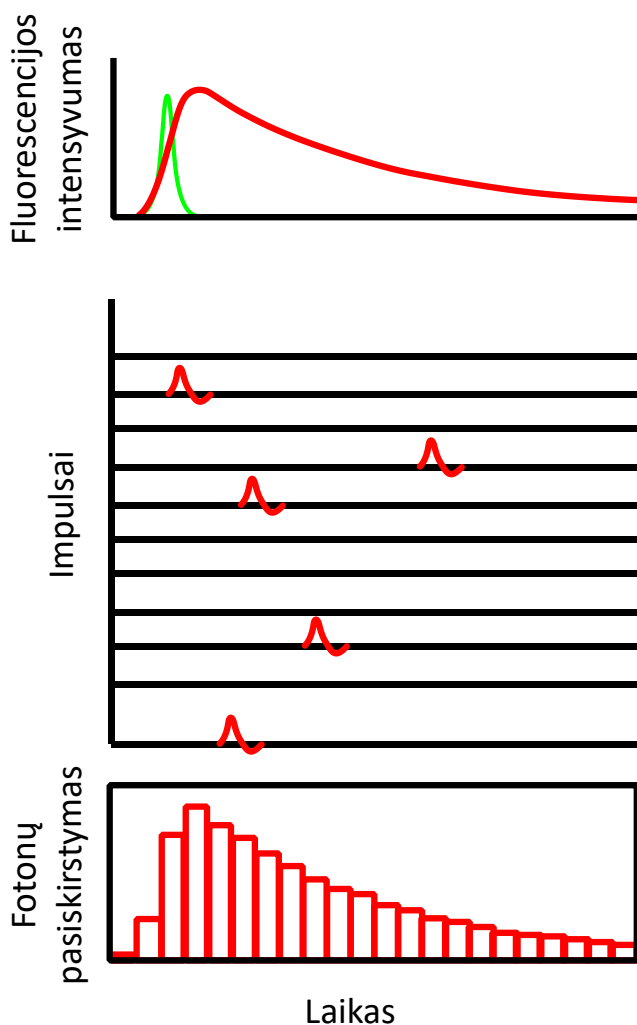
5 pav. Organinių molekulių energijos lygmenų Jablonskio diagrama

(singuletinis → singuletinis, tripletinis → tripletinis) energijos būsenų. Interkombinacinė konversija

yra nespindulinis šuolis tarp skirtingo multipletiškumo (singuletinis → tripletinis, tripletinis → singuletinis) energijos būsenų. Spindulinius šuolius galima suskirstyti į fluorescenciją, fosforescenciją ir uždelstą fluorescenciją. Fluorescencija yra spinduliniai šuoliai tarp vienodo multipletiškumo energijos būsenų. Fosforescencija yra spinduliniai šuoliai tarp skirtingo multipletiškumo energijos būsenų. Uždelstoji fluorescencija yra spinduliniai šuoliai tarp vienodo multipletiškumo energijos būsenų iš pakartotinai užpildytos energetinės būsenos dėl interkombinacinės konversijos. Įvairūs energijos relaksacijos vyksmai konkuruoja tarpusavyje ir šių vyksmų greičių konstantos ( $k = 1/\tau$ ) priklauso nuo vidinių molekulos sandaros ypatumų bei išorinių veiksnių (aplinkos, temperatūros, slėgio, ir t.t.).

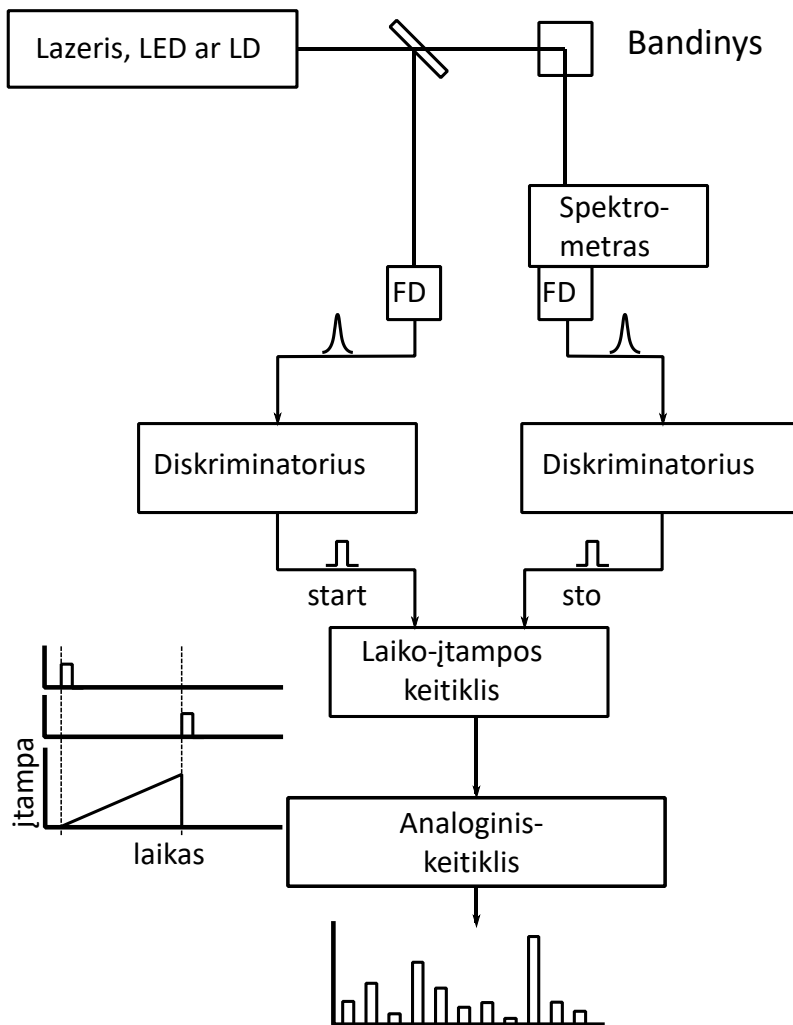
### 4.3. Laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo metodas

Laikinės skyros fluorescencijos spektroskopija yra plačiai naudojama tiek fizikoje, tiek gamtos moksluose. Matuojama šviesos impulsais, dažniausiai lazeriniais impulsais, sužadintų molekulių spinduliuojamos šviesos intensyvumo priklausomybė nuo laiko. Laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo metodas paremtas pasikartojančio šviesos signalo pavienių fotonų registravimo, registravimo trukmių matavimo ir signalo pavidalo atstatymo iš pavienių trukmių matavimų. Šis metodas remiasi tuo, kad didelio pasikartojimo dažnio šviesos signalo intensyvumas yra pakankamai mažas, kad tikimybė vieno periodo metu užfiksuoti daugiau nei vieną fotoną yra nykstamai maža. Kai fotonas užregistruojamas, yra matuojama trukmė tarp žadinimo (sinchronizavimo) impulso ir fotoną užregistravusio detektoriaus impulso. Užregistravus fotoną, atminties pozicijoje, atitinkančioje išmatuotą trukmę, užregistruotų fotonų skaičius padidinamas vienetu. Po daugelio sužadavimo impulsų yra



6 pav. Laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo metodo principas

užregistruojamas pakankamai didelis fotonų skaičius, kurių pasiskirstymas laike atitinka registruojamo šviesos signalo pavidalą.



7 pav. Laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo modulyje principinė schema

$$I_{išm}(t) = \sum_{t=0}^{t=t'} L(t') I(t - t') \Delta t \quad (6a)$$

Jei  $\Delta t$  labai maži tai sumą galima išreikšti integralu:

$$I_{išm}(t) = \int_0^t L(t') I(t - t') dt'. \quad (6b)$$

Fotonai yra registruojami foto-daugintuvais, mikrokanaliais foto-daugintuvais, griūtiniais fotodiodais ir t.t.. Elektriniai signalai iš detektorių patenka į diskriminatorius, kuriuose sukuriama „start“ ir „stop“ signalai, kurie naudojami laiko-įtampos keitiklio paleidimui ir sustabdymui. Analoginiu-skaitmeniniu keitikliu registruojama įtampa, atitinkanti trukmę tarp „start“ ir „stop“ signalų, konvertuojama į skaitmeninę vertę, kuri užrašoma kaip vienetinis įvykis su tam tikrą trukme. Iš surinktų įvykių sudaroma histograma, kuri atitinka matuojamos šviesos signalo skirstinį laike.


Išmatuota laikinė priklausomybė yra sistemos laikinio atsako ir tikrosios laikinės priklausomybės konvoliucija:

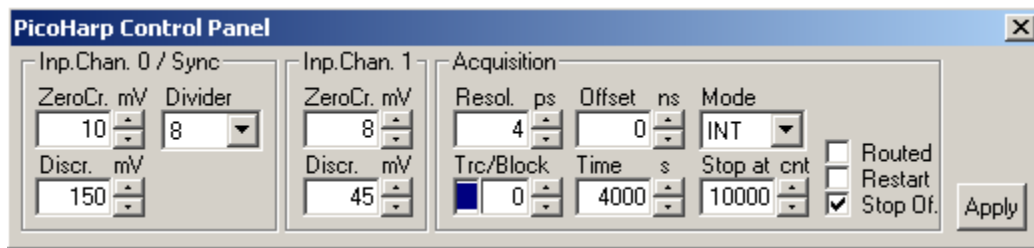
## 5. Darbo priemonės ir prietaisai

### 5.1. Optiniai elementai ir prietaisai

Laboratoriniame darbe naudojama: femtosekundinė Ti:safyro lazerinės sistemos (impulso trukmė ~100fs) spinduliuotės antroji harmonika (400nm, pasikartojimo dažnis = 80MHz), veidrodžiai M1, M2, M3(aliumininiai,  $\lambda=300\text{-IR}$  nm, ats. koef.>86 %), lęšis L1( $f = 500\text{mm}$ ), objektyvas L2, kiuvetės laikiklis, poliarizatorius P1, monochromatorius MC, griūtinis fotodiodinis detektorius FD1, liniuotė L, laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo modulis PicoHarp300.

### 5.2. Valdymo programa


Laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo modulis PicoHarp300 yra valdomas programa PicoHarp. Paleidus programą atsiveria pagrindinis langas, kuriame yra valdymo mygtukai ir atvaizduojami matavimo rezultatai. Paspaudus  atsiveria PicoHarp valdymo langas.





8pav. PicoHarp valdymo langas

0 kanalo /synchronizavimo („Inp. Chan. 0/Sync“) nustatymų skydelyje reikia nustatyti „ZeroCr. mV“ lygu 10, „Divider“ lygu 8, „Discr. mV“ lygu 200. 1 kanalo („Inp. Chan. 1/“) nustatymų skydelyje reikia nustatyti „ZeroCr. mV“ lygu 10, „Discr. mV“ lygu 500. Matavimo („Acquisition“) galima nustatyti matavimo skyra („Resol. ps“), poslinkį laike („Offset ns“), matavimo būdą („Mode“, „OSC“ – nepertraukiamas matavimas, duomenys ekrane atnaujinami tik pamatavus, „INT“ – vienkartinis matavimas, duomenys ekrane atnaujinami dažnai), atvaizdavimo kreivę („Trc/Block“), integravimo laiką „Time s“, maksimalų matuojamų fotonų skaičių „Stop at cnt“.



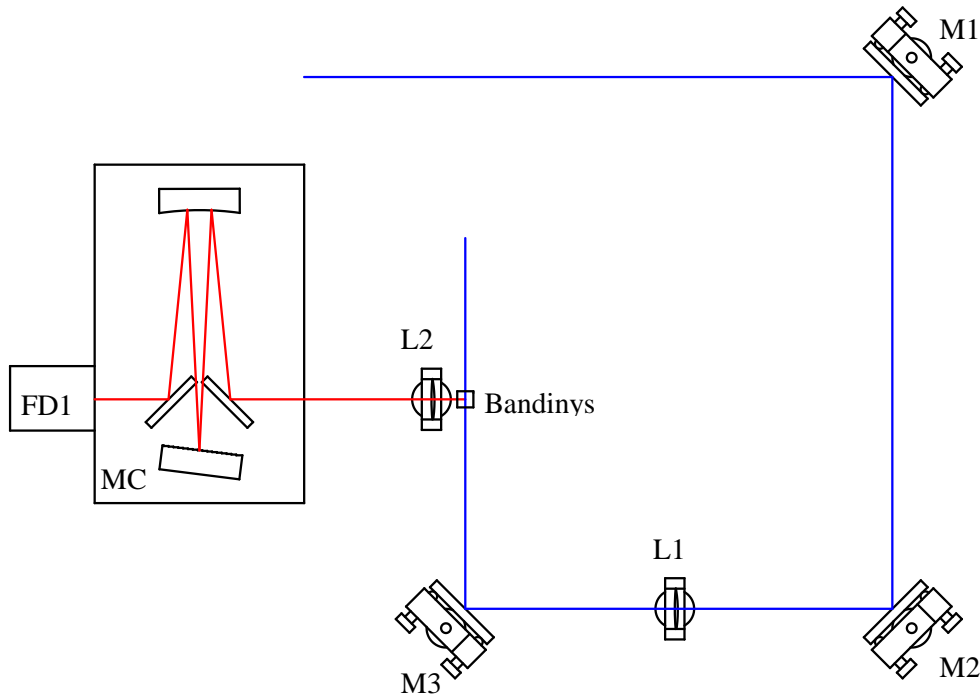
Paspaudus atveriamas duomenų  atvaizdavimo grafiko ašių nustatymo langas.

Matavimas paleidžiamas paspaudus .

Matavimas sustabdomas paspaudus .

Išsaugojus duomenys, \*.phd formato rinkmenas reikia konvertuoti į ASCII formato rinkmenas.

## 6. Darbo schema

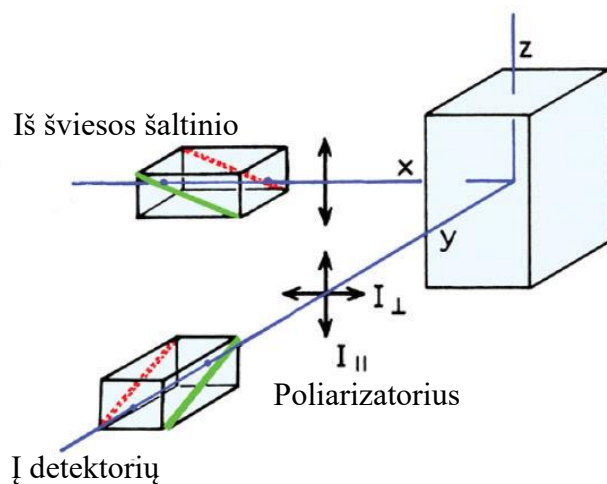


9 pav. Matavimo grandinė

## 7. Darbo eiga

### 7.1. Matavimo schemos derinimas

- Įjungti laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo modulio maitinimą.
- Išstatyti veidrodžius M1, M2 ir M3. Veidrodžiais nukreipti lazerinį pluoštą lygiagrečiai stalo paviršiui 95 mm liniuotės L aukštyje. Pluoštas turi praeiti ~10mm prieš objektyvą.



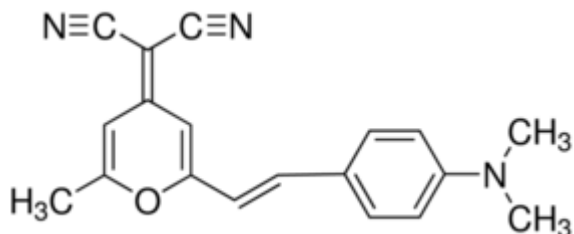
10 pav. Anizotropijos matavimas

- Išstatyti lęšį L1 ~500mm prieš bandinį.
- Įstatyti kiuvetę su sklaidančiu tirpalu į bandinio vietą. Pluoštas turi eiti kuo arčiau kiuvetės kraštinės.
- Derinant veidrodį M3 nustatyti, kad signalas būtų didžiausias.
- Matuojant fluorescencijos anizotropiją tarp objektyvo L2 ir monochromatoriaus MC pastatyti poliarizatorių P1.



## 7.2. Matavimas

Bandiniams naudojami DCM etanolio DCM etanolio/vandens tirpalai 10mm kiuvetėse. Išmatuoti



11 pav. DCM (4-(Dicianometilen)-2-metil-6-(4-dimetilaminostiril)-4H-piranas

bandinių sugerties spektrus Shimadzu UV3101 spektrometru (programinė įranga UV Probe(User)).

Pamatuoti bandinių fluorescencijos spektrus šviesolaidiniu Avantes AvaSpec-3648 spektrometru.

Ištačius kiuvetę su sklaidančiu tirpalu išmatuoti aparatinę funkciją.

Išmatuoti DCM etanolio tirpalo fluorescencijos anizotropiją:

$$r(t) = \frac{I_{\parallel}(t) - I_{\perp}(t)}{I_{\parallel}(t) + 2 \cdot I_{\perp}(t)} = \frac{I_{VV} - G I_{VH}}{I_{VV} + 2G I_{VH}}, \quad (7)$$

kur  $G = I_{HV}/I_{HH}$ ,  $VV$  – žadinimo poliarizacija ir fluorescencijos registravimo poliarizacija vertikali matavimo sistemos plokštumai,  $VH$  – žadinimo poliarizacija vertikali, o fluorescencijos registravimo poliarizacija horizontali matavimo sistemos plokštumai,  $HV$  – žadinimo poliarizacija horizontali, o fluorescencijos registravimo poliarizacija vertikali matavimo sistemos plokštumai,  $HH$  – žadinimo poliarizacija ir fluorescencijos registravimo poliarizacija horizontali matavimo sistemos plokštumai.

Išmatuoti bandinių fluorescencijos gesimo kinetikas ties 5-7 skirtingų bangos ilgių, padengiant visą išmatuotą nuostovų fluorescencijos spektrą .

Atvaizduoti rezultatus grafiškai. Apskaičiuoti laikinės aparatinės funkcijos plotį pusės aukštyje. Aproximavus daugiaekspontine formule apskaičiuoti gesimo trukmes. Paašškinti rezultatus ir skirtumus tarp bandinių.

$$I(t) = \sum_i a_i \exp(-t/\tau_i) \quad (8)$$

1. W.Demtröder, Laser Spectroscopy: Basic Concepts and Instrumentations, (Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2003)
2. J.R.Lakowicz, Principles of Fluorescence Spectroscopy, (Springer, New York, 2006)
3. R.L.Sutherland, Handbook of Nonlinear Optics, (Marcel Dekker, Inc., New York, 2003)
4. R.Menzel, Photonics. Linear and Nonlinear Interactions of Laser Light and Matter, (Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2001)
5. [https://www.picoquant.com/images/uploads/page/files/7253/technote\\_tcspec.pdf](https://www.picoquant.com/images/uploads/page/files/7253/technote_tcspec.pdf)
6. <http://becker-hickl.com/handbookphp.htm>