

József Attila Tudományegyetem Kisérleti Fizikai Tanszéke

FLUORESZKÁLÓ OLDATOK CSILLAPODÁSI IDEJÉNEK VIZSGÁLATA

Doktori disszertáció

Szücs Katalin

tanársegéd

S z e g e d

1980



Tartalomjegyzék

Bevezetés	1
I. fejezet	4
1.1. A lumineszcencia jellemzők áttekintése	4
1.2. A csillapodási idő kapcsolata más lumineszcencia s jellemzőkkel	14
1.3. A csillapodási időt befolyásoló egyéb tényezők.	19
1.4. A reabszorpció és a szekunder lumineszcencia hatása	24
II. fejezet	32
2.1. A csillapodási folyamatok vizsgálatára alkalma- zott berendezések áttekintése	32
2.1.1. Fázisfluoriméterek	32
2.1.2. Impulzusfluoriméterek	40
2.1.3. Egyéb fluoriméterek	48
2.2. Az ismertetett fluoriméterek kritikai összeha- sonlítása	52
2.3. Az általunk alkalmazott berendezések leírása ..	56
2.3.1. A fázisfluoriméter	56
2.3.2. Impulzusfluoriméter	60
III. fejezet	68
3.1. Kiértékelési módszerek	68
3.1.1. A fázisfluorimétereknél használt eljárás	68
3.1.2. Impulzusfluorimétereknél alkalmazott kiérté- kelési módok	69
a, Közelítés a legkisebb négyzetek módszerével ..	72
b, Grafikus módszer	74



c, Iterációs konvolúció	76
d, Momentumok módszere	77
e, Modulációs függvény	78
f, Laplace transzformáció	80
g, Közelítés exponenciális sorozatokkal	83
h, Fourier transzformáció	84
3.2. Mérési eredmények	87
3.2.1. A vizsgált anyagok kiválasztásának szempontjai	87
3.2.2. Az impulzusfluoriméter hitelesítése	89
3.2.3. Néhány jelenség tanulmányozása impulzusfluoriméterre.	97
3.2.4. A szekunder lumineszcencia csillapodási időre gyako- rult hatásáról	103
Összefoglalás	114
Irodalomjegyzék	116

Bevezetés

A fluoreszcencia jelenségek vizsgálata a lumineszcencia kutatások egyik legfontosabb területe. A lumineszkáló oldatok vizsgálata már évtizedekkel ezelőtt megkezdődött, mert a világítás folyamata szoros összefüggésben van az anyag szerkezetével, így a molekulák részletes analizisét teszi lehetővé [1].

A csillapodási idő, vagyis a fluoreszkáló molekulák gerjesztett állapotának átlagos élettartama, a világítás egyik legfontosabb jellemzője. A lecsengési függvényt kell ismerni a molekulán belüli és molekulák közötti energiaátmenetek általános vizsgálatához [2], felvilágosítást ad a molekulák reakciókinetikájáról [3], a gerjesztett állapotok élettartamának ismeretére van szükség a megfelelő lézeraktív anyagok kiválasztásakor [4], stb. A fluoreszcencia csillapodási idejének mérése különösen nagy jelentőségűnek bizonyult az utóbbi években a molekuláris biológia alapvető fontosságú, dinamikus kémiai és fizikai folyamatainak megértéséhez.

Mindezek alapján érthető, hogy számos kutató végez vizsgálatot ezen a területen és a technika fejlődésével újabb és újabb elven működő fluoriméterek épülnek, melyen egyre pontosabbak és egyre rövidebb csillapodási idők mérésére alkalmasak.

Az utóbbi időben épített fluoriméterek legnagyobb része impulzusfluoriméter, minthogy az impulzusfluoriméter esetén /a fázisfluoriméterekkel szemben/ a fluoreszcencia fényintenzitás időbeli lefutása közvetlenül figyelhető meg és ezáltal lehetséges nem exponenciális, vagy több exponenciálisból álló folyamatok vizsgálata is, valamint a mérés és a kiértékelés gyors.

Ezen előnyös tulajdonságai miatt intézetünkben is sor került egy impulzus fluoriméter megépítésére, amit jelen munkánkban ismertetünk.

A dolgozat négy fő részre tagozódik.

Az első fejezetben a lumineszcencia jellemzőket és ezen jellemzők közötti kapcsolatokat ismertetjük, különös tekintettel a csillapodási időre. Foglalkozunk a csillapodási időt befolyásoló egyéb tényezőkkel, és a szekunder lumineszcenciának a csillapodási időre gyakorolt hatásával.

A második fejezetben bemutatjuk a csillapodási idő mérésére szolgáló fázis és impulzusfluorimétereket, majd részletesen leírjuk az intézetben korábban készült, méréseinkhez felhasznált fázisfluorimétert és az általunk épített impulzusfluorimétert.

Mivel az impulzusfluoriméter mérési eredményként a fluoreszcencia fény intenzitásának a készülékfüggvénnyel torzított időbeli lefutását szolgáltatja, a harmadik fejezetben részletesen foglalkozunk a mérések kiértékelésének azon módszereivel, amelyekkel a torzított kísérleti eredményekből a torzítás nélküli lecsengési folyamat időfüggése előállítható.

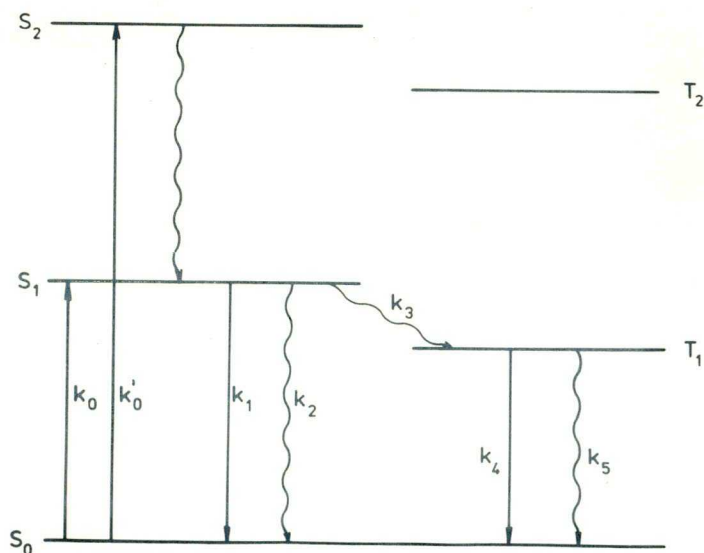
A harmadik fejezet második része mérési eredményeinket tartalmazza. Itt ismertetjük az impulzusfluoriméter hitelesítésére végzett méréseinket, továbbá különböző típusu és lecsengési idejű festékek esetén kapott adatainkat, amelyeket a fázisfluoriméteren mért, valamint az irodalomban közölt értékekkel hasonlítottunk össze. Néhány méréssorozaton keresztül bemutatjuk, hogy a készülék számos ismert fizikai jelenség vizsgálatára használható.

Végül kísérletileg vizsgáljuk a szekunder lumineszcenciának a csillapodási időre gyakorolt hatását, és azt, hogy a szekunder lumineszcencia hatását korrigáló, a fázisfluoriméter mérési körülményeire kidolgozott eljárás [30] alkalmazható-e az impulzusfluoriméterrel mért eredményekre. Ezen mérési eredményeink adalékul szolgálhatnak további szekunder lumineszcenciára vonatkozó vizsgálatokhoz is.

I. fejezet

1.1. A lumineszcencia jellemzők áttekintése

A lumineszcencia - és ezen belül fotolumineszcencia problémaköre a fizikai optika egyik legfontosabb területe. Vavilov [5] lumineszcenciának nevezte a test hőmérsékleti sugárzásával szembeni többletsugárzását, ha az 10^{-10} s-nál tovább tart. Helyesebb azonban a Ljovsin [5] definíciója, amely szerint a lumineszkálás gerjesztett részecskék, vagy belőlük alkotott fizikai rendszerek saját, termikusan kiegyensúlyozatlan sugárzása. Fotolumineszcenciáról akkor beszélünk, ha a molekula fénykvantum abszorbeálásával kerül gerjesztett állapotba. Az 1.1. ábra alapján, amely a lumineszkáló centrum lehetséges



1.1. ábra

energiaállapotait mutatja, látható, hogy mind az S_1 első szingulett gerjesztett állapotba jutásnak, mind pedig a dezaktiválódásnak több módja lehetséges. A gerjesztő fény hullámhosszától függően előfordulhat, hogy a molekula először az S_2 második gerjesztett szingulett állapotba kerül, ahonnan igen rövid $/10^{-12}$ s / idő alatt belső konverzióval az S_1 szintre jut. Ha az alapállapotba való visszajutás fénykibocsátással jár, akkor sugárzásos $/\rightarrow/$ ettől eltérő esetben sugárzás nélküli $/\rightsquigarrow/$ dezaktivációról beszélünk. Maga a fénykibocsátás is történhet spontán, vagy indukált módon, az oldat valamely térfogategységében jelenlévő sugárzási energiától függően.

A lumineszcencia jelenségének és jellemzőinek definíciói az $S_1 - S_0$ szintek között fellépő, spontán emissziós folyamatokra vonatkoznak.

A rendkívül sokrétű fluoreszcencia jelenség közül mi csupán szerves festékkoldatok fotolumineszcenciájával /azaz diszkrét centrumok világításával/ foglalkozunk. A festékkoldatok lumineszcencia tulajdonságainak vizsgálata lumineszcencia jellemzők: az abszorpciós spektrum, emissziós spektrum, hatásfok, polarizációs fok és a csillapodási idő meghatározásán alapszik.

Abszorpciós spektrumon az anyag fényelnyelésére jellemző abszorpciós együttható hullámhossztól $/k(\lambda)/$, illetve frekvenciától $/k(\nu)/$ való függését értjük. A $k(\lambda)$ abszorpciós együttható megmutatja, hogy egy, az oldat belsejében haladó, λ hullámhosszúságu nyaláb, az igen kicsiny Δl szakaszon való áthaladás során eredeti intenzitásának hányad részét veszíti el abszorpció következtében, azaz a

$$dI(\lambda) = -k(\lambda) I_0(\lambda) d\lambda \quad 1.1.$$

összefüggéssel adható meg. Itt $I_0(\lambda)$ a λ hullámhosszhoz tartozó fényáram, amely $d\lambda$ vastagságu rétegre esik, $dI(\lambda)$ a rétegen való áthaladás során bekövetkező fényáramcsökkenés, $k(\lambda)$ pedig az anyag elnyelési képességét jellemző abszorpciós együttható. Az 1.1. összefüggés integrált alakja

$$I = I_0 e^{-k(\lambda) l} \quad , \quad 1.2.$$

az ún. Lambert törvény.

Az oldatok elnyelési képességének jellemzésére gyakran, az $\epsilon(\lambda)$, vagy $\epsilon(\nu)$ moláris dekadikus extinkciós koeficiens értékét adják meg, melynek $k(\lambda)$ -val való kapcsolatát a következő egyenlet írja le:

$$k(\lambda) = 2,3026 \cdot \epsilon(\lambda) \cdot c \quad , \quad 1.3.$$

ahol c az oldat M-ben kifejezett koncentrációja.

A lumineszkáló anyagok különböző csoportjainak abszorpciós szinképei nagyon különbözőek lehetnek. A festékek abszorpciós szinképe a látható tartományban általában egyetlen, széles sávból áll, amely a rövidebb hullámhosszak felé aránylag lassan, a hosszabb hullámhosszak felé rohamosan csökken. Sok festéknek a látható tartományban meglévő alap abszorpciós sávja mellett a közeli ultraibolya tartományban is van egy-két erős abszorpciós sávja. Mégis a festékek többségénél teljesül az emissziós szinképnek a gerjesztő fény hullámhosszától való függetlensége, ami a már említett, S_2 és S_1 szintek közt lejátszódó energia átren-

deződéssel értelmezhető.

Az $f(\lambda)$ emissziós spektrum a kibocsátott fény spektrális eloszlását adja meg. Nevezetesen $f(\lambda)d\lambda$ azt jelenti, hogy az egységnyi térszögbe emittált fény hányad része esik a λ és a $\lambda+d\lambda$ intervallumba, tehát erre az eloszlási függvényre fenn kell állnia az

$$\int_0^{\infty} f(\lambda) d\lambda = 1 \quad 1.4.$$

összefüggésnek. Attól függően, hogy a fényintenzitást erg/sec, vagy kvantumszám/sec egységekben mérjük, beszélünk $f_e(\lambda)$ energia, vagy $f_q(\lambda)$ kvantumspektrumról. Minthogy az egyetlen kvantum által kibocsátott energia $h \cdot \nu$, a közöttük lévő kapcsolat a következőképpen írható le:

$$f_e(\lambda) = h \cdot \nu f_q(\lambda) = \frac{h \cdot c}{\lambda} \cdot f_q(\lambda) = \text{const} \frac{1}{\lambda} f_q(\lambda) \quad , \quad 1.5.$$

ahol a konstans a normálási tényezőt is magában foglalja.

Az emissziós szinképet, ^{is}éppúgy, mint az abszorpciós szinképet, az emittáló, illetve az abszorbeáló centrum összetétele, szerkezete és a környező közeg hatása határozza meg. A fluoreszcencia spektrum a rövidebb hullámhosszaknál viszonylag gyorsan nő, a hosszabb hullámhosszak felé pedig lassan csökken. Az abszorpciós és emissziós szinképek átfedésének tartományában létrejövő reabszorpció és szekunder lumineszcencia miatt a közvetlenül mért szinkép alakja erősen eltérhet a valódi emissziós spektrumétól.

Az abszorpciós és emissziós spektrumok között először Stokes állapított meg kapcsolatot. Ennek Lommel által módosított alakja /Lommel-Stokes-törvény/ csaknem mindig teljesül: "az emissziós szinkép maximuma és maga az egész szinkép az elnyelési szinképhez és ennek maximumához képest a hosszabb hullámok fe-

lé tolódik el". Lényeges még az abszorpció és emisszió szintek tükröszimmetriájának kérdése. A rezgésszám függvényeként ábrázolt $\frac{\varepsilon(\nu)}{\nu}$ és $\frac{f_q(\nu)}{\nu^3}$ függvények ν_0 metszéspontjukra /bizonyos feltételek mellett/ tükröszimmetriát mutatnak [6].

Más jellegű összefüggést ad meg a spektrumok között a Ketskeméty által módosított Sztjepanov formula, mely szerint a fluoreszcencia $f_e(\nu)$ energiaspektruma arányos az oldat hőmérsékleti sugárzásának $W_e(\nu)$ energiaspektrumával, azaz

$$f_e(\nu) \sim k(\nu) \nu^3 e^{-h\nu/kT} \sim W_e(\nu) \quad , \quad 1.6.$$

$$f_e(\nu) = k(\nu) D'(T) Q_\nu n^2 \nu^3 e^{-h\nu/kT} \sim W_e(\nu) \quad ,$$

ahol T az oldat hőmérséklete, k a Boltzmann állandó, Q_ν kvantum hatásfok, n törésmutató, $D'(T)$ hőmérsékletfüggő konstans.

A lumineszcencia hatásfokát kétféleképpen szokás definiálni, nevezetesen mint kvantumhatásfokot és mint energiahatásfokot. Az oldat valamely igen kicsiny, de a látható fény hullámhosszának köbénél jóval nagyobb ΔV térfogateleméből az időegység alatt a teljes térszögbe kisugárzott fluoreszcencia kvantumok száma és a λ hullámhosszu, /ill. $\nu = \frac{c}{\lambda}$ frekvenciájú/, gerjesztő fényből a ΔV -ben időegység alatt elnyelt kvantumok számának hányadosát nevezzük kvantumhatásfoknak, és $Q_q(\lambda)$ -val, illetve $\eta_q(\nu)$ -vel jelöljük ezeket. Ha a kisugárzott, ill. elnyelt kvantumok száma helyett a definícióba azok energiáját helyettesítjük, akkor az $Q_e(\lambda)$, ill. $Q_e(\nu)$ energiahatásfok definíciókat nyerjük [7]. A kettő közötti kapcsolat:

$$Q_e(\lambda) = Q_q(\lambda) \cdot \frac{\bar{\lambda}}{\lambda} \quad , \quad \text{ahol} \quad \bar{\lambda} = \int_0^\infty f_q(\lambda) \frac{c}{\lambda} d\lambda \quad . \quad 1.7.$$

Gyakran nincs szükség a hatásfok abszolút értékének ismeretére a jelenségek vizsgálatához. Ilyen esetben az előbbi, un. abszolút kvantumhatásfokkal ellentétben, csupán a relatív hatásfokfüggvényt, az $\frac{Q(\lambda)}{Q_{max}(\lambda)}$ -ot határozzuk meg.

A lumineszcencia Q kvantumhatásfoka a következő kifejezéssel is megadható:

$$Q = \frac{\int_0^{\infty} N_L dt}{\int_0^{\infty} N_A dt} \quad , \quad 1.7.$$

ha a mintát a $[0, t_1]$ időintervallumban gerjesztjük, és N_A az abszorbeált kvantumok időfüggvényét, N_L pedig a lumineszcencia kvantumok időfüggvényét jelenti [8].

A lumineszkáló molekulák kvantum, ill. energiahatásfoka kifejezhető a molekuláris folyamatokhoz tartozó átmeneti gyakoriságokkal is. Az 1.1. ábrán k_1 az S_1 első gerjesztett szingulett állapotból S_0 állapotba való sugárzásos, k_2 a sugárzás nélküli átmenet gyakorisága, k_3 az S_1 -ről a T első triplett szintre történő sugárzás nélküli átmenet, k_4 pedig T -ről S_0 -ra történő sugárzásos, k_5 sugárzás nélküli folyamatok átmeneti gyakorisága. A fenti mennyiségekkel a fluoreszcencia kvantumhatásfoka:

$$Q = \frac{k_1}{k_1 + k_2 + k_3} \quad . \quad 1.8.$$

Mivel a festékkoldatok esetén a lumineszkáló molekulán belül lejátszódó folyamatok miatt általában fellép sugárzás nélküli energiaátmenet, így Q rendszerint egynél kisebb.

Az anti-stokesi tartománytól eltekintve a Vavilov törvény értelmében a kvantumhatásfok sem függ a gerjesztő fény frekvenci-

ájától [5]

A fluoreszcencia fényt polárosnak tekintjük, ha a fényvektor rezgéseinek amplitudója nem azonos két egymásra és a tovaterjedés irányára merőleges irányban. A poláros fénysugaraknál két kitüntetett, egymásra merőleges irány található, melyek egyike az elektromos fényvektor legnagyobb, a másik a legkisebb rezgések irányával esik egybe. Az I teljes fényáram két részre bontható: jelölje I_1 a legkisebb, I_2 a legnagyobb rezgésű fényvektor fényáramát. A teljes fényáram polároosságának mértékén definíció szerint a lumineszkálás fényáramát képviselő, egymásra merőlegesen poláros fényáramok maximális különbségének és a lumineszkálás fényáramának hányadosát értjük, azaz

$$p = \frac{I_1 - I_2}{I_1 + I_2} \quad 1.9.$$

Csillapodási idő. A lumineszkáló anyagok egyik legjellemzőbb sajátossága, hogy a gerjesztés befejezése után különböző ideig világítanak. Korábban egyes szerzők ezen tulajdonság alapján csoportosították a lumineszcencia jelenségeket. Ez az osztályozási szempont ma már túlhaladott /tekintve, hogy különböző természetű emissziós folyamatoknak is lehet azonos a csillapodási idejük/. Minthogy vizsgálataink tárgyát ez a lumineszcencia jellemző képezte, így ezt részletesebben tárgyaljuk.

A fluoreszcencia τ csillapodási idejének definiálása /az eddig ismertett paraméterekével ellentétben/ eddig még egyetlen szerzőnek sem sikerült anélkül, hogy az oldat molekuláris szerkezetére, vagy a gerjesztő fény intenzitásának modulálására nézve kikötést ne tett volna. Tételezzük fel, hogy egy ΔV tér-

fogat elemnyi oldatrészt a $t = 0$ időpillanattig gerjesztünk, majd ettől a pillanattól a gerjesztő fény intenzitása nulla. Az emittált fluoreszcencia intenzitást, mint az idő függvényét $I(t)$ -vel jelölve a csillapodási idő a

$$\tau_1 = \frac{\int_0^{\infty} I(t) dt}{\int_0^{\infty} I(t) dt} \quad 1.10.$$

formulával adható meg. Ez az összefüggés az átlagos élettartamnak egy lehetséges, Förster [9] által már 1950-ben megadott, általános, gyakran használt definíciója. Azt az átlagos időt adja meg, amely alatt a gerjesztő energiának a lumineszkáló anyagban felhalmozott része lumineszcenciává alakul át. Léteznek azonban a csillapodási időnek más meghatározásai is. Ljovsin [10] a fentén kívül további négy definíciót ad.

A

$$\tau_2 = \frac{\int_0^{\infty} t n(t) dt}{\int_0^{\infty} n(t) dt} \quad 1.11.$$

összefüggéssel, ahol $n(t)$ a gerjesztett centrumok száma, értelmezi a gerjesztett állapot átlagos élettartamát. Diszkrét centrumok világításakor a gerjesztett molekulák n számának $-dn$ csökkenésére fennáll a

$$-dn = kn dt \quad 1.12.$$

differenciálegyenlet, ahol k annak valószínűségét jelöli, hogy valamely molekula gerjesztett állapotból alapállapotba kerül. Az 1.12. megoldása a $t = 0$ -ra vonatkozó $n(t) = n_0$ kezdeti feltétel mellett

$$n(t) = n_0 e^{-k \cdot t} \quad 1.13.$$

azaz a csillapodás exponenciális. 1.13-t 1.11- e helyettesítve a τ_2 -re

$$\tau_2 = \frac{\int_0^{\infty} t n_0 e^{-kt} dt}{\int_0^{\infty} n_0 e^{-kt} dt} = \frac{1}{k} \quad 1.14.$$

összefüggés adódik, ahol az 1.1. ábra értelmében $k = k_1 + k_2 + k_3$. A csillapodási idő tehát szoros összefüggésben van az átmeneti gyakoriságokkal:

$$\tau = \frac{1}{k_1 + k_2 + k_3} \quad 1.15.$$

Abban az esetben, ha feltételezzük, hogy csak sugárzásos átmenet van /azaz $k_2 = k_3 = 0$ /,

$$\tau_e = \frac{1}{k_1} \quad 1.16.$$

Ezt a mennyiséget definíció szerint természetes csillapodási időnek nevezik, és τ_e -vel jelölik. Mivel ez az eset a gyakorlatban ritkán áll fenn, a természetes csillapodási idő meghatározása a hatásfok és a csillapodási idő közti kapcsolat /ld. 1.2.b pont/ alapján történik. Minthogy exponenciális csillapodás esetén $I(t) \sim n(t)$, az 1.10 és 1.14. összehasonlításával belátható, hogy $\tau_1 = \tau_2 = \tau$ az az idő, amely alatt a fluoreszcencia intenzitása e-ed részére csökken.

Ljovsin a csillapodási idő jellemzésére használja még:

- azt a τ_3 időtartamot, mely alatt a lumineszcencia intenzitása meghatározott tört részére /A/ csökken:

$$\frac{I(\tau_3)}{I(0)} = A \quad ,$$

1.17.



- azt a τ_4 időintervallumot, mely alatt a gerjesztett centrumok száma csökken meghatározott B tört részére:

$$\frac{n(\tau_4)}{n(0)} = B, \quad 1.18.$$

- végül azt a τ_5 időintervallumot, mely alatt a luminoforban felhalmozott teljes energia egy meghatározott C értékre csökken:

$$\frac{\int_{\tau_5}^{\infty} I(t) dt}{\int_0^{\infty} I(t) dt} = C. \quad 1.19.$$

Exponenciális csillapodás esetén, ha $A=B=C=\frac{1}{e}$, akkor a fenti egyenletekből belátható, hogy $\tau_1=\tau_2=\tau_3=\tau_4=\tau_5$, vagyis az említett összefüggések bármelyikét alkalmazva az átlagos élettartamot kapjuk.

Szerves festékkoldatok fotolumineszcenciájának csillapodása többnyire exponenciális, de ettől eltérő csillapodást találtak pl. koncentrációs, vagy idegen anyaggal történő kioltáskor, illetve keverékkoldatok lumineszcenciája esetén. Nem exponenciális lecsengési törvénynél az említett definíciók közti kapcsolatok meglehetősen bonyolulttá válnak. Az $I(t) = \frac{1}{[1 + (I_0/k)^{1/2} t]^2}$ típusu hiperbolikus lecsengések esetén az 1.10. egyenlettel definiált csillapodási idő érték pl. érvénytelen / végtelenné válik. Hiperbolikus lecsengés adódik pl. néhány cink szulfid és alkáliföld-szulfid-foszfor esetén [8].

Az 1.14. és 1.18. definíciók alkalmazásához szükséges explicit alakban ismerni a gerjesztett állapotban lévő molekulák számá-

nak időbeli változását $/n(t) - t/$, de ez nem fejezhető ki a fluoreszcencia empirikusan ismert $I(t)$ intenzitására vonatkozó

$$I(t) = -\frac{1}{k_1 + k_2 + k_3} \frac{dn}{dt} \quad 1.20.$$

egyenletből.

Az 1.17. és 1.19. egyenletek más τ értéket szolgáltatnak, és ezek erősen függenek az A és C konstansoktól. Mint látható, ilyen esetben nem rendelhető egyértelműen csillapodási idő érték az $I(t)$ görbéhez. A Ljovsin által adott 1.17., ill. 1.19. definíciók általában alkalmazhatók, azonban mindig fel kell tüntetni, hogy milyen definíció alapján határoztuk meg a csillapodási időt. Vizsgálataink során mi az 1.11. definíciót használjuk.

1.2. A csillapodási idő kapcsolata más lumineszcencia jellemzőkkel

A csillapodási idő - definíciója értelmében - szoros kapcsolatban van a gerjesztett molekulák számának időbeli változásával, és ezen keresztül a többi lumineszcencia jellemzővel.

a, A $k(\nu)$ abszorpciós együttható és az 1.16-tal definiált τ_e természetes csillapodási idő között - az olyan molekulákra, mint pl. a szerves festékek - Strickler és Berg [11], illetve Birks és Dyson [12] feltételezve, hogy az abszorpciós sáv intenzitása bizonyos értéket meghalad $/\epsilon \geq 8000 \text{ cm}^{-1}/$, továbbá, hogy a molekulák gerjesztett és alap állapotához tartozó magkonfigurációja azonos, bonyolult levezetés után a következő

egyenletet nyerték:

$$\frac{1}{\tau_e} = 2,880 \cdot 10^{-9} n^2 \langle \bar{\nu}_f^{-3} \rangle^{-1} \frac{g_{S0}}{g_{S1}} \int \frac{\epsilon(\bar{\nu})}{\bar{\nu}} d\bar{\nu}, \quad 1.21.$$

ahol n a törésmutató, g_{S0} és g_{S1} gerjesztett, illetve alapállapot degenerációs foka, $\bar{\nu}$ az abszorbeált fény hullámhossza, és

$$\langle \bar{\nu}_f^{-3} \rangle^{-1} = \frac{\int f_q(\bar{\nu}) d\bar{\nu}}{\int \frac{f_q(\bar{\nu})}{\bar{\nu}^3} d\bar{\nu}} \quad 1.22.$$

az $f_q(\bar{\nu})$ fluoreszcencia spektrumhoz tartozó $\bar{\nu}_f^{-3}$ átlagfrekvencia érték reciproka. A fenti kifejezésekben az integrálást a fő abszorpciós sávra kell elvégezni; továbbá a szingulett állapotok közötti átmenetekre $\frac{g_{S0}}{g_{S1}}$ értéke rendszerint egy.

Förster [9] a Blohincev-féle tükörszimmetria szabály érvényességét feltételezve az

$$\frac{1}{\tau_e} = 2,880 \cdot 10^{-9} n^2 \frac{g_{S0}}{g_{S1}} \frac{(2\bar{\nu}_0 - \bar{\nu})^3}{\bar{\nu}} \int \epsilon(\bar{\nu}) d\bar{\nu} \quad 1.23.$$

egyenlethez jutott, ahol $\bar{\nu}_0$ a tükörszimmetriához tartozó hullámhossz. Mint Birks és Dyson kimutatták [12], annak feltételezése, hogy a tükörszimmetriaszabály érvényben van, azonos a Strickler és Berg által a magkonfigurációkra tett feltételezéssel. A tükörszimmetria frekvencia ismeretében a Strickler-Berg-féle egyenlet átalakítható a Förster-féle egyenletté.

Ezen összefüggések lehetőséget nyújtanak a természetes élettartam számításával történő meghatározására, így a τ_0 ismeretében a képletekben szereplő egyéb paraméterek kiszámítására.

b, A τ_e meghatározására nyújt lehetőséget a csillapodási idő és a kvantumhatásfok között fennálló kapcsolat, mely az egyik legkorábban felismert és legáltalánosabban alkalmazott összefüggés. Minthogy τ_e definíció szerint $\frac{1}{k_1}$ -gyel egyenlő, és abban az általánosabb esetben, amikor sugárzás nélküli átmenetek is jelen vannak $\tau = \frac{1}{k_1 + k_2 + k_3}$ -mal, a hatásfok 1.7. egyenlete

$$Q = \frac{\tau}{\tau_e} \quad 1.24.$$

alakú lesz, ahonnan τ_e hatásfok és csillapodási idő mérésével adódik. /1.24./ Érvényességének feltétele, hogy az esetleg fellépő késleltetett fluoreszcencia mértéke elhanyagolható legyen.

Hátori [13] összehasonlítja az 1.11. összefüggés alapján számolt, illetve az általunk mért τ csillapodási idő felhasználásával 1.24. alapján meghatározott természetes csillapodási időket, különböző festékcsoportok esetén. Néhány esetben eltérő érték adódott τ_e -re, ami azzal magyarázható, hogy az 1.21. egyenlet alkalmazhatóságához szükséges szigorú feltételeket nem minden esetben sikerült betartani. Az utóbbi az oka annak, hogy a legtöbb szerző [14], [15], [16] 1.24-t tartja alkalmasnak τ_e meghatározására, annak ellenére, hogy az abszorpciós és emissziós spektrum legtöbbször pontosabban meghatározható, mint a hatásfok, illetve a csillapodási idő. Mindhárom említett mennyiség $\epsilon(\nu)$, $f_q(\nu)$, $Q_q(\nu)$ és a csillapodási idő között létesít kapcsolatot az eredetileg Nyeporent [17] által megadott, majd Ketskeméty [7] által módosított

$$\tau = \frac{c^2 N \cdot 10^{-3} Q_{max}^2 f_q(\nu) e^{-\frac{h(\nu_0 - \nu)}{kT}}}{8\pi n^2 \nu^2 Q_q(\nu)} \quad 1.25.$$

egyenlet, ahol Q_{max} a fluoreszkáló oldat abszolút kvantumhatásfokának maximális értéke, ν_0 tükrörfrekvencia, n az oldat törésmutatója, N a Lotschmidt-féle szám. A fenti reláció teljesülésének is feltétele, hogy az abszorpciós és emissziós szinképek közötti tükrörszimmetria fennálljon.

c, A már említett Sztjepanov-féle összefüggésből számított hőmérséklet érték bizonyos esetekben az oldat T hőmérsékleténél kissé nagyobb, T^* értéknek adódott. E jelenséget Aljencev [18] úgy értelmezte, hogy az elnyelt energia egy része a gerjesztett állapotban a molekulának a $T^* > T$ hőmérséklet szerinti eloszlását hozza létre. Az abszorpciós és emissziós szinképből meghatározható T^* és az ebből adódó $\Delta T = T^* - T$ az oldat csillapodási idejével a

$$\Delta T = \Delta T_0 \exp -\tau/\tau' \quad 1.26.$$

kapcsolatban áll, ahol $\Delta T_0 = T^* - T_0$ a gerjesztés befejezésének pillanatában, $T^* - T$ pedig az emisszió pillanatában fennálló hőmérsékletkülönbséget jelenti. Szalay, Hevesi, Kozma [19] Intézetünkben részletes vizsgálatot végeztek a T^* és az 1.26. egyenlettel kapcsolatban, és a fenti egyenletet alkalmasnak találták - a mért csillapodási idő érték felhasználásával - a lumineszkáló centrumban lejátszódó folyamatok vizsgálatára.

d, Régóta ismert és sokak által vizsgált kérdés a csillapodási időnek a polarizációs fokkal való kapcsolata, melyet a Perrin-Ljovsin egyenlet ad meg:

$$\frac{1}{p} - \frac{1}{p_0} = \frac{1}{p_0} - \frac{1}{3} \cdot \frac{kT}{V\eta} \tau \quad , \quad 1.27.$$

ahol p_o a határpolarizáció, k a Boltzmann-állandó, T az abszolút hőmérséklet, η a közeg viszkozitása, V a molekula térfogata a szolvátburokkal együtt. Az 1.27. egyenlet fizikai alapja az, hogy a polarizációt az orientált molekulák Brown-féle mozgása határozza meg, ami a gerjesztett állapot élettartama alatt megy végbe. Így hosszabb élettartam esetén a molekulákhoz rendelt lineáris dipólus-oszcillátorok nagyobb átlagos szögelfordulást végezhetnek. Régebben a fenti összefüggést a τ meghatározására használták; a fluoriméterek fejlődése és széles körben való elterjedése óta inkább a V molekulatérfogatot számítják a mért τ és p , p_o értékekkel.

Jablonski és Szymanovski [20] kimutatták, hogy a csillapodási idő az oldat p polarizációs fokán kívül függ attól is, hogy az oldatban keletkező parciálisan poláros lumineszcencia fény milyen rezgésirányu komponensre kerül megfigyelésre.

A fluoreszcencia fény különböző rezgésirányu komponenseinek τ -ja bizonyos körülmények között lényegesen is különbözhet egymástól. $\tau^{\parallel}$ ill. $\tau^{\perp}$ jelölést használva a gerjesztő fény elektromos vektorával párhuzamos, illetve arra merőleges elektronos vektoru lumineszcencia komponensek csillapodási idejére az r mért r_o határ emissziós anizotrópiák között a következő összefüggés áll fenn:

$$r_o = \frac{2 r^2 \tau^{\parallel}}{\tau^{\parallel} (1 + 2 r) - \tau} = \frac{r^2 \tau}{\tau - \tau^{\perp} (1 - r)} \quad 1.28.$$

τ a tényleges csillapodási idő, /azaz a lumineszkáló molekula gerjesztett állapotban való átlagos tartozkodási ideje/, amit [20] értelmében akkor nyerhetünk, ha /egy polaroid megfelelő

beállításával/ a lumineszcencia fénynek azt a részét figyeljük meg, amelynek rezgési iránya a gerjesztő fény elektromos vektorának rezgési irányával $\alpha = 55^\circ$ -os szöget zár be. Az így mért τ -ra fennáll a következő egyenlőség: $\tau^\perp < \tau < \tau^\parallel$. A $\tau^\perp$, ill. $\tau^\parallel$ a teljes lumineszcencia fény mérésének segítségével nyert τ csillapodási időtől csak nagy viszkozitású oldatok esetén tér el számottevően [21].

Ha a gerjesztő fény polarizálatlan, és a megfigyelés is polarizátor nélkül történik, a mért $I(t)$ lecsengési görbe is /jó közelítéssel/ a keresett τ csillapodási időt szolgáltatja, mivel $I(t)$ lineáris kombinációja a $I_\perp(t)$ és $I_\parallel(t)$ -nak. $I_\perp(t)$ és $I_\parallel(t)$ azokat a lecsengési görbéket jelenti, amelyeket a gerjesztő fény elektromos vektorára merőlegesen, ill. azzal párhuzamosan elhelyezett polarizátorokon keresztül figyelhetnénk meg [22].

Bár a fázisfluoriméteren végzett méréseink során poláros gerjesztő fényt és polarizátoron keresztül történő megfigyelést alkalmaztunk, míg az impulzusfluoriméternél többnyire természetes fénnel gerjesztettünk és a teljes lumineszcencia fény megfigyelésre került, az alkalmazott igen kis viszkozitású oldatok esetén az ebből származó eltérés az egyéb mérési hibáknál kisebb [21], [22].

1.3. A csillapodási időt befolyásoló egyéb tényezők

a, Első megfigyelések közé tartozott, hogy a csillapodási idő függ attól, hogy milyen oldószerben, illetve közegben oldjuk a fluoreszkáló anyagot. Például Strickler és Berg [11] mé-

réseit szerint a 9-aminoakridin csillapodási idejére vizes oldatban $\tau=16,04$ ns-t, etanolos oldatban 13,87 ns-t mértek.

A leggyakrabban alkalmazott oldószerek /viz, glicerin, alkoholok/ fizikai jellemzői /sűrűség, viszkozitás, stb./ és a τ közötti matematikailag leírható kapcsolatról nincs tudomásunk.

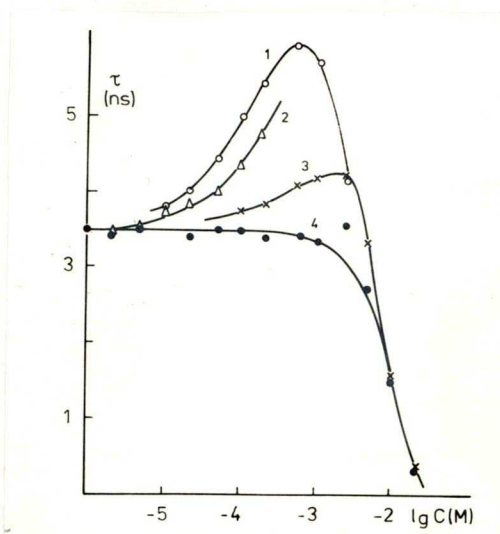
Általában az alkoholban mért hatásfok érték nagyobb^a vizben, illetve glicerinben mérténél, így amikor $\alpha \sim \tau$ reláció érvényes, ugyanez a csillapodási időre is igaz. Lugos, vagy savas adalékok is nagy mértékben befolyásolják a lumineszcencia jellemzőket [23], [20].

Az oldószer-hatás kísérleti és elméleti vizsgálatával mind a mai napig számos kutató foglalkozik [23], [24], [25].

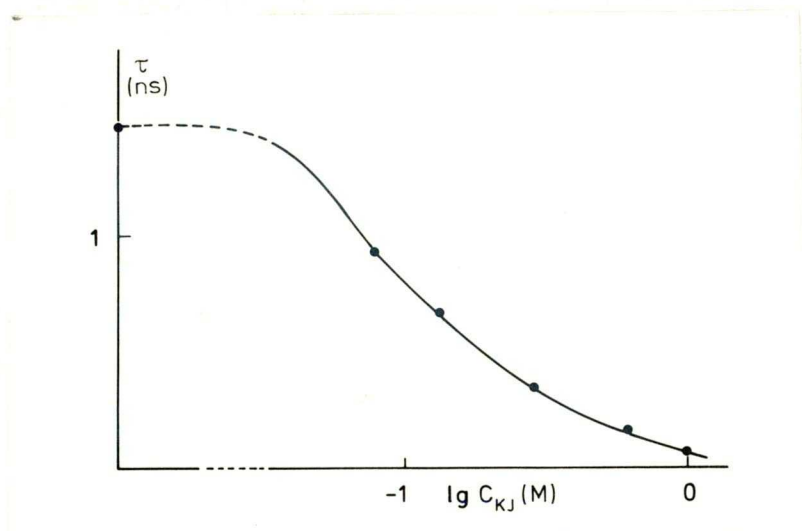
b, A csillapodási időt ugynevezett kioltó tényezők is befolyásolják. Ilyen tényezők lehetnek pl. az oldott lumineszkáló anyag koncentrációjának növelése, vagy a rendszer lumineszcencia-spektrumának területén abszorbeáló, vagy nem abszorbeáló idegen anyagnak az oldatba való bevitele /idegen kioltás/.

Tapasztalat szerint az oldott lumineszkáló anyag, vagy az oldatba vitt kioltó anyag koncentrációját növelve a kezdetben konszantnak tekinthető csillapodási idő jól meghatározott koncentráció értéknél csökkenni kezd. Az 1.2. ábra vizben oldott fluoreszcen^y csillapodási idejének koncentrációs kioltását [21] az 1.3. ábra vizben oldott rodamin B τ -jának idegen anyaggal /káliumjodiddal/ történő kioltását mutatja [51].

Förster [9] az idegen anyaggal történő kioltás kétféle típusát különbözteti meg.



1.2. ábra



1.3. ábra

A statikus kioltás esetében a lumineszkáló anyag molekuláinak egy része a kioltó molekulák jelenléte miatt nem kerülhet gerjesztett állapotba. Ez a hatás a molekulák asszociációján, vagy valamilyen kémiai kölcsönhatásán alapulhat. A lumineszcenciára képtelen "kioltott" molekulák továbbra is abszorbeálnak, de ezt nem követi fényemisszió, így a hatásfok csökken. A csillapodási idő ezen kioltási folyamatnál változatlan marad.

A dinamikus kioltás folyamatában a kioltó molekulák a gerjesztés megtörténte után vonják el a gerjesztési energiát a gerjesztett állapotba jutott molekuláktól, ezáltal a gerjesztett állapot átlagos élettartama, valamint a világítás hatásfoka csökken. A hatásfok változása a Stern-Volmer egyenlettel írható le [9].

$$Q = \frac{Q^0}{1 + KC} \quad , \quad 1.30.$$

ahol Q és Q^0 a kioltott, illetve kioltatlan oldat hatásfoka, C a kioltó anyag koncentrációja, K pedig a kioltásra jellemző konstans.

Felhasználva, hogy dinamikus kioltás esetén fennáll az

$$\frac{I}{I_0} = \frac{Q}{Q_0} = \frac{\tau}{\tau_0}$$

reláció [21], [9] és átrendezve az 1.30. egyenletet adódik, hogy

$$\frac{\tau_0}{\tau} = 1 + KC \quad , \quad 1.30.a.$$

ahonnan a K kioltási konstans és a kioltatlan oldat τ_0 csillapodási idejének ismeretében meghatározható a kioltó anyag koncentrációjához tartozó τ csillapodási idő.

A kioltás jellemzésére gyakran használják azt a kioltóanyag-koncentrációt $[C_{1/2}]$ is, amelynél $\tau = 1/2 \tau_0$.

Az 1.30.a. egyenletből számítható továbbá az A akceptor és a gerjesztett állapotban lévő D^* donor molekulák közti azon R_0 kritikus távolság, amelynél azonos a valószínűsége annak, hogy D^* emittált, vagy A -nak adja át energiáját; vagyis az ugyneve-

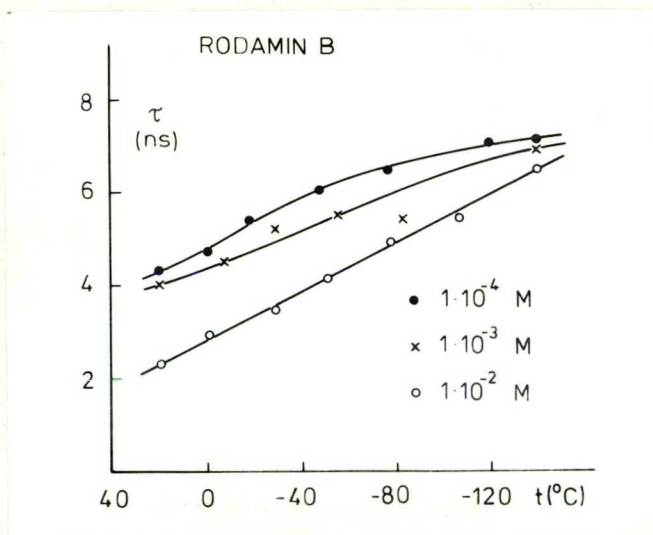
zett hatásgömb sugara [26].

$$R_o = \left(\frac{3000}{4\pi N} \cdot \frac{1}{c_{1/2}} \right)^{1/3} = 7,35 \cdot (c_{1/2})^{-1/3} \quad \text{\AA-ben} \quad , \quad 1.31.$$

ahol N az Avogadro-féle szám.

Szerves festékkoldatok nem vizes oldatainak koncentrációs kioltásánál a csillapodási idő általában a hatásfokkal arányosan csökken, ami dinamikus kioltásra utal.

c, Hamar felfigyeltek a csillapodási időnek a hőmérséklettől való függésére is: növekvő hőmérsékletek mellett a τ csökkenő tendenciát mutat. Az utóbbi időben történt vizsgálatok közül példaként Theiss és Weber [15] eredményeit említjük. Az 1.4. ábra a természetes csillapodási idő hőmérsékletfüggését ábrázolja



1.4. ábra

epoxidba ágyazott rodamin B esetén, ahol egyidejűleg a koncentrációk különbözősége miatt adódó eltérés is látható.

d, Amint a csillapodási idő és a polarizációs fok közti kapcsolatnál már említettük, a τ -t az oldat viszkozitása is befolyásolta.

e, A gerjesztő, illetve megfigyelési hullámhossztól való függés vizsgálatát sokáig nehezzé tette, hogy igen kis intenzitású világitást kell megfigyelni. Szevcsenko és munkatársai [27], illetve Müller és munkatársai [28] az anti-stokesi tartományban változtatva a gerjesztő fény hullámhosszát, a csillapodási időt állandónak találták, de ezzel ellentétes adatok is vannak [29]. Ez, az ún. "anti-stokesi esés" létének kérdése elméleti jelentőségű, melynek vizsgálatához az új egyfoton-számlálós impulzustechnika /ld. 21.2.c. / jó lehetőséget biztosít.

Intézetünkben szinte valamennyi említett hatás vizsgálatával foglalkoztak már, a nyert eredményeket és tapasztalatokat a mérések során és a dolgozat elkészítésekor felhasználtuk.

1.4. A reabszorpció és a szekunder lumineszcencia hatása

Az előző pontokban leírt fluoreszcencia jellemzők kísérleti meghatározásakor az oldatból kilépő fény intenzitását mérjük. Ez az ún. "külső" fluoreszcencia jellemző rendszerint más, mintha közvetlenül az egyes molekulák által kibocsátott fény intenzitását mértük volna. Minthogy az utóbbi, ún. "belső" fluoreszcencia paraméterek jellemzők magára a molekulára, további következtetések megállapításához ezt kell ismerni. Az eltérést egyrészt az okozza, hogy az egyes molekulák által emittált fény egyrésze még magában az oldatban újra elnyelődik /reabszorpció/, másrészt az, hogy az elnyelt fény szekunder, terciér, stb. fluoreszcencia fényt hoz létre. A reabszorpció és a magasabbrendű lumineszcencia jelensége valamennyi fluoreszcencia jel-

lemzőt befolyásolhatja, de - azonos körülmények közt - a hatásfokra és csillapodási időre gyakorolt hatása nagyobb, mint a többi jellemzőkre. Ezen zavaró hatásokra több szerző már az 1920-as években felhívta a figyelmet és csökkentésének érdekében kis rétegvastagságú küvetták használatát ajánlották. Számitásos uton való figyelembevételére néhány korrekciós eljárást dolgoztak ki, melyek közül itt csak Budó és Ketskeméty [30] munkáját említjük meg, mint mind a mai napig legegyszerűbbet, Valamint Birks [31] munkáját, amelyre az irodalomban szintén többen hivatkoztak. Azonban, mint később részletesebben leírjuk, az utóbbi korrekcióval kapcsolatban problémák merülnek fel.

Itt szeretnénk megjegyezni azt a sajnálatos tényt, hogy bár pontos korrekciós eljárás évtizedek óta rendelkezésre áll, 32 db /többnyire szerves festékkoldatok τ -ját közlő/ általunk áttanulmányozott cikk egyikében sem végeztek szekunder lumineszcenciára való korrigálást, mindössze 3-an alkalmazták Birks korrekcióját, és 4-en jelezték, hogy a reabszorpció és szekunder hatás elkerülése miatt vékony küvettát és kis koncentrációjú oldatokat alkalmaztak.

a, Az Intézetünkben Budó és Szalay, valamint Budó és Ketskeméty [30] által kidolgozott eljárás szerint a τ és τ' mért csillapodási idők közti kapcsolat egy κ mennyiséggel adható meg, amely a detektorba jutó primér és szekunder fluoreszcencia fény intenzitások hányadosát jelenti.

Feltételezve, hogy a gerjesztés stacionárius, és hogy olyan λ' hullámhosszu emittált fény kerül megfigyelésre, amelyre a

$\beta = k(\lambda) \cdot l$ szorzat megközelítőleg nulla $k(\lambda)$: abszorpciós
koefficiens, l a küvetta rétegvastagsága/, a detektált primer,
szekunder és magasabbrendű fluoreszcencia sugárzások intenzi-
tása arányos az N_{10} , N_{20} ... számú primer, szekunder ... ger-
jesztett molekulák számával, azaz $\kappa = \frac{N_{20}}{N_{10}} = \frac{N_{30}}{N_{20}} \dots$

A gerjesztés megszűnte után a primer gerjesztett molekulák szá-
mának változását az 1.12. alatt már említett egyenletnek megfe-
lelően

$$\frac{dN_1}{dt} = -\frac{1}{\tau} N_1 \quad \text{ill.} \quad N_1 = N_{10} e^{-t/\tau} \quad 1.31.$$

összefüggés írja le. A szekunder molekulák száma a

$$\frac{dN_2}{dt} = -\frac{N_2}{\tau} + KN_1 \quad 1.32.$$

egyenletnek megfelelően alakul, ahol a KN_1 növekményt a primer
sugárzással való gerjesztés okozza. K a stacionáris gerjesztés
estén fennálló $-\frac{N_{20}}{\tau} + KN_{10} = 0$ egyenletből nyerhető:

$$K = \frac{N_{20}}{N_{10}\tau} = \frac{\kappa}{\tau},$$

azaz

$$\frac{dN_2}{dt} = -\frac{N_2}{\tau} + \frac{\kappa}{\tau} N_1 \quad 1.33.$$

Hasonló egyenletek írhatók fel a magasabbrendű gerjesztett mo-
lekulákra nézve is. A megfigyelésre jutó teljes intenzitással
arányos $N = \sum_i N_i$ -re a

$$\frac{dN}{dt} = - \frac{N}{\tau} + \kappa \frac{N}{\tau} \doteq - \frac{N}{\tau}, \quad 1.34.$$

egyenlet adódik, amelyből

$$\tau = (1 - \kappa) \tau', \quad 1.35.$$

A κ kiszámítása a

$$\kappa = \int_0^{\infty} \eta(\lambda) f(\lambda'',') M d\lambda'', \quad 1.36.$$

összefüggés segítségével lehetséges, ahol M az

$$\alpha = k(\lambda) \cdot L, \quad \beta = k(\lambda') L, \quad \gamma = k(\lambda'') \cdot L, \quad \text{és } m = R/L \quad 1.37.$$

mennyiség bonyolult függvénye, továbbá λ a monokromatikus gerjesztő fénynek, λ' a megfigyelésre kerülő fénynek, λ'' a primer fluoreszcencia fényből reabszorbeálendő fénynek a hullámhossza.

A κ meghatározása meglehetősen bonyolult számítási feladat, azonban Gáti-féle [21] hárompontos módszerrel a κ konkrét értékének kiszámítása nélkül is eljuthatunk a valódi τ értékhez. A módszer lényege a következő: A κ -t két tag összegére bontjuk aszerint, hogy tartalmaznak-e α -tól függő tagokat, vagy sem. Így - hosszadalmas számítás után - κ -ra a következő kifejezés adódik:

$$\kappa = 2f_1(R, k_{\lambda''}) - 2 \ln 2 f_2(k_{\lambda''}), \quad 1.38.$$

$$\text{ahol } f_1(R, k_{\lambda''}) = \frac{\bar{k}_{\lambda}}{2} \ln R + \frac{3}{4} \bar{k}_{\lambda''} - \frac{1}{2} \bar{k}_{\lambda''}^2 R + \dots, \quad 1.39.a.$$

$$f_2(k_{\lambda''}) = \frac{\bar{k}_{\lambda''}}{2}. \quad 1.39.b.$$

1.35-ből

$$\frac{1}{\tau'} = \frac{1}{\tau} - \frac{\kappa}{\tau}, \quad \text{amelybe 1.33-at behelyettesít-}$$

ve

$$\frac{1}{\tau'} = \frac{1}{\tau} + l_{F_1} + l_1 \lg l_{F_2} \quad , \quad 1.40.$$

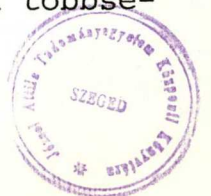
ahol

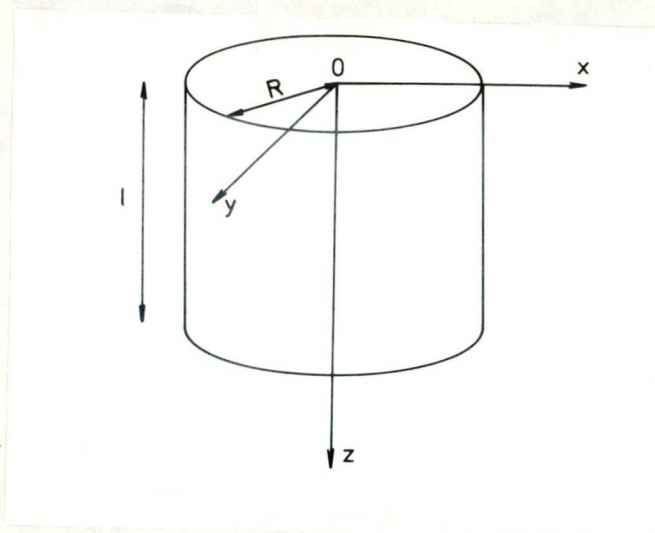
$$F_1 = -f_1/\tau \quad F_2 = 2,30 f_2/\tau \quad . \quad 1.41.$$

Az 1.40. egyenlet 3 ismeretlent tartalmaz, (τ, F_1, F_2) , így a valódi τ -t akkor tudjuk meghatározni, ha 3 különböző rétegvastagság mellett mért $\tau'_1, \tau'_2, \tau'_3$ csillapodási idő értékekkel megoldjuk a következő 3 ismeretlenes inhomogén lineáris egyenletrendszert:

$$\begin{aligned} \frac{1}{\tau'_1} &= \frac{1}{\tau} + l_{1F_1} + l_1 \lg f_1 F_2 \\ \frac{1}{\tau'_2} &= \frac{1}{\tau} + l_{2F_1} + l_2 \lg l_1 F_2 \\ \frac{1}{\tau'_3} &= \frac{1}{\tau} + l_{3F_1} + l_3 \lg l_3 F_2 \quad . \end{aligned} \quad 1.42.$$

A fenti egyenletrendszer a γ négyzetes és magasabb hatványainak elhanyagolása miatt szigorúan véve csak $\gamma_{max} = k(\lambda'')_{max} \cdot l < 3$ esetén adja meg néhány százaléknyi pontossággal a τ értékét. [30]-ban a szerzők az elméleti levezetést - a leggyakrabban előforduló mérési körülményeket tartva szem előtt - R sugaru, l rétegvastagságú küvettára dolgozták ki /1.5. ábra/. "Teljes felületű" $/R^2 \Pi$ keresztmetszetű fénynyalábbal történő/ kis szög $/\sim 20^\circ/$ alatti gerjesztést, és "pontszerű" /azaz a megfigyelt fénynyaláb keresztmetszete $\ll R^2 \Pi/$ megfigyelést feltételeztek, továbbá figyelembe vették, hogy a fluoreszcencia fénynek a küvett első felületén való áthaladásakor a térszög megváltozik és reflexiós veszteségek lépnek fel. A fenti kikötések többsé-





1.5. ábra

ge könnyen teljesíthető feltételt jelent, kivéve a pontszerű megfigyelést. Ennek megvalósítása ugyanis az emittált fényt bizonyos esetben oly mértékben gyöngítheti, ami detektálási nehézségeket okoz.

b, Birks [31] egy α paramétert vezetett be, amely azt a valószínűséget jelöli, hogy egy fluoreszcencia foton újra elnyelődik. Így annak valószínűsége, hogy nem abszorbeálódik, hanem az oldatból kilép, $1-\alpha$. M^* -gal jelölve a gerjesztett molekula moláris koncentrációját /függetlenül attól, hogy primer, vagy szekunder gerjesztés során került-e gerjesztett állapotba a molekula/ ennek időbeli változása a

$$\frac{dM^*}{dt} = -[(1-\alpha)k_1 + (k_2 + k_3)] [M^*] = -\frac{1}{\tau'} [M^*] \quad 1.43.$$

egyenlettel írható le, ahol k_1 , ill. $k_2 + k_3$ a sugárzásos ill. sugárzás nélküli átmeneti gyakoriságok; τ' a mért csillapodási idő. Ebből

$$\frac{1}{\tau'} = (1-\alpha)k_1 + (k_2 + k_3) . \quad 1.44.$$

A csillapodási idő 1.15. definícióját, melynek értelmében

$$\tau = \frac{1}{k_1 + k_2 + k_3}, \text{ valamint az 1.16. } \tau = \frac{1}{k_1} \text{ és 1.24. } Q = \frac{\tau}{\tau_e}.$$

összefüggéseket felhasználva

$$\frac{1}{\tau'} = \frac{1 - \alpha Q}{\tau}; \text{ azaz a valódi } \tau = \tau' (1 - \alpha Q). \quad 1.45.$$

A korrekcióhoz szükséges $\alpha \cdot Q$ tag a következő integrál segítségével határozható meg:

$$\alpha Q = \int_0^{\infty} E(\lambda) (1 - 10^{-\epsilon_f c x}) d\lambda, \quad 1.46.$$

ahol $E(\lambda)$ a kvantumhatásfokra normált emissziós függvény

$Q = \int_0^{\infty} E(\lambda) d\lambda$, ϵ_f a moláris abszorpciós koefficiens a fluoreszcencia hullámhosszán, x az a rétegvastagság, amelyen az emittált fotonnak át kell haladnia, hogy elhagyhassa a küvettát.

Ugyanezen a paraméter felhasználásával Birks [31] a hatásfokot korrigáló összefüggést

$$Q' = Q \frac{1 - \alpha}{1 - \alpha Q} \quad 1.47.$$

alakban adja meg; ahol Q' a mért hatásfok értéket jelenti.

Minthogy az α /definíciója értelmében/ nem lehet negatív szám, és az ismert festékek hatásfoka egynél kisebb $|Q| < 1$, az 1.47. egyenletből az következik, hogy a mért csillapodási idő kisebb, mint a valódi, azaz $Q' < Q$.

A szekunder lumineszcencia következtében a mért hatásfoknak éppen nőnie kellene a valódihoz képest, így 1.47. ellentmondásra vezet. Minthogy az ellentmondás az α valószínűség fenti bevezetéséből adódik, a kérdéses $\tau = \tau' (1 - \alpha Q)$ összefüggés helyessége is.

Impulzus-gerjesztés feltételezésével dolgozta ki a szekunder lumineszcencia hatását korrigáló eljárását Hammond [32]. Minthogy kiindulásul Birks 1.45. alatti egyenletét használja, helyességét illetően hasonló kérdések merülnek fel.

II. fejezet

2.1. Csillapodási időt mérő fluoriméterek áttekintése

Az első fejezetben tárgyaltak alapján látszik, hogy a lumineszkáló molekuláról sok ismeretet gyűjthetünk, ha ismerjük a lumineszcencia sugárzás időbeli tulajdonságait. A szerves festékkoldatok fluoreszcenciájának csillapodási ideje 10^{-8} - 10^{-10} s-os időtartományba esik. Ilyen rövid ideig tartó világítások vizsgálatára és mérésére a mechanikus foszforoszkópok már nem alkalmasak. Viszonylag bonyolult eszközöket, modern technikát kell alkalmazni. Az ilyen típusu berendezéseket nevezzük fluorimétereknek.

Működési elvük szerint három alapvetően eltérő csoportra oszthatók:

- harmonikus jel módszer alapján,
- impulzus jel módszer alapján,
- egyéb /pl. zaj/ módszer alapján működőkre.

Mindegyik csoporton belül további osztályozás lehetséges a gerjesztés, a modulálás, a megfigyelés szempontjából. A továbbiakban - anélkül, hogy teljességre törekedhetnénk - ezek főbb típusait tekintjük át.

2.1.1. Fázisfluoriméterek

A harmonikus jel módszerrel való mérésnél folytonos üzemi gerjesztő fényforrást alkalmaznak, melynek fényét közelítőleg szinuszosan modulálják. A mintában létrejövő fluoreszcencia

fény intenzitásának változása követi a modulációt. Irja le a gerjesztő fény intenzitásának időbeli változását matematikailag az

$$E(t) = E_0 (1 + m \cos \omega t)$$

egyenlet, /ahol m a modulációs mélység, ω a modulálás körfrekvenciája/. A fluoreszcencia intenzitásra $I = A e^{-t/\tau}$ exponenciális csillapodást feltételezve a lumineszcencia intenzitása is követi a harmonikus törvényt:

$$I = A [1 + m \cos(\omega t - \phi)] \quad 2.1.$$

ahol a fluoreszcencia fényintenzitás M moduláció mélysége

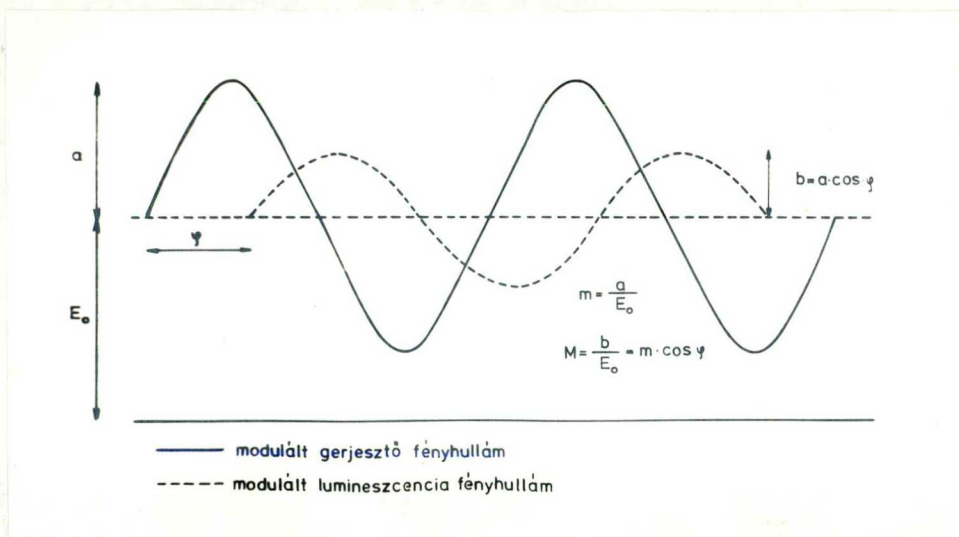
$$M = m \cos \phi = \frac{m}{(1 + \omega^2 \tau^2)^{1/2}},$$

és

$$\phi = \arctg \omega \tau \quad 2.2.$$

A fenti összefüggéseket Dusinszkij [23] már 1933-ban megadta.

/2.1. ábra/



2.1. ábra

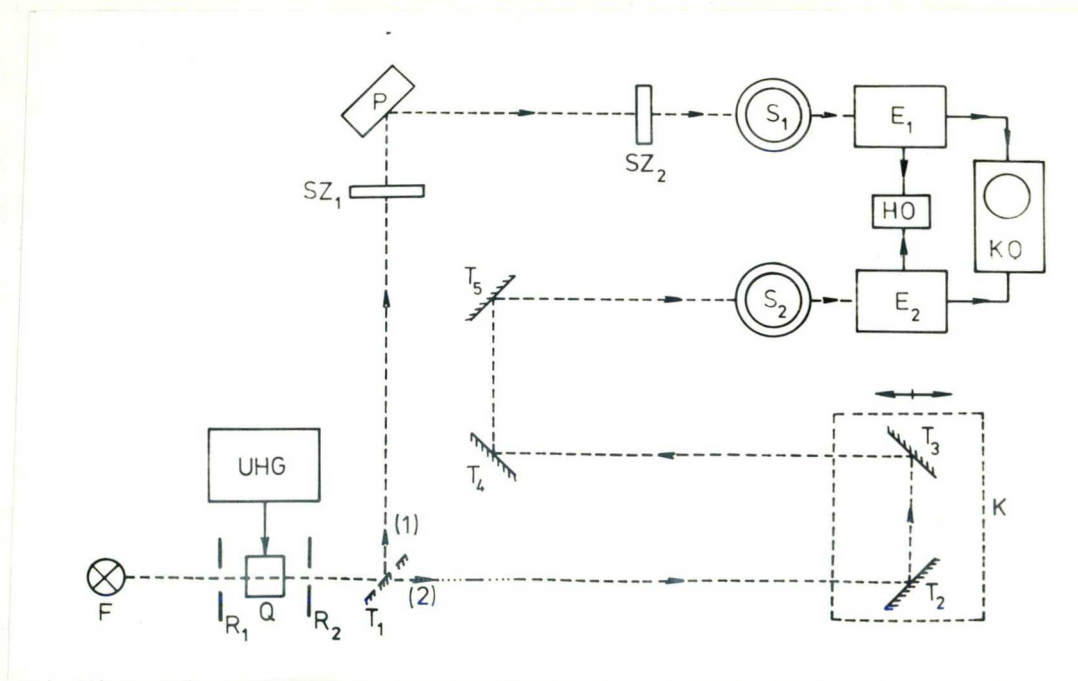
Könnyen belátható, hogy a harmonikus jel módszer alapján való mérés az elvi meggondolások miatt csak exponenciálisan lecsengő fluoreszcencia esetén adhat pontos értéket. A 2.1. egyenletből a τ csillapodási idő kétféleképpen is megadható: az $\frac{m}{M}$ modulációs viszony, illetve a ϕ fáziseltolódás mérése alapján. Nagyobb pontosságuk miatt az utóbbiak a használatosabbak. A fáziseltolódás közvetlen mérésén alapuló berendezéseket nevezik szűkebb értelemben véve fázisfluorimétereknek. Mivel méréseink egy részét mi is fázisfluoriméteren végeztük, ezért a következőkben ezt az eljárást vizsgáljuk meg részletesen az alkalmazhatósági terület, valamint a várható pontosság szempontjából.

Gerjesztő forrásként folytonos üzemű és szinképű spektroszkópiai fényforrásokat /pl. hidrogén lámpa, nagy nyomású higany, illetve xenon-lámpa/, folytonos üzemű gázlézereket /pl. argon-ion [34, 35], hélium-neon [36]/, hangolható festéklézereket /[35]/, és szinkrotron sugárzást /[37, 38]/ alkalmaznak.

A gerjesztő fény modulálására többféle lehetőség kínálkozik. Az első, Gaviola által 1926-ban készített fluoriméterben a moduláció Kerr-cellával történt. Ebben a készülékben a vizsgálandó anyag két Kerr-cella között helyezkedett el. A mérés e két cellára adott nagyfrekvenciás jel közötti fáziskülönbségen alapult. Az elrendezést több ízben módosították, pl. Szimonovsky, de elvi része sokáig változatlan maradt. Legnagyobb hátránya fényszegénysége volt, ezért később fénymodulátorként akkusztikai diffrakciós rácsokat alkalmaztak. Az első ilyen berendezést A SZUTA Fizikai Intézetében Galanyin és munkatársai építették meg 1948-ban [21, 6]. A modulációt egy ultrahanggenerátorral rezgésbe hozott piezokvarc kristállyal hozták létre. Ennél a berendezésnél mind a gerjesztő fény, mind a lumineszcencia fény áthalad a moduláló kristályon, aminek fázisa időközben meg-

változik. A változás mértéke a két áthaladás közötti időtől, következésképpen az áthaladásig megtett uttól függ. Ez az uthossz a fényutba helyezett tükrök mozgásával változtatható. Így ha a fény intenzitását a tükrök különböző helyzeteiben megmérjük, megszerkeszthetjük a fluoreszcencia, illetve a gerjesztő fény intenzitásának optikai uthossztól való függését. A csillapodási idő a két görbe minimumának abszcissza különbségéből határozható meg.

Ezekről az úgynevezett FIAN fluoriméterekről lényegesen különbözik az ugyancsak Galanyin által 1950-ben épített berendezés, melyben a fény csak egyszer halad át a rezgőkvarcon, és a fény kimutatására külön fotoelektronsokszorozó szolgál. Az általunk használt, intézetünkben 1965-ben épített berendezés az utóbbihoz hasonlít leginkább, ezért ennek felépítését és működését kissé részletesebben ismertetjük a 2.2. ábra alapján.



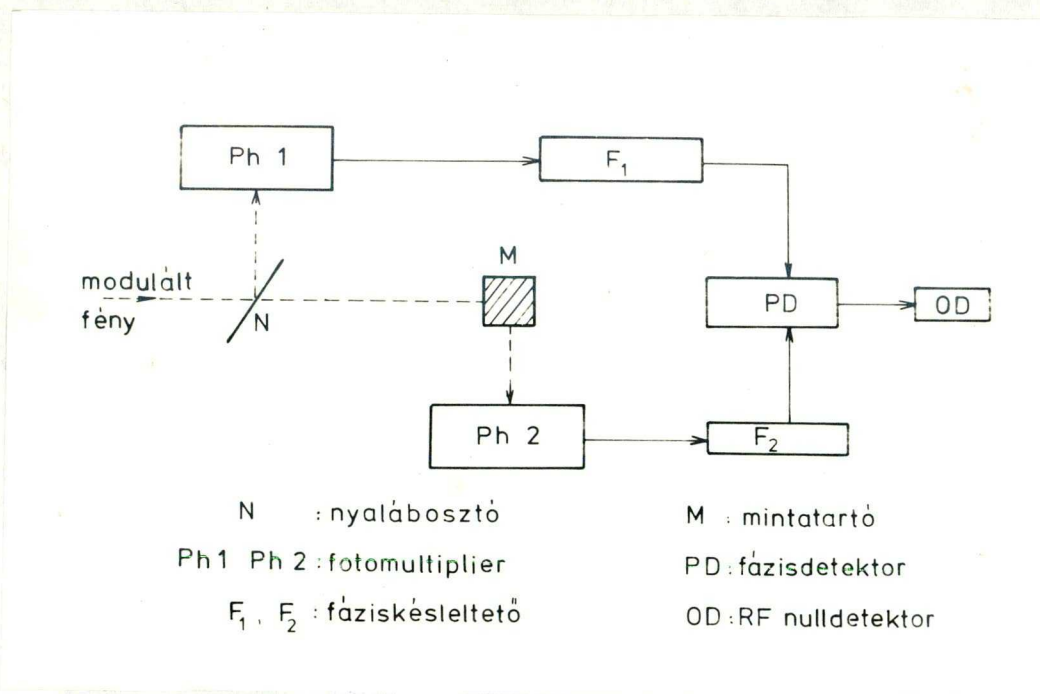
2.2. ábra

Az F fényforrás /nagy nyomású higanygőzlámpa/ fénynyaláb-ját 10 MHz frekvenciájú ultrahanggenerátorral rezgésbe hozott Q kvarchasábon bocsátották át, mely a fényt optikai diffrakciós rácsként modulálta. A T_1 tükörrel két nyalábra bontott fény (1) részét a lumineszkáló P preparátumra - illetve a helyére tett szóróközegre juttatták, melyről a fény az S_1 fotoelektronsokszorozóra jutott. A (2) fénynyaláb a sinen mozgatható T_2 és T_3 tükrökön kétszer visszaverődik, végül az S_2 fotoelektronsokszorozóra esik.

Az S_1 és S_2 fotoelektronsokszorozó az E_1 és E_2 szelektriv erősítőkhöz csatlakozik. Ezeknek jelét - megfelelő átalakítás után - a KO katódsugároszcilloszkópon figyelik meg. A K kocsi mozgatásával a lumineszcencia és a referencia fény közti fáziskülönbség változik, s elérhető, hogy a két csatornán a jelek fázisa megegyezik. Ugyanez más kocsihelyzetnél következik be, ha a minta helyére szóróközeget teszünk. Az így meghatározott két kocsihelyzet ΔL különbségéből a csillapodási idő számítható. Ezt az eljárást pontossága és egyszerűsége miatt mind a mai napig szívesen alkalmazzák. [34] A módszer nagy előnye, hogy a fénymodulálás frekvenciája a modulátor frekvenciájának kétszerese lesz. Hasonlóan frekvenciakétszerező tulajdonságokkal rendelkezik a Pockels-cella, mint fénymodulátor, ha munkapontját megfelelően választják. Ez lényegében a Kerr cella szilárd anyagu /többnyire KD_2PO_4 kristály/ analogonja. Ezt használják pl. a Hauser és munkatársai által épített berendezésben [35]. Nagy frekvenciastabilitású és széles frekvenciatartományban működő szinuszhullám generátorral működtetve nagyon rövid /1

ps-os/ csillapodási idő mérésére is lehetőséget ad azáltal, hogy nagyon nagy frekvenciájú /500MHz/ modulálást hoz létre. Vannak olyan fluoriméterek is, ahol magát a fényforrás intenzitását modulálják /un. belső moduláció/. Ilyen pl. Birks és Dyson [39] berendezésében alkalmazott fényforrás; a Lopez-Delgado által használt szinkrotron sugárzás [37], vagy a He-Ne laser [36].

A ϕ fáziseltolódás mérése is többféleképpen végezhető. A fázisdetektorok egyik legelterjedtebb típusának, az úgynevezett nulla-detektornak az alapelve a 2.3. ábra alapján érthető meg.

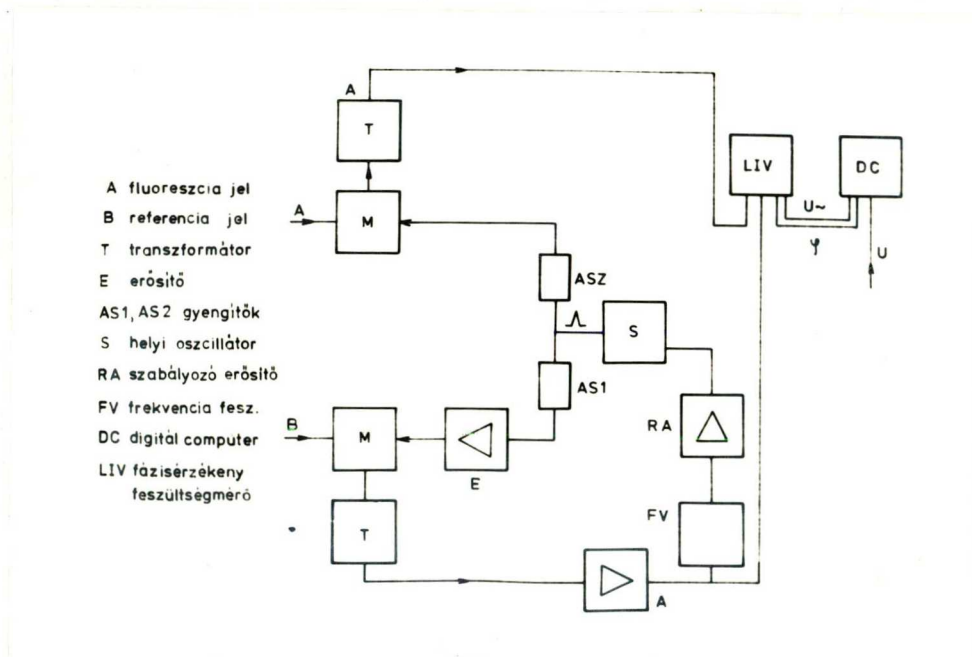


2.3. ábra

A fáziseltolódás a modulációs frekvencia mellett történik. A fluoreszcencia és referencia jeleket fotomultiplierek szolgáltatják, a fázis detektálása egyszerű "összegző" erősítővel történik, melynek a kimenő jele akkor zérus, ha az azonos intenzi-

tásu /amplitudóju/ fluoreszcencia és referencia jel pontosan ellentétes fázisban érkezik. A fáziseltolásra hitelesített késleltető művonalat, *RC* fáziseltolót [40], vagy változtatható optikai uthosszat [34] alkalmaznak. Az erősítőt figyelő detektor rendszerint rádióvevő.

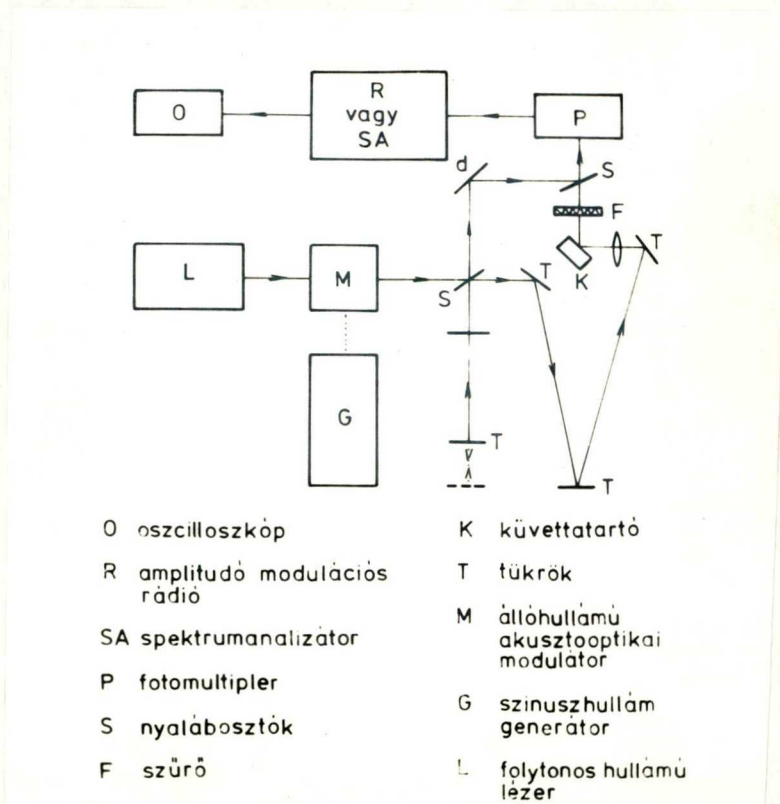
Egy másik lehetőség a fázisdetektálásra, hogy a fotodetektor/ok/ után elhelyezett erősítőben, helyi oszcillátor segítségével a fázis mérése előtt frekvencia transzponálást hajtanak végre. Mivel ekkor a jel további erősítése a különbségi frekvencián történik, a jel/zaj viszony jelentősen /nagyságrendekkel/ növekedhet. Ilyen típusu detektorrendszer látható a 2.4. ábrán.



2.4. ábra

A fázisdetektor-rendszerekhez további regisztráló, illetve kiértékelő egységek csatlakoztathatók.

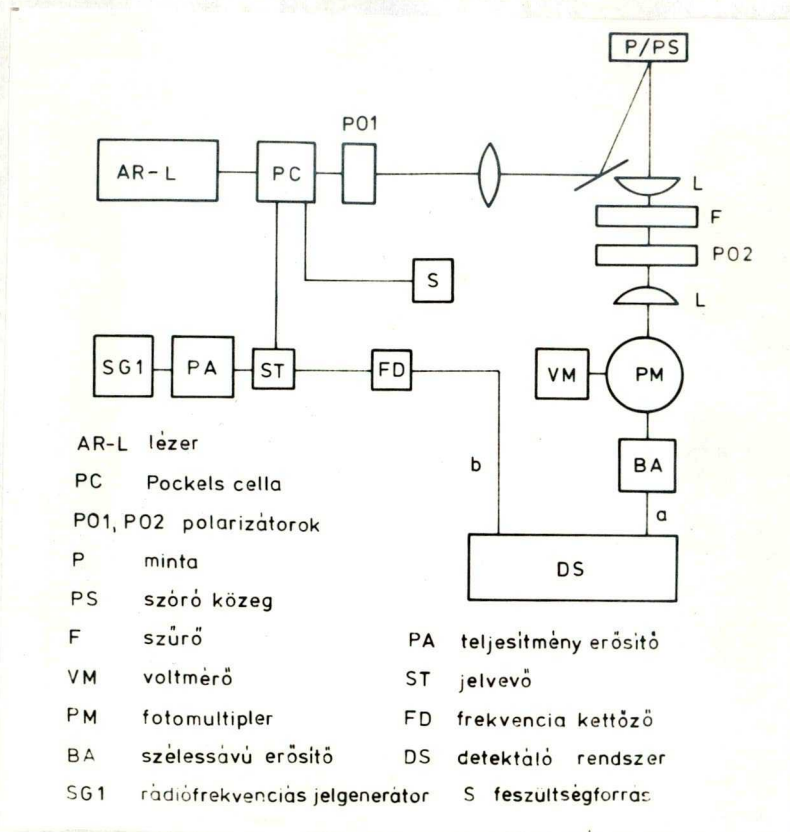
A több szempontból is példaként megemlített [34] és [35]-ben leírt berendezések sematikus rajza a 2.5., és 2.6. ábrán látható.



2.5. ábra

A fotodetektor váltóáramu komponensének megfigyelése AM-rádióval mint szelektív O-detektorral történt. 30 MHz-es modulációs frekvenciával működtetve ± 15 ps-os pontosságot eredményez. Ha a multiplierhez rádió helyett spektrumanalizátort alkalmaznak, ez az érték ± 4 ps-ra csökken.





2.6. ábra

500 MHz-es modulálás esetén 1 ps-os τ mérését is lehetővé teszi.

2.1.2. Impulzusüzemű fluoriméterek

Az impulzus módszeren alapuló fluorimétereknél a luminofor gerjesztése - amint az elnevezés is mutatja - fényimpulzusokkal történik. Ha egy ilyen rövid ideig tartó, /ugynevezett δ / fényimpulzust bocsátunk a luminoforra, az egy fluoreszcencia fényimpulzust fog kibocsátani. Az így keletkezett lumineszcencia impulzus /lecsengési görbe/ alakjának vizsgálata módot

ad a sugárzás időbeli /exponenciális, vagy más jellegű/ lefutásának vizsgálatára, ugyanakkor az 1. fejezet alapján a csillapodási idő közvetlen meghatározására is alkalmas.

E módszert eleinte /1955-ig/ csak szcintillációs számlálókban használt luminoforok kb. 10^{-6} s-os élettartamának meghatározására alkalmazták. A rövidebb 10^{-9} - 10^{-10} s/ csillapodási idejű sugárzások τ -jának meghatározására e módszer attól kezdve lett alkalmazható, mióta gerjesztésre igen kis időbeli félérték-szélességű impulzus-fényforrások /villanó lámpák, impulzus üzemi lézerek/, másrésről a detektálásra is megfelelő gyorsaságu berendezések vannak. Az ilyen rövid idejű fényimpulzussal működő fluoriméterekkel való mérési eljárások többféleképpen csoportosíthatók [40], [41]. Mi csupán a ma leggyakrabban használt módszereket ismertetjük, melyek a következők:

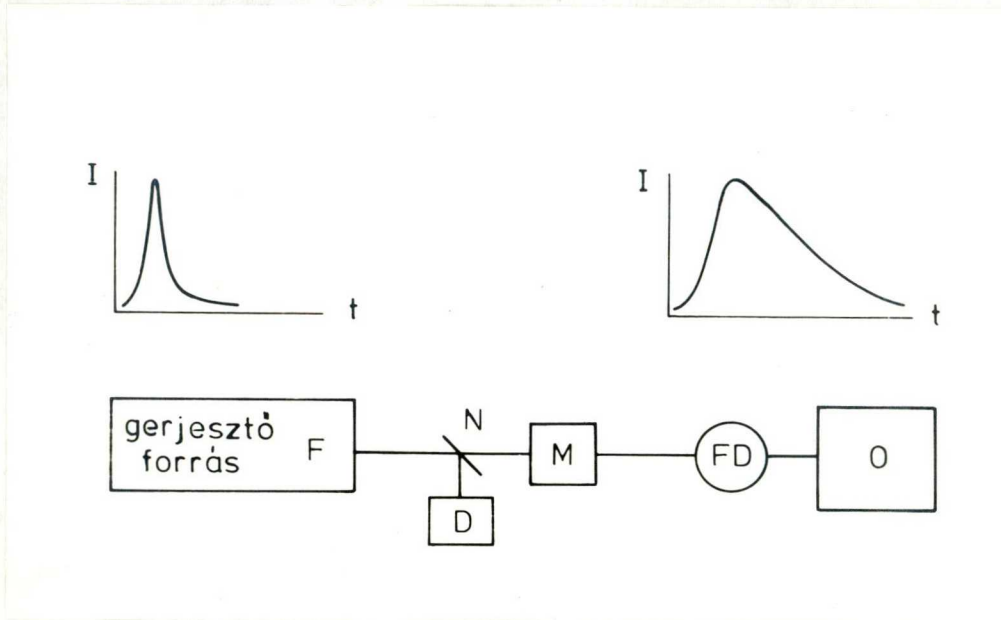
a, Egyes impulzus módszer

b, Mintavételes módszer

c, Egyfotonszámlálásos módszer

a, Az egyes impulzus módszer közvetlenül a fent vázolt elv gyakorlati megvalósítása. Ilyen berendezés sematikus rajzát mutatja a 2.7. ábra. Az F fényforrásból származó gerjesztő impulzus hatására az M mintában létrejött lumineszcencia impulzus az FD fotodetektorra jut. A detektor fotoáramának időbeli változását az O oszcilloszkóp indikálja, amelynek jele /a fluoreszcencia intenzitás időbeli lefutása/ fotozással, vagy az oszcilloszkóphoz csatlakoztatható regisztráló berendezéssel rögzíthető. Az N nyalábosztóval kiválasztott és D diódával detektált jel az oszcilloszkóp indítására szolgál. A mérés itt is két lépésben

történik: a fent leírt módon felveszik a fluoreszcencia lecsengési görbét, majd a mintát szóró közeggel cserélve fel, a gerjesztő impulzus alakját is rögzítik. Az így nyert görbék alapján a τ csillapodási idő /a 3. fejezetben található módszerek valamelyikével/ meghatározható.



2.7. ábra

Annak érdekében, hogy minél rövidebb csillapodási idők legyenek mérhetők, egyre kisebb félértékszélességű gerjesztő impulzusokat, gyors elektronikájú detektorrendszert kell alkalmazni.

A gerjesztő impulzus-sorozatot szolgáltató berendezésnek olyan ismétlődési frekvencián kell működnie, hogy az impulzusok kibocsátása között eltelt idő hosszabb legyen, mint a vizsgálandó anyag lecsengési ideje. Minthogy azonban a vizsgált festékek csillapodási ideje a ns-os, vagy még rövidebb tartományba esik, a fényforrások ismétlődési frekvenciája pedig 10^0 - 10^{-3}

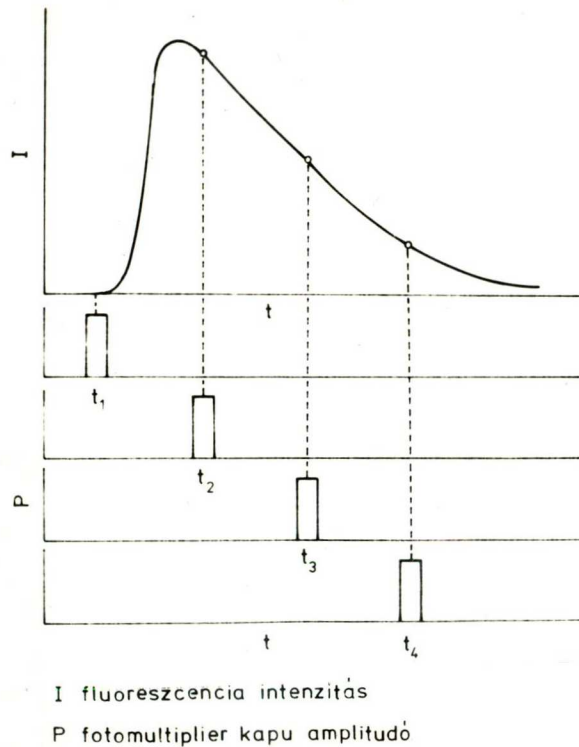
H_z-es tartományba, ennek betartása nem jelent nehézséget. Míg korábban gerjesztő forrásként elektron, illetve γ sugárzást, később igen kis félértékszélességű villanólámpákat /flash-t/ alkalmaztak, napjainkban többnyire impulzusüzemű lézereket használnak, mivel a módusszinkronizált lézerek rendkívül rövid impulzusok előállítását teszik lehetővé. Selanger és munkatársai [42], Schäfer és munkatársai [43] néhány /kb. 8/ ps-os gerjesztő impulzust szolgáltató módusszinkronizált neodimium-üveg lézert, míg mások [44, 26, 43, 45] módusszinkronizált rubin lézert alkalmaztak. Használnak Nd^{3+} YAG lézert, fázisszinkronizált argon lézert és 1-1,5 ns-os impulzus szélességű N_2 lézereket is.

Fotodetektorként 0,2-0,5 ns felfutási idejű gyors vákuumfotodiódákat használnak [46, 26, 43, 45, 44, 42], mely jelének indikálása valós idejű, nagy frekvenciájú /500 Hz/ oszcilloszkóppal történik. Az ugynevezett haladó hullámu oszcilloszkópok tipikus felfutási ideje 0,1 ns. Esetenként erősítő fiókot kapcsolnak az oszcillátorra. Ez rontja ugyan a rendszer felbontását, de sokkal gyengébb intenzitású fluoreszcencia fény detektálását is lehetővé teszi [26].

Néhány ps-os idők mérésére a fenti elrendezés / fotodióda + oszcilloszkóp/ lassúnak bizonyul. Streak-kamera alkalmazásával [47] ez a nehézség áthidalható, de rendkívül drága volta miatt még ritkán alkalmazzák még napjainkban.

b, A mintavételező technika alapgondolata azonos a Benett [48] által már 1960-ban közölt sztroboszkópikus módszer elvével. A fluoriméter felépítése az egyes impulzus módszernél ismertetthez hasonló, de itt az oszcilloszkóp ernyőjén minden egyes gerjesztő impulzusból a lecsengési görbének csak egyetlen pontját kapjuk meg. Ezt teszi lehetővé, hogy a fluoreszcencia

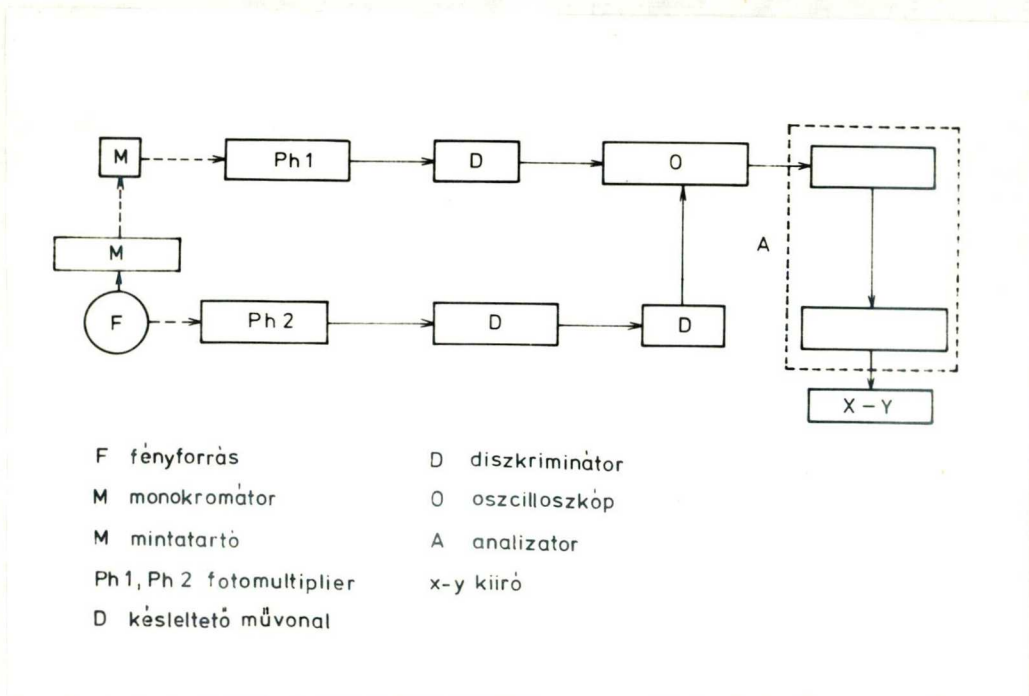
fényt indikáló fotomultiplier tápfeszültsége időben keskeny impulzus alakú. Megfelelő elektronikával biztosítható, hogy az egymást követő impulzusoknál a tápfeszültség impulzusa mindig Δt idővel később keletkezzék. Így az oszcilloszkópon minden impulzusnál a fluoreszcencia csillapodási görbe Δt időközöknek megfelelő intenzitásértékeinek magasságában jelenik meg fényfolt az oszcilloszkóp ernyőjén /ld. 2.8. ábra/.



2.8. ábra

A különbség a ma használt mintavételező technika és a sztrobozkópius módszer között a fotoáram detektálásában és az átlagolásra használt módszerben van. Az impulzus módszer az időalapját az oszcilloszkóptól származtatja, míg a sztrobozkópius módszer kalibrált késleltető vonalat használ.

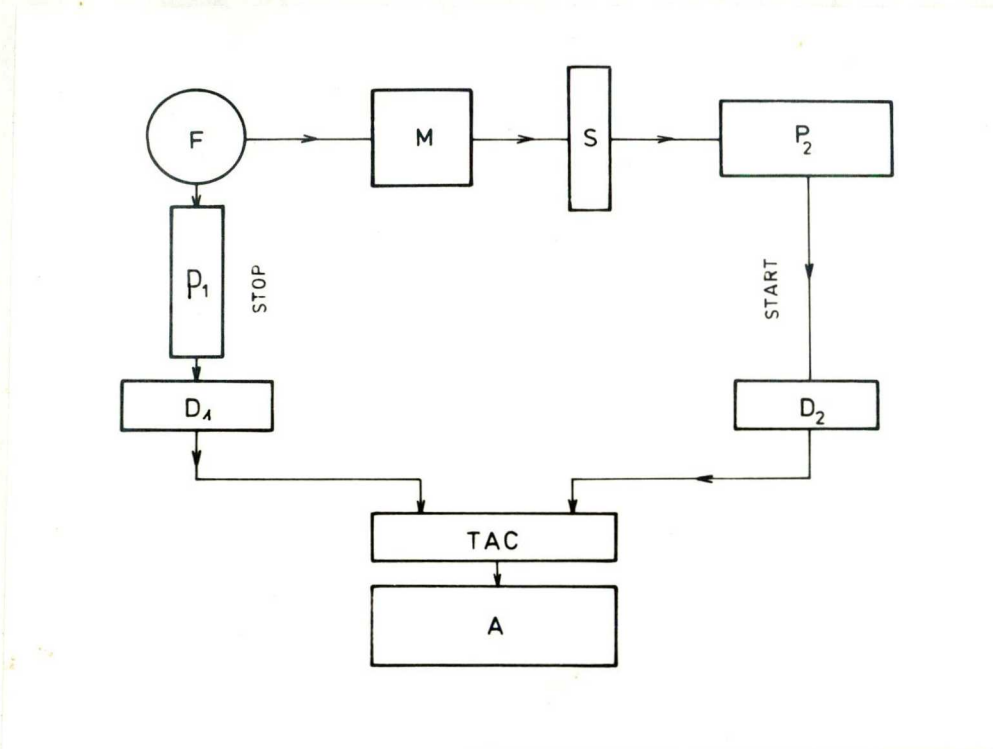
A mintavevő oszcilloszkópok felfutási ideje általában $\frac{V_1}{\text{ps}}$ -nál rövidebb, és olyan mintavevő fiókok léteznek, melyek a viszonylag lassu oszcilloszkópokat 1-7 GHz és még nagyobb frekvenciájukká alakítják. A mintavételező technika a gyors felfutásu / $< 350 \text{ ps}$ /, ugyanakkor nagy érzékenységű mintavételező oszcilloszkóp kereskedelemben való megjelenésével terjedt el. A mintavételező módszeren belüli eltérések az oszcilloszkóp ernyőjén megjelenő ábra rögzítéséből és átlagolásából adódnak. A legtöbb mintavételező oszcilloszkóp XY író-t vezérel, mely az oszcilloszkóp és az XY író között alkalmazott kis számológép [49], vagy sok /kb. 100/ csatornás impulzus-nagyság analízátor jelátlagolásán alapszik [50]. Az [50]-ben használt fluoriméter a 2.9. ábrán látható.



2.9. ábra

Néhány esetben az átlagolás fotografikusan történik, vagy egyszerűen az XY kiíró többszörösen huzza ki a görbét, ami grafikus átlagolást jelent.

c, Az időkorrelált egyfotonszámlálós módszer [70, 71, 72, 73, 74, 75] számos előnye miatt, ma a leggyakrabban alkalmazott módszer. A mérés elvét a 2.10. ábrán látható blokkdiagram mutatja.

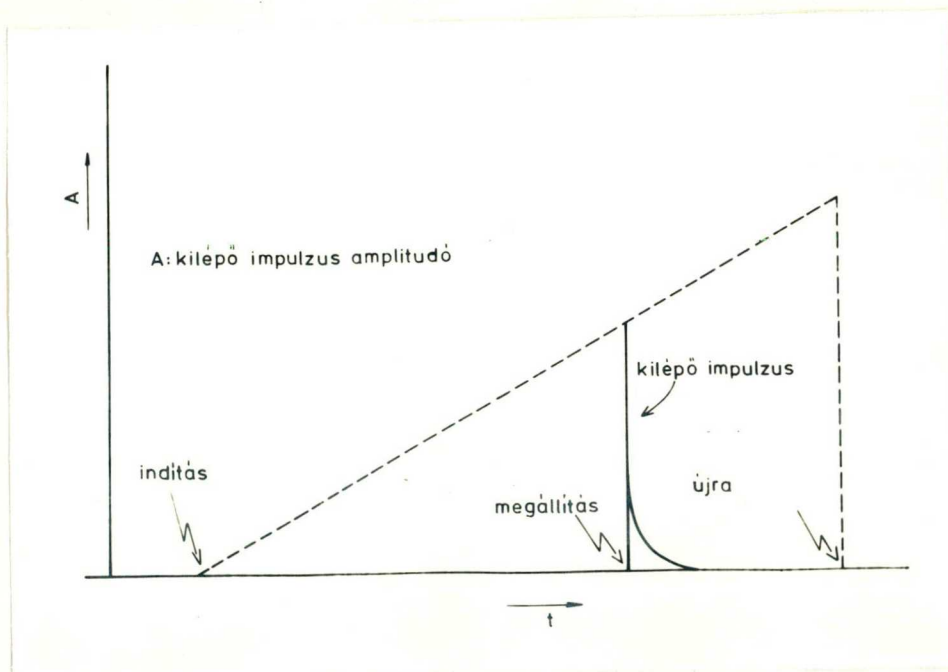


2.10. ábra

Gerjesztő forrásként $/F/$ szintén nagy ismétlődési frekvenciájú lézereket, vagy flashlámpákat alkalmaznak.

A megfigyelést két, egymástól független, gyors fotomultiplier P_1 és P_2 végzi. Egyik közvetlenül az F gerjesztő fényforrást figyeli meg, a másik pedig az M minta által emittált fotonokat. Gerjesztő impulzusonként /legfeljebb/ egyetlen emittált foton kerülhet megfigyelésre, amit a fluoreszcencia fény S szűrővel történő lényeges gyengítése biztosít.

Azokat az időtartamokat mérjük, amelyek a gerjesztés és a megfigyelésre kerülő foton-emisszió között telnek el. Ez az időtartam éppen azt mutatja meg, hogy az illető molekula, amelyből ez a foton kilépett, mennyi ideig tartózkodott gerjesztett állapotban. A gerjesztő forrás ugynevezett referencia jele indítja el az idő-amplitudó konvertert /TAC/ és a mintából kilépő fluoreszcencia foton állítja meg. A TAC kimenő impulzusának amplitudója arányos az indító és a megállító impulzus közötti időkéssel. /2.11. ábra/



2.11. ábra

Az idő-amplitudó konverter az egyfotonszámláló berendezések leglényegesebb eleme, amely az indító és megállító impulzus közötti időkülönbséget megfelelő feszültségjellé alakítja át.

A kijövő feszültséget az A sokcsatornás analizátor osztályozza és tárolja. Így minden detektált foton az analizátor valamelyik csatornájához tartozik - az általa képviselt időeltolódásnak megfelelően. Az egyes csatornák számértékét /tartalmát/, - amely azt mutatja meg, hogy a mérés során hány foton - kibocsátás történt az adott csatornának megfelelő időkéssel, vagyis arányos az emissziós valószínűséggel - az időkéseleltetés függvényében ábrázolva "lecsengési hisztogramot" kapunk, amely a fluoreszcencia lecsengési görbének felel meg.

A D_1 , D_2 diszkriminátorok szerepe az, hogy csökkentsék /korrigálják/ a fotomultiplierek anódimpulzusainak változásából adódó időeltolódást /jittert/ azáltal, hogy minden egyes fotomultiplier impulzusból konstans amplitudóju és szélességű impulzusokat állítanak elő.

A gerjesztő impulzusokat a STOP csatorna fotomultipliere által detektált impulzusokat egy vagy két számláló /esetleg aránymérő/ méri, így elkerülhető, hogy egy gerjesztő impulzus esetén kettő vagy több foton kerüljön detektálásra.

Koester és társai [51] gerjesztő forrásként szinkron-pumpált, hangolható festéklézert használtak, amelynek legfontosabb előnyei, hogy a gerjesztő impulzus szélessége 35 ps-nál rövidebb volt és profilja állandó; a változtatható hullámhosszuságú fénye polarizált és monokromatikus.

Alkalmazznak gerjesztő forrásként kettős hetero-átmenetű félvezető /DH/ lézert is [52], ami egyszerűbb a módusszinkronizált gáz, vagy festéklézernél, és nem követel meg speciális beállítást vagy hangolást.

A fentieken kívül szinkrotron sugárzást /SR/ is alkalmaznak gerjesztő forrásként. R. Lopez-Delgado [37] az SR statisztikus jellemzőinek analizise alapján előnyös tulajdonságát abban látja, hogy az SR impulzusok valóban Gauss-alakuak és szélességük a távoli infravöröstől a röntgen sugárzásig hullámhossz-invariáns. Ez a tulajdonság nagy mértékben egyszerűsíti a fluoreszcencia lecsengési idő kiértékeléséhez szükséges matematikai eljárást.

2.1.3. Egyéb fluoriméterek

A "zajos módszer" Hieftje és munkatársai [53] által kidolgozott, először 1977-ben közölt módszer a gerjesztő és a fluoreszcencia fény intenzitásbeli fluktuációját, "zaját" használja fel jel /információ/ hordozóként. Működési elve a következő: Ha a vizsgálandó mintát folyamatos üzemű lézer gyors fluktuációkkal bíró fényével gerjesztjük lumineszkálásra, akkor az ilyen gerjesztés a mérendő fluoreszcenciában is fluktuációkat eredményez. Ennek a fluktuációnak a teljesítményspektruma információt tartalmaz a lumineszcencia élettartamáról. A gerjesztő fény intenzitás-fluktuációjának nagyfrekvenciás komponenseit a mintában a gerjesztett állapot populációja nem tudja követni, mert véges

élettartama van. Ezért az intenzitásfluktuáció teljesítmény spektrumának nagyfrekvenciás komponensei hiányoznak a fluoreszcencia intenzitásfluktuáció teljesítmény spektrumából.

Lényegében tehát a lumineszcencia folyamat /a minta/ egy aluláteresztő exponenciális szűrőként viselkedik, amelynek sáváteresztő képessége függ a mintát jellemző fluoreszcencia élettartamától.

A gerjesztő fény intenzitásfluktuáció teljesítmény spektrumának $/P_g(\omega)/$ és a fluoreszcencia fény intenzitásfluktuáció teljesítmény spektrumának összehasonlításából a csillapodási idő a következő módon nyerhető:

Ha a minta lecsengését matematikailag az $I=I_0 e^{-t/\tau}$ függvény írja le, akkor a fluoreszcencia intenzitásfluktuáció spektrális energiasűrűségét a ω körfrekvenciatartományban a fenti összefüggés transzformációjával nyerjük; azaz

$$P_F(\omega) = \frac{\tau^2}{1 + \tau^2 \omega^2} \quad . \quad 2.3.$$

A $P_F(\omega)$ pedig nem más, mint a mérhető gerjesztő fény intenzitásfluktuáció teljesítmény spektrumának $/P_S(\omega)/$ és a szintén mérhető fluoreszcencia intenzitásfluktuáció teljesítmény spektrumának $/P_F^*(\omega)/$ hányadosa, azaz

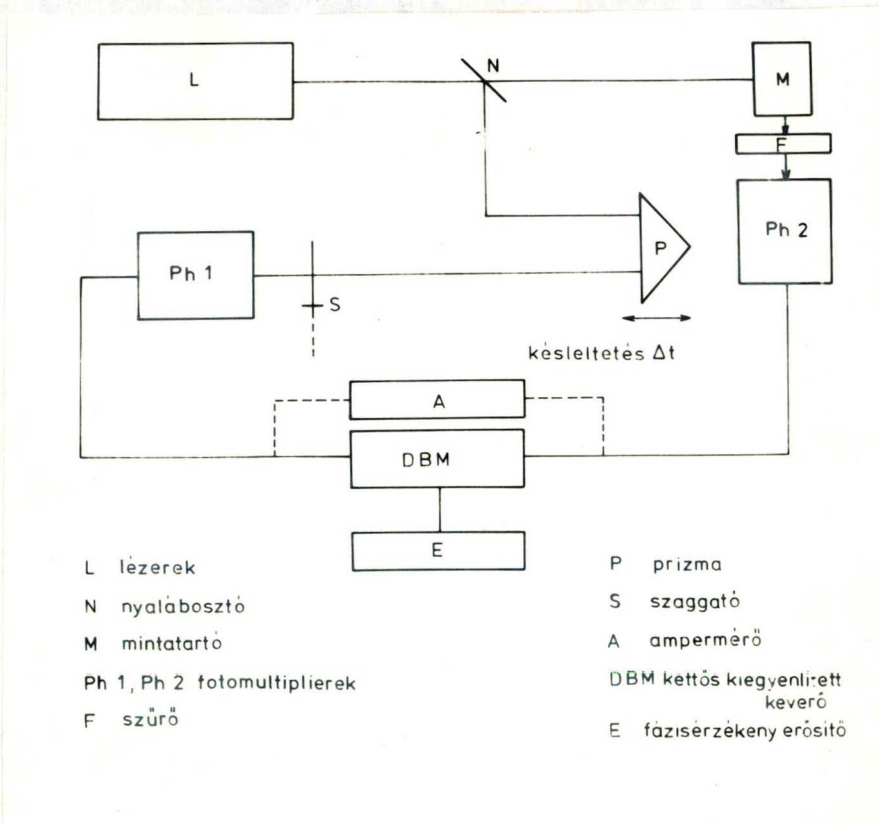
$$P_F(\omega) = \frac{P_F^*(\omega)}{P_S(\omega)} \quad . \quad 2.4.$$

A spektrumanalizátorral közvetlenül mért $P_S(\omega)$ és $P_F^*(\omega)$ függvények ugyanis nem mások, mint a gerjesztő és a fluoreszcencia fény intenzitásfluktuáció korrelációs függvényének Fourier transzformáltjai; és így a dekonvolúciós probléma közönséges

osztássá egyszerűsödik.

A $P_F(\omega)$ függvény meghatározása diszkrét értékekre való kiszámításával történik. Ezen pontok burkológörbéje - egyetlen exponenciálisból álló lecsengést feltételezve - Lorentz alakú, melynek félértékszélessége adja a τ értékét.

Ugyanezen elv felhasználásával spektrumanalizátor nélkül is mérhető a csillapodási idő, ugynevezett idő-korrelált jel-analizissal [54]. A 2.12. ábrán látható rendszerben felveszik



2.12. ábra

a P prizmával létrehozott Δt késleltetési idő függvényében egyszer a lézer fény autokorrelációs függvényét, másodszor a lézer fény és az általa gerjesztett lumineszcencia fény kereszt-korrelációs függvényét úgy, hogy az M mintatartóban egyszer

szóróközeg, másodszor fluoreszkáló minta van. Jelölje ezeket az autokorrelációs, illetve keresztkorrelációs függvényeket rendre $C_{rr}(\Delta t)$ és $C_{rf}(\Delta t)$, a minta lecsengését jellemző függvényt pedig $I(t) = I_0 e^{-t/\tau}$. Belátható, hogy

$$C_{rf}(\Delta t) = C_{rr}(\Delta t) * I(\Delta t) = \int_0^t C_{rr}(t-t') I(t') dt', \quad 2.5.$$

azaz $I(t)$ -t a fenti konvolúciós egyenlet megoldásából nyerjük.



2.2. Az ismertetett fluoriméterek tulajdonságainak összehason- litása

A fázisfluoriméterek a már említett $\phi = \arctan \tau \omega$ egyenlet alapján - az ω körfrekvencia transzponálásával - igen rövid /néhányszor 10 ps-os/ idők mérését teszik lehetővé, mégpedig nagy pontossággal. A jel/zaj viszony az ω alkalmas megválasztásával és fázisérzékeny erősítő biztosításával tovább javítható. Minthogy a csillapodási idő kétszeri fázismérési eredmény különbségéből határozható meg, a fázis mérésére használt eszköz feloldóképessége lényegesen korlátozhatja a mérés pontosságát. Másik hibaforrás - azon készülékeknél, melyekben elektroncsöveket alkalmaznak - az elektroncsövek sötét zaja által létrehozott fluktuáció. Lényeges e fluktuáció minél alacsonyabb szintre való szorítása. Az elektronátfutási idő nem korlátozza ugyan a feloldóképességet, de *megváltozása* befolyásolhatja a mért csillapodási idő értéket. Az elektronátfutási idő pedig függ a fotokatódra eső fény intenzitásától, valamint hullámhosszától. Ez a hiba két elektronsokszorozó alkalmazásával jelentősen csökkenthető. Lényeges szisztematikus hibákra vezethet az, ha a modulált fénynyaláb spektrumának és keresztmetszetének különböző részeiben változó mértékű a moduláció mélysége. Az utóbbiból adódó hiba a készülék helyes geometriai beállításával kiküszöbölhető. Másik szisztematikus hiba lehet az oldalról, a küvetta faláról és egyéb tartozékokról szóródó gerjesztő fénymek a detektorba jutása, ami keresztező szűrőkkel, vagy igen gyengén lumineszkáló oldatoknál korrekciós számításokkal küszöbölhető ki.

Az egyes impulzus módszer elvén működő fluoriméterek előnyei, hogy egyszerű felépítésűek, a detektálás és kiértékelés gyors. Az összes ismertetett mérőmódszer közül ez és a mintavételezéses technika a legközvetlenebb, legszemléletesebb módszer a fluoreszcencia élettartam mérésére. Hátránya azonban egyrészt, hogy csak viszonylag nagy intenzitással lumineszkáló oldatok vizsgálatára alkalmas, másrészt, hogy a mérhető időtartományt a fotodióda, illetve fotoelektronsokszorozó elektronátfutási ideje és az oszcilloszkóp frekvenciája alulról korlátozza. Véletlenszerű hibát okozhat a gerjesztő fényforrás impulzusainak idő- és intenzitásbeli fluktuációja, mivel több impulzus hatására keletkezett lecsengési görbék egymásra rakodott képe /átlaga/ kerül kiértékelésre. A lecsengési görbe alakját jelentős mértékben torzithatják az oszcilloszkóp és a fotoelektronsokszorozó közti, nem megfelelő illesztésből származó elektronikus reflexiók, amelyen alkalmasan választott impedanciájú terheléssel, kábellel, illetve vezeték-hosszúsággal lehet javítani. Szintén hibát okozhat a fázisfluorimétereknél már említett szóródó gerjesztő fény detektorba jutása, ami szinte valamennyi fluoriméternél fellép hibaforrásként.

A mintavételezéses, illetve stroboszkópikus módszerek előnyei és hibaforrásai a mérés elvéből adódóan azonosak az egyes impulzus módszerével, azonban rövidebb idők mérésére alkalmasak, mivel a mintavevő oszcilloszkópban subns-os felfutási idő párosul millivoltos érzékenységgel. Mindkét módszer megköveteli, hogy a mérés során a gerjesztő impulzus alakja állandó legyen.

Az egyfotonszámlálás tekinthető napjainkban a legtöbb előnyvel rendelkező módszernek. Időfelbontását nem korlátozza a fo-

todióda, vagy multiplier elektronátfutási ideje, mint a többi impulzusfluoriméternél, csak az ennél jóval kisebb, statisztikus idődiszperzió. Ez a módszer 10^{-9} - 10^{-6} s-os tartományon túl is alkalmazható, és néhány nagyságrendnyi fluoreszcencia intenzitás átfogható vele. Extrém gyengén lumineszkáló oldatok csillapodási idejének mérését is kitűnő időfelbontással teszi lehetővé. Érzéketlen a fényforrás intenzitás fluktuációjára. A berendezéshez szükséges egységek drágák ugyan, de jó minőségben a kereskedelemben beszerezhetők.

A legfőbb hiba abból származik, hogy biztosítani kell, hogy impulzusonként legfeljebb egyetlen foton kerüljön detektálásra. Minthogy az idő-amplitudó konverter mindig az első beérkező fluoreszcencia fotonra reagál, több, egymást követő foton jelenléte nem szolgáltat reális statisztikát. Ez a jelenség - az irodalomban "pile-up" jelenség ismert, mind elméletileg [55], mind kísérletileg [57] korrigálható. Több, de ugyanabban az időpontban érkező foton által keltett STOP impulzusok differenciál diszkriminátor alkalmazásával szűrhetők ki. Nagy hátránya még, hogy az adatgyűjtés ideje rendkívül hosszú is lehet, ha az impulzusokat szolgáltató gerjesztő forrás ismétlődési frekvenciája nem elég nagy.

Minthogy jelenleg a fázisfluoriméterekkel végezhetők pontosabb mérések, az impulzus fluoriméterek viszont lehetővé teszi nem exponenciális, vagy több exponenciálisból álló sugárzás vizsgálatát is, a kétféle módszer kombinálásával érhetők el a legjobb eredmények.

A "zajos módszer" előnye, hogy szubnanoszekundumos csillapodási idők mérését teszi lehetővé anélkül, hogy ilyen rövid le-

csengésű impulzusokat szolgáltató fényforrás előállítását és bonyolult detektáló rendszert követelne meg, vagy nagyfrekvenciás modulálás problémáját vetné fel. Hátránya, hogy a rövid élettartamok mérésének határt szab a detektor háttér zaja.

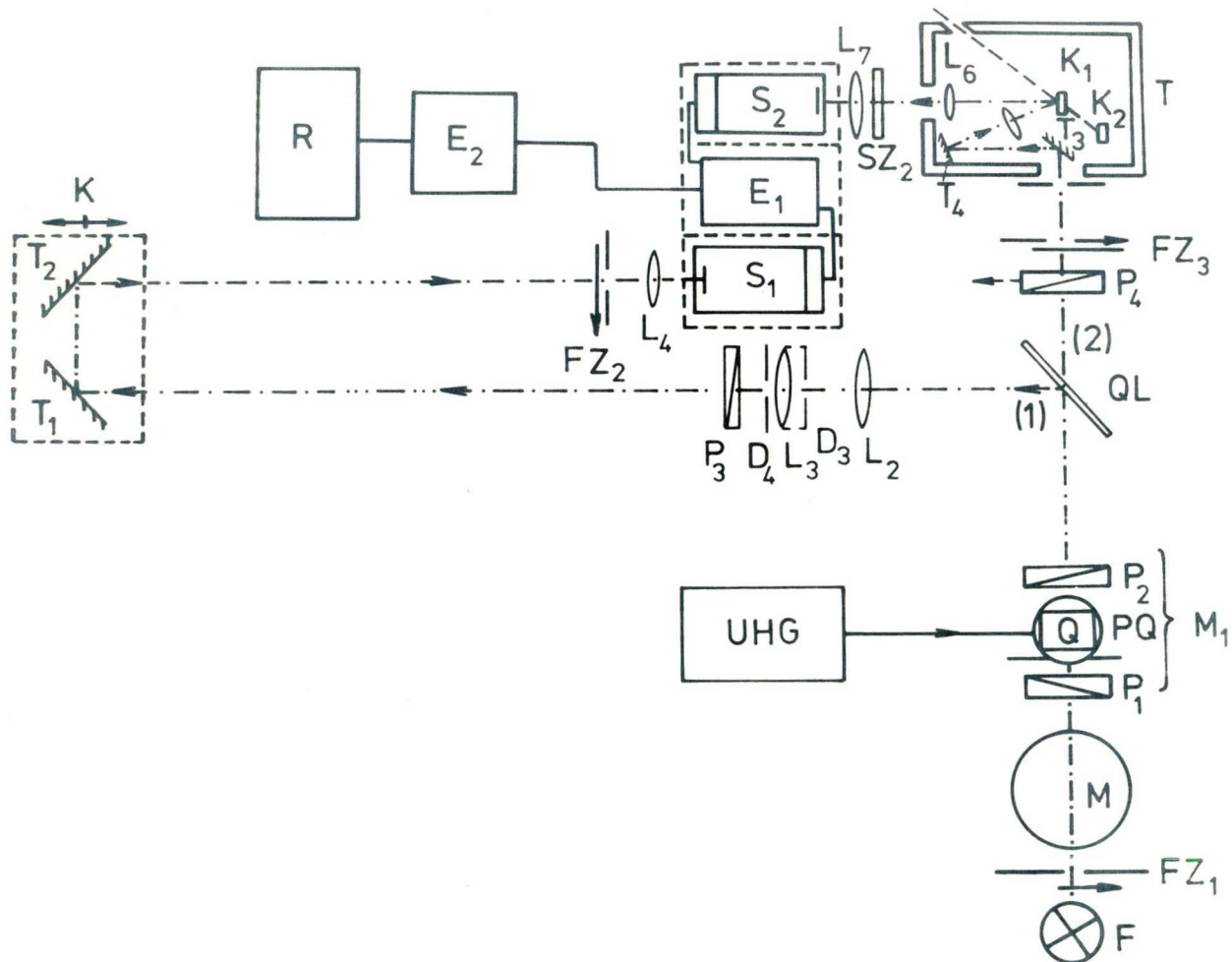
2.3. Vizsgálatainknál alkalmazott kísérleti berendezések leírása

2.3.1. Fázisfluoriméter

Méréseink egy részét az Intézetünkben 1965-ben Gáti és munkatársai által épített berendezésen végeztük. A berendezés részletes leírása és a hitelesítő vizsgálatok [21]-ben található, ezért itt csak röviden ismertetjük. Ez a fluoriméter a fázisfluoriméterek azon csoportjába sorolható, ahol a fáziseltolódást változtatható optikai uthossz segítségével mértük. A mérőeszköz /nem méretarányos/ optikai elrendezése és az elektronikus tartozékok blokkvázlata a 2.13. ábrán látható.

Fényforrásként nagynyomású higanylámpa /HBO 500/ vagy xenonlámpa /XBO 250/ monochromátorral kiválasztott vonalait alkalmaztuk. A fény modulálása az M_1 modulátoregységgel történik, ami a P_1 és P_2 keresztezett polaroid szűrőből áll, melyek közé a Q ömlesztett kvarchasáb /MOM, $2,5 \times 2,5 \times 3 \text{ cm}^3$ / van elhelyezve. A Q kvarchasáb az 5,13 MHz frekvenciájú UHG ultrahanggenerátorral táplált PQ piezokvarc kristályra támaszkodik /olajcsatolással/. A rezgőkvarc alaprezonancia frekvenciája $\approx 1,8 \text{ MHz}$, ezért a generátor a rezgőkvarcot annak 3. felharmonikusa közelében hozzá rezgésbe. A kvarchasáb feszültségi kettőstörővé válik, így a rajta áthaladó, közel párhuzamos fénynyalábot az UHG frekvenciájának kétszerezésével modulálja /10,26 MHz/. A moduláció-mélység 45 %-os.

A modulált gerjesztő fénynyalábot a QL kvarclemez két részre bontja. A merőleges irányba reflektált fénynyalábot az L_2



2.13. ábra

lencsével a D_3 diafragmára fókuszáljuk. Az ebből, mint pontszerű fényforrásból kilépő fényt az L_3 teleobjektívvel igen jó közelítéssel párhuzamos nyalábbá képeztük, amely a teleobjektív D_4 diafragmáján és a P_3 fénygyengítő polaroidon áthalad, majd a kb. 350 cm hosszú sinen mozgatható, T_1 , T_2 /MOM gyártmányu, első felületű, párologtatott Al/ tükrökön kétszer visszaverődik és a beeső fénnel párhuzamosan, ellentétes irányban haladva az FZ_2 fényzáron és L_4 lencsén keresztül az S_1 fotoelektronsokszorozó /EMI 9558 A/ fotokatódjára jut.

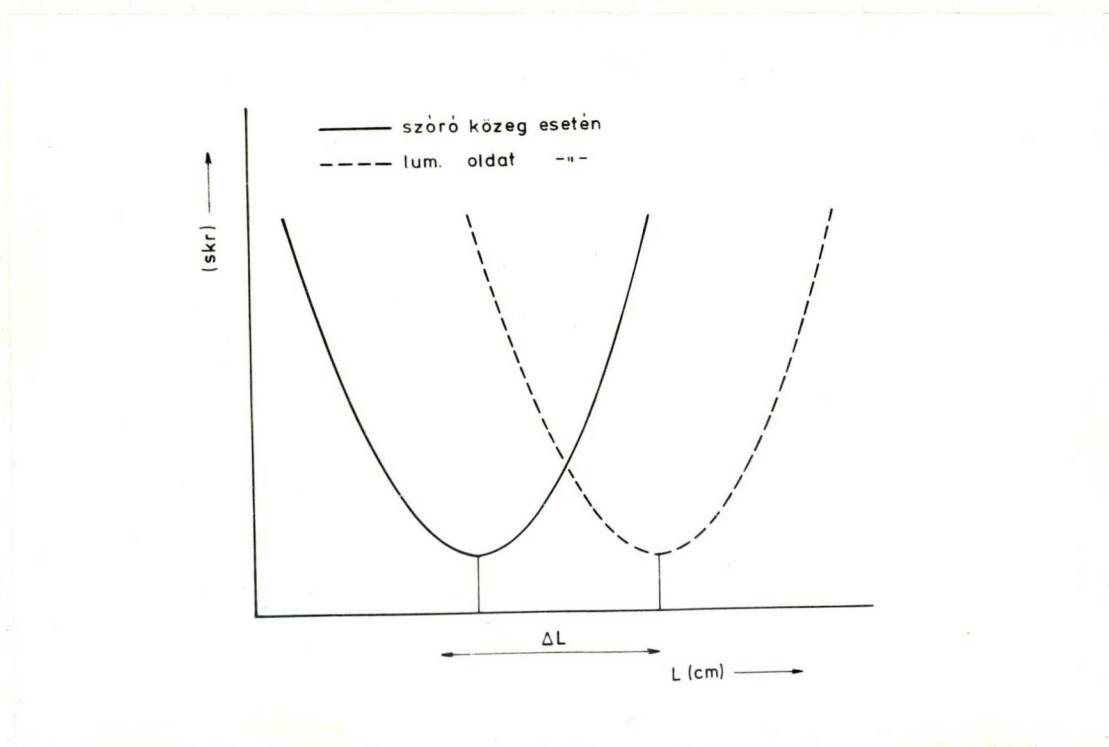
A QL kvarclemezen átmenő, gerjesztő fénynyaláb a P_4 gyengítő polaroidon, FZ_3 fényzáron T_3 , T_4 tükrökön és L_5 lencsén $f=5$, $d=2$ cm/ keresztül a mintára, vagy a helyére tolható szóróközegre fókuszálódik. Így pontszerű gerjesztés valósítható meg, ami a szekunder lumineszcenciahatását figyelembe vevő korrekciós eljáráshoz szükséges feltétel. A küvetta ehhez képest nagy sugaru $R=0,8$ cm/ megfigyelt körfelületét a küvetta normálisa irányában elhelyezett L_6 és L_7 lencsékkel képezzük le az S_2 fotomultiplier katódjára. Az SZ_2 szűrő a gerjesztő fény detektorba jutását akadályozza meg.

A gerjesztési és megfigyelési irány által bezárt szög kb. 23° -os.

Mindkét fotoelektronsokszorozó kimenete a szelektív E_1 nagyfrekvenciás differenciál erősítőhöz csatlakozik, melynek kimenő feszültsége a két bemenő jel közötti fáziskülönbségtől függ. Ehhez csatlakozik az E_2 keskenysávu, nagyfrekvenciás erősítőként alkalmazott szelektív csővoltmérő /RFT 5007/, amelynek jelét az ER regisztráló egység rajzolja fel.



A referencia és a mérő fény közötti fényut-különbség miatt az S_1 és S_2 fotoelektronsokszorozók jele között fáziskülönbség van, melynek értéke a T_1 , T_2 tükrök helyzetétől függ. Így a mintatartóba a vizsgálandó oldatot helyezve és a PP_3 gyengítő polarizátorral a referenciafény intenzitását a fluoreszcencia fényével azonos intenzitásúnak választva felrajzoltatjuk a "fluoreszcencia" görbét a K kocsi helyzetének függvényében. Ezután a vizsgálandó oldat helyére szóró közeget teszünk, a szórt fény intenzitását a P_4 gyengítő polaroid segítségével a referencia fény intenzitásával tesszük azonosossá, és a regisztrálóval felvesszük az ún. "tükörgörbét", 2.14. ábra.



2.14. ábra

Az így nyert görbék minimumai - a fluoriméterek áttekintésénél már leírt módon - ϕ fáziskülönbségének megfelelő fényut-hosszal különböznek. A csillapodási időt - exponenciális csillapo-

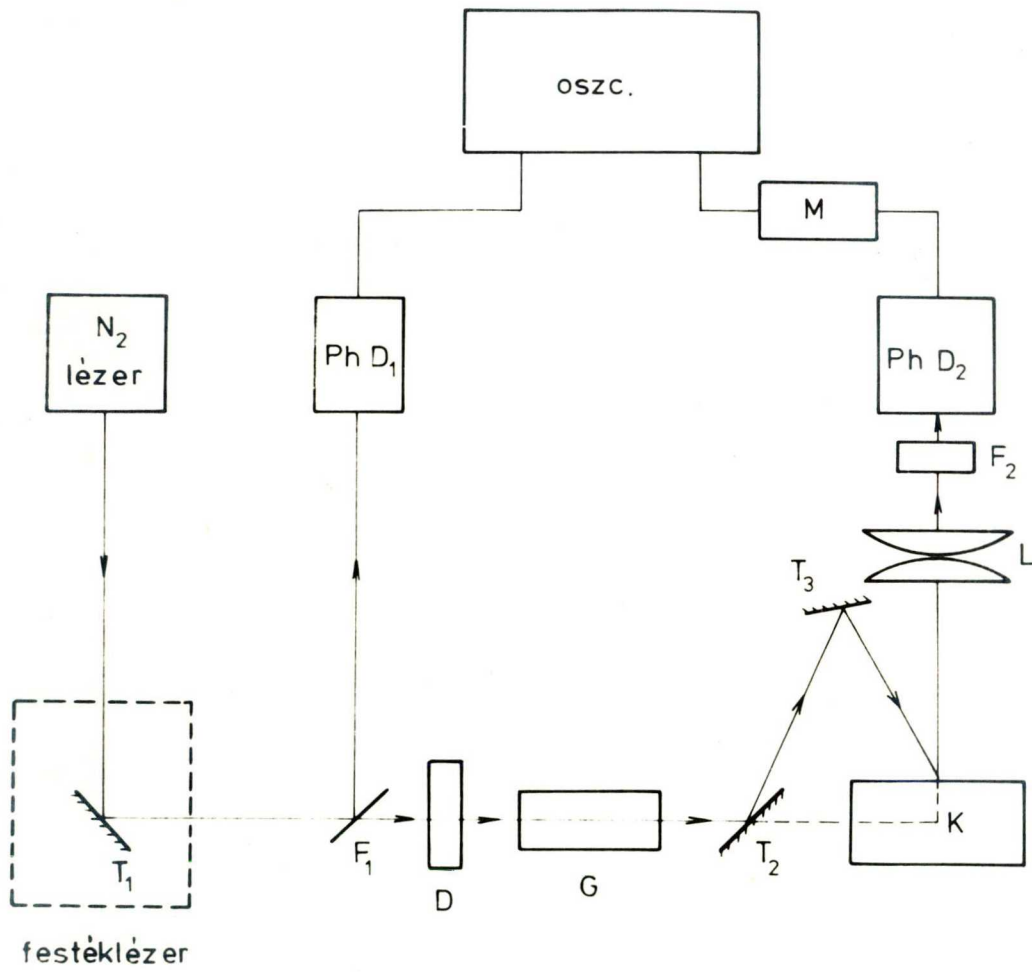
dást feltételezve - a 2.2. egyenlet alapján számítjuk ki. A számítás menete a 3.1. pontban található.

A fluoriméter méréshatára 0,1 - 30 ns. A $2\Delta L$ optikai ut-hosszkülönbség közepes abszolút hibája /kellő lumineszcencia intenzitás mellett/ kb. $\pm 0,5$ cm, ami 3-4 ns-os csillapodási idők esetében $\pm 0,07$ ns-os abszolút hibának felel meg, de kisebb csillapodási idő értékeknél, jelentősen megnő.

2.3.2. Az általunk épített impulzus fluoriméter

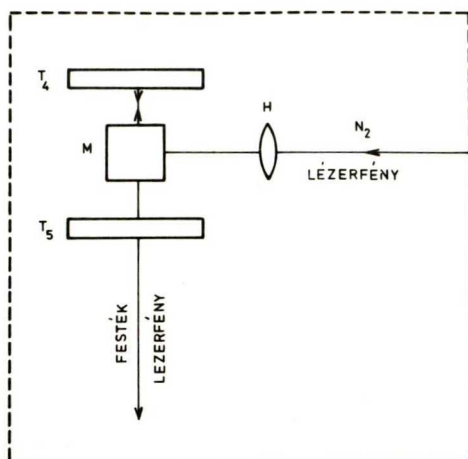
Mivel az impulzusfluoriméterek lehetőséget adnak a lecsengési görbe "direkt" felvételére, és a fázisfluorimétereknél gyorsabb mérést és kiértékelést biztosítanak, ezért intézetünkben 1978-ban sor került egy impulzus fluoriméter megépítésére, hitelesítésére és kiértékelő programok megírására.

Az általunk épített berendezés a 2.1.2.a. pontban ismertetett egyes impulzus módszer elvén működik, blokdiagramja a 2.15. ábrán látható. Gerjesztő fényforrásként egy - az intézetünkben 1977-ben kifejlesztett - transzverzálisan gerjesztett, atmoszférikus nyomású nitrogénlézer /TEA N_2 / impulzusait használtuk. A lézer felépítésének és működésének ismertetésére itt nem térünk ki, mivel az [57]-ben részletesen megtalálható. A lézerből kilépő fényimpulzus jellemző paramétereit a 2.I. táblázatban gyűjtöttük össze. Az általunk vizsgált festékek legtöbbje a N_2 lézer 377 nm-es gerjesztő fényét jól abszorbeálja. Azonban a minta abszorpciós szinképétől függően néhány esetben más hullámhosszon történő gerjesztésre is szükség lehet.



2.15. ábra

Ilyenkor a T_1 tükör - a TEA N_2 lézerrel gerjesztett 7-dietil-amino-4-metil kumarin lézerrel, vagy hangolható R 6G festéklézerrel cserélhető fel /2.16. ábra/.

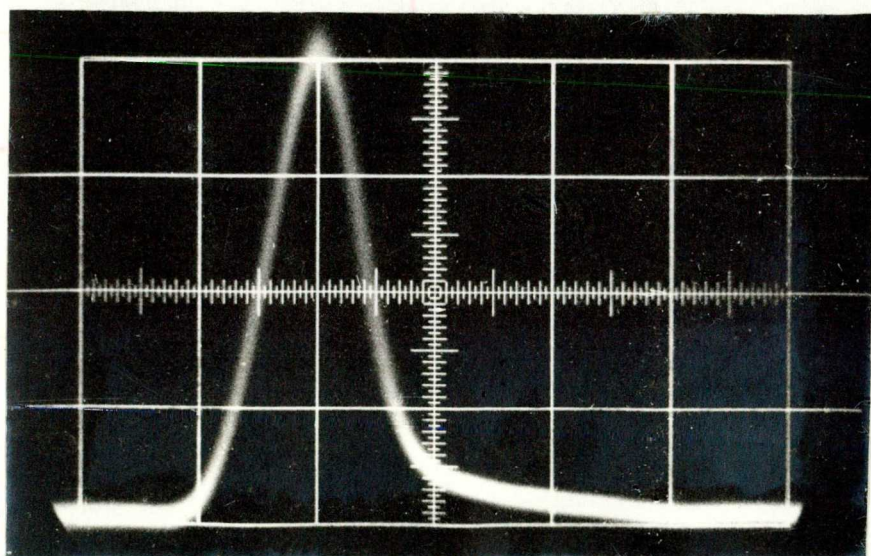


2.16. ábra

A kumarin lézer 800 ps félértékszélességű impulzusokat szolgáltat, és 430 - 470 nm-es tartományon működik.

A R 6G lézert a 575 - 605 nm-es hullámhossztartományon lehet hangolni. Impulzusának időbeli félértékszélessége 700 ps. A

nitrogén lézer impulzusok időbeli lefutása a 2.17. áb-



rán látható.

2.17. ábra

a kijövő fény	
nyaláb geometriai adatai: 1,0 x 3 mm	
hullámhossza: 337,1 nm	frekvenciája: $8,9 \cdot 10^{14}$ Hz
az impulzus	
divergenciája: 3×10 mrad	időbeli félértéke: $1,0 \cdot 10^{-9}$ s
energiája: 0,2 mJ	teljesítménye: 200 kW
energia sűrűsége: $2 \cdot 10^2$ J/m ³ $2 \cdot 10^{11} \frac{\text{W}}{\text{cm}^3}$	teljesítmény sűrűsége: $0,2 \text{ TW/m}^3$
a berendezés	
ismétlési frekvenciája: 10, 25, 50 Hz	
átlagteljesítménye: 2, 5, 10 mW	

2.I. táblázat

A legtöbb mérésnél a TEA N_2 lézer impulzusait használtuk gerjesztő impulzusként.

A 2.I. táblázatban megadott divergencia és a kilépés helyén megadott geometriai adatok segítségével kiszámítható, hogy a gerjesztő fénynyaláb az L lézertől 100 cm-re elhelyezett F_1 nyalábosztónál már $4,5 \times 30 \text{ mm}^2$ keresztmetszetű, amelynek csak a középső része tekinthető homogénnek. A kiterjedt fénynyaláb egy része PD_1 -gyel jelölt FEK 15 típusu fotodiódára reflektálódik, melynek fotoárama vezérli az oszcilloszkópot. A fénynyaláb homogén részének kivágása a D változtatható nyílású írisz blendevel, mint diafragmával történik. Az írisz blende alkalmazása lehetővé teszi azt is, hogy a gerjesztő fényfolt átmérőjét változtassuk, így közel pontszerű, vagy teljes felületű gerjesztést valósíthassunk meg, ami a [30]-ban leírt szekunder-korrekció feltételének betartása szempontjából lényeges. A blende átmérőjét csökkentve csökkenteni lehet a gerjesztő fény intenzitását, aminek alkalmas megválasztása igen fontos. Egyfelől elég nagy-nak kell lennie a gerjesztő fény teljesítmény fluxusának ahhoz, hogy a fluoreszcencia fényt a rendelkezésünkre álló fotodiódával megfigyelhessük, másfelől viszont elég kicsinek kell lennie ahhoz, hogy a vizsgálandó mintában ne hozzon létre populáció inverziót. Számításaink szerint pl. $5 \times 10^{-3} \text{ M}$ koncentrációjú R 6G oldat esetén kb. 5 kW/cm^2 -nél nagyobb teljesítmény fluxus értékeknél léphet fel a kényszerített emisszió /ASE/ jelensége. Ahhoz, hogy a maximális teljesítmény fluxus mindig ezen érték alatt maradjon /G/ fénygyengítő szűrő sorozatot alkalmazunk. A gyengítő sorozat egy elemének áteresztőképessége a 337 nm-es fény esetén 0,82 %-os.

A gerjesztő fény a T_1 és T_2 /elsőfelületü, párologtatott Al/ tükrökről visszaverődve jut a K küvettatartóban elhelyezett mintára. A mintatartót úgy alakítottuk ki, hogy kétféle megfigyelést tegyen lehetővé. Kisebb $d \leq 1$ cm/ rétegvastagságok esetén kis szög /kb. 20° / alatt történő gerjesztést alkalmazunk, a megfigyelés a küvetta normálisának irányából történik. Ez szintén a szekunder lumineszcencia hatását figyelembe vevő korrekciós eljárás alkalmazásához szükséges feltétel [30].

Nagyobb /1 cm; 0,5 cm/ rétegvastagságoknál /az alacsonyabb koncentráció tartományban/ a T_2 tükrő fényutból való eltávolítása után lehetőség van hasábküvettában lévő oldat gerjesztésére is. Ilyenkor a megfigyelés a gerjesztésre merőleges irányu. /Ezt a fényutat a 2.15. ábrán szaggatott vonal jelzi/.

A minta által emittált fényt az L lencserendszer $d=8$ cm, $f=4,9$ cm/ 1 sr térszögből gyűjti össze, és fókuszálja az ITL HSO 1850 típusu vákuumdióda PD_2 / S-20-as katódjára. A dióda rövid /100 ps-os/ felfutási idejű és 100 μ -amper/lumen érzékenységű. A fotodiódák tápfeszültségét stabilizált nagyfeszültségű tápegységek /STATRON/ szolgáltatják. A PD_1 fotodióda 1200 V, a PD_2 fotodióda 1600 V-os feszültséggel működik. Ezek az értékek a diódák anódáram-feszültség karakterisztikájának konstans szakaszára esnek.

A gerjesztő fénynek a detektorba való szóródását a PD_2 dióda ablakára helyezett, alkalmasan megválasztott F_2 szűrő gátolja meg. A N_2 -lézer 337,1 nm-es fényét 4 db GG-18-as, a 7-dietil-amino-4-metil kumarin lézer fényét GG 14-es szűrővel vágjuk ki. A hangolható R 6G lézernél olyan szűrőt választottunk, ami csak ott ereszt át, ahol a mérendő minta már nem abszorbeál.

A PD_2 fotodióda jelét az O oszcilloszkóp indikálja, melyek közé 60 ns-os M késleltető művonalat iktattunk. A használt oszcilloszkópok $50\ \Omega$ bemeneti impedanciájuk, ezért $50\ \Omega$ -os kábellel illesztettük a diódát az oszcilloszkóppal. Ily módon az impulzus torzulását eredményező elektromos reflexiók nagy mértékben lecsökkentek.

Többnyire valós idejű, haladó hullámu S7-10 oszcilloszkópot használtunk, melynek frekvenciája /a késleltető kábellel/ 400 MHz, érzékenysége - bemeneti erősítő nélkül - 3,4 V/cm.

Kisebb fluoreszcencia intenzitású oldatok mérésére S7-8 típusu 16 Hz-es frekvenciájú mintavételező oszcilloszkópot alkalmaztunk. Az általunk leggyakrabban használt 100 mV/cm-es érzékenység mellett kb. hatszor érzékenyebb volt az S7-10 típusúnál. Mindkét oszcilloszkóp érzékenységét és időtengelyének linearitását hitelesítettük. Az S7-8-as oszcilloszkóp időtengelye a nagyobb mintavételezési sűrűségnél már nem volt lineáris, ezért a méréseket kisebb mintavételezési sűrűség mellett végeztük.

Az ernyőn megjelenő lecsengési görbét fotozással rögzítettük, bár az S7-8-as oszcilloszkóphoz XY-kiíró is csatlakoztatható. Ezt azonban nem alkalmazhattuk, mert a kiíratáshoz a legnagyobb mintavételezési sűrűséget kellett volna használni. Jó minőségű felvételeket 27 dines filmre 3 perces expozíciós idővel lehet készíteni. Minthogy a lézer 10 és 25 Hz-es frekvenciákon működik, a felvételeken kb. 2-4000 lecsengési görbe együttes hatása látszik, ami - az egyes impulzusok kisméretű /< 5 %-os/ intenzitás fluktuációja miatt - egy kiszélesedett lecsengési görbét eredményez. Feltételezve, hogy a görbéknek

csupán az intenzitásuk változik, de az alakjuk nem, a kiértékeléshez a görbének fotodenzitometrálassal legsötétebbnek adódó vonalát használtuk fel.

A mérés két lépésben történik. Először a vizsgálandó mintát helyezzük az M mintatartóba, beállítjuk a megfelelő gerjesztő fényintenzitást, és fényképezzük az oszcilloszkóp ernyőjén megjelenő lecsengési görbét. Ezután a mintát nem fluoreszkáló szóróközeggel $/\text{MgO}/$ cseréljük fel, kellő mértékben gyengítjük a gerjesztő fény intenzitását, és eltávolítva az F_2 szűrőt, fényképezzük a gerjesztő impulzust. Ügyelni kell arra, hogy a két felvételen az időtengelyek a /kísérleti körülményekhez képest/ pontosan illeszthetők legyenek, hogy a lecsengési görbét és a gerjesztő impulzust egymásra lehessen vonatkoztatni.

A kiértékelést a 3. fejezetben ismertetjük.

A berendezés $0,3 \text{ ns}$ -nál nagyobb csillapodási idők mérésére alkalmas. A felső méréshatárát elvileg csak az oszcilloszkóp legkisebb eltérítési sebessége befolyásolja, de a gyakorlatban az elektromos reflexiók erősen korlátozzák. Az alsó méréshatár értékét az szabja meg, hogy a lecsengési görbe még szignifikáns módon megkülönböztethető legyen a gerjesztő impulzustól. A leg-rövidebb ilyen dekonvolúciós módszerrel számított/ csillapodási idő $0,3 \text{ ns}$ -nak adódott.

A készülék relatív hibája [a leggyakoribb $3 - 6 \text{ ns}$ -os csillapodási idők esetében] $\pm 5 \%$.

III. fejezet

3.1. Kiértékelési módszerek

3.1.1. A fázisfluoriméteren mért adatokhoz alkalmazott kiértékelés

A 2.3.1. pontban leírt mérés során közvetlenül a K kocsi helyzetének függvényében felvett fluoreszcencia és referencia görbék minimumhelyzetei közti ΔL távolságot mértük. A φ fáziskülönbség és az optikai uthosszkülönbség kapcsolata:

$$\varphi = \frac{2\Delta L\omega}{c} \quad , \quad 3.1.$$

ahol c a fénysebesség. Ezt a 2.2. egyenletbe helyettesítve, és onnan τ -t kifejezve a csillapodási idő a

$$\tau = \frac{1}{\omega} \operatorname{tg} \frac{2\Delta L\omega}{c} \quad 3.2.$$

egyenlet alapján számolható.

A szekunder lumineszcenciára való korrekciót az 1. fejezetben ismertetett eljárással végeztük. A valódi csillapodási időt az 1.37. egyenletrendszer alapján a Cramer-szabály segítségével számítottuk:

$$\tau = \frac{l_3 l_2 \lg \frac{l_3}{l_2} + l_3 l_1 \lg \frac{l_1}{l_3} + l_1 l_2 \lg \frac{l_2}{l_1}}{\frac{1}{\tau'_1} l_2 l_3 \lg \frac{R_3}{R_2} + \frac{1}{\tau'_2} l_3 l_1 \lg \frac{l_1}{l_3} + \frac{1}{\tau'_3} l_1 l_2 \lg \frac{l_2}{l_1}} \quad . \quad 3.3.$$

A fenti egyenletben τ'_i -vel a 3.2. alapján számított "külső" csillapodási időket jelöltük. Matematikai okokból /a pontosság-



ra való tekintettel/ célszerű az l_i rétegvastagságokat eléggé különbözőnek választani, például úgy, hogy $l_1 \geq 3l_2 \geq 3l_3$ legyen. A számításokat programozható, kézi számológépen /Hewlett-Packard 25 C/ végeztük.

3.1.2. Az impulzusfluoriméternél alkalmazott kiértékelési módok

Az impulzusüzemű fluoriméterek bármelyikét alkalmazva, közvetlen mérési eredményként a fluoreszcencia fény intenzitásának a készülékfüggvénnyel torzított időbeli $D(t)$ lefutása adódik analóg vagy digitális formában. A $D(t)$ függvényt rendszerint több tényező alakítja ki. Egyrészt a $G(t)$ valódi lecsengési folyamat /ami esetleg több különböző energiaszintről történő egyidejű emisszió szuperpozíciója/, másrészt a $K(t)$ készülékfüggvény, amely a gerjesztő impulzus alakját és a készülék torzító hatását veszi figyelembe. A $K(t)$ görbe kísérletileg meghatározható /1. a 2. fejezetet/.

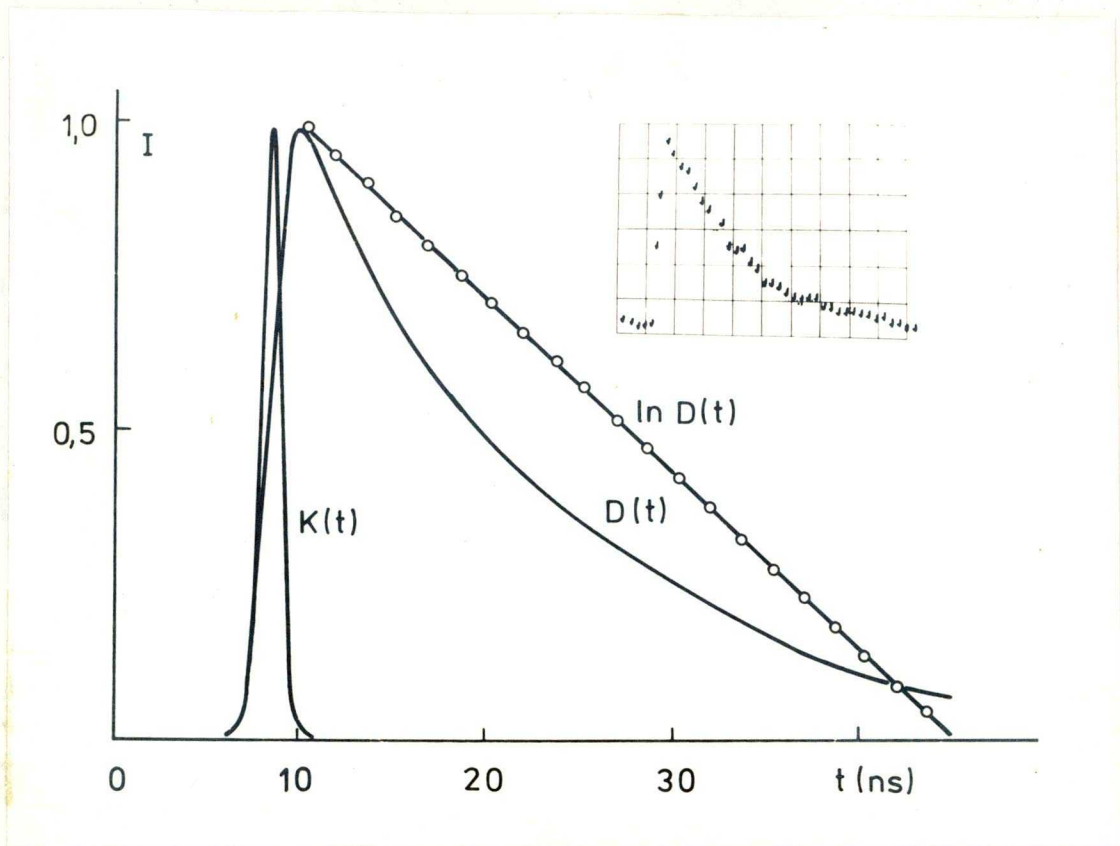
Ezen függvények kapcsolata matematikailag a

$$D(t) = \int_0^t K(t-t') G(t') dt' \quad 3.4.$$

konvolúciós integrállal írható le. A méréskiértékelés feladata lényegében a torzítás nélküli lecsengési folyamat időfüggvényének előállítása a torzított kísérleti eredményekből. A mért $D(t)$ lecsengési görbék három csoportra oszthatók a torzítás mértékétől függően [58]:

- Gyakorlatilag torzítatlan a $D(t)$, ha a gerjesztő impulzus δ impulzusnak tekinthető /azaz ha a gerjesztő impulzus w időbeli

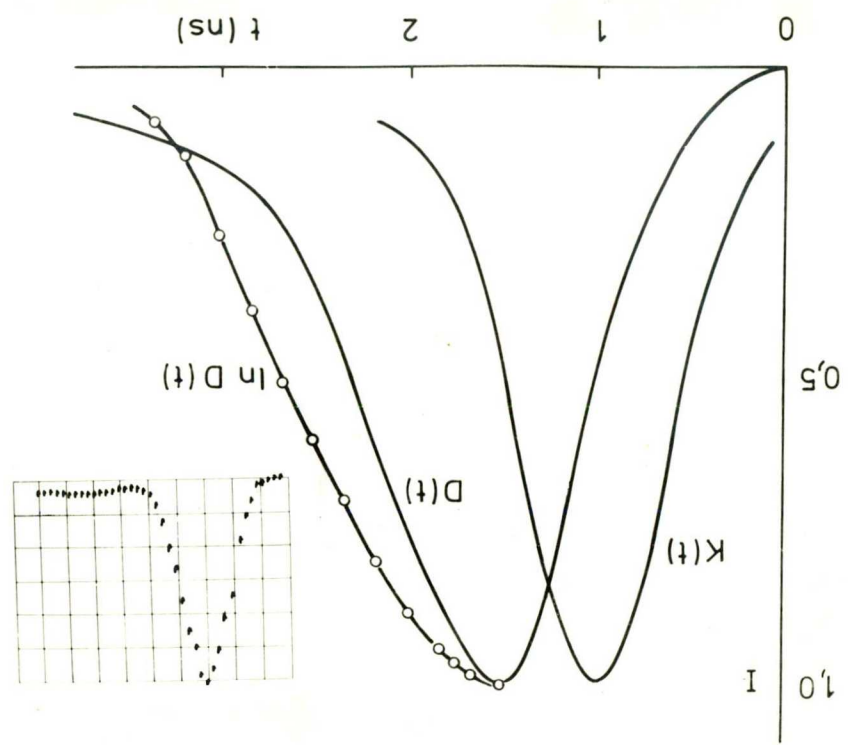
félértékszélessége $\ll \tau$ / 3.1. ábra.



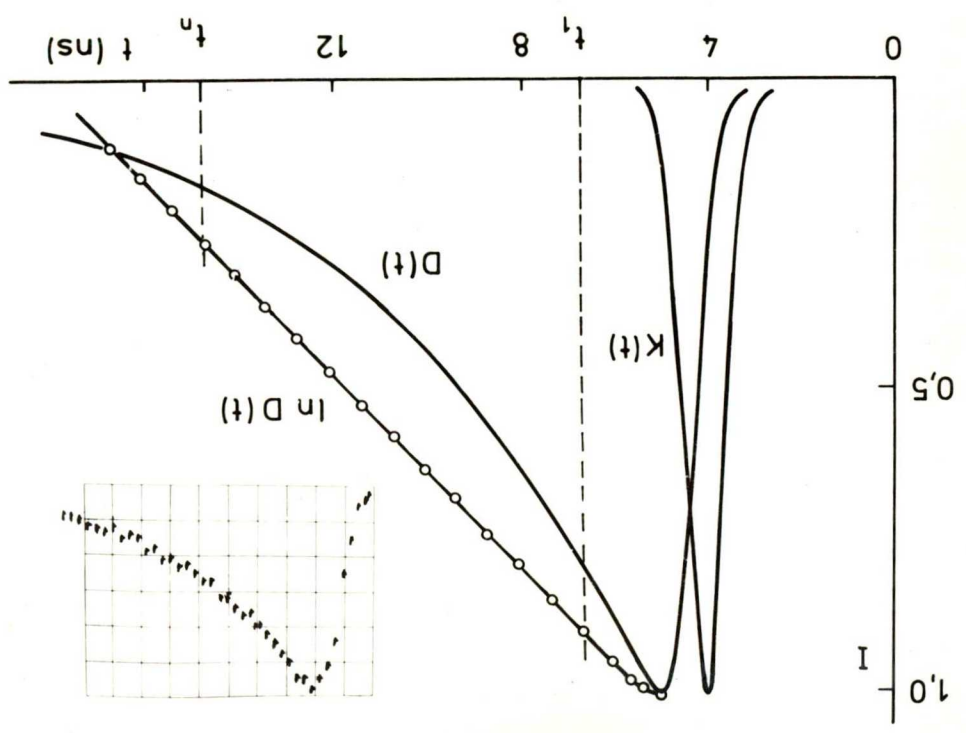
3.1. ábra

- Részben torzított a lecsengési görbe, ha a kezdeti szakaszhoz tartozó része torzul, de az impulzus további szakaszán a 3.2. ábrának megfelelő, torzítatlan jelleget mutat.
- Ha a gerjesztő impulzus szélessége összemérhető az emissziós folyamat lecsengési idejével $w > \frac{\tau}{4}$, akkor a görbe teljesen torzított, 3.3. ábra.

3.3. ábra



3.2. ábra



a, Lineáris illesztési eljárás a lineáris legkisebb négyzetek módszerével

Torzítatlannak tekinthető esetben a $D(t)$ lecsengési görbe természetes alapu logaritmusát előállítva eldönthető, hogy a csillapodás exponenciális jellegű-e, illetve hogy hány exponenciálisból tevődik össze. Amennyiben egykomponensű és a $G A e^{-t/\tau}$ exponenciális egyenlettel írható le a folyamat, akkor a logaritmálás lineáris összefüggéshez vezet:

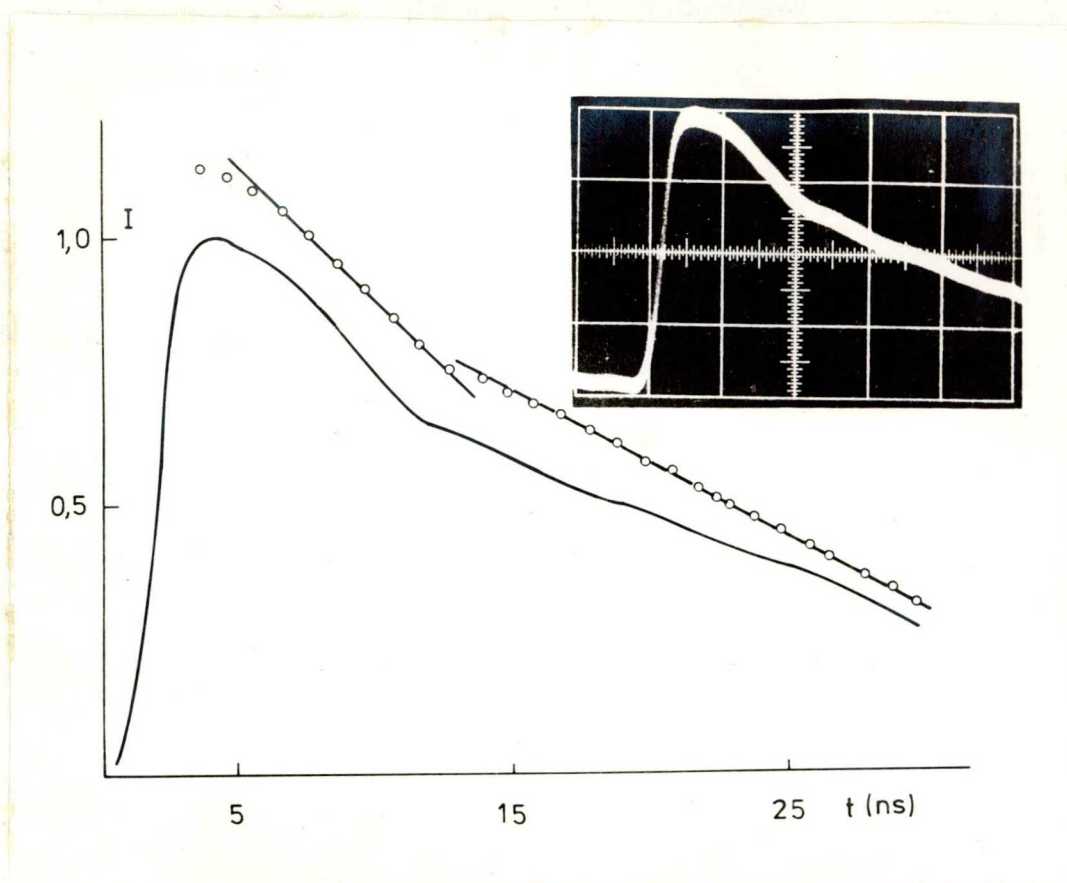
$$\ln D(t) = \ln A - \frac{t}{\tau} \quad . \quad 3.5.$$

Az egyenes iránytangensének negatív reciproka tehát az élettartam, tengelymetszete pedig a $t=0$ ponthoz tartozó A emisszióá intenzitás logaritmusa. A 3.5. egyenlet megoldásához a lineáris legkisebb négyzetek módszere használható, melynek lényege, hogy a számított és mért adatpontok eltéréseinek négyzetösszege

$$\sum_{i=1}^n \left[\ln A - \frac{t_i}{\tau} - \ln D(t_i) \right]^2 \quad 3.6.$$

minimális legyen. Az összegzéshez az $\ln D(t)$ t_1 -től t_n -ig vett lineáris szakaszát használjuk fel, hogy a kezdeti torzító hatást, valamint az alacsony numerikus értékeknél már számottevő zajt és reflexiós effektusokat kiküszöböljük. Számításainkat szintén a Hewlett-Packard 25 C kézi számológéppel végeztük.

A grafikus meghatározást ugyancsak a 3.2. ábra mutatja. Előfordulhat, hogy a $[t_1, t_n]$ szakasz eredményes kiértékelése mellett a rövidebb időkhöz tartozó szakaszon gyors lecsengési folyamat is fellép /3.4. ábra/. Ezt úgy ellenőrizhatjuk, hogy



3.4. ábra

képezzük a kísérleti és a számított lecsengési függvény $E(t)$ különbségét:

$$E(t) = D(t) - G'(t) . \quad 3.7.$$

Ha a $D(t)$ görbe csak a kiszámított exponenciális folyamatból áll, akkor $E(t)$ a kísérleti szórás oszcillációit mutatja. Ellenkező esetben egy második lecsengési folyamat paramétereit is meg lehet határozni. Ekkor a 3.6. egyenlet szerinti maradékot kezeljük úgy, mint egy torzított $D(t)$ függvényt. A kétkomponensű rendszerek rövidebb lecsengési ideje a fenti kétlépéses illesztési eljárással meglehetősen pontatlanul határozható meg, különösen, ha a lecsengési idők közel azonos nagyságúak. Ilyen esetben célszerűbb más, eleve többkomponensű függvények analizisére

készült eljárások valamelyikét használni /pl. Laplace v. Fourier transzformáció/.

Ha a kísérleti görbe teljesen torzított, akkor a lineáris közelítést nem lehet használni, a $G(t)$ lecsengési függvény paramétereit a 3.4. egyenlet alapján határozhatjuk meg. Elméletben a dekonvolúció matematikailag jól kidolgozott módszer, azonban a fluoreszcencia lecsengési méréseknél nyert adatok szerint zajjal terheltek, ami a megoldást nehezíti, sokszor lehetetlenné teszi. Az irodalomban a 3.4. egyenlet megoldására különböző eljárásokat ismertetnek.

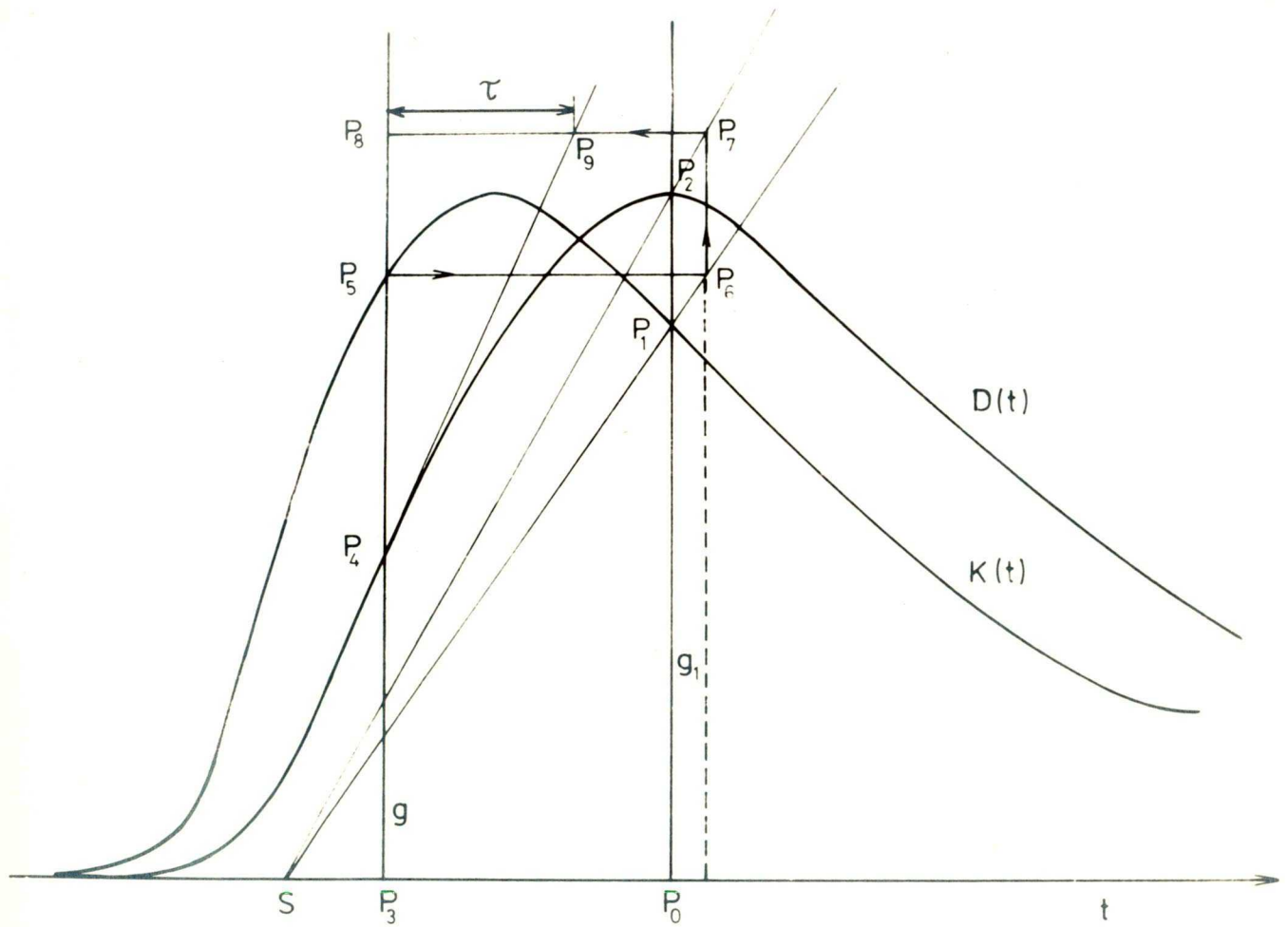
b, Heiss-féle grafikus módszer

A [59]-ben leírt eljárás akkor alkalmazható, ha a valódi lecsengést egyetlen exponenciális írja le. Erre $G(t) = \frac{a}{\tau} e^{-t/\tau}$ alakot feltételezve, a 3.4. konvolúciós integrál nem más, mint az alábbi lineáris differenciálegyenlet megoldása:

$$\tau \cdot \frac{dD(t)}{dt} + D(t) = aK(t). \quad 3.8.$$

A 3.5. ábrán látható szerkesztési eljárásból a τ értéke számolás nélkül, közvetlenül meghatározható. Az időtengelynek abban a P_0 pontjában, ahol $D(t)$ eléri a maximumát / P_2 pont/, a $\frac{dD(t)}{dt} = 0$. Így a 3.8.-ból egy algebrai egyenlet adódik, amelyben csak az a konstans ismeretlen. A $D(P_0) = aK(P_0)$ segítségével megszerkeszthető egy tetszőleges P_3 pontban /ahol $\frac{dD(t)}{dt} \neq 0$ / az $a \cdot K(P_3)$ értéke.

A szerkesztés menete a következő:



3.5. ábra

Állítsunk merőlegest a t tengelyre a P_0 pontban, és jelölje P_1 azt a pontot, ahol g_1 a $K(t)$ görbét metszi. A t tengely szabadon választott P_3 pontjában szintén állítsunk g merőlegest a t tengelyre, valamint huzzuk meg az SP_2 és SP_1 egyeneseket. /Sét/ A g egyenes és a $D(t)$ görbe metszéspontját jelölje P_4 , a g és $K(t)$ metszéspontját P_5 . P_5 -ből párhuzamost huzunk a t tengellyel, amely az SP_1 egyenest P_6 -ban metszi; a P_6 -ba állított, t -re merőleges egyenessel SP_2 -ből kimetsszük a P_7 , majd a P_7 -et tartalmazó t -vel párhuzamos egyenessel g -ből a P_8 pontot. A $\overline{P_3P_8}$ szakasz nem más, mint $\alpha \cdot K(P_3)$. Ez könnyen belátható a párhuzamos szelők tétele alapján: a P_0P_2 és P_6P_7 párhuzamos egyeneseket az SP_7 , SP_6 és t egyenesek metszik el. A P_4 pontban $D(t)$ -hez húzott érintő a vízszintes P_7P_8 egyenest a P_9 pontban metszi. A 3.5. ábra alapján írhatjuk, hogy

$$\overline{P_8P_9} \cdot \left. \frac{dD}{dt} \right|_{P_3} = \overline{P_3P_8} \quad 3.9.$$

A 3.8., és 3.9. egyenleteket összehasonlítva kapjuk, hogy $\tau = \overline{P_8P_9}$. Az elérhető $\Delta\tau$ időfelbontás a 3.8. felhasználásával adódik [59]:

$$\Delta\tau \approx \frac{\delta D(t)}{\left(\frac{dD}{dt} \right)_{max}},$$

ahol δD a kiíró szerkezet, vagy a felvétel zaja. A grafikus módszer pontossága számítógépes kiértékeléssel lett ellenőrizve. A szerző Laplace transzformációval, mi iterációs konvolúcióval számoltuk, mindkét esetben igen jó egyezés adódott.

c, Iterációs konvolúció

Az iterációs módszer során $G(t)$ -re konkrét, pontosan definiált matematikai összefüggést tételezünk fel /pl., hogy $Ae^{-t/\tau}$ alaku exponenciális a lecsengés, esetleg több exponenciális összege/. Különböző τ paraméterekkel számoljuk a $C(t) = \int_0^t K(t') G_j(t-t') dt'$ konvolúciós integrált, és összehasonlítjuk a mért $D(t)$ lecsengési görbével úgy, hogy a $C(t)$ és $D(t)$ görbék eltérés-négyzeteinek súlyozott összegét képezzük:

$$\chi^2 = \sum_i \left\{ \frac{1}{\sigma_i^2} [D(t_i) - C_j(t_i)]^2 \right\} \quad , \quad 3.11.$$

ahol i az illesztési pontok, j az iterációs lépések sorszáma, σ_i pedig az i adatpont hibája. Az egyes iterációs lépésekhez a τ értéket úgy választjuk meg, hogy a χ^2 érték egyre kisebb legyen.

Az eljárást addig folytatjuk, míg az egymást követő χ^2 értékeket kevésbé különböznek egy előre megadott, önkényesen választott értéknél. A legkisebb négyzetek módszere /LSQ/ [60] viszonylag egyszerű, az eljárás tetszőleges pontosságig folytatható, és több komponensből álló görbe kiértékelésére is alkalmas [58, 61]. Azonban sokkal számolás igényesebb, mint a nagyobb hatékonyságu módszerek /pl. Laplace transzformáció/.

Adataink egy részének kiértékeléséhez mi is iterációs módszert alkalmaztunk. Az MTA Központi Fizikai Kutatóintézetében FOCAL nyelven készült [62] program konkrét feladathoz igazított változatát használtuk. A gerjesztő és lecsengési függvény értékeit, amelyeken amplitudó normálást végeztünk, táblázatosan adtuk meg.

A konvolúciós integrál numerikus kiszámítása a [62]-ben ismertett Simpson-speciál módszerrel történt. Az egymást követő iterációs lépésekhez szükséges τ_j értékeit a $\tau_j = \tau_2 - \frac{\tau_1 - \tau_2}{j}$ összefüggés szolgáltatta, ahol j az iterációs lépésszám, τ_1 a kísérleti görbe, τ_2 a gerjesztő függvény maximumhelye. A számítás TPA 1001 típusu számológépen történt.

d, Momentumok módszere

Kezdetben csak egyszerű, egy exponenciálisból álló lecsengési görbékre alkalmazták, majd Isenberg és munkatársai [63] fejlesztették a ma is használatos formába és számoltak vele több exponenciálisból álló lecsengési adatokat. A módszer elve a következő: Definiálják a $K(t)$ gerjesztő impulzus és a $D(t)$ mért lecsengési görbe k . momentumát az

$$m_k = \int_0^{\infty} t^k K(t) dt \quad 3.12.$$

és

$$\mu_k = \int_0^{\infty} t^k D(t) dt \quad 3.13.$$

integrálok, és tételezzük fel a $G(t)$ valódi lecsengési függvény N db exponenciális összegének:

$$G(t) = \sum_{i=1}^N A_i e^{-t/\tau_i} \quad 3.14.$$

A 3.4. egyenlet 3.13-ba helyettesítve

$$\mu_k = \int_0^{\infty} t_k \int_0^t K(t-t') G(t') dt' dt \quad 3.15.$$

adódik.

Az integrálás sorrendjét megváltoztatva és bevezetve a $t-t'=v$ helyettesítést:

$$\mu_k = \int_0^\infty G(t') \int_0^\infty (t'+v)^k K(v) dv dt' = k! \sum_{s=1}^{k+1} \frac{B_s m_{k+1-s}}{(k+1-s)!} , \quad 3.16.$$

ahol

$$B_s = \sum_{i=1}^N A_i \tau_i^s . \quad 3.17.$$

Azaz N komponensű oldat esetén $2N$ ismeretlenes egyenletrendszer megoldása szolgáltatja az eredményt.

Később a módszert továbbfinomították, hogy képes legyen korrigálni néhány, a kísérlet során fellépő nem véletlen hibát is [64] az ugynevezett momentum-index megváltoztatással, és véletlenszerű vagy statisztikus hibákat is [65].

Leggyakrabban több exponenciálisból álló lecsengési görbék kiértékelésére alkalmazzák, lehetőséget ad viszonylag közel lévő τ_i -k meghatározására is. Ehhez azonban az intenzitás változást több nagyságrendben kell pontosan ismerni. Ezért nem alkalmas az oszcilloszkópos felvétel kiértékelésére ez a módszer [58].

e, Modulációs függvények módszere

Sok komponensű görbék dekonvolálására Loeb eredeti javaslatát kibővítve Valeur és Morez [66] alkalmazták ezt az eljárást. Szintén a $D(t) = \int_0^t K(t-t') G(t') dt'$ és $G(t) = \sum_i^N A_i e^{-t/\tau_i}$ egyenletekből indultak ki. A modulációs függvényeket olyan függvényekkel definiálják, amelyeknek első deriváltja a $t=0$ és valamely $t=T$ pontban zérus. Belátható, hogy

$$D(t) + a_1 \dot{D}(t) + a_2 \ddot{D}(t) + \dots + a_N^{(N)} D(t) = \alpha_1 K(t) + \alpha_2 \dot{K}(t) + \dots + \alpha_N^{(N-1)} K(t), \quad 3.18.$$

amelyben

$$a_1 = \sum_j \tau_j,$$

$$a_2 = \sum_{i>j} \tau_i \tau_j,$$

3.18.a.

$$a_3 = \sum_{i>j>k} \tau_i \tau_j \tau_k,$$

$\vdots$

$$a_N = \tau_1 \tau_2 \tau_3 \dots \tau_N$$

és

$$\alpha_1 = a_1^G(o) + a_2 \dot{G}(o) + \dots + a_N^{(N-1)} G(o),$$

$$\alpha_2 = a_2^G(o) + a_3 \dot{G}(o) + \dots + a_N^{(N-2)} G(o),$$

3.18.b.

$\vdots$

$$\alpha_N = a_N^G(o),$$

és

$$G(o) = \sum_i A_i,$$

$$\dot{G}(o) = - \sum_i \frac{A_i}{\tau_i},$$

3.18.c.

$\vdots$

$$^{(N)}G(o) = (-1)^N \sum_i \frac{A_i}{\tau_i^N}$$

A 3.18. egyenletet megszorozzuk a $\phi_1(t)$ moduláló függvénnyel, és integrálunk, $t = 0$ -tól $t = T$ -ig.

Parciálisan integrálva és a peremfeltételeket kihasználva:

$$\begin{aligned} & \alpha_1 \int_0^T \Phi_1(t) D(t) dt - \alpha_2 \int_0^T \Phi_1(t) D(t) dt + \dots + (-1)^{N-1} \alpha_N \int_0^T \Phi_1^{(N)}(t) D(t) dt + \\ & + \alpha_1 \int_0^T \Phi_1(t) K(t) dt - \alpha_2 \int_0^T \Phi_1(t) K(t) dt + \dots + (-1)^{N-1} \alpha_N \int_0^\infty \Phi_1^{(N-1)}(t) K(t) dt = \int_0^\infty \Phi_1(t) D(t) dt. \end{aligned} \quad 3.19.$$

Megfelelő számú moduláló függvényt választva, a 3.19-hez hasonló típusú egyenletekből álló egyenletrendszer szolgáltatja az α_i és a_i értékeket. Ezek segítségével 3.18.a-ból a τ_i -k, 3.18.b-ből $G(o)$ deriváltjai, végül τ_i -k és $G^i(o)$ -k ismeretében 3.18.c-ből az A_i paraméterek számíthatók. Fontos a moduláló függvény célszerű megválasztása, a szerzők a $t^n(T-t)^p$ alakukat ajánlják. Az így számított τ -értékek némileg pontatlanabbak, mint például az LSQ módszerrel nyertek [61], de az n, p pár optimalizálásával esetleg jobbá tehetők.

f, Laplace transzformáció

Fluoreszcencia lecsengési görbék kiértékelésére elsőként Helman [67] használta a Laplace transzformációt. Gafni és munkatársai [68] lényeges továbbfejlesztéssel alkalmassá tették Helman módszerét N -komponensű exponenciális függvények analízisére. Az eljárás elve a következő: Tegyük fel, hogy a valódi lecsengés $G(t) = \sum_i^N A_i e^{-t/\tau_i}$ alakú. Valamely $X(t)$ függvény Laplace transzformáltján definíció szerint a következőt értjük:

$$L[X(t)] = \hat{X}(s) = \int_0^\infty X(t) e^{-st} dt, \quad 3.20.$$

ahol $s > 0$. /az $|X(t)| < c$ feltétel mellett, azaz $X(t)$ korlátos függvény/

Képezzük a $D(t)$, $K(t)$ és $G(t)$ függvények Laplace transzformáltját. Minthogy a Laplace transzformáció lineáris operátor, és mert

$$[Ae^{-t/\tau}]^{\wedge} = \frac{A}{s+1/\tau} \quad , \quad 3.21.$$

a 3.4. konvolúciós integrál a

$$D(s)^{\wedge} = K(s)^{\wedge} \cdot G(s)^{\wedge} \quad 3.22.$$

alakot nyeri, ahonnan

$$\sum_i^N \frac{A_i}{s+1/\tau_i} = G(s)^{\wedge} = \frac{D(s)^{\wedge}}{K(s)^{\wedge}} \quad 3.23.$$

Könnyen belátható, hogy $2N$ számu, különböző s értékekkel felírhatunk egy $2N$ ismeretlenes egyenletrendszert, amelynek megoldásával nyerhetjük az N db amplitudó és az N db τ értéket visszatranszformálás nélkül! Elvben bármely s -sorozat kielégíti a fenti egyenletrendszert, mégis a pontosság és érzékenység érdekében célszerű az s -eket $1/\tau$ nagyságrendűnek választani. A módszer - a modulációs függvények módszeréhez hasonlóan - egyszerű módon képes számításal figyelembe venni a mérésnél esetleg fellépő hibákat:

- az ugynevezett "levágási" hibát, ami abból adódik, hogy a Laplace transzformáció integrálja $0-\infty$ -ig van definiálva, de az integrál numerikus kiszámítása $0-T$ intervallumon történik. / T azt az időpontot jelöli, amig mérési adataink vannak/
- a beszóródó gerjesztő fényből származó hiba kiküszöbölhető,

ha a 3.4. egyenlet helyett a közvetlenül mért lecsengési görbét

$$D(t) = \int_0^t K(t-t') G(t') dt' + C \cdot K(t) \quad 3.24.$$

alakunak tekintjük, ahol C szórási konstans mutatja a beszóródó fény mennyiségét. A Laplace transzformáció után így a

$$\hat{D}(s) = \hat{K}(s) \cdot \hat{G}(s) + C \hat{K}(s) \quad 3.25.$$

alakot ölti, ahonnan

$$\frac{\hat{D}(s)}{\hat{K}(s)} = \hat{G}(s) + C = \sum_{i=1}^N \frac{A_i}{s+1/\tau_i} + C \quad 3.26.$$

A feladat: $2N+1$ ismeretlenes egyenletrendszer megoldása.

- szignifikáns hibát okozhat, ha a $D(t)$ lecsengési és a $K(t)$ gerjesztési függvények egymáshoz képest időben eltolódnak.

Q idővel való eltolódás esetén a konvolúciós egyenlet alakja:

$$D(t+Q) = \int_0^t K(t-t') \cdot G(t') dt' \quad 3.27.$$

A Laplace transzformációra érvényes matematikai összefüggések szerint a transzformálás utáni egyenlet

$$\hat{D}(s) = \hat{K}(s) \cdot \hat{G}(s) \cdot e^{-Qs} \quad 3.28.$$

alaku, ahonnan

$$\frac{\hat{D}(s)}{\hat{K}(s)} = e^{-Qs} \hat{G}(s) = e^{-Qs} \sum_{i=1}^N \frac{A_i}{s+1/\tau_i} \quad 3.29.$$

és a feladat ismét $/2N+1/$ ismeretlenes egyenletrendszer megold-

dása.

A gyakorlatban előforduló $N = 1, 2, 3$ esetben igen jól használható a fenti eljárás, de nagy komponensszám esetén az egyenletrendszer megoldása nehéz. A fenti előnyök miatt ezt az eljárást mi is alkalmaztuk. A számításokat a JATE Kibernetikai Laboratóriumának R-40-es számítógépén végeztük. /E helyen szeretnék köszönetet mondani Bara Tamás matematikusnak a matematikai megfontolásokban nyújtott segítségéért, és Galambos Gábor programozó matematikusnak a program megírásáért./

g, Az exponenciális sorozatok módszere

Kidolgozásával Ware és munkatársai [69] megoldották azt a problémát, hogy ne kelljen a torzítatlan lecsengési függvény egzakt formájára a priori feltételezéssel élni. Az eddig leírt módszerek mindegyike megkövetelte ezt, pedig, mint már említettük, lehetnek olyan rendszerek, amelyek csillapodási törvénye ismeretlen.

A keresett $G(t)$ függvény tetszőleges pontossággal megközelíthető a

$$\sum_{k=1}^n a_k e^{-t/\gamma_k} \quad 3.30.$$

alakban, ha n elég nagy. Sem az a_k -nak, sem a γ_k -nak nincs konkrét fizikai jelentése. A fenti kifejezésben az a_k együttható lehet akár pozitív, akár negatív. Előre megadott, fix γ_k értékek mellett az a_k értékeket az LSQ módszerrel /3.2.2./ addig változtatják, míg a számított konvolúciós integrál legjobban nem illeszkedik a mért lecsengési görbéhez.

Ha a 3.30. közelítő függvényben az exponenciálisok n számát túl nagyra választjuk, akkor a mérési hibák oszcillációhoz vezethetnek, ha túl kevésnek, akkor nem adja elég pontos reprezentációját a $G(t)$ -nek. Bár $G(t)$ hez tartozó lecsengési időeknek nem kell szükségszerűen szerepelniük a γ_k sorozatban, megfigyelték, hogy a legjobb illesztés akkor adódik, ha a γ_k -k a τ körüli intervallumban szimmetrikusan helyezkednek el. Ware és munkatársai sikerrel alkalmazták ezt a módszert nem exponenciálisan lecsengő esetekre, továbbá olyankor is, amikor a valódi lecsengési görbe maximumot mutatott [69].

A módszert természetesen nem alkalmazzák egy exponenciális lecsengés meghatározására. Az összehasonlíthatóság érdekében Ware és munkatársai megtették ezt, és kitűnő eredményt nyertek. Az eljárás viszonylag hosszadalmas, így drága.

h, Fourier transzformáció

Nagyon elegáns módszere a $G(t)$ meghatározásának, amelynél szintén nem kell a $G(t)$ alakjára nézve előzetes feltételezéssel élni. A klasszikus Fourier transzformáció rendkívül időigényes, így nem is tudott tért hódítani. Ezért dolgozták ki az ugynevezett gyors Fourier transzformációt /FFT/. Valamely $X(t)$ függvény Fourier transzformációját az

$$F[X(t)] = \overset{0}{X}(\nu) = \int_{-\infty}^{\infty} X(t) e^{-2\pi i \nu t} dt, \quad 3.31.$$

az inverz transzformációt pedig az

$$X(t) = F^{-1}[\overset{0}{X}(\nu)] = \int_{-\infty}^{\infty} \overset{0}{X}(\nu) e^{2\pi i \cdot \nu t} d\nu \quad 3.32.$$

egyenletek definiálják.

Végtelen határok közötti integrálás a gyakorlatban lehetetlen, közelítésképp az ún. csonkitott Fourier transzformáltakat használjuk, amikor $[t_1, t_2]$ határok közt integrálunk. Ez nem okoz számottevő hibát, feltéve, hogy a függvények t_2 -nél maximumuk 1 %-ára csökkentek már.

A $D(t) = \int_0^t K(t-t') G(t') dt'$ konvolúciós egyenletben szereplő függvényeknek a fenti definíció szerint a Fourier transzformáltjait képezve

$$\overset{0}{G}(\nu) = \frac{\overset{0}{D}(\nu)}{\overset{0}{K}(\nu)} \quad 3.33.$$

alakhoz jutunk. $\overset{0}{G}(\nu)$ -t a frekvenciatérből időtérbe visszatranszformálva

$$G(t) = \int_{-\infty}^{\infty} \overset{0}{G}(\nu) e^{2\pi i \nu t} d\nu \quad 3.34.$$

adja a keresett valódi lecsengést.

A módszernek igen nagy hátránya, hogy az inverz transzformáció rendkívüli mértékben érzékeny a mérési adatokat terhelő zajra. A zavarok kiküszöbölésére zajmentes adattömböket kell használni, amelyet számítástechnikai szűrő eljárással és a kísérleti eredmények jel/zaj viszonyának növelésével lehet elérni. Olyan esetekben, amikor a lecsengési törvény ismert, a paraméterek egyszerűbben határozhatók meg a Fourier-helyeken való illesztéssel. Azonban úgy tűnik, hogy ez nem vezet jobb eredményre, mint a hagyományos módszerek.

Az ismertetett kilenc kiértékelő módszer közül mi 5-öt alkalmaztunk. Megvizsgáltuk, hogy befolyásolja-e a csillapodási idő értékét az, hogy melyik kiértékelési eljárást használjuk.

A mérési hibánál nagyobb eltérés nem adódott, így a későbbiekben közölt értékek egymással összehasonlíthatók a számítási eljárás feltüntetése nélkül.

3.2. Mérési eredmények

3.2.1. A vizsgált oldatok kiválasztásának szempontjai

Mindenekelőtt olyan oldatok csillapodási idejét szándékoztunk mérni, amelyeket már számos kutató tanulmányozott, hogy így módunk legyen összehasonlítást végezni. Ilyen oldatok pl. kininszulfát, rodamin 6G, rodamin B, stb. oldatai. Abból a célból, hogy minél jobban megismerhessük és ellenőrizhessük impulzus fluoriméterünket, igyekeztünk úgy megválasztani a vizsgálandó oldatokat, hogy a csillapodási idejük átfogja a készülék mérési tartományának 0,3 - 30 ns-os szakaszát. Ennek megfelelően alkalmaztuk pl. az egyébként standardnak is több szerző [76] által javasolt kininszulfátot, mint "hosszu" és bengáli vöröset mint "rövid" csillapodási idővel rendelkező festékeket.

Tekintettel arra, hogy az 1.2., 1.4. pontokban leírtaknak megfelelően a valódi csillapodási idő kapcsolatban van a többi fluoreszcencia jellemzővel lehetőség szerint olyan oldatokat választottunk, amelyeknek ismerjük az abszorpciós és emissziós szinképét, valamint a hatásfokát. Szempont volt, hogy legyenek az oldatok között olyanok, amelyek abszorpciós és emissziós spektrumai jelentős mértékben átfedik egymást, és kvantumhatásfokuk közel egy /ekkor a legnagyobb a szekunder lumineszcencia hatása/ és legyenek olyan oldatok is, amelyeknél elhanyagolható mértékű az átfedés, ill. a hatásfok kicsiny.

Néhány festéknél megvizsgáltuk a csillapodási idő értékének különböző típusu és mennyiségű adalékanyag hatására bekö-

vetkező változását. Az alkalmazott adalékok a dinamikus kioltóként ismert kálium-jodid, valamint a [76] által ajánlott NaCl volt. A kioltás hatásának felhasználásával egyre rövidülő csillapodási idő értékekkel vizsgálhattuk a készülék megbízhatóságát a rövid csillapodási idők tartományában is.

Az alkalmazott festékek szerkezetüket tekintve is több csoportra oszthatók, /pl. xantén, akridin stb. származékok/, így a lumineszkáló vegyületek különböző típusait képviselik. Oldószerként spektroszkópiai tisztaságu etanolt, metanolt, 0,1 N NaOH-t, benzolt, ill. 0,1 H₂SO₄-t használtunk. A vizsgált anyagokat, a használt oldószereket, a festéket előállító cég nevét a 3.I. táblázatban tüntettük fel.

festék csoport	festék neve	oldószer	gyártó cég neve
XANTÉN	rodamin 6G	etanol, metanol	MERCK
	rodamin 6G	" "	NEN PILOT 559 p
	rodamin B	" "	MERCK
	fluoreszcein	0,1 NaOH	MERCK
	bengáli vörös	etanol	
AKRIDIN	tripaflavin /3,6 diamino, 10 metil akridin-klorid/	etanol	HOECHST
	diamino akridin HCl	"	FLUKA
	9-amino-akridin	"	MERCK
	rodulin orange	"	MICHROME
	akridin		
	perilén	benzol	FLUKA
	kininszulfát	0,1 N H ₂ SO ₄	SIGMA

3.I. táblázat

A rodamin 6G-t kromatográfiás eljárással, a fluoreszceint és tripafalvint átkristályosítással tisztítottuk. A táblázatban szereplő többi festék vékonyréteg kromatográfiás vizsgálata azt mutatta, hogy lényegében csak egy-egy fluoreszkáló komponenst tartalmaznak, illetve a bennük lévő szennyezés olyan kicsiny, hogy az várhatóan a fluoreszcencia csillapodási idejére nincs hatással [77].

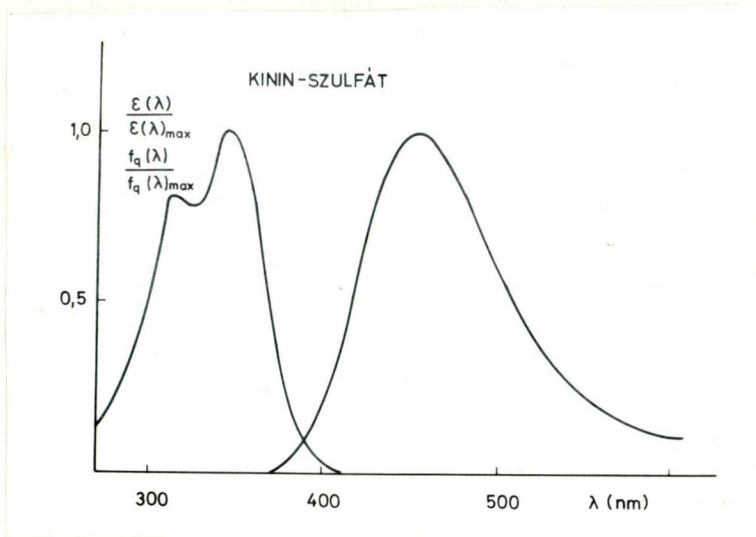
3.2.2. Az impulzusfluoriméter hitelesítése

A 2.3.2. pontban ismertettük az általunk épített fluoriméter működésének elvét, felépítését és az alkalmazott mérési eljárást. A fluorimétert a 0,3 ns-os alsó méréshatárától a 30 ns-ig terjedő intervallumban vizsgáltuk meg, különös tekintettel a leggyakrabban használt 2-20 ns-os tartományra.

A mérési tartomány 1,5 - 20 ns-os szakaszának hitelesítésére Chen [76] kininbiszulfát oldatot javasol. A kininbiszulfát helyett kininszulfát is használható, mivel a két anyag kénasavas oldatának lumineszcencia jellemzői megegyeznek [78], és a lumineszkáló ion összetétele kromatográfiás eljárással is azonosnak mutatkozott. A kinint a következő tulajdonságai teszik alkalmassá arra, hogy hitelesítő oldatként alkalmazzuk:

- Az abszorpciós és emissziós szinképek alig fedik át egymást

/3.6. ábra/, ezért a szekunderlumineszcenciahatása figyelmen kívül hagyható. Ugyanakkor a 0,1 N H_2SO_4 -ben oldott kininszulfát hatásfoka elég nagy / $Q=0,55$ /.



3.6. ábra

- Az abszorpció maximuma $\lambda = 345$ nm-nél van, így a nitrogénláz 337 nm hullámhosszuságú fényével jól gerjeszthető.
- A kinin fluoreszcenciáját az oxigén nem oltja ki, ezért az oldatot nem kell oxigén mentesíteni [79].
- Az oldat sötét, hűvös helyen lezárt edényben tárolva legalább 6 hónapig stabil marad.

Régóta ismert, hogy a klorid-ionok kioltják a kinin fluoreszcenciáját [58]. A kioltás tisztán dinamikus, diffúziókontrollált folyamat a kioltó ionok bármely koncentrációjánál [76]. Így a kioltás folyamatára alkalmazható a Stern-Volmer egyenlet /1. 1.3.b. pontban/, amely igen nagy kioltó koncentrációknál is egyenest szolgáltat.

Nincs tudomásunk más, folyadékfázisban lévő mintáról, mely a kioltás ilyen magas fokáig követné a Stern-Volmer egyenest. A kioltatlan kininoldat csillapodási idejének értékére különböző szerzők által mért adatokat a 3.II. táblázatban gyűjtöttük össze. Átlagértékük 19,75 ns, az eltérés igen kis mértékű: 3 %,

Kininszulfát + 0,1 N H_2SO_4 τ -ja

τ (ns)	IRODALOM
19,0	Chem [80]
19,4	Iguerabide [81]
19,5	Wéber [87] [83]
20,1	Birks [31] [84]
20,5	Saját /fázisfluoriméteren/
20,23	Saját /impulzusfluoriméteren/
19,75	$\pm 2,5$ % ÁTLAG

3.II. táblázat

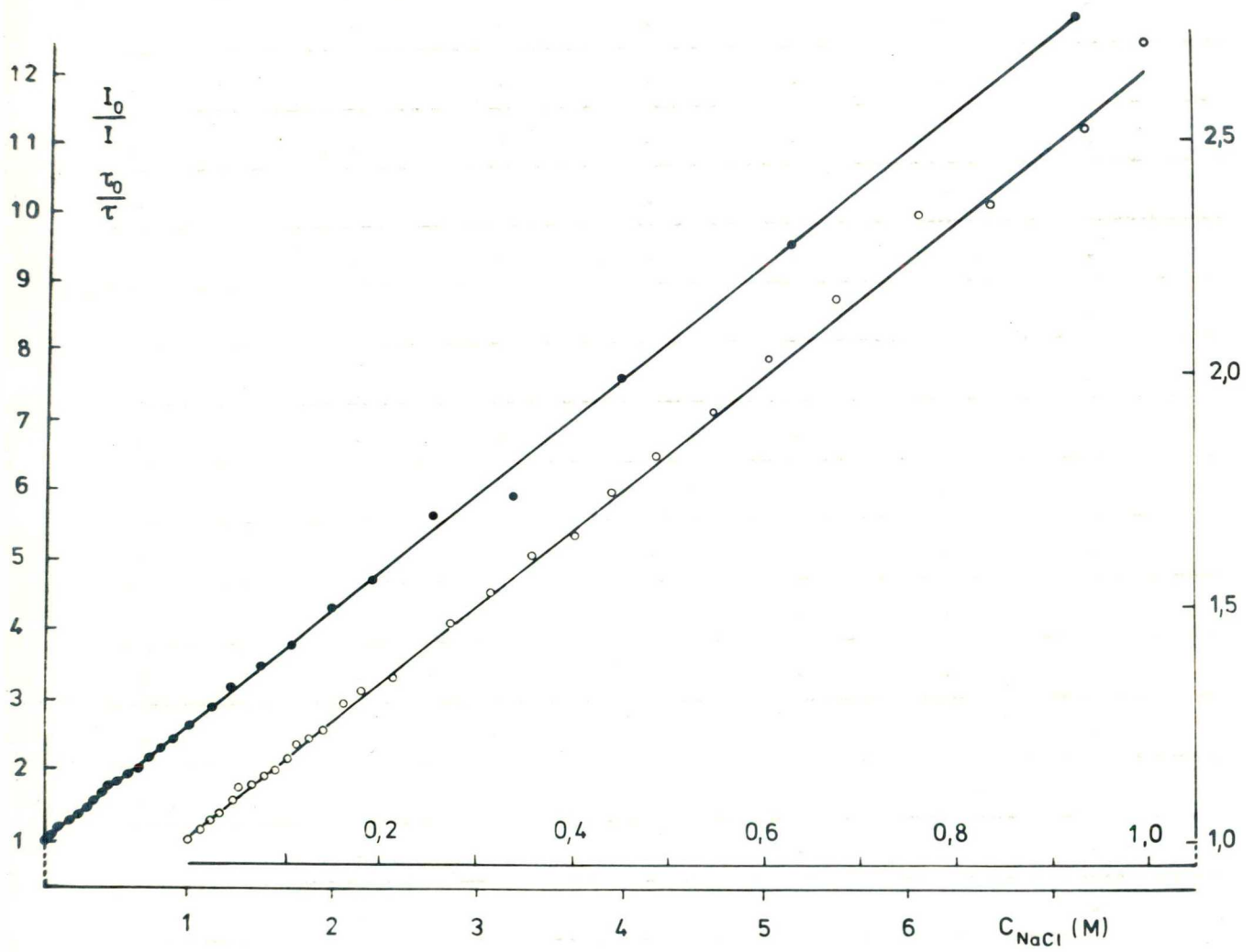
igy az általunk mért $20,3 \text{ ns} \pm 5 \%$ érték az irodalmi adatokkal megegyezőnek tekinthető. A fentiek miatt a kininszulfát NaCl-dal különböző mértékben kioltott oldatait választottuk a hitelesítéshez. A kioltási konstans ismeretében Chen megadta $1 \cdot 10^{-6}$ M kininszulfátot tartalmazó olyan oldatsorozat kioltó anyag /NaCl/ koncentrációit, amelyben a NaCl koncentrációjának növekedésével a csillapodási idő 0,5 ns-os lépésekben csökken. Az általunk használt hitelesítő oldat-sorozatot ennek a leírásnak megfelelően készítettük el. Mivel tiszta kininbiszulfát nem állt rendelkezésünkre, az oldatokat kininszulfátból készítettük oly módon, hogy meghatároztuk azt a kininszulfát koncentrációt, amelynél az oldat kinin-ion tartalma azonos az $1 \cdot 10^{-6}$ M kininbiszulfát oldat kinin-ion tartalmával. Az egyes 0,1 N H_2SO_4 oldatok $5,55 \cdot 10^{-6}$ M koncentrációban tartalmaztak kininszulfátot és X M koncentrációban nátriumkloridot. A nátriumklorid X koncentrációját és a mért τ értékeket a 3.III. táblázatban közöljük, amelyben feltüntetjük a kioltatlan ol-

dat I^0 fluoreszcencia intenzitására vonatkoztatott I intenzitásértékek reciprokát, valamint a τ_0/τ hányadost./ τ_0 a kioltatlan kininszulfát-oldat csillapodási idejét jelenti/. A 3.7. ábrán ábrázoltuk az I_0/I értékeket, a kioltó anyag koncentrációjának függvényében /folytonos vonal/, majd ugyanerre a grafikonra X-szel felrajzoltuk a τ_0/τ értékeket is. Mint látható, e pontok gyakorlatilag ugyanolyan merede sűgű egyeneseket határoznak meg, azaz $I_0/I \approx \tau_0/\tau$. A csillapodási idő adatokra a legkisebb négyzetek módszerével illesztett egyenes meredeksége, azaz a K kioltási konstans, $K = 164,2 \text{ M}^{-1}$ -nek adódott, ami az I_0/I egyenes $163,4 \text{ M}^{-1}$ -es meredekségével jól egyezik és megfelel a Chen által közölt $K = 161 \text{ M}^{-1}$ értéknek is.

A néhány M^{-1} -es eltérést azzal értelmezhetjük, hogy az oldat nátriumklorid-tartalma a cikkben szereplő értéktől 1 %-kal eltér. Az I_0/I egyenes meredekségét és a 3.II. táblázatból adódó 19.75 ns-os csillapodási időt felhasználva a Stern-Volmer egyenlet alapján számítottuk is az egyes NaCl koncentrációkhoz tartozó τ_{sz} -kat /3.III. táblázat/. A megfelelő mért és számított értékeket összehasonlítva látható, hogy különbségük nem haladja meg a mérési hibából adódó eltérés mértékét.

Minthogy a kioltás során az oldat hatásfoka is csökken és $1 \cdot 10^{-1} \text{ M}$ koncentrációju NaCl-nál a fluoreszcencia intenzitása elérte detektorunk érzékenységének alsó határát, ezért a $\tau < 1,5$ ns-os tartományba eső csillapodási idők méréséhez intenzívebben világító oldatokat választottunk. Rodamin 6G festék különböző, $1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ -nál nagyobb koncentrációju oldatait /ahol már fellép a koncentrációs kioltás/, rodamin 6G és fluoreszcein

C_{NaCl} $X \times 10^{-2} M$	$\tau_{mért}$ /ns/	$\frac{\tau_o}{\tau}$	$\frac{J_o}{I}$	$\tau_{szám}$ /ns/	$\tau_m - \tau_{sz}$ /ns/	$\tau_m - \tau_{sz}$ sz /%/
0	20,23	1	1	19,75	0,48	2,37
0,0128	19,47	1,039	1,040	19,34	0,13	0,6
0,0307	18,80	1,76	1,095	18,80	0,0	0
0,0485	18,5	1,093	1,12	18,29	0,21	0,1
0,0673	17,76	1,14	1,14	17,78	0,02	0,1
0,0891	-	-	1,176	17,25	-	1,33
0,1109	16,5	1,23	1,22	16,72	0,22	0,9
0,1347	16,3	1,24	1,27	16,19	0,11	0,69
0,1594	15,53	1,30	1,315	15,67	0,14	0,39
0,1861	15,2	1,33	1,32	15,14	0,06	
0,2149	14,7	1,376	1,37	14,61	0,09	0,61
0,2455	13,72	1,458	1,45	14,095	0,37	2,69
0,2782	13,5	1,49	1,46	13,57	0,07	0,52
0,3149	13,21	1,54	-	13,04	0,06	0,45
0,3535	12,57	1,61	1,6	12,52	0,05	0,39
0,3950	12,16	1,66	1,66	12,00	0,16	1,28
0,4404	11,53	1,75	-	11,49	0,04	0,346
0,4911	11,03	1,83	1,89	10,96	0,07	0,63
0,5465	10,4	1,93	-	10,43	0,03	0,288
0,6079	9,95	2,03	2,12	9,91	0,04	0,402
0,6762	9,24	2,18	-	9,38	0,14	1,5
0,7515	8,49	2,38	2,386	8,86	0,37	4,35
0,8366	8,42	2,40	-	8,34	0,06	0,71
0,9347	7,79	2,538	2,538	7,81	0,02	0,26
1,0396	7,26	2,78	-	7,31	0,05	0,69
1,1683	6,8	2,97	2,907	6,79	0,01	0,147
1,3168	6,22	3,26	-	6,26	0,04	0,64
1,4950	5,63	3,59	3,46	5,73	0,10	1,77
1,7129	5,4	3,75	-	5,20	0,20	3,70
1,9703	4,64	4,36	4,26	4,68	0,04	0,86
2,2871	4,31	4,70	4,69	4,162	0,13	3,02
2,7030	3,57	5,66	5,617	3,64	0,07	1,96
3,2574	3,46	5,84	6,211	3,12	0,34	9,82
4,0297	3,2	,	7,63	2,60	0,6	18,75
5,1980	2,12	9,54		2,08	0,04	1,88
7,12	1,57	12,88	12,70	1,56	0,01	0,63



3.7. ábra

káliumjodiddal különböző mértékben kioltott oldatait, továbbá az irodalom alapján rövid csillapodási idejűnek ismert, metilalkoholban oldott $1 \cdot 10^{-4}$ M koncentrációjú bengáli vöröset, ill. $5 \cdot 10^{-4}$ M koncentrációjú akridint. A festékeket, oldószereiket, C koncentrációjukat, a méréshez alkalmazott küvetta l rétegvastagságát, az általunk fázisfluoriméterrel mért τ_f és impulzusfluoriméterrel mért τ_i értékeket, valamint összehasonlítási alapként az irodalomban közölt τ_0 értékeket a 3.IV. táblázat első részében foglaltuk össze. A τ_f oszlopban található *-gal megjelölt értékek az intézetünkben lévő fázisfluoriméteren korábban mért adatok.

Ugyanezen táblázat második részében összegyűjtöttük a kininszulfáttal hitelesített 1,5 - 20 ns-os tartományba eső, további festékekre mért τ_f , τ_i és τ_0 értékeket is. Valamennyi itt közölt adat mindennemű korrigálást nélkülöző, közvetlen, mérés során nyert eredmény. Ügyeltünk arra, hogy az egymáshoz hasonlítandó csillapodási időértékek olyanok legyenek, amelyeket azonos körülmények /oldószer, koncentráció, rétegvastagság/ között mértek. Néhány esetben, amikor ezen feltétel nem teljesült, a "Megjegyzés" oszlopban közöljük az eltérő paraméter pontos értékét.

Az általunk mért τ_i értékek eltérése az irodalomban közölt, valamint a fázisfluoriméteren mért értékektől csupán néhány százalék, ami jó egyezésnek mondható. A fázisfluoriméteren mért eredményekhez képest azonban ez az eltérés mindig a hosszabb csillapodási idők irányába mutat, ami arra enged következtetni, hogy a szekunderlumineszcencia hatása /a mérési körülmények

festék neve	oldó- szer	C /M/	l /mm/	τ_i /ns/	τ_f /ns/	τ_o /ns/	irod. hiv.	Megj.
rodamin 6 G	MetOH	5×10^{-2}	0,01	0,3				
rodamin 6 G+ 1×10^{-2} KJ	MetOH	5×10^{-5}	5	0,6		0,69	/85/	
bengáli vörös	MetOH	1×10^{-4}	2	0,8	0,8*	0,93	/85/	
akridin	EtOH	5×10^{-4}	1	0,88		0,7	/31/	
rodamin 6 G 5×10^{-2} KJ	MetOH	5×10^{-5}	5	1,27		1,12	/85/	C=7,5x 10^{-2} M
rodamin 6 G	MetOH	2×10^{-2}	0,01	1,7		1,8	/35/	
rodamin B	EtOH	1×10^{-4}	0,5 2	2,95 2,4	2,55 2,1	2,88	/85/ /83/	
rodamin 6 G 2×10^{-2} KJ	MetOH	5×10^{-5}	5	2,62	2,62	2,36	/85/	
rodamin 6 G	MetOH	1×10^{-4}	1	4,7	4,63	4,62	/56/	
perilén	benzol	1×10^{-4}	1	4,8		4,79	/11/	
3-6 diamino akridin klor.	EtOH	1×10^{-4}	1	5,36	4,29*	5,2	/44/	
fluoreszcein	MetOH	2×10^{-3}	0,1	6,0	5,6*			
fluoreszcein	MetOH	2×10^{-3}	1	6,99		6,8	/44/	
rodamin 6 G	MetOH	5×10^{-4}	5	7,3	7,2	9,5	/42/	
9-amino akri- din	EtOH	5×10^{-4}	1	14,06 és 22,42		13,87 14,7	/11/ /86/	két kompo- nensű az ol- dat
kininszulfát	H ₂ SO ₄	1×10^{-4}	2	20,25	20,30	20,1	/12/	

3. IV. táblázat

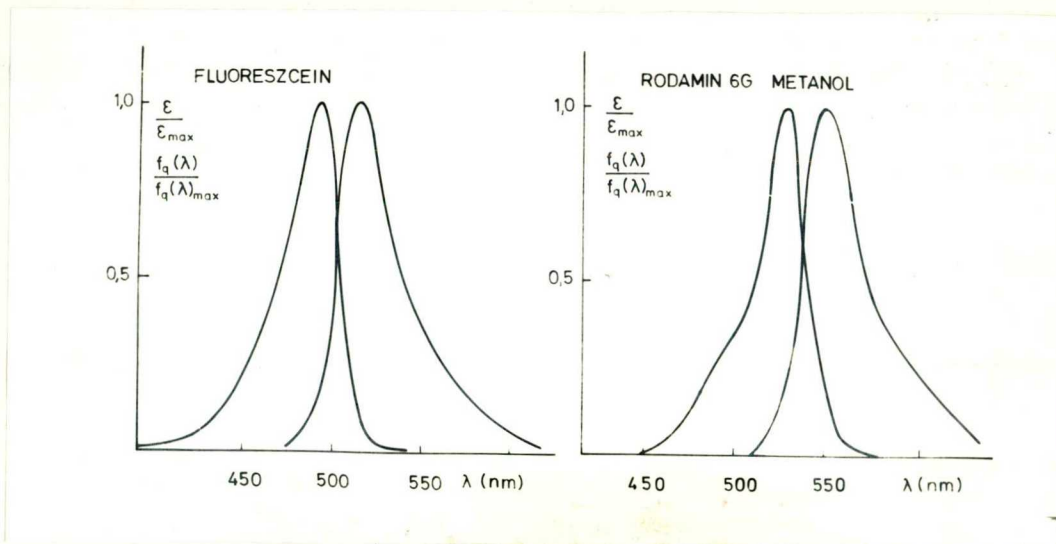


miatt/ az impulzusfluoriméterben jobban érvényesül. Ezt támasztja alá az a tapasztalat is, hogy olyan esetekben, amikor a szekunderfluoreszcencia hatása kisebb, a τ_f és τ_i közötti eltérés is kisebb /pl. kininszulfát, kumarin, rodamin 6G+káliumjodid/.

3.2.3. Néhány jelenség tanulmányozása az impulzusfluoriméteren

A továbbiakban néhány jól ismert fizikai jelenség, a koncentrációs és idegen anyaggal történő kioltás jelenségének vizsgálatára alkalmaztuk a megépített és hitelesített fluorimétert.

Az utóbbi időben sokan tanulmányozzák dinamikus kioltóknak a csillapodási időre gyakorolt hatását. Mi metanolban oldott $5 \cdot 10^{-5}$ M koncentrációju rodamin 6G, illetve $2 \cdot 10^{-3}$ M koncentrációju fluoreszcein festékek káliumjodiddal kioltott csillapodási idejét vizsgáltuk. Az abszorpciós és emissziós szinképek átfedése /3.8.a.,b. ábra/, valamint az oldatok hatásfoka



3.8. ábra

mindkét esetben nagy $/Q_{R6G} = 0,01, Q_{Fl} = 0,92/$, ezért a szekunderlumineszcencia számottevő hatása volt várható. A korrekció elvégzésére az 1.4. pontban leírt három-pontos módszert alkalmaztuk, miután kísérletileg megvizsgáltuk, hogy a fázisfluoriméterrel kidolgozott eljárás /legalábbis első közelítésben/ alkalmazható berendezésünkre /1. 3.2.4. pontban!/.

A korrekció alkalmazhatóságának szigorú feltétele, hogy $\gamma_{max} < 3$ legyen. Ezt a kikötést azonban csak a rodamin 6G vizsgálatánál sikerült betartanunk. A fluoreszcein oldatok a gerjesztés 337 nm-es hullámhosszán kevésbé abszorbeálnak, valamint emissziós szinképük nagy része a fotodióda kevésbé érzékeny hullámhossz-tartományára esik, ezért a nagyobb fluoreszcencia-intenzitás érdekében nagyobb, $2 \cdot 10^{-3}$ M koncentrációju oldatot használtunk, így azonban a $\gamma_{max} < 3$ feltételnek nem tudtunk eleget tenni.

Eredményeinket a 3.V. és 3.VI. táblázatokban, illetve a 3.9. és 3.10. ábrákon tüntettük fel. A o, Δ , $\square$ -gel jelölt görbék az egyes rétegvastagságok mellett mért τ' értékeket jelentik; a rodamin 6G esetén korrigálás után kapott τ értékeket X-szel tüntettük fel.

A görbék menete mindkét esetben azonos az irodalom alapján várttal: a káliumjodid koncentrációjának növelésével a csillapodási idő egy kezdeti, konstansnak tekinthető szakasz után, egy jól meghatározott adalékanyag-koncentrációnál hirtelen csökkenni kezd. Ez a C_O^k kritikus koncentráció rodamin 6G esetén $2 \cdot 10^{-3}$ M-nak, fluoreszcein esetén $5 \cdot 10^{-3}$ M-nak adódott.

Összehasonlítás céljából a 3.9. ábrán szaggatott vonallal

5×10^{-5} M Rhodamin 6G + MetoH + KJ csillapodási ideje

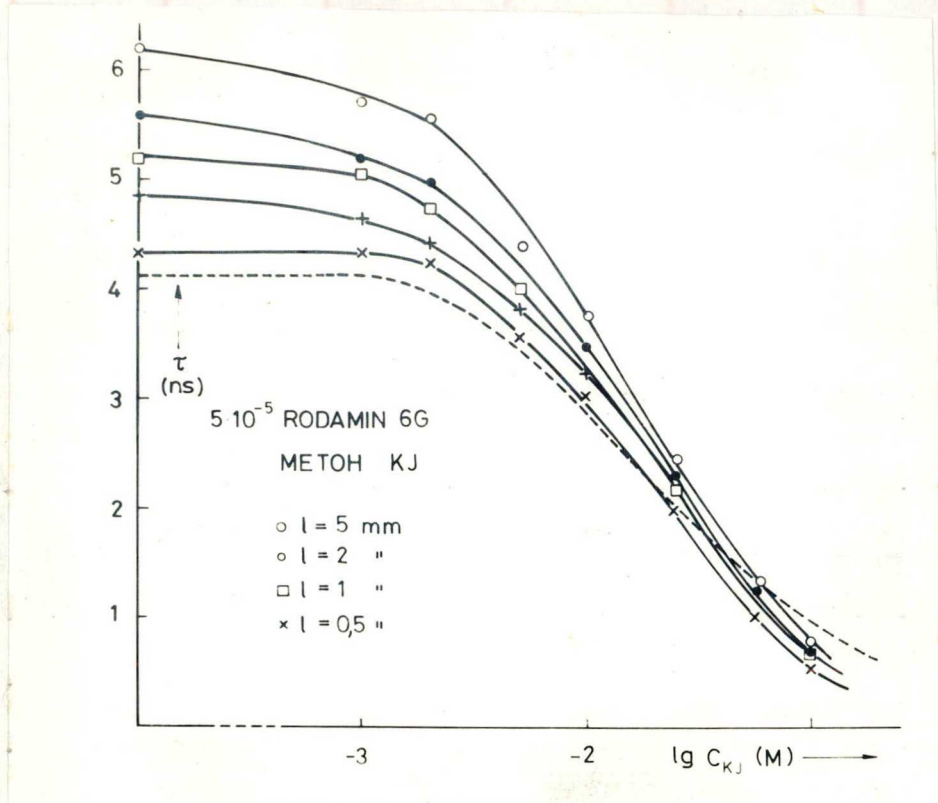
$\frac{l}{\text{mm}} \backslash \frac{C_{\text{kJ}}}{\text{M}}$	5	2	1	0,5	τ /ns/	$\frac{\tau_0}{\tau}$
0	6,32	5,73	5,16	4,83	4,24 /= ₀ /	1
1×10^{-3}	5,68	5,16	5,09	4,63	4,33	0,98
2×10^{-3}	5,57	4,95	4,72	4,47	4,01	1,06
5×10^{-4}	4,55 4,36	6,02	3,92	3,78	3,58	1,18
1×10^{-2}	3,74	3,41	3,4	3,29	3,1	1,37
2×10^{-2}	2,65	2,5	2,35	-	2,08	2,04
5×10^{-2}	1,27	1,2	1,15	-	-	4,04
1×10^{-2}	0,6	0,58	0,47	-	-	-

3. V. táblázat

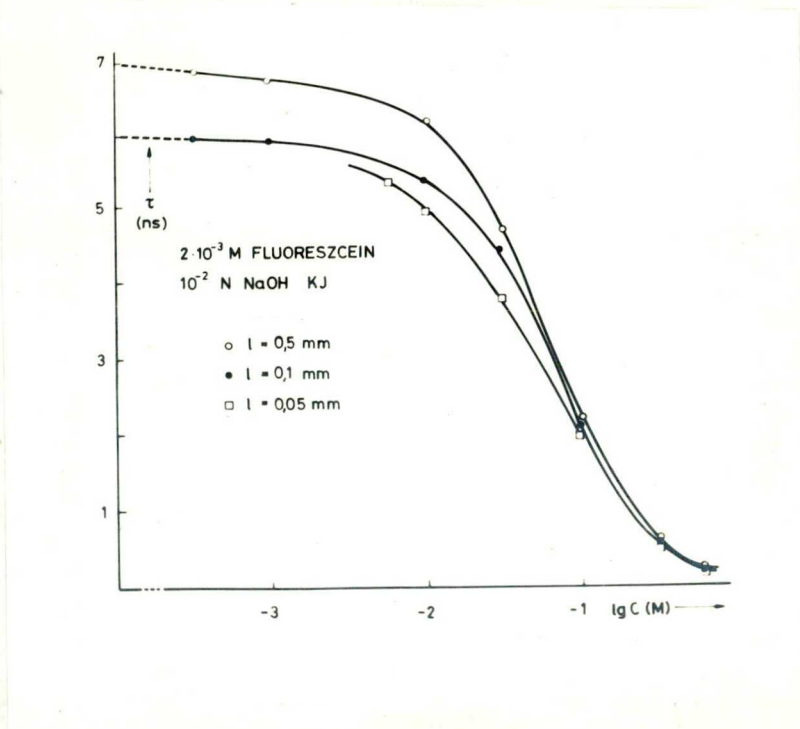
2×10^{-3} M Fluoreszcein + 0,01 N NaOH + kJ csillapodási ideje
/ns/

$\frac{l}{\text{mm}} \backslash \frac{C}{\text{M}}$	1	0,5	0,1	0,05	τ_{kor} /ns/
0	7,08	6,88	6,0	-	5,5
10^{-3}	7,00	6,72	5,9	-	5,49
10^{-2}	-	6,19	5,27	4,94	4,45
3×10^{-2}	-	4,73	4,55	3,81	2,87
10^{-1}	-	2,2	2,1	2	1,83
3×10^{-1}	-	0,51	0,5	0,48	0,5
6×10^{-1}	-	0,3	-	-	0,3

3. VI. táblázat



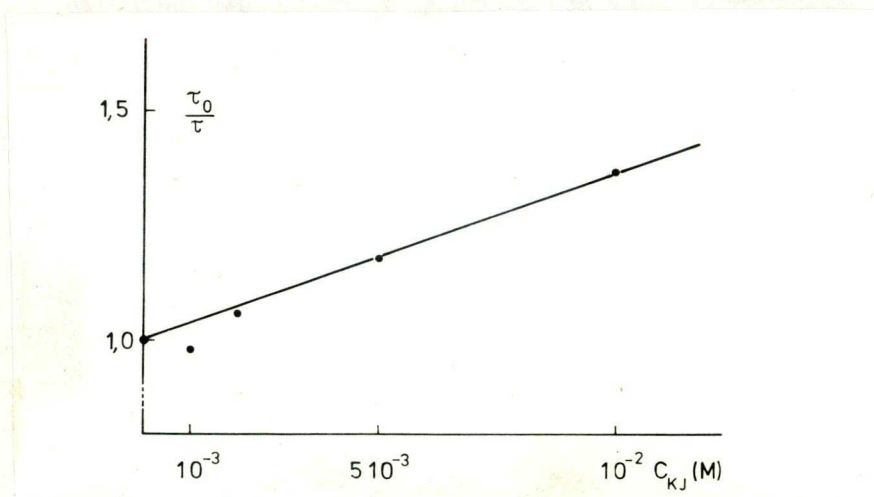
3.9. ábra



3.10. ábra

feltüntettük a Harris és Lytle [85] eredményeit is, amit vízben oldott $1 \cdot 10^{-6}$ M rodamin 6G káliumjodiddal kioltott oldatra nyertek. Látható, hogy a görbék menete hasonló, de [85]-ben kisebb abszolút értékű csillapodási idők adódtak, amit az oldószer és a rodamin 6G koncentrációbeli eltéréssel értelmeztünk.

Mint hogy a rodamin 6G festék esetében az oldatra jellemző valódi τ érték állt rendelkezésünkre, a Stern-Volmer egyenlet alapján meghatározhattuk az oldat néhány molekuláris paramétereit. A Stern-Volmer egyenes a 3.11. ábrán látható, a τ_0/τ ér-



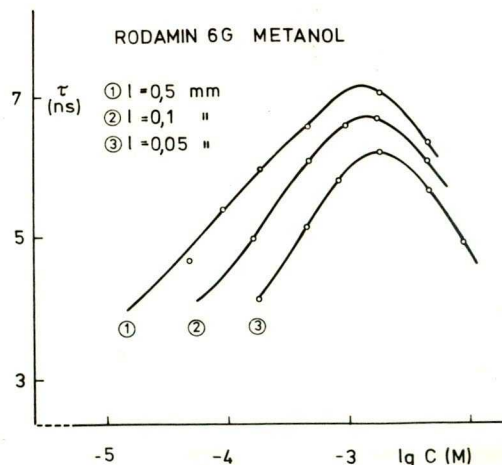
3.11. ábra

tékeket a 3.V. táblázat tartalmazza. Az egyenes meredeksége $K = 36,5 \text{ M}^{-1}$. $K = k_q \tau_0$, ahonnan a k_q bimolekuláris kioltási konstans értéke $8,69 \cdot 10^{-9} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, mutatva, hogy a kioltás lényegében diffúzió által meghatározott. Ezen eredmény jó egyezésben van Harris-Lytle által meghatározott $7,36 \cdot 10^{-9} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ -es értékkel.

A koncentrációs kioltás jelenségét szintén metanolban oldott rodamin 6G festéken tanulmányoztuk. A koncentrációtarto-

mány $5 \cdot 10^{-5}$ - 10^{-2} M-ig terjed. A fellépő szekunderlumineszcencia hatás itt is jelentős, ezért a $\gamma_{\max} < 3$ - az alkalmazott nagy koncentrációk mellett - nem teljesült, így a mért adatokat nem korrigáltuk. Méréseinket több különböző rétegvastagságu küvettával végeztük, az adatokat a 3.VII. táblázatban gyűjtöttük össze. A mért τ' csillapodási idő változását a koncentráció függvényében a 3.12. ábra mutatja. A görbék kisebb

$\frac{C}{M} / \frac{l}{mm}$	0,5	0,1	0,05
$5 \cdot 10^{-5}$	4,62	-	-
10^{-4}	5,34	4,39	-
$2 \cdot 10^{-4}$	5,90	5,05	4,1
$5 \cdot 10^{-4}$	6,5	5,9	5,12
10^{-3}	-	6,45	5,8
$2 \cdot 10^{-3}$	7,1	6,54	6,1
$5 \cdot 10^{-3}$	6,21	5,98	5,53
10^{-2}	5,5	4,9	4,77



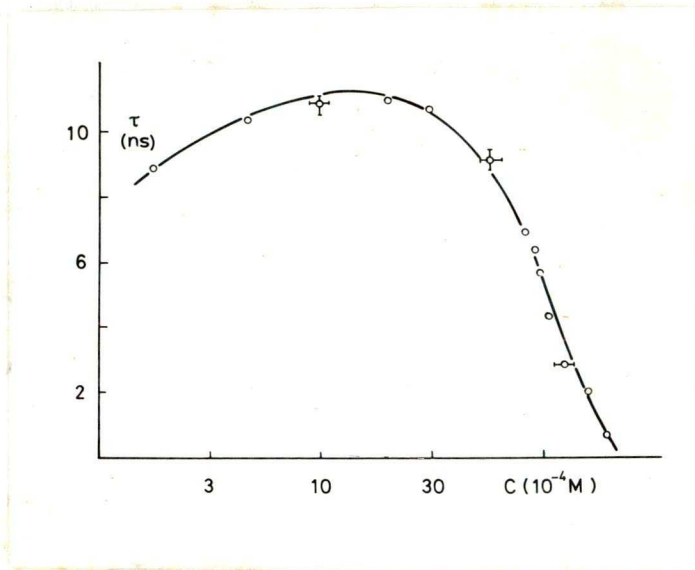
3. VII. táblázat

3.12. ábra

koncentrációértékekhez tartozó kezdeti szakaszán τ' a réteg vastagságtól függő mértékben nő, majd meghatározott koncentrációértéknél erősen csökkenni kezd, ami a koncentrációs kioltással értelmezhető. A kioltásra jellemző C_0 küszöbkonzentráció értéke, amit a 3.12. ábra alapján grafikus uton állapított-

tuk meg, $C_0 = 3 \cdot 10^{-3}$ M-nak adódott, az ebből meghatározható R_0 kritikus távolság pedig $R_0 = 50 \text{ \AA}$ -nek.

A csillapodási idő hasonló menetét figyelte meg számos kutató a koncentráció növekedésével [42],[21]. Összehasonlításként Selanger és munkatársai által 1977-ben közölt eredményeiket közöljük a 3.12.b. ábrán.



3.12.b. ábra

A mérések szintén metanolban oldott rodamin 6G oldatra vonatkoznak, a mérésekre használt kuvetta vastagságát nem közlik. /Feltehetőleg 1 cm, a nagyobb abszolút értékű csillapodási idők ennek tulajdoníthatók/.

3.2.4. A szekunderlumineszcencia csillapodási időre gyakorolt hatásáról

A 3.IV. táblázatban közvetlenül mért csillapodási időket hasonlítottuk össze. Mint megállapítottuk, az azonos körülmények közt mért eredmények jó egyezést mutatnak. Azonban, ha

egyazon anyaghoz tartozó, de különböző koncentráció, vagy rétegvastagság mellett mért τ' -ket vizsgáljuk, nagyon eltérő értékeket találtunk. /pl. rodamin 6G/ Az oldatra valóban jellemző csillapodási időt a szekunderlumineszcencia figyelembe vételével kapjuk /1. 1.4. pont/. A fázisfluoriméteren mért eredmények kiértékeléséhez egzakt korrekciós eljárás áll rendelkezésünkre, amit stacionárius gerjesztés feltételezésével dolgoztak ki.

A szekunderlumineszcenciaelméletéből ismeretes, hogy a τ valódi csillapodási idő $\gamma_{max} = 2,3 \cdot C \cdot \epsilon (\lambda)_{max} l = 0$ határesetnél adódna. Mivel γ_{max} adott anyag esetén a C koncentrációtól és az l rétegvastagságtól függ, 14 különböző koncentrációju oldatot vizsgáltunk meg, a méréseket 8 különböző rétegvastagságu küvétával végeztük el. A C , l és γ függvényében ábrázolt csillapodási idő görbékből grafikus uton extrapolálva becsültük meg a valódi értéket.

Méréseinkhez rodamin 6G metanolos oldatát használtuk, a mért csillapodási idő értékeket a 3.VIII. táblázatban adjuk meg. A táblázat első sorában az l rétegvastagság, első oszlopában a rodamin 6G koncentrációja szerepel, a τ -kat tartalmazó négy-szögek jobb alsó sarkában pedig a hozzájuk tartozó γ_{max} értékeket tüntettük fel. Vastag vonallal kiemeltük a táblázat azon részét, ahol a $\gamma_{max} < 3$ feltétel teljesül. A κ korrekcióban lényeges szerepet játszó α , β és m mennyiségekre a mérés során a következők teljesültek:

- az $\alpha = 2,3 \cdot \epsilon (\lambda_{gerj}) C l$ /ahol $\lambda_g = 337 \text{ nm}$ / értéke a maximális optikai sűrűségnek 7 %-a volt: $\alpha = 0,07 \gamma_{max}$.

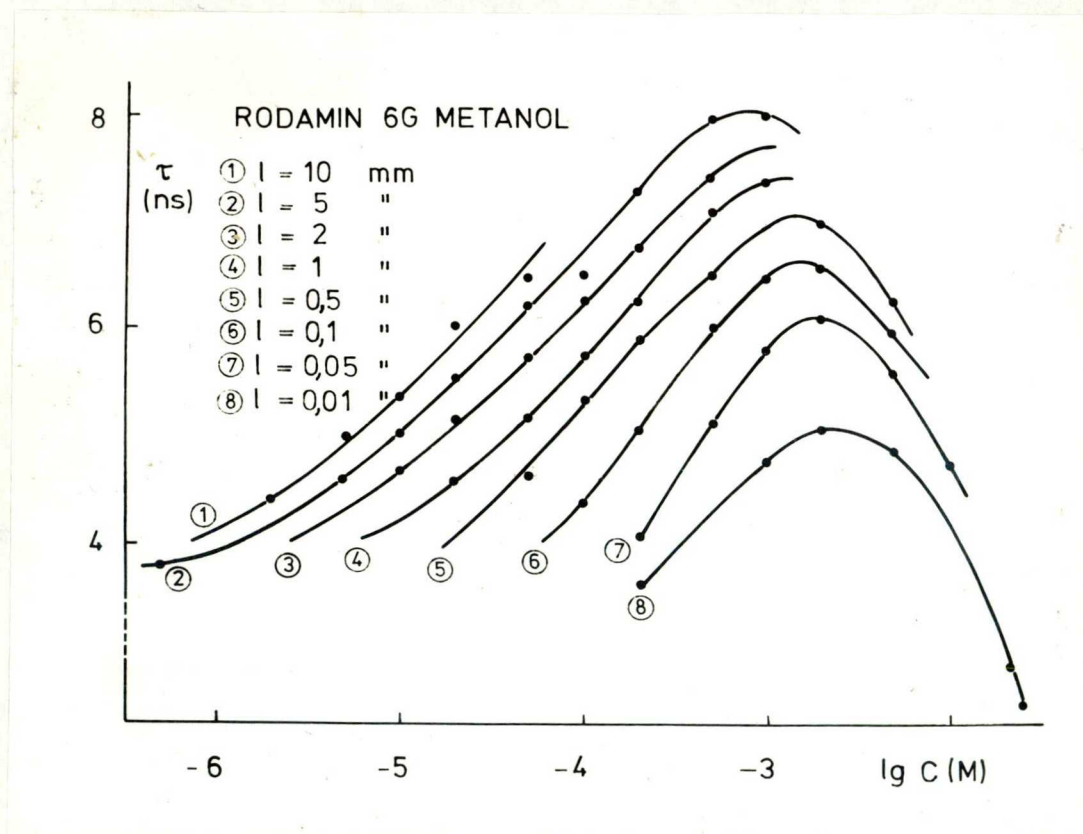
τ /ns/									τ korr. /ns/
1 /mm/	10	5	2	1	5×10^{-1}	10^{-1}	5×10^{-2}	10^{-2}	
$m=R/l$	0,5	1,0	2,5	5,0	10	50	100	500	
C /M/									
5×10^{-7}	3,8 0,11								
2×10^{-6}	4,3 0,45	4,1 0,23							
5×10^{-6}	5,0 1,15	4,6 0,6							
1×10^{-5}	5,35 2,3	5,0 1,15	4,65 0,45	4,4 0,23					4,3
2×10^{-5}	6,0 4,5	5,55 2,3	5,1 0,9	4,55 0,45					4,35
5×10^{-5}	6,45 11,5	6,2 5,75	5,7 2,3	5,1 1,15	4,7 0,6				4,24
1×10^{-4}		6,5 11,5	6,3 4,5	5,7 2,3	5,35 1,15	4,6 0,23			4,01
2×10^{-4}		7,3 23,0	6,7 9,0	6,3 4,5	5,9 2,3	5,0 0,45	4,6 0,23		4,03
5×10^{-4}		8,0	7,4 23,0	7,1 11,5	6,45 5,75	5,8 1,15	5,1 0,6		4,17
1×10^{-3}			7,65	7,4 23,0	7,0 11,5	6,5 2,3	5,8 1,15	4,7 0,23	4,09
2×10^{-3}					7,0 23,0	6,55 4,5	6,1 2,3	5,05 0,45	
5×10^{-3}					6,25	6,0 11,5	5,6 5,75	4,9 1,15	
1×10^{-2}							4,7 11,5	4,4 2,3	

3. VIII. táblázat



- $\beta = 2,3 \cdot \varepsilon(\lambda') \cdot c l$ /ahol λ' a megfigyelés hullámhossza/, az abszorpciós spektrum maximumánál számított értékkel egyenlő $\beta_{max} = \gamma_{max}$ /, mert a teljes fluoreszcencia-spektrum megfigyelésre került és az abszorpciós spektrum maximuma az anti-stokesi tartományba esik /ami a κ -korrekciót jóval bonyolultabbá teszi/.

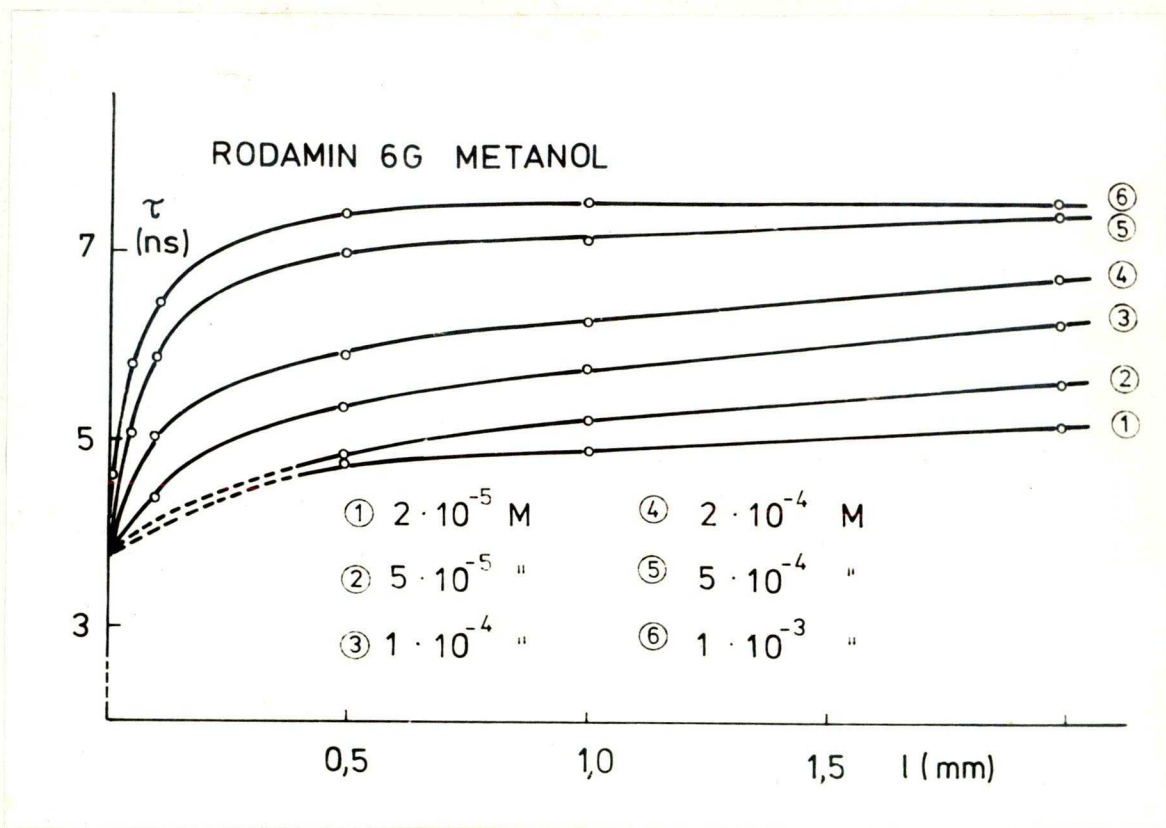
A koncentráció logaritmusának függvényében ábrázolt csillapodási időértékek a 3.13. ábrán láthatók, az egyes görbék kü-



3.13. ábra

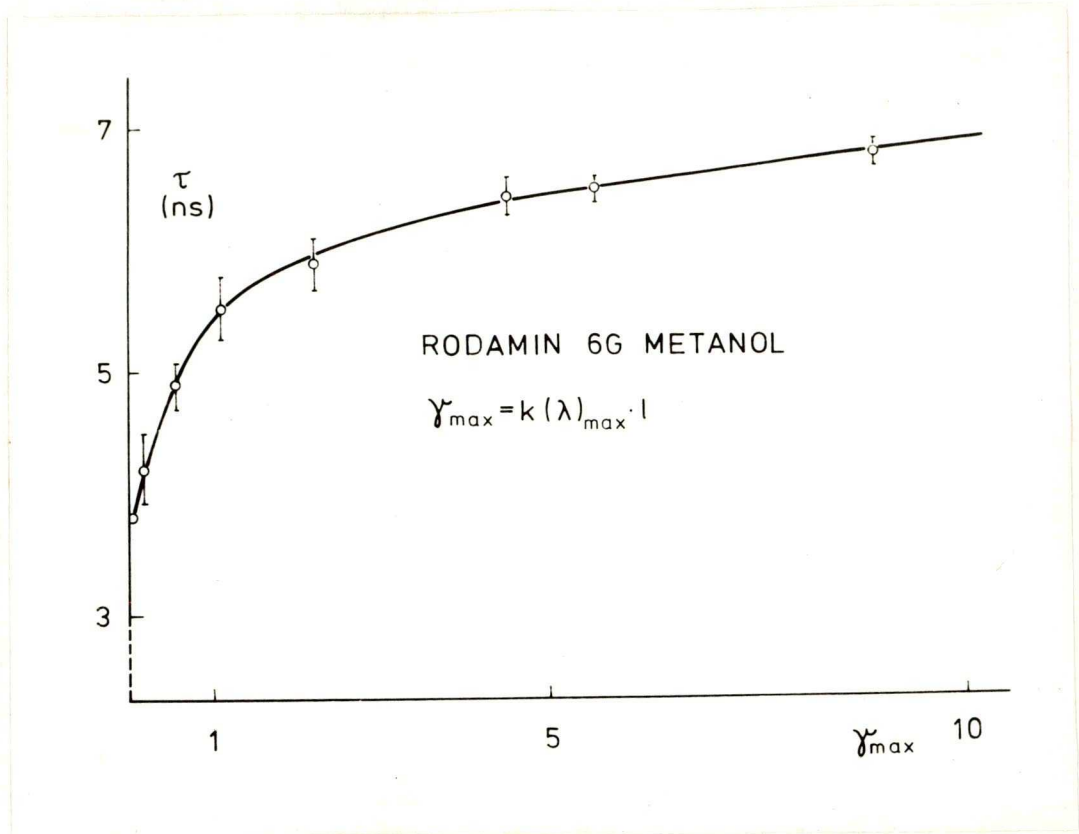
lönböző rétegvastagsághoz tartoznak. A τ' -értékek 4,1 - 4,5 ns-től fokozatosan növekednek a kb. 5 - 8 ns-os maximumig / $\sim 2 \cdot 10^{-3}$ M/, majd a koncentrációs kioltás miatt csökkennek. A görbék kisebb koncentrációkhoz tartozó, "ellaposodó" szakaszát a kis fényin-

tenzitás miatt már nem tudtuk kimérni. A csillapodási idő l rétegvastagságtól való függését a 3.14. ábra mutatja az egyes



3.14. ábra

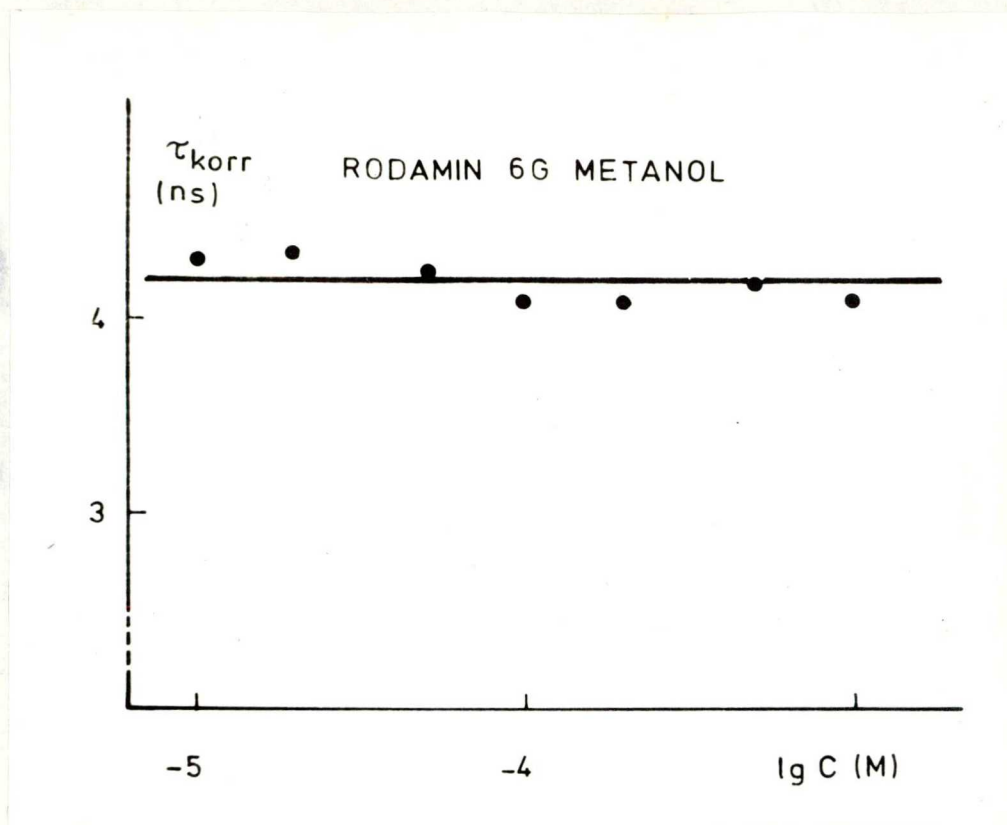
koncentrációk esetén. Mint látható, a τ' értékek csökkennek, ha a rétegvastagság 0-hoz tart, és a görbék ugyanahhoz a 4 ns körüli értékhez tartanak. A koncentráció és a rétegvastagság τ -ra gyakorolt együttes hatásának szemléltetésére a 3.15. ábrán a közvetlenül mért csillapodási időket a $\gamma_{max} / = 2,3 \cdot e^{(\gamma_{max})} \cdot C \cdot l /$ függvényeként mutatjuk be. Az ábrán jól látható, hogy a görbe $\gamma_{max} \rightarrow 0 / C \rightarrow 0$, vagy $l \rightarrow 0$ esetben 4 ns-körüli értékhez tart, azaz a valódi csillapodási idő várhatóan 4 ns. Látható, hogy amennyiben $\gamma_{max} < 0,5$ és $m < 5$ feltételek teljesülnek, a τ' értékek 4 - 5 %-nál jobban nem térnek el a valódi értéktől és ez az



3.15. ábra

érték a berendezés kísérleti hibájának felel meg. Megvizsgáltuk az 1.4. pontban leírt hárompontos módszer alkalmazhatóságát az impulzusfluoriméteren kapott eredmények korrekciójához, a korrigált értéket τ_{kor} szintén a 3.VIII. táblázatban tüntetjük fel. A számítást a $\gamma_{\max} < 3$ feltételnek elegettevő csillapodási időértékkel végeztük, amelynek eredményeként a 3.13. ábra kezdeti, növekvő szakasza helyett a különböző koncentrációknál, gyakorlatilag azonos, 4,17 ns-os értéket kapunk./3.16. ábra/

A többszörös összehasonlíthatóság érdekében néhány koncentráció esetén fázisfluoriméterrel is megmértük a rodamin 6G csillapodási idejét, és számítottuk a valódi τ -t.

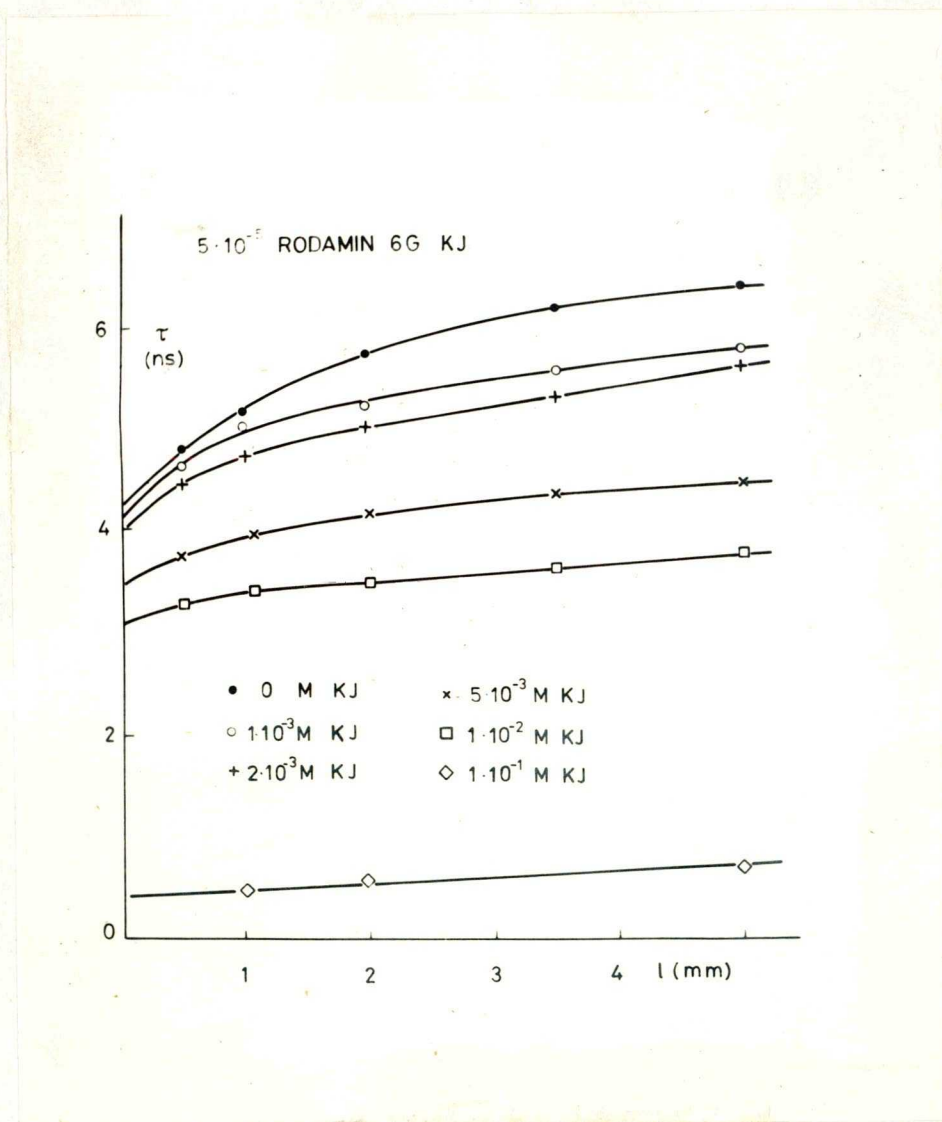


3.16. ábra

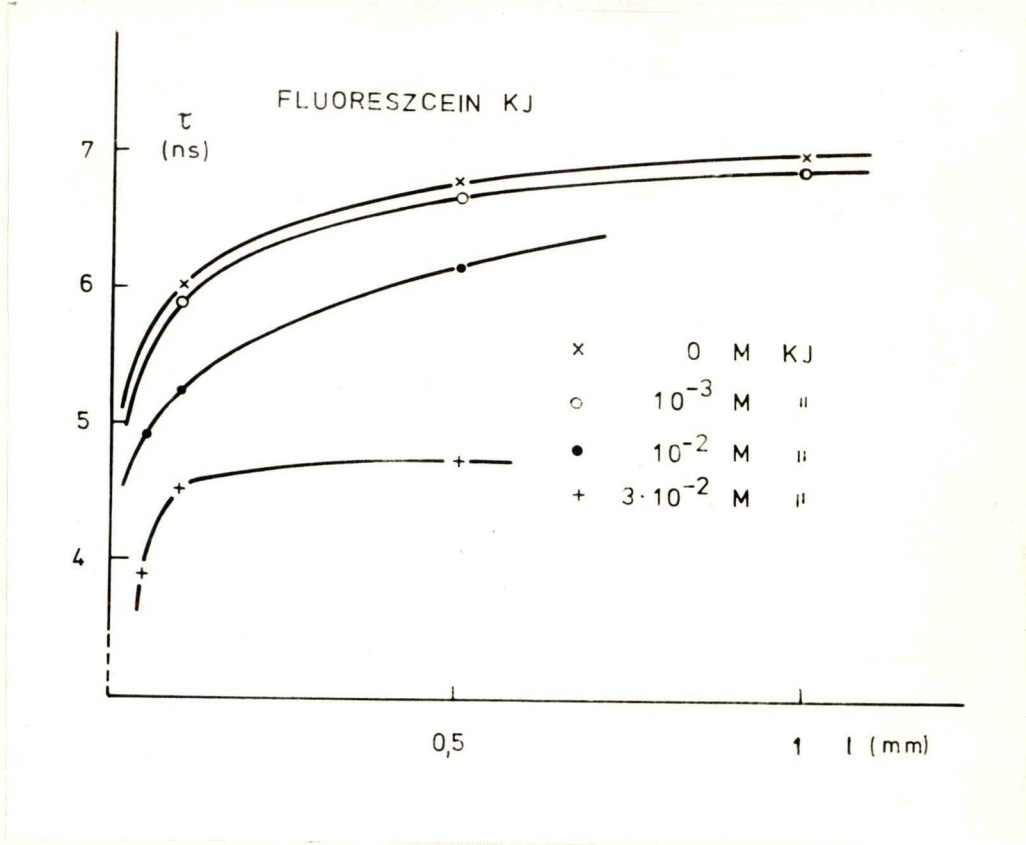
A 3.IX. táblázat ezeket az adatokat foglalja össze, ahol a gerjesztés hullámhosszát a megfigyelésnél alkalmazott szűrőtípusát is feltüntettük. A valódi csillapodási idő $\tau = 3,87$ ns-nak adódott. Figyelembe véve, hogy a fluorimétereken mért adatok pontossága $\pm 5\%$, azt mondhatjuk, hogy a fenti korrekció megközelítőleg jó eredményt ad, mivel azonban az impulzus fluoriméternél nem tudtuk betartani a korrekció megbízható alkalmazhatóságához tett szigorú gerjesztési és megfigyelési feltételeket, a megfelelő korrekcióra vonatkozó számítások további munkát igényelnek.

A 3.14. ábrához hasonlóan a szekunder-lumineszcencia miatt rétegvastagság-függést mutat a τ' mért csillapodási idő a káli-

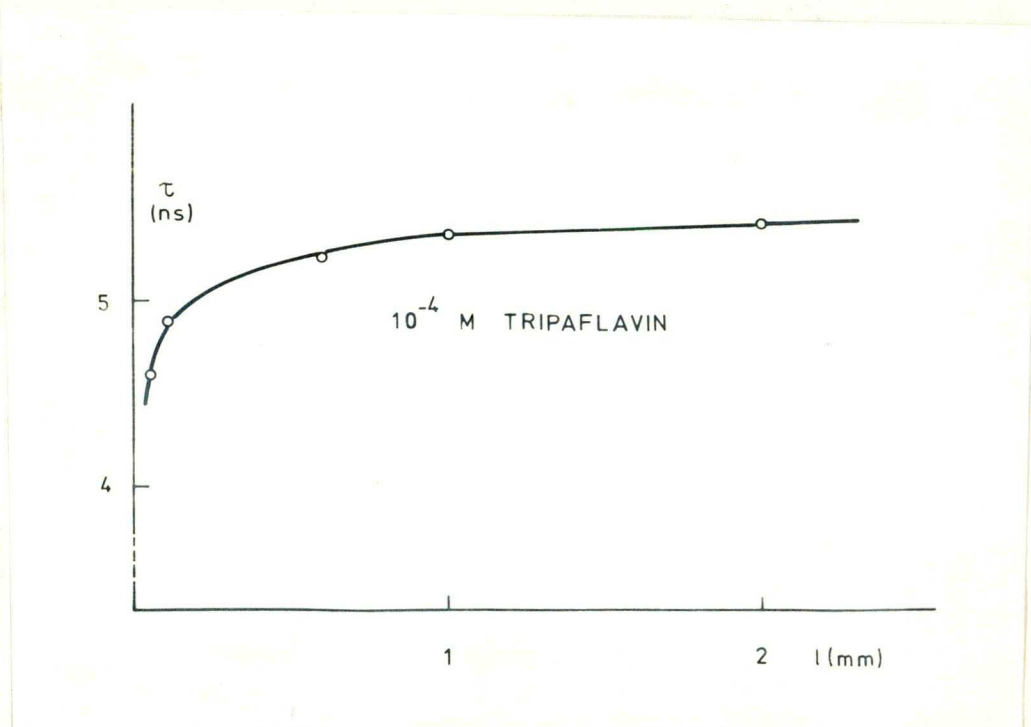
umjodiddal különböző mértékben kioltott fluoreszcein, 3.17. ábra, és rodamin 6G, 3.18. ábra, valamint tripaflavin, 3.19. ábra esetén is.



3.17. ábra



3.18. ábra



3.19. ábra

C /M/	Rétegv. /nm/	λ_g /nm/	Szűrő	ΔL /nm/	τ' /ns/	τ /ns/	$\bar{\tau}$ /ns/		
5×10^{-5}	5	535	OG-3	79,4	5,52	3,85	3,87		
	2			71,57	4,94				
	1			65,89	4,52				
1×10^{-4}	2	535	OG-3	72,37	4,99	3,91		3,87	
	1			70,38	4,85				
	0,5			65,58	4,5				
5×10^{-4}	0,5	535	OG-3	85,31	5,98	3,84			3,87
	0,2			73,12	5,06				
	0,1			66,28	4,55				

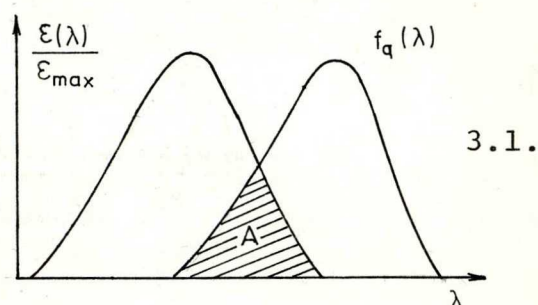
3. IX. táblázat

festék neve	oldószer	jele	C M	B	Q	$\chi_{\max}$ l /cm ⁻¹ /
fluoreszcein	10^{-2} NaOH+H ₂ O	□	$2 \cdot 10^{-3}$	0,18	0,92	
rodamin 6G	MetOH	0	$1 \cdot 10^{-4}$	0,23	0,91	22,7
tripaflavin			$1 \cdot 10^{-4}$	0,15	0,64	13,3
rodulin oran- ge	EtOH	+	$1 \cdot 10^{-4}$	0,15	0,44	8,6
proflavin szulfát	EtOH	X	$1 \cdot 10^{-4}$	0,09	0,60	19,2

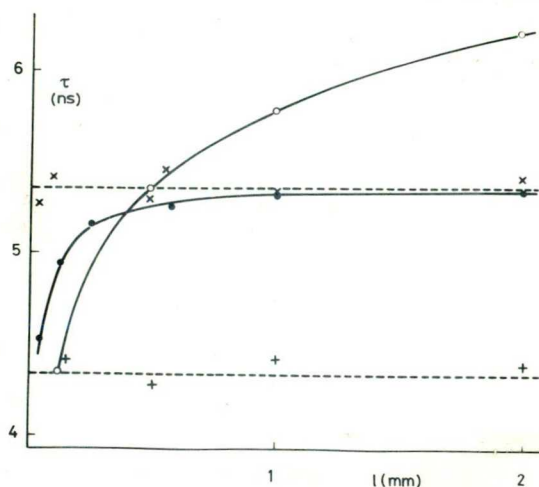
3. X. táblázat

Végül annak a régóta jól ismert ténynek a bizonyítására közlünk néhány további adatot, hogy τ' a fentieken kívül más paraméterektől, /pl. a hatásfoktól és az abszorpciós és az emissziós szinképek átfedésének mértékétől is függ. A 3.X. táblázatban feltüntettük az oldatok Q abszolút kvantumhatásfokát, valamint az átfedésre jellemző B értéket is, melyet a következőképpen értelmezünk:

$$B = \frac{A}{\int_0^{\infty} f_q(\lambda) d\lambda}, \text{ ahol } A:$$



A rodamin 6G, fluoreszcein és tripaflavin mellé olyan anyagok csillapodási idejét is megmértük, melyre a hatásfok és vagy a B értéke jóval kisebb. Ilyen szempontból választottuk a proflavin-szulfát és rodulin orange festékeket, melyeknek τ' csillapodási ideje a mérési hibán belüli szórást mutat csak. Mig a nagy hatásfoku és B-jü 1-3 anyagok csillapodási ideje az λ csökkenésével szisztematikusan csökken, 4 és 5 esetén csak mérési hibán belüli szórást tapasztalunk, /3.20. ábra/.



3.20. ábra



Összefoglalás

A dolgozatban leírt eredményeinket a következőkben foglalhatjuk össze:

Részletes tervező munka után megépítettünk intézetünkben egy impulzus fluorimétert, mely az egyes impulzus elvén működik. Legfontosabb egységei hazai, illetve szocialista kereskedelembe beszerezhetők, felépítése egyszerű, így megépítésre javasolható azon hazai kutatólaboratóriumokban, ahol csillapodási idő mérése van szükség. A berendezés újabb egységek beszerzésével könnyen továbbfejleszthető.

A mérés gyors, a kiértékelés folyamata programozható. 3 ns-nál rövidebb csillapodási idők esetén a mérés-kiértékelés a dekonvolválás, sokak által vizsgált problémáját veti fel. A disszertációban megadjuk a dekonvolúciós probléma megoldására javasolt eljárások kritikai áttekintését, különös tekintettel az általunk is alkalmazott módszerekre. Az utóbbiak közül háromhoz kiértékelő programot is készítettünk.

A kiértékelésre alkalmas eljárás birtokában hitelesítettük a megépített impulzusfluorimétert. A hitelesítő vizsgálatok alapján megállapíthatjuk, hogy az irodalomban standardnak elfogadott anyagok általunk mért csillapodási ideje jól egyezik az irodalomban közölt, valamint a kioltási elmélet alapján számolt értékekkel. A berendezés 0,3 ns-nál hosszabb csillapodási idők mérése alkalmas, pontossága $\pm 5\%$ -os.

Megvizsgáltunk néhány ismert fizikai jelenséget /koncentrációs és idegen anyaggal történő kioltást/, amelyek módot adtak néhány molekuláris paraméter kiszámítására. Ezeknek az irodalomban közölt értékekkel való jó egyezése újabb bizonyíték impulzusfluoriméterünk alkalmazhatósága mellett.

Végül méréseket végeztünk a szekunder lumineszcencia csillapodási időre gyakorolt hatásának tanulmányozására. A korábbi tapasztalatokhoz hasonlóan megállapíthatjuk, hogy a szekunder lumineszcencia hatása a mért csillapodási idő 100 %-al is nagyobb lehet a valódinál. E hatás figyelmen kívül hagyása eredményezi elsősorban azt a tényt, hogy nincsenek ún. "irodalmi adatok" az egyes anyagok csillapodási idejére nézve. A szekunder lumineszcencia hatásának számítással való figyelembevételére precíz korrekciós eljárást dolgoztak ki.[30], melynek szélesebb körű propagálásával és számítógépre vitelével a fenti sajnálatos helyzeten javítani lehetne.

Megvizsgáltuk, hogy a fázisfluoriméterre kidolgozott korrekciós eljárás alkalmazható-e impulzusfluoriméter esetén. Eredményeink azt mutatták, hogy a fázisfluoriméter kísérleti feltételére kidolgozott módszer alkalmazható, de a megváltozott mérési körülmények miatt pontossága nem kielégítő.

Mérési eredményeink bizonyítják, hogy az általunk megépített impulzusfluoriméter további csillapodási idővel kapcsolatos fizikai problémák vizsgálatára alkalmas.

Irodalomjegyzék

- [1] Chen, R. F.: Biochem. Fl. Concepts, ed by /Marcell Dekker/
1 /1975/ 2 /1976/
- [2] Hauser, M., R. Frey, Klein: Acta Phys. and Chem., 23, 21
/1977/
- [3] Selanger, K. A., J. Falness and T. Sikkeland: J. of Che-
mistry, 81, 1960 /1977/
- [4] Lin, C., and A. Dienes: J. Appl. Phys., 44, 5050 /1973/
- [5] Ljovsin, V. L.: Folyékony és szilárd anyagok fotoluminesz-
cenciája, Akadémiai Kiadó Budapest, 1956.
- [6] Blochincev, B. J.: J. Physics U.S.S.R., 1, 127 /1939/
- [7] Ketskeméty, I.: Doktori értekezés Szeged, 1963.
- [8] Lippset, F. R.: The quantum efficiency of luminescence
Progressin Dielektrics vol 7 , Iliffe Books Lid London.,
- [9] Förster, Th.: Fluoreszenze Organischer Verbindungen, Van-
denhoek an Ruprecht, Göttingen, 1951.
- [10] Ljovsin, V. L.: Opt. i. Spektr., 11, 362 /1961/
- [11] Strickler, S. J. and R. A. Berg: J. Chem. Phys., 37, 814
/1962/
- [12] Birks, J. B. and D. J. Dyson: Proc. Roy. Soc., A275, 135
/1963/
- [13] Hámori, I.: egyetemi doktori disszertáció, Szeged, előké-
születben.
- [14] Dalle, J. P., B. Rosenberg: Photochem. Photobiol., 12,
151 /1970/
- [15] Birks, J., and D. J. S. Birch: Chem. Phys. Letters, 31,
608 /1974 /
Theiss, F. J., and J. Weber: Opt. Comm., 12, 368 /1974/

- [16] Hotchandani, S., P. Paquin, R. M. Leblan: J. of Luminescence, 20, 59 /1979/
- [17] Nyeporent, B. Sz.: Izv. AN SzSzsZR, 22, 1372 /1958/
- [18] Aljencev, M. N.: Optika i Spektr., 4, 690 /1958/
- [19] Szalay, L., J. Hevesi, L. Kozma: Magyar Fizikai Folyóirat, XIII.2, 157 /1965/
- [20] Jablonski, A., W. Szymanovszki: Nature, 135, 582 /1935/
- [21] Gáti, L.: Kandidátusi értekezés, Szeged, 1968.
- [22] Shinitzky, M.: J. of Chem. Phys., 56, 12 /1972/
- [23] Sadkowski, P. J., G. R. Fleming: Chem. Phys. Lett., 57, 526 /1978/
- [24] Lessing, H. E., A. von Jena, M. Reichter: Chem. Phys. Lett., 36, 517 /1975/
- [25] Constanciel, R., and O. Tapia: Theoret. Chem. Acta, 48, 76 /1978/
- [26] Lin, C., and A. Dienes: J. Appl. Phys., 44, 5050 /1973/
- [27] Szevcsenko, A. N., L. G. Pikulik, M. Ja. Kosztka: Dokl. Akad. Nauk. SzSzsZR, 162, 57 /1965/
- [28] Müller, A., R. Lumsy, H. Kokobun: Rev. Sci. Instr., 36, 1214 /1965/
- [29] Bakhsiev, N. G., Ju. T. Mazurenko: Opt. i Szpektr., 21, 550 /1966/
- [30] Budó, Á.: Magyar Fizikai Folyóirat, 9, 269 /1961/
Budó, Á., I. Ketskeméty: J. Chem. Phys., 25, 595 /1956/
Acta Phys. Hung., 7, 207 /1967/
Budó, Á., L. Szalay: Z. Naturforsch. 18a, 90 /1963/
- [31] Birks, J. B.: Photophysics of Aromatic Molecules, Wiley Interscience London, 1970.

- [32] Hammond, P. R.: J. Chem. Phys., 70, 3884 /1979/
- [33] Dusinszkij, F. A.: DAN SzSzSzR, 14, 73 /1937/
- [34] Menzel, E. R., Z. D. Popovic: Rev. Sci. Instr., 49, 39 /1978/
- [35] Hause, M., H. P. Haar: Rev. Sci. Instr., 49, 632 /1978/
- [36] Carbone, R. J., P. R. Longaker: Appl. Phys. Lett., 4, /1964/
- [37] Lopez-Delgado, R.: Opt. Commun., 27, 195 /1978/
- [38] Lindovits, L., et al: Opt. Commun., 10, 283 /1974/
- [39] Birks, J., D. J. Dyson: J. Sci. Instr., 38, 282 /1961/
- [40] Ware, W. R.: Creation and Detection of the Excited State
/Edited by Angelo A. Lamola, Marcel Dekker INC. NY./ /1971/
- [41] Kramer, K.: Z. Naturforsch., 22a, 1108 /1967/
- [42] Selanger, K. A.: The Journal of Phys. Chem., 81, 1960 /1977/
- [43] Cirkel, H. J., R. Ringvelski, F. P. Schäfer: Zeitschrift für
Physikalische Chemie Neue Folge, 81, 158 /1972/
- [44] Mack, M. E.: J. Appl. Phys., 39, 2483 /1968/
- [45] Alfano, R. R., S. L. Shapiro: W. YU Opt. Commun., 7, 191
- [46] Knof, J., F. J. Theiss and J. Weber: Z. Naturforsch., 33a,
98 /1978/
- [47] Pellegino, W. YU. F., M. Grant, R. R. Alfano: J. of Chem.
Phys., 67, 1766 /1977/
- [48] Benett, R. G.: Rev. Sci. Instr., 31, 1275 /1960/
- [49] Hundley, L., T. Coburn, E. Garvin and L. Stryer: Rev. Sci.
Instr., 38, 488 /1957/
- [50] Steingrater, O. J., and J. B. Berlman: Rev. Sci. Instr.,
34, 524 /1963/
- [51] Koester, V. J., R. M. Dowben: Rev. Sci, Instr., 49, 1186
/1978/

- [52] Nelson, R. J.: Rev. Sci. Instr., 49, 770 /1978/
- [53] Hieftje, G. M., G. R. Hangen and J. M. Ramsey: Appl. Phys. Lett., 30, 463 /1977/
- [54] Dorsey, C. C., M. J. Pelletier and J. M. Harris: Rev. Sci. Instr., 50 333 /1979/
- [55] Caates, P. B.: J. Phys. E. Sci. Instr., 5, 148 /1972/
- [56] Davis, C. C., and T. A. King: J. Phys. E. Sci. Instr., 5, 1072 /1972/
- [57] Sánta, I., B. Rácz, L. Kozma, B. Német: Acta Phys. et Chem., Szeged, 24, 395 /1978/
- [58] Szőke, J.: KFKI Közlemények, Budapest, 1978-66
- [59] Heiss, A.: Doktori disszertáció, München, 1972.
- [60] Grünwald, A., I. Z. Steinberg: Analytical Biochem., 59, 583 /1974/
- [61] O'Connor, D. V., W. R. Ware: J. of Phys. Chem., 83, 1333 /1979/
- [62] Szőke, J., E. Láng: KFKI Közlemények, Budapest, 1979-12
- [63] Isenberg, I., R. D. Dyson: Biophys. Journal., 9, 1337 /1969/
- [64] Isenberg, I.: J. of Chem. Phys., 59, 5696 /1973/
- [65] Isenberg, I.: J. of Chem. Phys., 59, 5708 /1973/
- [66] Valeur, B., J. Ploirez: J. de Chimie Physique, 70, 500 /1973/
- [67] Helman, W. P.: Phys. Chem., 3, 283 /1971/
- [68] Gafni, A., R. L. Modlin, and L. Brand: Biophys., 15, 263 /1975/
- [69] Ware, W. R., L. J. Doemeny, F. L. Newrek: J. Phys. Chem., 77, 2038 /1973/
- [70] Atkinson, J. B.: J. of Physics E: Scientific Instruments, 10, 482 /1977/

- [71] Lo, C. C., B. Leskova, P. R. Harbig and K. Sauer: Rev. Sci. Instr., 47, 1113, 1122 /1976/
- [72] Spears, K. G.: Laser Focus, 2, 96 /1978/
- [73] Stadelmann, H. R.: J. of Luminescence, 3, 143 /1970/
- [74] Bachrach, R. Z.: Rev. Sci. Instr., 43, 734 /1972/
- [75] Wild, P., A. R. Holzwarth and H. P. Good: Rev. Sci. Instr., 48, 1621 /1977/
- [76] Chen, R. F.: Analitical Biochemistry 57, 593 /1974/
- [77] Varga, E.: Phys. et Che., 24, 423 /1978/
- [78] Birks, J. B.: J. of Research of the National Burean of Standards - A.Phys. and Clum., 80A, /1976/
- [79] Dawson, W. R., and M. W. Windsor: J. Phys. Chem., 72, 3251/1968/
- [80] Chen, R. F.: J. Res. Nat. Bur. of Stand. Sect., A76, 593 /1972/
- [81] Yguerabide, J.: Methods Enzymol., 26, 498 /1972/
- [82] Weber, G.: Methods Enzymol, 16, 393 /1969/
- [83] Berlman, I. B.: Handbook of Fluorescence Spectra of Aromatic Molecules /Academia, NY. 1971/ 411
- [84] Ware, W. R., B. A. Baldwin: J. of Chem. Phys., 40, 1703 /1963/
- [85] Harris, J. M., F. E. Lyttle: Rec. Sci. Instr., 48, 1469 /1977/
- [86] Landolt-Börnstein: Zahlenwerter und Funktionen Band B. Springer-Verlag Berlin 1967

E doktori disszertáció a József Attila Tudományegyeteme
Kísérleti Fizikai Intézetében működő Lumineszcencia és Fél-
vezető Tanszéki Kutatócsoportban készült.

Ezen a helyen szeretném megköszönni dr. Ketskeméty István
egyetemi tanárnak, a fizikai tudományok doktorának, hogy a disz-
szertáció elkészítését az Intézetben lehetővé tette, valamint
munkám iránt tanusított érdeklődését.

Köszönettel tartozom dr. Kozma László docensnek, a fizikai
tudományok doktorának, dr. Német Béla és dr. Varju Károlyné ad-
junktusoknak a felmerült kísérleti problémák megoldása és az
értekezés összeállítása során nyújtott állandó és készséges se-
gítségükért, irányító észrevételeikért.

Külön megköszönöm a disszertáció technikai kivitelezése so-
rán közreműködők gondos, fáradságos munkáját.