

József Attila Tudományegyetem Kísérleti Fizikai Intézete

SZERVES FESTÉKOLDATOK FOTOLUMINESZCENCIÁJÁNAK

CSILLAPODÁSI IDEJÉRŐL

Egyetemi doktori disszertáció

Szalma István

tudományos munkatárs

**1968
Szeged**



Diss. B 551



Tartalomjegyzék

	Oldal
I. <u>Bevezetés</u>	1
II. <u>A fluoreszcencia csillapodási ideje</u>	5
1. A csillapodási idő definíciói	5
2. A csillapodási idő és a többi fluoreszcencia- jellemző közötti összefüggések	7
III. <u>A szekunderlumineszcenciás korrekció</u>	14
1. A κ -számítás	14
2. A szekunderlumineszcenciának a csillapodási időre gyakorolt hatása	17
IV. <u>Fluorométerek</u>	20
1. Mérési nehézségek	20
2. Történeti, ill. működési elv szerinti át- tekintés	21
V. <u>Az általunk megépített τ-mérő</u>	36
1. A kiválasztás szempontjai	36
2. A készülék felépítése, működése	37
3. A készülék teljesítőképessége, alkalmazásá- nak korlátai	46
VI. <u>Vizsgálatok, hitelesítő mérések fluorométerünkön</u>	49
1. Moduláció-mélység mérés	49
2. Szórt fény korrekció	51
3. A készülék erősítőinek hitelesítése	52
4. Egyéb hatások figyelembevétele	53

VII. <u>Praktikus korrekciós eljárás a szekunderlumineszcencia csillapodási időre gyakorolt hatásának figyelembevételére</u>	55
VIII. <u>Kísérleti vizsgálatok, mérési eredmények</u>	59
1. A vizsgált oldatok kiválasztásának szempontjai	59
2. Ellenőrző mérések a hőmérsékletre és a megfigyelési hullámhosszra vonatkozóan	60
3. A szekunderlumineszcencia hatása a csillapodási időre ama oldatoknál, amelyeknél	
a) az emissziós és abszorpciós spektrumok nagymértékben átfedik egymást, és a kvantumhatásfok közel egységnyi;	62
b) a spektrumok közötti átfedés jelentős és a kvantumhatásfok egy-két tized;	76
c) csekély mértékű az abszorpciós és emissziós szinképek átfedése	77
4. Extrémálisan kicsiny koncentrációjú oldatok csillapodási idejének mérése	81
IX. <u>Összefoglalás</u>	85
Irodalomjegyzék	89

I. Bevezetés

1. A jelen disszertációban a fluoreszkáló oldatok τ csillapodási idejének vizsgálatával foglalkozunk. Rámutatunk a csillapodási idő meghatározásával kapcsolatos problémákra; röviden ismertetjük a τ és a többi fluoreszcencia-jellemző közötti összefüggéseket; áttekintjük a különböző csillapodásmérő készülékeket; részletesen beszámolunk a József Attila Tudományegyetem Kisérleti Fizikai Intézetében megépített fázisfluorométerről és az azzal végzett vizsgálatainkról. (A szerző dr. Gáti László adjunktus munkatársaként vett részt a készülék megalkotásában.)

Célul tűztük ki, hogy olyan mérési módszereket ellenőrizzünk, ill. dolgozzunk ki, amelyek elengedhetetlenül szükségesek minden további - a csillapodási idővel kapcsolatos - téma kísérleti vizsgálatához. Így számos konkrét példán keresztül igazoltuk a BUDÓ és SZALAY /1/ által megadott, a szekunderlumineszcenciára vonatkozó korrekciós eljárás helyességét; azután ismertetünk egy módszert, amelynek segítségével, a gyakorlatban jól teljesíthető feltételek esetén, viszonylag egyszerű módon nyerhetjük a valódi csillapodási időt; majd részletesebb taglalás nélkül közöljük extrémálisan kicsiny koncentrációju (10^{-8} mol/l, 10^{-9} mol/l) oldatokra vonatkozó mérési eredményeinket.

A téma tárgyalását indokolja az a tény, hogy eddig

hazánkban nem állt rendelkezésünkre készülék a csillapodási idő mérésére, ill. a különböző szerzők által mért csillapodási idők – ugyanazon oldatra vonatkozóan – igen nagy, gyakran 100 %-os szórást mutatnak, tehát kevésbé megbízhatók.

2. A fluoreszkáló oldatok fizikai törvényei az un. fluoreszcencia-jellemzők segítségével írhatók le. Ezek a következők: a) az abszorpció, b) az emissziós spektrum, c) a fluoreszcencia hatásfoka, d) a fluoreszcencia polarizációs foka, e) a fluoreszcencia csillapodási ideje. Tekintettel arra, hogy ezen mennyiségek, ill. függvények a disszertációban a későbbiek során többször szerepelnek, meghatározásukat /2/ alapján röviden megadjuk.

a) Az oldatok fényelnyelését a $k(\lambda)$ (ill. $k(\nu)$) abszorpciókoefficienssel jellemezzük. Ezt a mennyiséget úgy definiáljuk, hogy egy, az oldat belsejében haladó fénysugár, amelynek vákuumbeli hullámhossza λ , az igen kicsiny Δl szakaszon való áthaladás során eredeti intenzitásának $k(\lambda) \cdot \Delta l$ törtrészt veszíti el abszorpció következtében. Az abszorpció spektrum az abszorpció együtthatók összessége. A $k(\lambda)$ helyett gyakran célszerű a vele arányos $\epsilon(\lambda)$ függvényt, a moláris dekadikus extinkciókoefficienszt használni; a kettő közötti kapcsolat:

$$k(\lambda) = 2,3026 \cdot \epsilon(\lambda) \cdot c_M,$$

ahol c_M az oldat molkoncentrációját (mol/liter-ben) jelöli.

b) A fluoreszcencia-emisszió spektrális eloszlásá-

nak jellemzésére a gerjesztett oldat valamely igen kicsiny, de a látható fény hullámhossza körébenél jóval nagyobb ΔV térfogatu mennyiségből kisugárzott fluoreszcencia-teljesítmény normált $f_{e\lambda}(\lambda)$, ill. $f_{e\nu}(\nu)$ - a ΔV alakjától és nagyságától független - spektrális eloszlási függvényeit használjuk. A ΔV -ből kisugárzott fluoreszcencia kvantumáram normált $f_{q\lambda}(\lambda)$, ill. $f_{q\nu}(\nu)$ spektrális eloszlása is igen sokszor használatos a fluoreszcencia irodalmában; az $f_{e\lambda}(\lambda)$, $f_{e\nu}(\nu)$, $f_{q\nu}(\nu)$, $f_{q\lambda}(\lambda)$ függvények mindegyikét szokás - közös gyűjtőnéven - az oldat fluoreszcencia-spektrumának is nevezni. A normálási feltétel az, hogy az f -eknek az argumentumaik szerinti, az egész frekvencia-, ill. hullámhossztartományra kiterjesztett integrálja 1 kell hogy legyen. A definiált f -függvényeket, a közvetlenül mérhető külső fluoreszcencia-spektrumtól való megkülönböztetés végett, belső vagy valódi fluoreszcencia-spektrumnak is szoktuk nevezni.

c) Az oldat valamely ΔV térfogateleméből (l. fentebb) az időegység alatt a teljes térszögbe kisugárzott összes fluoreszcencia-kvantumok számának és a λ hullámhosszu (ill. $\nu = \frac{c}{\lambda}$ frekvenciájú) gerjesztő fényből a ΔV -ben az időegység alatt elnyelt kvantumok számának hányadosát az oldat fluoreszcencia kvantumhatásfokának, vagy röviden csak kvantumhatásfoknak nevezzük, és $\eta(\lambda)$ -val (ill. $\eta(\nu)$ -vel) jelöljük. Ha a kisugárzott, ill. elnyelt kvantumok száma helyett a definícióba a megfelelő kisugárzott, ill.

elnyelt energiát helyettesítjük, akkor az $\eta_e(\lambda)$ (vagy $\eta_e(\nu)$) energiahatásfok meghatározását kapjuk meg. A két mennyiség közötti kapcsolat: $\eta_e(\nu) = \eta(\nu) \frac{\bar{\nu}}{\nu}$, ahol $\bar{\nu} = \int_0^\infty f_{q\nu}(\nu) \nu d\nu$. Az $\eta(\nu)$ hatásfokot a különböző relatív hatásfokoktól való megkülönböztetés végett gyakran abszolút kvantumhatásfoknak is nevezik.

d) A fluoreszcenciafénynek a λ, λ' értékpárhoz (ahol λ a gerjesztés, λ' a megfigyelés hullámhosszát jelöli) tartozó $p(\lambda, \lambda')$ polarizációs fokát (amelyet általában csak p-vel szoktunk jelölni) a következőképpen definiáljuk. Helyezkedjék el a T hőmérsékletű oldatnak a ΔV téglatest alakú térfogatelemet kitöltő része egy OXYZ koordináta-rendszerben úgy, hogy ΔV tartalmazza O-t, és ΔV élei legyenek párhuzamosak a koordinátatengelyekkel, ill. merőlegesek azokra. Sugározzuk be ΔV -t monokromatikus, lineárisan poláros sugarakkal úgy, hogy utóbbi elektromos vektora (ϵ) az X-tengellyel párhuzamosan rezegjen. A Z-tengely irányában emittált szűk, λ' hullámhosszu fluoreszcencia fénynyalábot vizsgáljuk nikolon keresztül, s jelöljük I_1 -gyel, ill. I_2 -vel a nyaláb ama részének intenzitását, amelynek elektromos vektora az X-, ill. Y-tengellyel párhuzamosan rezeg. Az I_1 és I_2 felhasználásával:

$$p(\lambda, \lambda') = \frac{I_1 - I_2}{I_1 + I_2}$$

e) A fluoreszcencia csillapodási idejének meghatározásával a következő fejezetben részletesebben foglalkozunk.

II. A fluoreszcencia csillapodási ideje

1. A csillapodási idő definíciói

A fluoreszcencia élettartamának a meghatározása a következő kérdések felvetésével kapcsolatos /3/.

a) Mi a fluoreszcencia átlagos élettartama: τ_1 ? (vagyis az az átlagos idő, amely alatt a gerjesztő energiának a lumineszkáló anyagban felhalmozott része lumineszcenciává alakul át)

b) Mi a gerjesztett állapot átlagos élettartama: τ_2 ?

c) Milyen τ_3 időintervallumban csökken a lumineszcencia intenzitása egy meghatározott törtrészre?

d) Milyen τ_4 időintervallumban csökken a gerjesztett centrumok száma egy meghatározott törtrészre?

e) Milyen τ_5 időintervallumban csökken egy meghatározott törtrészre a fluoreszkáló anyagban felhalmozott teljes lumineszcencia-energia.

A b) és d) kérdések elméleti, az a), c) és e) kérdések elsősorban gyakorlati szempontból fontosak. Általános esetben a fenti meghatározások különböző élettartam értékeket jelentenek. Az a) - e) definíciók így írhatók fel:

$$a) \quad \tau_1 = \frac{\int_0^{\infty} I(t) t dt}{\int_0^{\infty} I(t) dt}, \quad (2,1)$$

$$b) \quad \tau_2 = \frac{\int_0^{\infty} n'(t) t dt}{\int_0^{\infty} n'(t) dt}, \quad (2,2)$$

$$c) \quad \frac{I(\tau_2)}{I(0)} = A, \quad (2,3)$$

$$d) \quad \frac{n(\tau_4)}{n(0)} = B, \quad (2,4)$$

$$e) \quad \frac{\tau_5 \int_0^\infty I(t) dt}{\int_0^\infty I(t) dt} = C. \quad (2,5)$$

Ezekben a formulákban $I(t)$ a lumineszcencia intenzitását, $n'(t)$ a gerjesztett centrumok számát jelenti, A , B , C pedig állandók.

A szerves festékkoldatok fotolumineszcenciájának csillapodása többnyire exponenciális. (Ettől eltérő csillapodást találtak pl. idegen anyagokkal történő kioltáskor, koncentrációs kioltáskor, viszkózus oldatok lumineszcenciája, ill. keverékkoldatok lumineszcenciája esetén.) Exponenciális csillapodás esetén az ismertetett meghatározások indentikusak, a lumineszcencia élettartamának jellemzésére a τ_1 , τ_2 , τ_3 , τ_4 , τ_5 mennyiségek bármelyikét használhatjuk. Könnyen belátható ugyanis, hogy exponenciális csillapodás esetén $\tau_1 = \tau_2 = \tau$ és hogy τ idő alatt a világítás intenzitása e-ed részére csökken. Továbbá, ha $A = B = C = D$, akkor $\tau_3 = \tau_4 = \tau_5 = \tau^*$ és $\tau^* = -2,3026 \tau \lg D$. Az exponenciálistól eltérő csillapodásnál a jelzett mennyiségek közötti kapcsolat nagyon komplikáltnak, nehezen kifejezhetőnek adódhatik, aminek következtében egy mennyiség ismerete (az öt közül) nem sokat mond a többiről.

Bár a definíciókból látható, szeretnénk hangsúlyozni, hogy a csillapodási idő meghatározásakor elkerülhetetlen a molekuláris szerkezetre vonatkozó fogalmak felhasználása. És amíg a többi fluoreszcencia-jellemző meghatározása az időtől független intenzitású gerjesztés feltételezésével megadható, addig itt feltételezzük, hogy egy (a $t = 0$) időpontban a gerjesztő fény intenzitása nulla. A gyakorlatban a τ méréséhez modulált gerjesztő fényt használunk.

A lumineszcencia csillapodási törvényét régen úgy tekintették, mint a legfontosabb jellemzőt a lumineszcencia kinetikájának vizsgálatához. Ma már helyesebbnek tartjuk azt a megfogalmazást, hogy a lumineszcencia csillapodásának tanulmányozása révén megismerjük a csillapodásnak a lefutását és bizonyos fokig tisztázzuk a lumineszkáló anyagban lejátszódó folyamatokat.

2. A csillapodási idő és a többi fluoreszcencia-jellemző közötti összefüggések

Említettük korábban, hogy a fluoreszcencia fizikai törvényeit az abszorpciós-, emissziós szinkép, a hatásfok, a polarizációs fok és a csillapodási idő segítségével vizsgáljuk. Ezen jellemzők számos összefüggésben állnak egymással. (Ez érthető, hiszen ugyanazon rendszer jellemzésére használatosak.) Alább röviden összefoglaljuk a

csillapodási idő és a többi fluoreszcencia-jellemző közötti kapcsolatokat.

a) A hatásokkal való összefüggésre két határesetet tapasztalunk, amelyek azonban valószínűleg szigorúan sohasem állnak fenn. Ha az oldat hatásfokát kioltószer alkalmazásával csökkentjük, s a kioltás bekövetkezésekor τ csökkenését nem tapasztaljuk, akkor elsőfajú vagy sztatikus kioltásról beszélünk. Ilyenkor mindig fel lehet tételoznünk, hogy az adott, eredetileg fluoreszcenciára képes anyag és a kioltószer között valamilyen kémiai kölcsönhatás jön létre. Ha viszont τ a kioltás során η -val arányosan csökken (ez exponenciális csillapodást jelent), akkor másodfajú vagy dinamikus kioltásról van szó.

A η/η_0 , ill. a vele arányos I/I_0 és τ/τ_0 mérése által meghatározhatjuk az a -val jelzett kioltási határsugarat és a kioltó molekulák D diffúziós konstansát. (A nulla-index a kioltatlan oldatra vonatkozik.) Nem túlságosan erős kioltásnál fennáll ugyanis: $I/I_0 = 1/(1+k \cdot c)$ (k kioltási állandó, c a kioltószer koncentrációja mol/l-ben). Általános esetben $k = k_1 + k_2$, ahol k_1 a dinamikus, k_2 a sztatikus kioltást jellemző állandók. Dinamikus kioltásnál $\tau/\tau_0 = 1/(1+k_1 \cdot c)$ és $k_1 = 4\pi a N D \tau_0$ (N a millimolban lévő molekulák száma). Sztatikus kioltás esetén $k_2 = 4\pi^2 a N \sqrt{D \tau_0}$. A sztatikus kioltással kapcsolatban vetette fel Schmillen, hogy τ -méréssel is kimutatható a szekunderlumineszcencia hatása. Amikor η a kioltás következtében lényegesen lecsökken, a szekunderlumineszcencia hatása

elhanyagolható. Tehát ha a sztatikus kioltás jó közeli-téssel fennáll és mégis észrevehetően változik a τ a kioltás során, akkor ez a tény a szekunderlumineszcen-ciára utal.

b) Igen sokak által tanulmányozott kérdés a fluoreszcencia polarizációs foka és a csillapodási idő közötti kap-csolat. Az alapvető összefüggés a Perrin-Ljovsin egyenlet:

$$\frac{1}{p} - \frac{1}{p_0} = \left(\frac{1}{p_0} - \frac{1}{3} \right) \frac{kT}{v\eta} \tau, \quad (2,6)$$

ahol p_0 a határpolarizáció, k a Boltzmann-állandó, T az abszolút hőmérséklet, η a közeg viszkozitása, v a moleku-la térfogata a szolvátburokkal együtt. Anizotrop fluoresz-káló anyagok számos tulajdonsága vizsgálható a fenti, ill. az egyes konkrét esetekre vonatkozó - kisebb mértékben mó-dosított - összefüggések segítségével. Megemlíthetjük, hogy amikor még a csillapodási idő-mérő készülékek kevésbé meg-bizható adatokat szolgáltattak, mint jelenleg, a legtöbb esetben a Perrin-Ljovsin egyenlet nyújtotta lehetőséget használták fel a kutatók τ kiszámítására.

Anizotrop oldatok fluoreszcenciája csak ama esetben exponenciális lecsengésű, ha a megfigyelt lumineszcencia-fény elektromos vektora a gerjesztő fény elektromos vektó-rával meghatározott szöget zár be. Ezért megfelelő mérési mód-szer szükséges ahhoz, hogy helyes eredményt kapjunk. Ennek vázlatos ismertetését a VIII. fejezetben adjuk meg.

c) Ismeretes, hogy egy fotonnak egy molekula által

való spontán abszorpciója és emissziója időegységenkénti valószínűsége között összefüggés áll fenn, amelynek elméleti kifejezését Einstein adta meg. Ki lehet tehát számítani egy gerjesztett molekula τ_e természetes élettartamát (ha semmilyen kioltó folyamat nincsen) az abszorpciós spektrum által szolgáltatott adatok alapján. Különböző összefüggéseket javasolnak a τ_e és az $\epsilon(\nu)$ moláris dekadikus extinkció koefficiens között, amelyek közül különösen FÖRSTER-ét /4/ kell megemlítenünk, aki az összefüggés levezetése során az abszorpciós és emissziós spektrumok közötti tükrörszimmetria létezését tételezte fel. A Förster-féle egyenlet (számérték-egyenlet formájában):

$$\frac{1}{\tau_e} = 2,88 \cdot 10^{-9} n^2 \int \frac{2\nu_0 - \nu}{\nu} \epsilon(\nu) d\nu, \quad (2,7)$$

ahol n a törésmutató, ν_0 a tükrörfrekvencia és az integrálás a hosszuhullámu abszorpciós sávra végzendő. Tekintettel arra, hogy mind a törésmutató, mind az abszorpciós terület nagysága változhatik az oldószertől függően, a τ_e nem molekula, hanem oldat-adat; segítségével megbecsülhető, ill. kiszámítható a különböző rendszerek kölcsönhatási energiája.

Széles molekulásávok esetén (a fluoreszkáló szerves festékeloldatok spektrumai ilyenek) jobb eredményre vezet a STRICKLER és BERG /5/ által adott formula, amely dipólus-dipólus átmenet esetén, ha a megkonfiguráció kissé vál-

tozik⁺: (számérték-egyenlet formájában)

$$\frac{1}{\tau_e} = 2,88 \cdot 10^{-9} \cdot n^2 \frac{\int f_q(\nu) d\nu}{\int f_q(\nu) \nu^3 d\nu} \frac{g_l}{g_u} \int \frac{\varepsilon(\nu)}{\nu} d\nu. \quad (2,8)$$

Az oldószer és az oldat törésmutató változását (különbözőségét) figyelembe véve, a fenti formulát BIRKS és DYSON /6/ módosította.

A számítható τ_e és a mért τ csillapodási idők közötti összefüggés:

$$\tau = \eta_q(\nu) \cdot \tau_e. \quad (2,9)$$

d) Bizonyos (itt nem részletezett) feltételek teljesülése esetén Sztjepanov és Nyeporent munkássága nyomán KETSKEMÉTY és munkatársai /7/ arra a megállapításra jutottak, hogy az abszorpció, emisszió spektrum, a hatások és a csillapodási idő között kapcsolat áll fenn:

$$\frac{f_q(\nu)}{k(\nu)} = \frac{2\pi n^2 10^3}{L c_M c^2 \bar{\nu}} \cdot n^2 \frac{\tau}{\eta_m^2} \eta(\nu) \nu^3 \exp\left[-h(\nu - \nu_0)/kT\right] \quad (2,10)$$

ahol $\bar{\nu} = \int_0^\infty f_q(\nu) \nu d\nu$, η_m a kvantumhatások maximális értéke a gerjesztő fény hullámhossz-függvényében, ν_0 a túlkörfrekvencia, n a törésmutató, L a Loschmidt szám, c_M az oldat koncentrációja mol/l-ben.

Ezen összefüggés helyességének ellenőrzésére – bár csekély számban – történtek kísérletek. A mérés útján

⁺ A magkonfiguráció lényeges megváltozására utal az abszorpció és emisszió spektrumok strukturája közötti különbség. A (2,8) egyenletben g_l és g_u az alap, ill. a gerjesztett elektronállapot statisztikai súlya.

nyert τ adatok azonban, véleményünk szerint, az esetek egy részében kritika alá esnek. A bevezetőben említett, az intézetben kidolgozott, ill. ellenőrzött csillapodási idő mérési módszerek alkalmazásával kapott τ értékek birtokában (2,10) érvényessége sokkal megnyugtatóbban vizsgálható. E célból végeztünk is néhány mérést, és ezek felhasználása nagyon sikeresnek mondható (2,10) ellenőrzésére. (A mérési eredmények értékelésénél erre nem térünk ki; KOZMA /8/ tárgyalja eme kérdéskört.)

e) Az oldatok abszorpciós, emissziós spektrumai között a tiszta elektronátmenet frekvenciájának a környezetben fennáll a Sztjepanov-féle összefüggés /9/. Ez a következő alakban írható: $f(\nu) = N \varepsilon(\nu) \nu^2 \exp \left[h\nu/kT^* \right]$, ahol N a frekvenciától független normálási tényező, h , ill. k a Planck, ill. a Boltzmann konstans, T^* pedig egy, az oldat T valóságos hőmérsékletétől nem nagyon eltérő "effektív" hőmérséklet. Az abszorpciós, ill. az emissziós spektrumból meghatározható T^* és az abból adódó $\Delta T = T^* - T$ az oldat τ csillapodási idejével a

$$\Delta T = \Delta T_0 \exp(-\tau/\tau') \quad (2,11)$$

összefüggésben áll, ahol ΔT_0 és τ' az adott gerjesztési frekvencia esetében az oldott anyagra és az oldószerre jellemző konstansok. A (2,11) összefüggés lényegében véve a gerjesztett molekulákból álló rendszerre vonatkoztatott Newton-féle lehűlési törvény, és azt fejezi ki, hogy a gerjesztési aktus során a molekulával közölt energia

egy része hőmennyiséggé alakul át. Ezt a hőt a gerjesztett molekula a gerjesztett állapot élettartama alatt adja át - legalábbis részben - a környezetének helyi felmelegedést okozva.

III. A szekunderlumineszcenciás korrekció

1. κ -számítás

Igen sok fluoreszkáló oldat esetében az abszorpció és az emissziós spektrum átfedése következtében az emitált primer fluoreszcenciafény rövidhullámu része elnyelődik, "reabszorpció" történik. A reabszorpció folytán fellépő szekunder- és magasabbrendű fluoreszcencia-sugárzások - az oldatot tartalmazó küvetta méreteivel, alakjával, továbbá a gerjesztési és a megfigyelési mód geometriai viszonyaival együtt - meghamisítják a belső vagy valódi fluoreszcencia-jellemzőket. (Molekulafizikai, ill. folyadékszerkezeti megfontolásokat pedig csak ezek segítségével tehetünk.) A szekunderlumineszcencia hatása az abszorpció és emissziós spektrumok átfedésének mértékén kívül függ a fluoreszcencia hatásfokától, továbbá a mérendő anyag koncentrációjától és az alkalmazott rétegvastagságtól.

A szekunderlumineszcencia hatására vonatkozóan egzakt vizsgálatokat elsőként BUDÓ és KETSKEMÉTY /10/ végeztek. Először egy alkalmas gerjesztési és megfigyelési módra kiszámították azt, hogy a szekunderlumineszcencia-fény milyen arányban vesz részt az oldat fluoreszcencia-sugárzásában. Mivel az oldatokban az egyes emissziós folyamatoknak megfelelő hullámvonulatok inkoherensek, a probléma

fenomenológiai elmélettel tárgyalható, kvantummechanikai megfontolások helyett. Hogy a számítások, összefüggések egyszerűbbek legyenek, a következő – jó közelítéssel megvalósítható – elrendezést vették alapul.

Egy l hosszúságú és R sugarú hengeres küvettában lévő optikailag izotrop oldatot a tengellyel párhuzamosan beeső, monokromatikus, $R^2\pi$ keresztmetszetű fénynyaláb gerjeszti; a fluoreszcenciafényből pedig a tengely mentén egy szintén párhuzamos és a gerjesztő fénnel ellentétes irányu, $R^2\pi$ -hez képest kis keresztmetszetű nyalábot figyelünk meg.

A számítás eredményeként a κ -val jelölt szekunder és primer fluoreszcenciafény intenzitás-arányra a következőt kapták /1/ szerzői:

$$\kappa = \frac{S}{P} = \kappa(\alpha, \beta, m) = \int_0^\infty \eta(\lambda'') f(\lambda'') M(\alpha, \beta, m, \gamma) d\lambda'',$$

ahol $\eta(\lambda')$ az abszolút kvantumhatásfokot, $f(\lambda')$ a fluoreszcencia-spektrum egyre normált eloszlás-függvényét, M pedig az alábbi bonyolult függvényt jelöli:

$$M(\alpha, \beta, m, \gamma) = \frac{\alpha + \beta}{\alpha \cdot \beta} \cdot \frac{(1 - e^{-\alpha}) (1 - e^{-\beta})}{1 - e^{-(\alpha + \beta)}} \left[\gamma E_i(-m\gamma) - \gamma E_i(-\gamma) \right] + \\ + \frac{1}{2 [1 - e^{-(\alpha + \beta)}]} \cdot \left[\chi(\alpha, \gamma) + \chi(\beta, \gamma) + e^{-\alpha} \psi(\beta, \gamma) + e^{-\beta} \psi(\alpha, \gamma) \right], \quad (3,1)$$

ahol $\chi(x, \gamma) = \frac{\gamma}{x} [G(-\gamma) - G(-x - \gamma)]$; $\psi(x, \gamma) = \frac{e^{-x} \gamma}{x} G(-\gamma) - G(x - \gamma)$
és $G(x) = E_i(x) - \ln x$; $E_i(-x) = \int_0^x \frac{e^t}{t} dt$,

továbbá k_λ az abszorpciók együttható, $\alpha = k_\lambda l$, $\beta = k_{\lambda'} l$, $\gamma = k_{\lambda''} l$ (λ a gerjesztő fény hullámhossza, λ' a fluoreszcenciafény megfigyelt hullámhossza, λ'' integrációs változó, a primer fluoreszcenciafényből a reabszorpcióra jutó rész hullámhossza), $m = R/l$.

Alkalmazzuk az

$$M = M_1 + M_2$$

jelölést, ahol M_1 a (3,1) jobb oldalán lévő első, M_2 a második tagnak felel meg. A κ -számítás különösen az M_2 -re való tekintettel nagyon hosszadalmas.

TÖRÖK /11/ elektronikus számológép segítségével kiszámította, és táblázatban foglalta össze az α , β , γ paraméterek függvényében az M_2 függvény értékeit. Eze táblázat felhasználásával a κ -számítás lényegesen egyszerűsödik. Munkánkban ezt alkalmaztuk.

Összefoglalóan megállapíthatjuk, hogy a szekunder-lumineszcenciás korrekció elvégzéséhez szükséges κ értéket numerikus integrálással kiszámíthatjuk a λ , λ' , l , m , $k(\lambda)$, $\eta(\lambda)$, $f(\lambda)$ paraméterek, ill. függvények ismeretében. A számítás egyszerűsödik abban az esetben, ha $\beta = 0$. Ezt méréseink során módunkban állt biztosítani. Szükséges azonban megvalósítani (jó közelítéssel) azt az elrendezést, amelyet Budó és Ketskeméty a levezetésnél alapul vettek.

A κ kifejezéséből látható, hogy az α -ra és β -ra szimmetrikus, ami azt jelenti, hogy helyesen járunk el akkor is, ha a megfigyelési felülethez viszonyítva igen kis felületen gerjesztünk. Mérőberendezésünkönél, techni-

kai okok miatt, ezt valósítottuk meg.

2. A szekunderlumineszcenciának a csillapodási időre gyakorolt hatása

Az oldatok fluoreszcenciájának csillapodási ideje (τ) szintén a szekunder- és magasabbrendű fluoreszcencia-sugárzások miatt különbözik a közvetlenül mért (τ') csillapodási időtől.

Érdekes megemlíteni, hogy már 1929-ben jelent meg közlemény e kérdéssel kapcsolatban. Az első rendszeres vizsgálatot GALANYIN /12/ végezte. Az alább ismertetendő, Budó és Szalay /1/ által kapott eredménnyel analóg formulát nyert. Azonban, nem tudjuk milyen okból, jóval későbbi munkáiban sem alkalmazza mérési eredményeinek korrigálására eljárását. Csupán azon megjegyzéssel látja el munkáit, hogy vékony küvettával mért, ami meghatározatlan és relativ dolog. Azonkívül a szekunderlumineszcenciás korrekció elvégzéséhez szükséges szekunder és primer fluoreszcenciafény-intenzitás hányadosára megadott számítási eljárás nagyon erős, a gyakorlatban kevésbé teljesíthető feltevéseken alapul, így az pontatlan.

A τ' és a τ közti összefüggést az /1/-ben foglaltak szerint ama feltevés alkalmazásával számítható ki, hogy a mérőkészülékbe gyakorlatilag csak olyan fluoreszcenciafény jut, amelynek λ' hullámhosszaira nézve $\beta = 1. k \lambda' \approx 0$.

Ekkor stacionárius gerjesztésnél a mérőkészülékbe jutó B_{10} primer, B_{20} szekunder ... intenzitások arányosak az oldatban lévő N_{10} , N_{20} ... számú primer, szekunder ... gerjesztett molekulákkal (a 0 index a stacionárius gerjesztésre utal). Fennáll

$$\frac{N_{20}}{N_{10}} = \frac{N_{30}}{N_{20}} = \dots = \kappa = \kappa(\alpha, 0, m).$$

Ha a hosszú ideig tartó stacionárius gerjesztés a $t = 0$ időpillanatban hirtelen megszűnik, akkor ettől kezdve ($t > 0$ -nál) az elsődlegesen gerjesztett molekulák $N_1 = N_1(t)$ számára vonatkozólag fennáll:

$$\frac{dN_1}{dt} = -\frac{1}{\tau} N_1, \quad \text{vagyis} \quad N_1 = N_{10} e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (3,2)$$

A szekunder gerjesztett molekulák száma az időegységre vonatkoztatva $\frac{N_2}{\tau}$ -val csökken a csillapodás miatt és kN_1 -gyel nő a primer sugárzással való gerjesztés miatt, azaz

$$\frac{dN_2}{dt} = -\frac{N_2}{\tau} + kN_1$$

A k állandó kiszámítható a stacionárius gerjesztésre érvényes egyenletből:

$$-\frac{N_{20}}{\tau} + kN_{10} = 0;$$

ebből

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

és ezért írható:

$$\left. \begin{aligned} \frac{dN_1}{dt} &= -\frac{N_1}{\tau} + \frac{\kappa}{\tau} N_1, \\ \text{valamint} \quad \frac{dN_2}{dt} &= -\frac{N_2}{\tau} + \frac{\kappa}{\tau} N_2 \dots \text{stb.} \end{aligned} \right\} \quad (3,3)$$

A (3,2) és (3,3) egyenletek összeadásából és a megfigyelhető teljes B összintenzitással arányos $N = \sum N_i$ -re a

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{N}{\tau} + \frac{\kappa N}{\tau}$$

differentiál-egyenlet adódik, amelynek megoldása

$$N = N_0 e^{-\frac{t}{\tau'}},$$

ahol $\tau' = \frac{\tau}{1-\kappa}$ éppen a keresett összefüggést jelenti.

IV. Fluorométerek

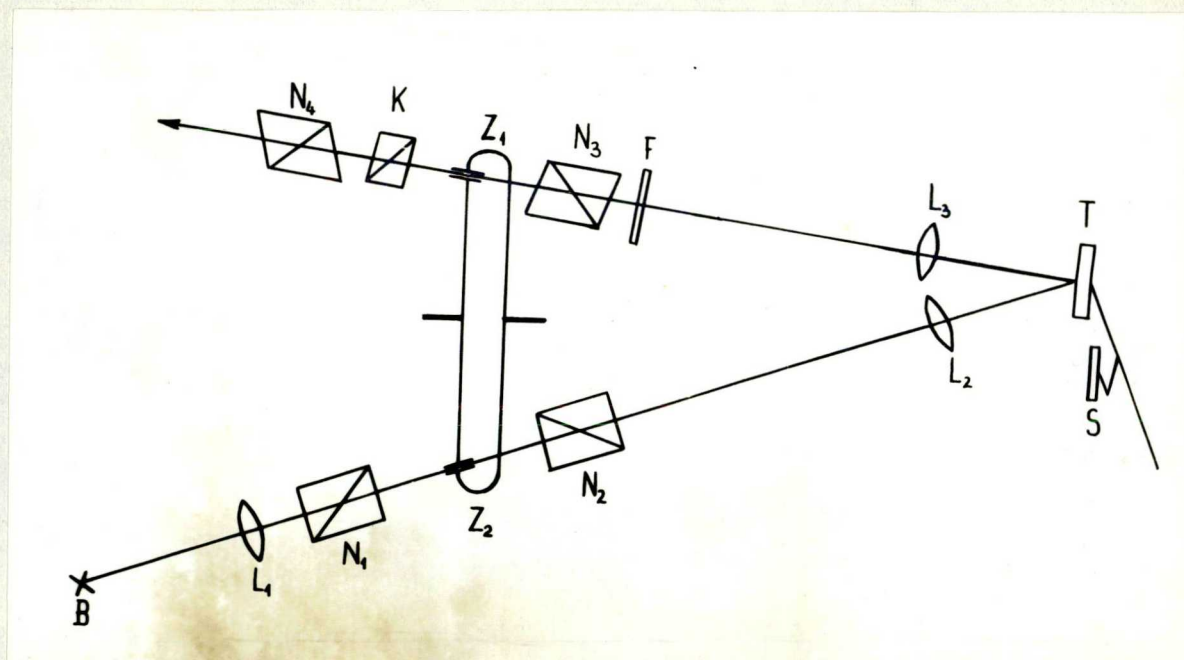
1. Mérési nehézségek

Szerves festékkoldatok fotolumineszcenciája csillapodási idejének mérése – közvetlen módon – csupán az utóbbi három évtizedben vált lehetségessé. Ugyanis a 10^{-8} – 10^{-9} sec-ig tartó világítások időtartamának meghatározására és kialvásuk vizsgálatára a mechanikus foszforoszkópok alkalmatlanok; viszonylag bonyolult eszközöket, korszerű technikát kell alkalmazni. Ezeket az eszközöket fluorométereknek nevezzük. Az 1950-es évek kezdete óta – a korábbi időkhez képest – lényegesen több fluorométer épült. A mérés relatív hibája kezdetben 20–50 % (Gaviola, 1926), manapság találhatunk olyan közleményt, amelynek szerzője 1–2 % relatív hibát ad meg. (pl. /13/). Különböző szerzők azonban ugyanazon oldatra vonatkozóan több esetben 50–100 %-kal eltérő eredményeket kaptak. (Ezzel a kérdéssel más helyeken részletesebben foglalkozunk.) A fluorométerek megépítésének technikai nehézségein túl, ez a körülmény azt eredményezte, hogy a fluoreszcencia átlagos csillapodási idejét számos kutató közvetett módon határozta meg. Erre a csillapodási idő és a többi lumineszcencia-jellemző közötti összefüggések nyújtanak lehetőséget, amelyeket az előző fejezetben tekintettünk át. Sokáig tartotta magát az a nézet, hogy közvetett módon pontosabb τ -értékeket lehet nyerni; jelenleg a mért átlagos csillapodási idő

eldönti az adott összefüggés helyességén keresztül, hogy megbízhatók-e, helyesek-e az oldatokra vonatkozó molekuláris kinetikai ismeretek, feltevések.

2. Történeti, ill. működési elv szerinti áttekintés

Az első fluorométert GAVIOLA /14/ 1926-ban építette. Lényegében a kétkorongos foszforoszkóp elvén működő csillapodási idő-mérő készüléket szerkesztett, amelynél a foszforoszkóp mechanikus fénymodulátora helyett Kerr-féle cel-lát (kondenzátort) alkalmazott optikai zárként. Történeti jelentőségére való tekintettel működését röviden ismertet-jük az 1. ábra segítségével.



1. ábra

Fényforrásul a B ivlámpa szolgál, L_1 és L_2 a gerjesztő fényt a lumineszkáló oldatot tartalmazó T edényre vagy S tükörrre fókuszáló lencsék, I_1 és I_2 nitrobenzollal töltött Kerr-féle kondenzátorok. A Kerr-cellákra rávitt elektromos feszültség rezgésszáma 10^7 sec^{-1} . Valahányszor az elektromos tér eléri maximumát, a kondenzátorban lévő nitrobenzol kettőstörése maximálissá válik. N_1 , N_2 és N_3 , N_4 nikolok; N_1 és N_2 keresztben állnak és rezgési síkjuk 45° -ot zár be az Z_1 és Z_2 kondenzátorok elektromos terével; N_3 és N_4 párhuzamosak. Ha nincs elektromos tér, a B fényforrás fényét visszatartja a nikol-rendszer. Az elektromos tér kialakulásakor az N_1 -en áthaladó fénynyaláb a Z_1 kondenzátorban két nyalábra esik szét, amelyek között fáziskülönbség lép fel. Ennek következtében a Z_1 -ből kilépő fény elliptikusan poláros. Az ilyen sugarat nem nyeli el teljesen az N_2 nikol. Ennek következtében a T edényre fény esik, amely azonnal megszűnik, amint a Z_1 -re alkalmazott tér eltűnik. Az első nikol-rendszeren átjutott fénynyaláb a T edényben lumineszkálást gerjeszt, ennek fénye az N_3 nikolon át a Z_2 -be jut. Ez a fény a Z_2 -ben szintén két komponensre esik szét, amelyek fáziskülönbségre tesznek szert; ez annál nagyobb, minél erősebb a Z_2 -re helyezett tér. A Z_2 -ből kilépő fénysugár elliptikusan poláros. Polárossága a K Wollaston-prizma és az N_4 nikol segítségével mérhető. Ez utóbbit forgatva, elérhetjük, hogy a K prizma által adott, két egymásra merőlege-

sen poláros fény intenzitása egyenlő lesz, és ennek alapján az N_4 nikol forgásszögéből megállapíthatjuk a két komponens fáziskülönbségét és a tér erősségét abban a pillanatban, amikor a fény a Z_2 kondenzátoron áthalad. Továbbá az elektromos tér változását ismerve, és összehasonlítva azt a polárosságot, amelyet a B fényforrás visszavert fényénél az S tükör különböző helyzeteinél kaptunk, a lumineszkálásnál kapott polárossággal, kiszámíthatjuk azt az időt is, amely a között a két pillanat között telik el, hogy a gerjesztő fény a T edényben elnyelődik és a lumineszkálás fénye emittálódik.

Kisebb-nagyobb változtatásokkal ilyen készüléket épített DUSINSZKIJ, F.A. /15/ és SZYMANOWSKI, W. /16/.

A Kerr-féle kondenzátorral konstruált berendezések – amint ismeretes – általában nagyon fényszegények. Továbbá a számítások nehézsége és a pontatlanság új típusu fluorométerek konstruálására ösztönzött, s többen /17/, /18/ foglalkoztak a fluorométerek elméletével, rendszerezésével.

BAILEY és ROLLEFSON /18/ elméleti megfontolása általánosabb érvényű, tetszés szerinti periodikus gerjesztést tételez fel. A gyakorlatban azonban rendszerint harmonikusan (szinuszosan) változó gerjesztő fényt használunk. Ezért célszerű, ha csupán erre az esetre szorítkozunk.

Az I fluoreszcencia-intenzitás változása felírhatjuk:

$$\frac{dI}{dt} = -\frac{I}{\tau} + kE(t),$$

ahol k bizonyos együttható, az adott kísérletre nézve állandó; $E(t)$ a gerjesztő fény intenzitása; $1/\tau$ a gerjesztett állapot megszűnésének gyakorisága.

Ha a gerjesztő fény intenzitása harmonikusan változik $E(t) = E_0(1 + m \cos \omega t)$ alakban (m a moduláció mélysége), akkor a fluoreszcenciára jellemző $I = I_0 \exp(-\frac{t}{\tau})$ exponenciális csillapodás esetén a $t \gg \tau$ tartományban a besugárzás kezdete után a lumineszcencia intenzitása is követi a harmonikus törvényt:

$$I = I_0 [1 + M \cos(\omega t - \varphi)]$$

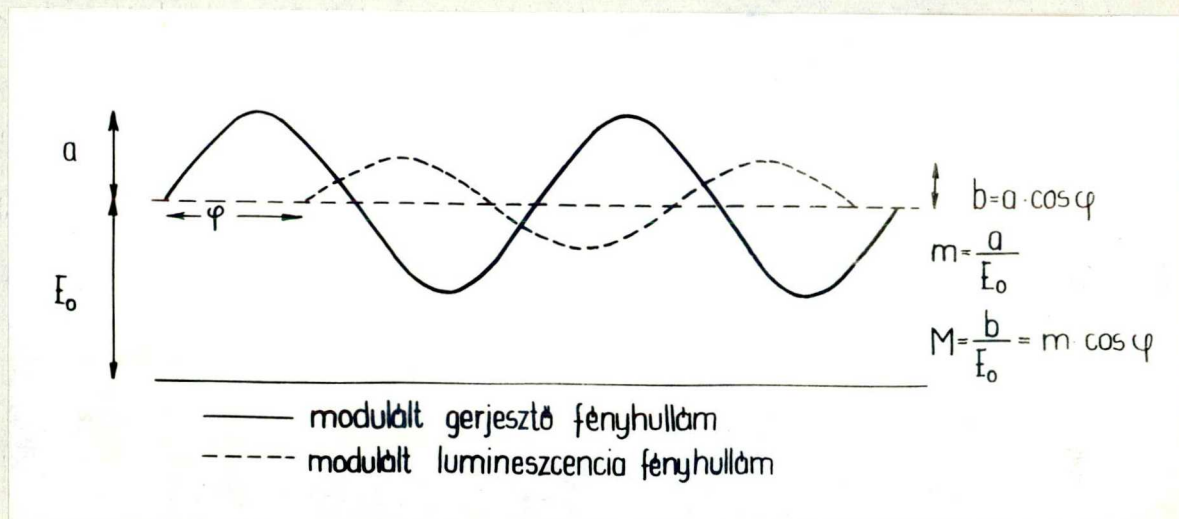
ahol M a fluoreszcenciafény-moduláció mélysége és

$$M = \frac{m}{(1 + \omega^2 \tau^2)^{1/2}} \quad (4,1)$$

ill.

$$\operatorname{tg} \varphi = \omega \tau \quad (4,2)$$

amelyeket Dusinszkij /15/ már 1933-ban megadott. (2. ábra)



2. ábra

Látható, hogy a harmonikus jel módszerrel a fluoreszcencia közepes csillapodási idejének meghatározásához elegendő az M/m viszonyt meghatározni, vagy pedig a gerjesztő és a lumineszcenciafény közötti fáziseltolódást mérni. A relatív moduláció fok és a fázisszög független mérése a fluoreszcencia-intenzitás exponenciális természetének ellenőrzésére szolgál. Birks és Dyson közleményeiben /6/, /19/ utal arra, hogy többnyire mindkét módon mérték a csillapodási időt, s oldatoknál exponenciális lecsengést, keverékoldatoknál viszont attól eltérő, elég bonyolult módon értékelhető, eredményt is kaptak.

Általában τ -t fáziseltolódásból határozzák meg, amely módszer egy sor előnnyel bír az m és M moduláció mélységek mérésével szemben. A fáziseltolódás mérésének módszerétől függően a fluorométerek feloszthatók:

- a) fotometrikus,
- b) sztreboszkópikus,
- c) fáziseltolódás közvetlen mérésén alapuló fluorométerekre. Ez utóbbiakat nevezzük szűkebb értelemben fázisfluorométereknek.

Fázisfluorométerekkel változtatható optikai utóössz, késleltető művonal (delay line), RC fáziseltoló és oszcillográf segítségével határozható meg a fáziseltolódás.

A harmonikus jel módszerrel működő fluorométereknél a gerjesztő fény modulálására régebben Kerr-cellát, újab-

ban diffrakciós rácsot alkalmaznak, amelyet kvarcban, vagy gyakrabban folyadékban állítanak elő ultrahang állóhullámokkal.

Építettek már optikai modulátort ama jelenség alapján is, hogy álló ultrahanghullámok hatására a kvarc feszültségi kettőstörővé válik, ill. van olyan fluorométer is, ahol magát a fényforrás intenzitását modulálják. Hélium-neon gázlaser is felhasználható optikai modulátor készítésére. Legújabbán az un. Pockels-effektus alkalmazásával nyertek nagy intenzitású és magas moduláció-fokkal bíró moduláló berendezést /13/.

Függetlenül a fázisfluorométer konstrukciójától, a vele való τ -mérés két lépésben történik - α) a mérőhelyre a szóróközeget tesszük, majd β) azt kicseréljük a vizsgálendő anyaggal, miközben mérjük a fáziseltolódást. A legtöbb fluorométerben a mérés null-módszerrel történik, amikor is a készülékhez olyan berendezés csatlakozik, amely az egyik csatornában etalon fáziseltolást hoz létre; a fázismérő berendezést pedig null-indikátorként használjuk. Ilyen etalon fáziseltoló gyanánt Galanyin /12/ változtatható optikai utat, Bailey és Rollefson /18/ beosztott RC láncot, BIRKS és LITTL /20/ pedig elektromos művonalat, stb. használtak.

A fluoreszkáló gerjesztett molekula átlagos élettartama mérésének pontosságát nagymértékben meghatározza az etalon fázisfordító működése, így a $\Delta\varphi_0$, a fázismérő be-

rendezés általi feloldóképesség is. Azonban az indikátor feloldóképességének fokozása meghatározott határ felett nem lehet racionális a fluktuáló zaj hatása és a nem tökéletes optika miatt.

Mint említettük, τ kiszámítható a fáziseltolódásból, amely a kétszeri fázisleolvasás eredményeként adódik, - Meghatározható a mérés relatív hibája is.

$$\tau = \frac{\operatorname{tg} \varphi}{\omega}$$

$$\frac{d\tau}{dt} = \frac{1}{\omega} (1 + \operatorname{tg}^2 \varphi) \frac{d\varphi}{dt},$$

$$\Delta\tau = \frac{1}{\omega} (1 + \operatorname{tg}^2 \varphi) 2\Delta\varphi_0,$$

$$\Delta\tau = \frac{1 + \omega^2 \tau^2}{\omega} \cdot 2\Delta\varphi_0$$

(4,3)

a kétszeri fázisleolvasás miatt. Így a mérés relatív hibája:

$$\frac{\Delta\tau}{\tau} = \frac{1 + \omega^2 \tau^2}{\omega\tau} \cdot 2\Delta\varphi_0.$$

A mérés relatív hibájának általánosított görbéje megadható:

$$\frac{1}{2\Delta\varphi_0} \cdot \frac{\Delta\tau}{\tau} = f(\omega\tau),$$

ahonnan látható, hogy $\Delta\varphi_0$ nagysága meghatározza a mérés relatív hibájának minimumát:

$$\left. \frac{\Delta\tau}{\tau} \right|_{\min} = 4\Delta\varphi_0.$$

A minimum $\omega\tau = 1$ -nél adódik. Kiszámítható tehát, hogy

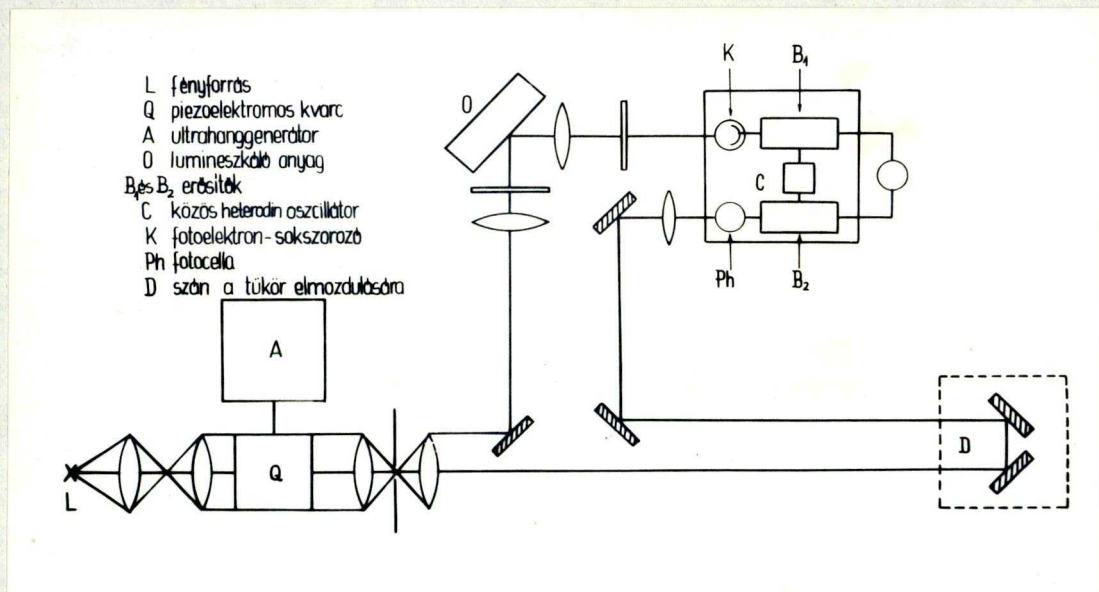
az ω moduláló körfrekvencia adott τ esetén mikor lesz optimális. Másrészt viszont ω növelésével a fáziseltolódás is növekszik, ez utóbbi leolvasása pontosabb lesz. Azonban a nagyon nagy frekvenciás optikai modulátorok építése nehézségekbe ütközik. Ezért általában 10-30 MHz-es modulátort szoktak alkalmazni, ritka esetben ettől lényegesen eltérőt /21/. A fáziseltolódás és az élettartam közötti összefüggésből az is látszik, hogy a moduláló frekvenciának megfelelő megválasztásával a berendezés alkalmas lehet kicsiny vagy nagy élettartamok mérésére. Így ha két különböző emissziós folyamat fordul elő egyidejűleg különböző élettartammal, ezek szétválaszthatók.

A fluorométerek hibáinak részletes elemzését első sorban Boncs-Brujevics /17/, majd Müller és munkatársai /13/ adták meg. Részletesebb tárgyalás nélkül megemlítjük, hogy nsec nagyságrendű hiba forrása lehet az, ha a fotoelektronsokszorozó katódjának a megvilágítási felülete időben változik. A megvilágítási felület nagyságának ilyen megváltozása lehetséges mind a szóró közegről a mintára való cserénél, mind az optikai uthossz változtatása során. Fontos tudni, hogy a moduláció foka függ a modulált fény hullámhosszától, továbbá a gerjesztő fény moduláció foka a fénynyaláb adott helyén időben változhatik. A fotoelektronsokszorozók elektronátfutási ideje függ a katódra jutó fény hullámhosszától.

Arra kell törekedni, hogy a fentieket és még számos más hibát a fluorométer építésénél lehetőleg kiküszöböljük, ill. a szükséges korrekciókat elvégezzük. A külön-

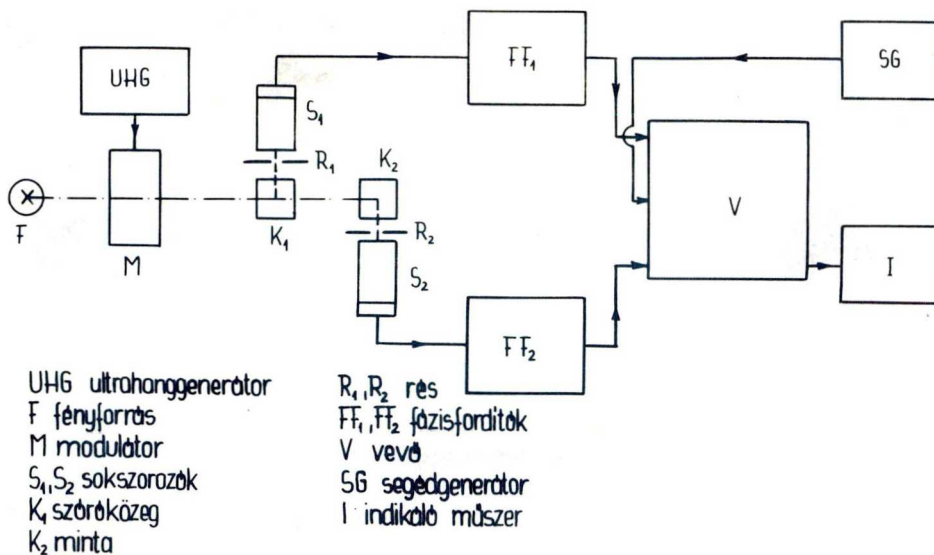
bűző szerzők által mért átlagos csillapodási idő értékek közötti nagy eltéréseket - egyazon minta esetén - részben a szisztematikus hibák nem kellő figyelembevétele okozhatja.

A harmonikus jel módszerrel működő fluorométerek közül a legnagyobb érdeklődésre a séma, a konstrukció és a módszer tekintetében az M.D. Galanyin, Bailey-Rollefson, Schmillen, Birks-Little, R.J. Carbonne - P.R. Longaker, ill. Müller által épített fluorométerek a legtanulságosabbak, amelyekre vonatkozó blokkképeket (a szerző nevének feltüntetésével) az alábbi ábrák szemléltetik.



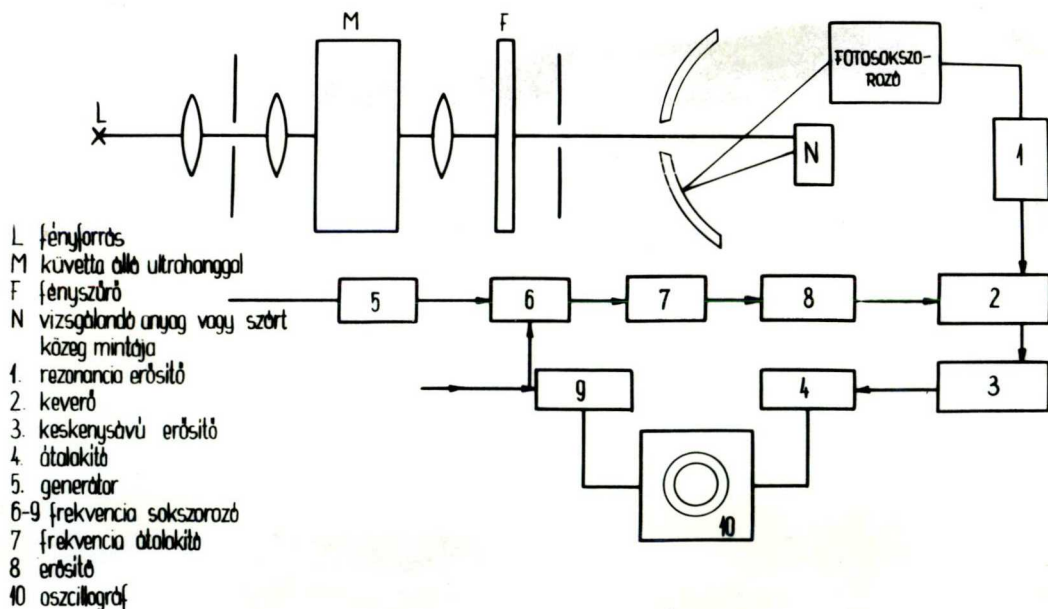
3. ábra (M.D. Galanyin)

Fénymodulátorként először alkalmazta Galanyin az akusztikai diffrakciós rácsot. A fázisdetektor oszcilloszkóp. A fáziseltolódás mérése optikai uthossz változtatásával történik. Igen sok mérési eredményt közöltek e fluorméter segítségével.



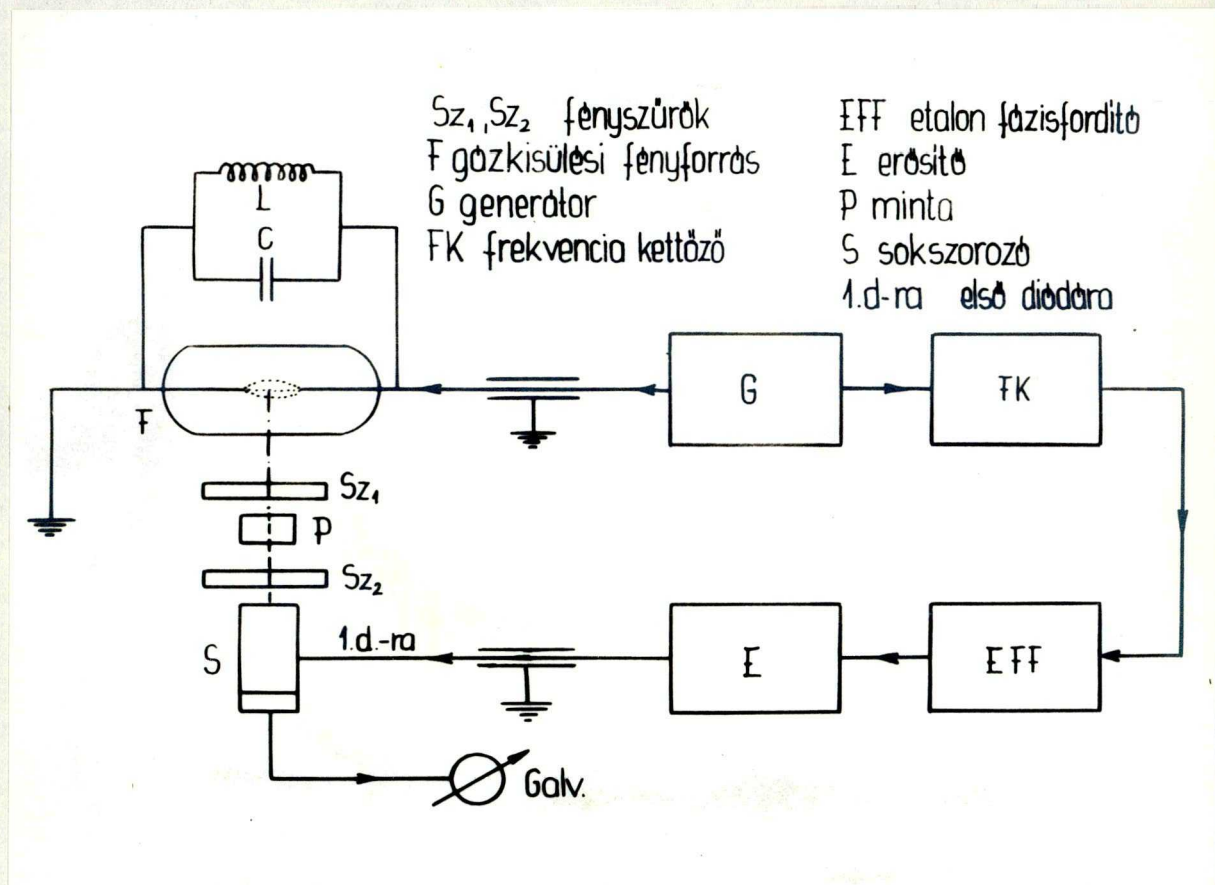
4. ábra (Bailey-Rollefsen)

Diffrakciós modulátor; fáziseltolódás mérésére RC-lánc. Ez utóbbi nem szerencsés, mivel magas frekvenciákon a "parazita paraméterek" zavarják, azonkívül hitelesítése körülményes. Ezeket szerkesztők is elismerik.



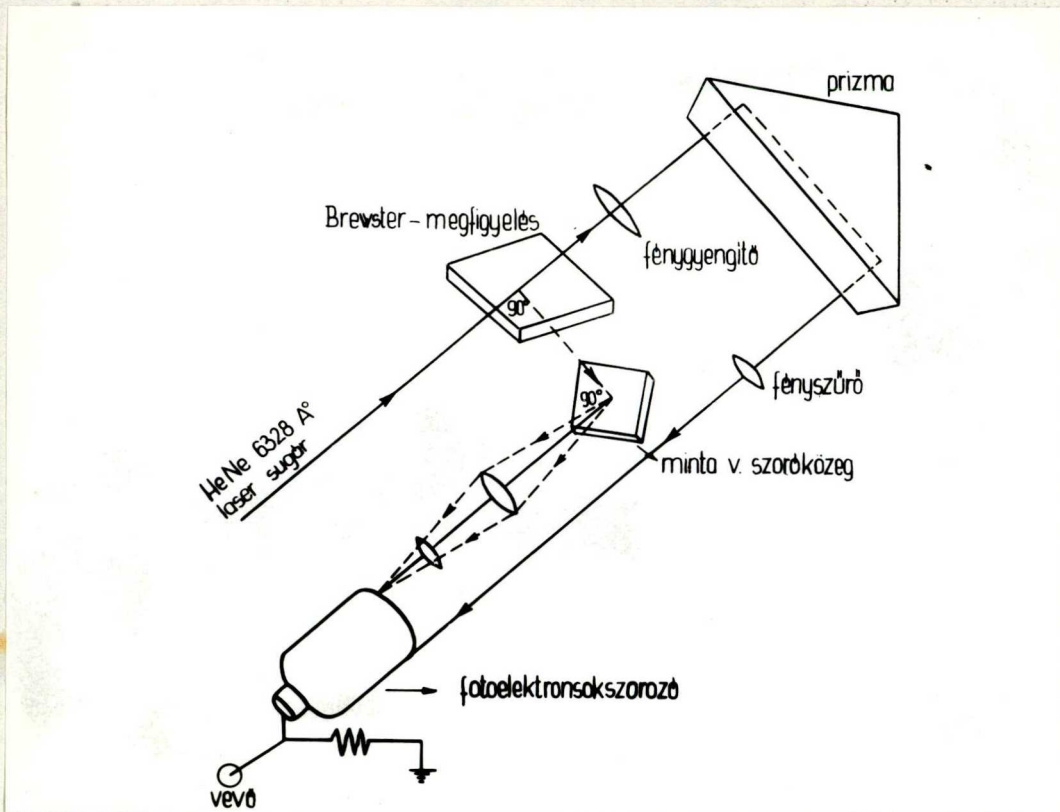
5. ábra (Schmiller)

Diffrakciós modulátor, oszcillográfos fázisanalizátor.
Bonyolult elektronika révén lehetségessé vált a készülék érzékenységének fokozása, ez azonban a bizonytalanság növekedésével járt együtt.



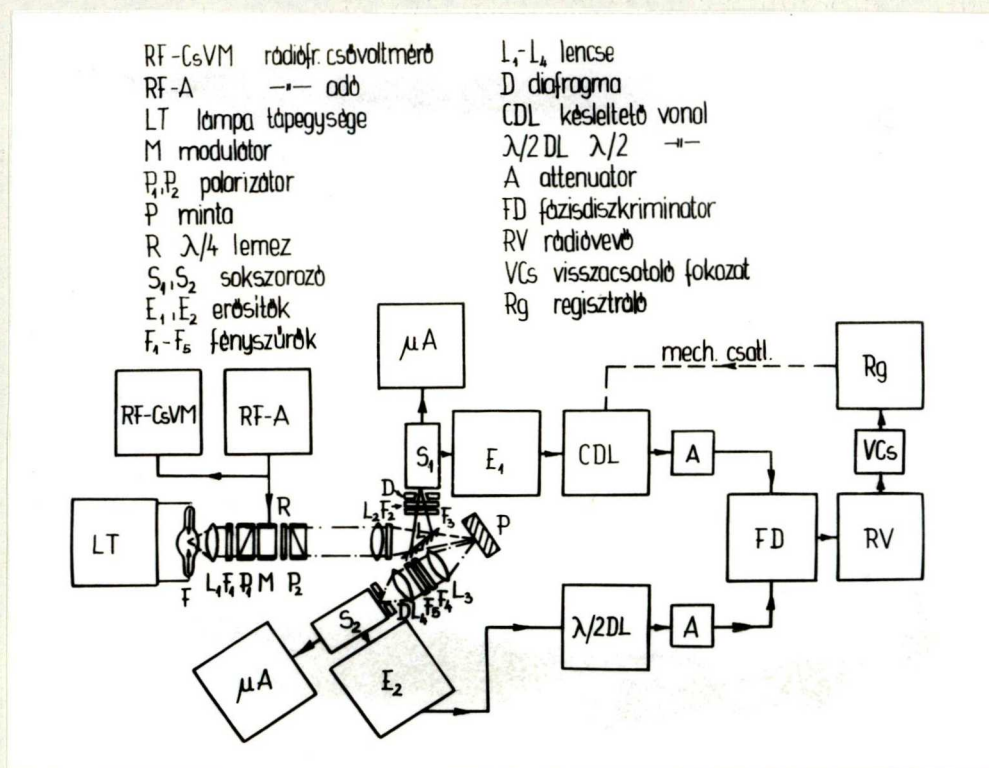
6. ábra (Birke-Little)

Amint már fentebb említettük, Birke-Little fluorométerében a fényforrás intenzitását modulálják, ami a gerjesztő fény közel 100 %-os modulálását eredményezi. A fázisdetektor elektromos művonal (delay line).



7. ábra (Carbone-Longaker)

A fényforrás hélium-neon gázlaser. Félvezetők fluoreszcencia élettartamának mérésére konstruálták. 155 MHz-es modulálás. A fázisdetektor: változtatható optikai ut-hossz. Megfelelő zöld fényű laserrel oldatok fluoreszcenciája csillapodási idejének mérésére is alkalmazható lenne. Eddig még ilyen közleménnyel nem találkoztunk.



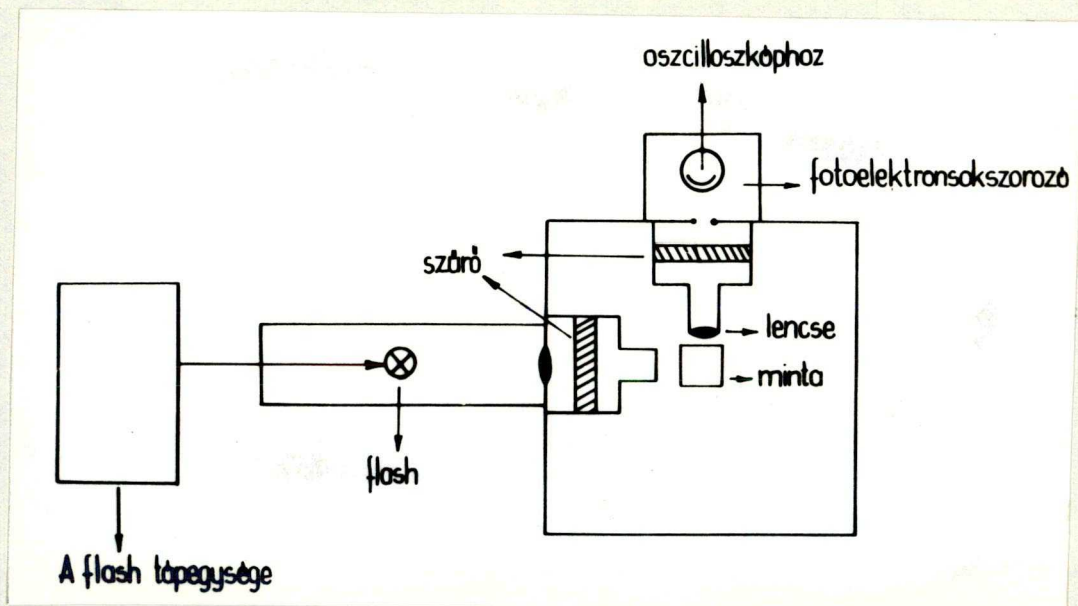
8. ábra (Müller és munkatársai)

Minden lényeges egységet kereskedelembe szereztek be. Pockels-effektuson alapuló fény modulátor; nagy intenzitás; változtatható (10 MHz, 21 MHz, 27 MHz) moduláló frekvencia; spektrális gerjesztés és megfigyelés; a fázisdetektor elektromos művonál, amely grafikus regisztrálóra van vezetve. Nagy érzékenység, széles mérési tartomány.

A legutóbbi években készítettek olyan csillapodási idő-mérő berendezéseket is, amelyeknél egy nsec-nál rövidebb, esetleg néhány nsec lecsengésű villanó "flash" lámpák /22/, /23/, /24/, vagy korpusskuláris részecskék /25/, ill. laser felvillanás szolgál gerjesztő fényforrássul. Ez

utóbbiak esetében többnyire impulzus üzemű gázlasert alkalmaznak szilárd és folyadék szcintillátorok csillapodási idejének mérésére. Indikálásra nagy sweep sebességű oszcilloszkópok szolgálnak, amelyen a τ csillapodási idő leolvasható.

Különböző típusú "flash" lámpák készülnek. A leggyakoribb az, amikor egy erős áramimpulzus halad keresztül egy kb. 100 Hg mm nyomású hidrogén lámpán, e eredményül egy igen erős fény-felvillanás adódik, amelynek csillapodása msec nagyságrendű. Megfelelő technikai fogásokkal nanosec-nál kisebb csillapodási idejű villanó lámpát is készítettek. A lámpa táplálása és vezérlése igen bonyolult elektronikát igényel. A felvillanás ismétlődésének frekvenciája kHz nagyságrendű. Az impulzus fluorométer vázlatos elrendezését a 9. ábra mutatja.



9. ábra

Tekintettel arra, hogy a gerjesztő fénynek, ill. együttesen az egész mérőberendezésnek a lumineszcencia csillapodási idejével összemérhető csillapodása van, a fluoreszcencia csillapodási idejének értékét csak a rendszer impulzus függvényére való korrekció által kaphatjuk meg. A korrekció elvégzése a fluoreszcencia exponenciális lecsengése esetében egyszerűbb, más esetekben fáradságos, esetleg számológép segítségével végzik el azt.

Az eddig megépített impulzus-jel módszerrel működő fluorométerek nem pontosabbak a fázisfluorométereknél, nagy előnyük viszont azt, hogy biztosabban elemezhetők velük a lumineszcencia fényintenzitás exponenciális lecsengéstől eltérő törvényszerűségei.

V. Az általunk megépített τ -mérő

1. A kiválasztás szempontjai

Szerves festékeloldatok fluoreszcenciája átlagos csillapodási idejének mérését tűztük ki célul. Eme oldatok fluoreszcenciáját diszkrét centrumok világításának lehet tekinteni, amelynek csillapodása exponenciális, s az átlagos csillapodási idő a 10^{-7} - 10^{-9} sec tartományban van.

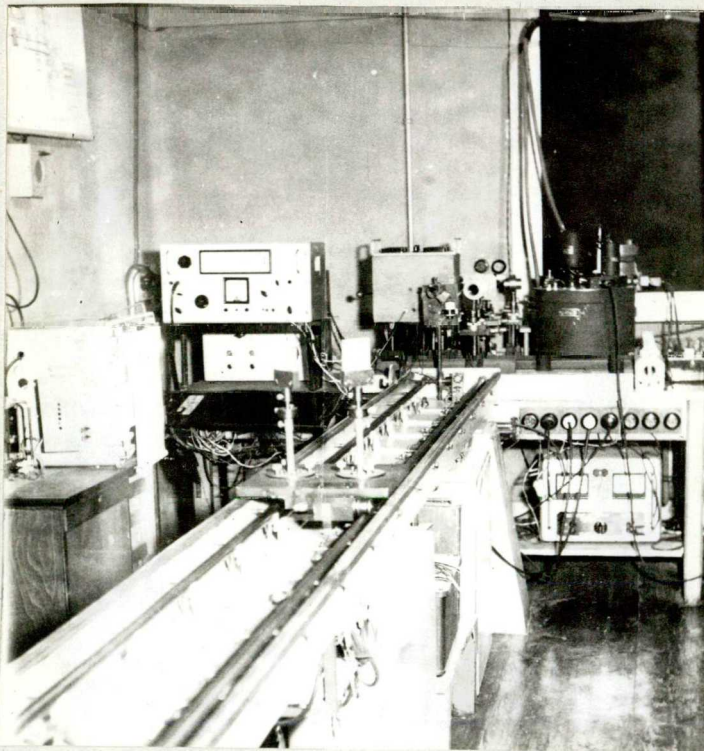
nsec nagyságrendű időket mérhetünk mind az "impulzus jel", mind a "harmonikus jel" módszerrel működő fluorométerekkel. Az impulzus jel módszer alapján működő fluorométerek nagy technikai felkészültséget igényelnek, a harmonikus jel módszerrel működő berendezések viszont csupán exponenciális csillapodás esetén alkalmazhatók. Utóbbiak közül a modulációs fluorométerek sokkal bonyolultabbak, kevésbé pontosak és ezért ritkábban használtak, mint a fázisfluorométerek. A fázisfluorométerek késleltető művonallal, RC fáziseltoló művonallal, második haladó ultrahang állóhullám vagy változtatható optikai uthossz segítségével építhetők meg. Ez utóbbi típusu fluorométer tekinthető a legpontosabbnak, legegyszerűbbnek, s több esetben az előbbieket is az ilyen típusu készülék felhasználásával hitelesítik. Így választásunk - a technikai adottságokra való tekintettel - erre esett.

Fluorométerünk lényegében a BAUER és ROZVADOWSKY /26/

által ismertetett elv alapján működik, ahhoz képest néhány, de nem jelentéktelen módosítást hajtottunk végre.

2. A készülék felépítése, működése

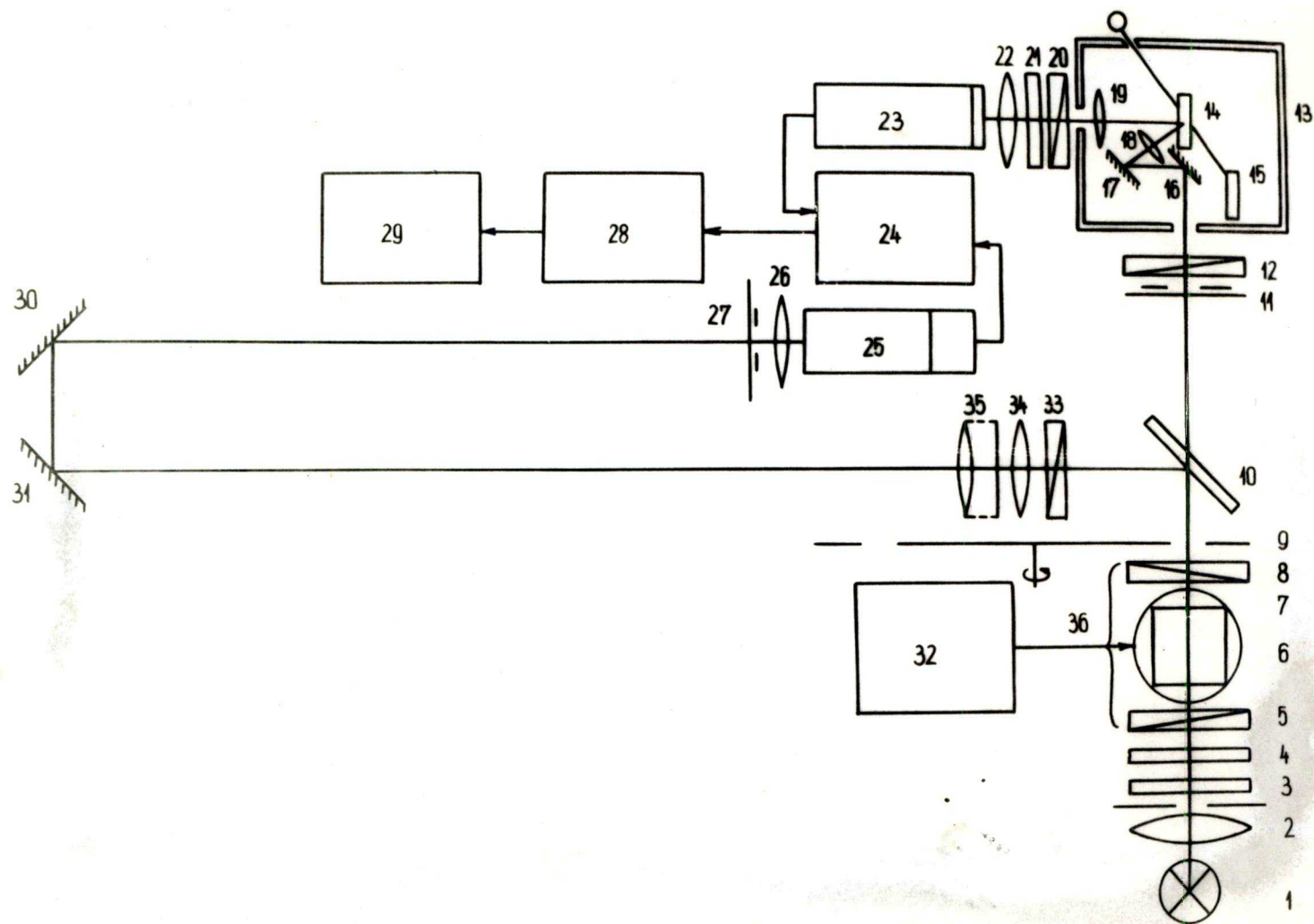
A készülék fényképét a 10. ábrán, blokksémáját a 11. ábrán mutatjuk be. Nagynyomású higanylámpa (HBO 500) szol-



10. ábra

gál gerjesztő fényforrással (1). Megfelelő optikai leképezés (2), infravörös sugarak szűrése (3), SIF interferenciás szűrővel történő közel monokromatikus fény előállítása (4) után a gerjesztő fény modulator egységen (36) halad át, amely kereszttezett polaroidok (5), (8) közé helyezett rezgő kvarcból (6), ill. a ráhelyezett

kvarchasábbból (7) áll. A rezgőkvarc saját frekvenciája 1,71 MHz; a harmadik felharmonikusán rezgetjük ultrahang-generátor segítségével. Az ultrahanggenerátor, amelynek



11. ábra

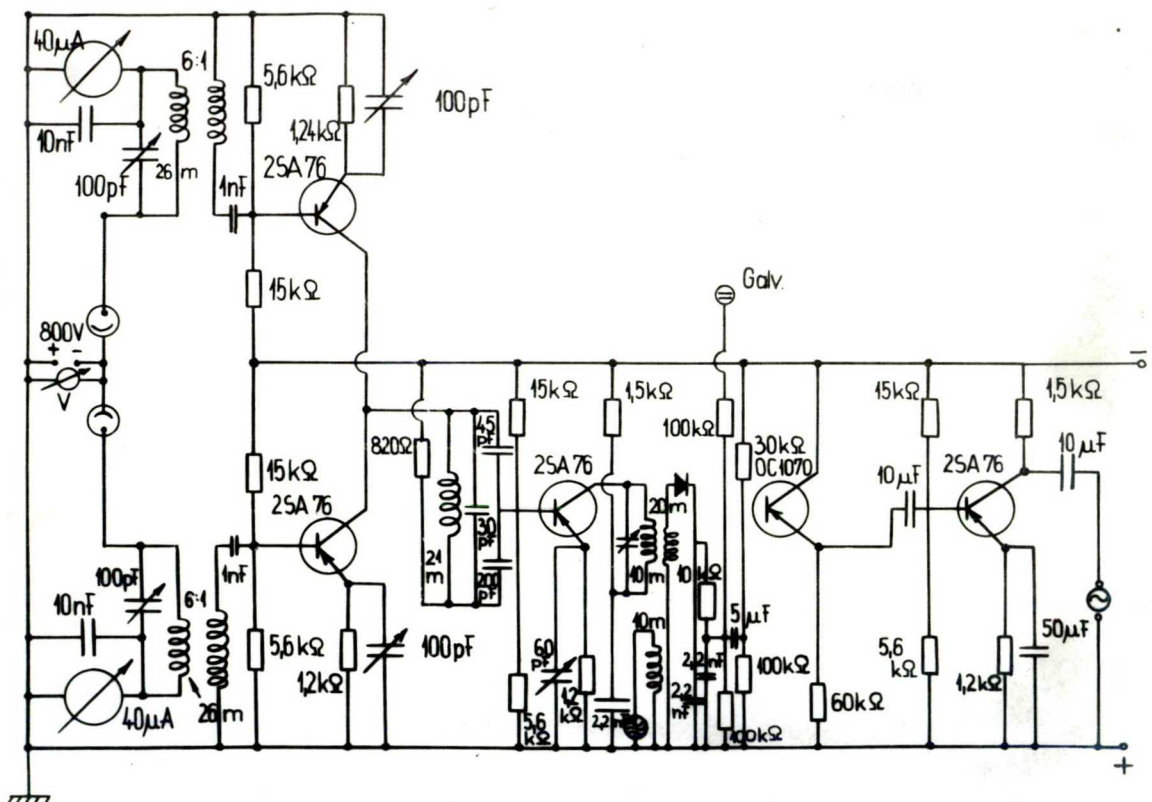
vezérosszcillátora egy módosított Clapp-oszcillátor, jobb mint 10^{-4} frekvenciastabilitással rendelkezik, tapasztalatunk szerint - a hőmérsékleti egyensúly beállása után - több óra-hosszán át nem változik észrevehetően; teljesítménye kb. 60 w. A kvarclemezre helyezett (olajcsatolással) ömlesztett kvarchasábban állóhullámok alakulnak ki 5,13 MHz frekvenciával - egyidejűleg a hasáb feszültségi kettőstörővé válik, tehát 10,26 MHz-cel modulált fény jut a polarodion (8) át. Méréseink szerint a moduláció 45 %-os. Ez nem túl magas, azonban nagy fényerővel rendelkezünk. (Nagyobb moduláció elérése végett célszerű lenne a rezgőkvarcot alapfrekvenciáján rezgetni. Sajnos, mi csak az említett 1,71 MHz-cessel rendelkezünk.) A mechanikus modulátor (9) arra szolgál, hogy hangfrekvenciás (kb. 1 KHz-cs) erősítést is alkalmazhassunk.

Egy síkpárhuzamos kvarclemez (10) két részre bontja a gerjesztő fényt. A reflektált fény a fénygyengítésre használt polaroidon (33), leképező lencsén (34) és a nagypontosságú párhuzamosítás biztosítására használt teleobjektiven (35) át tükrökre (31), (30) jut, ahonnan visszaverődve fényzáron (27) és leképező lencsén (26) keresztül esik egy EMI 9558 A típusú fotoelektronokszorozóra (25). (Továbbiakban A csatorna.)

A gerjesztő fény nagyobbik része fényzáron (11), polaroidon (12), tükrökön (16), (17), leképező lencsén (18) át követőre (14), vagy a helyébe tolható szóróközegre (15) - esetünkben vattára - jut.

A lumineszcencia, ill. a szírt fény leképező lencsén (19), (22), polaroidon (20) és a megfigyelésre használt szűrőn (21) keresztül jut egy fotoelektronsokszorozóra (23), amelynek típusa megegyezik az előzővel. (Továbbiakban B csatorna.)

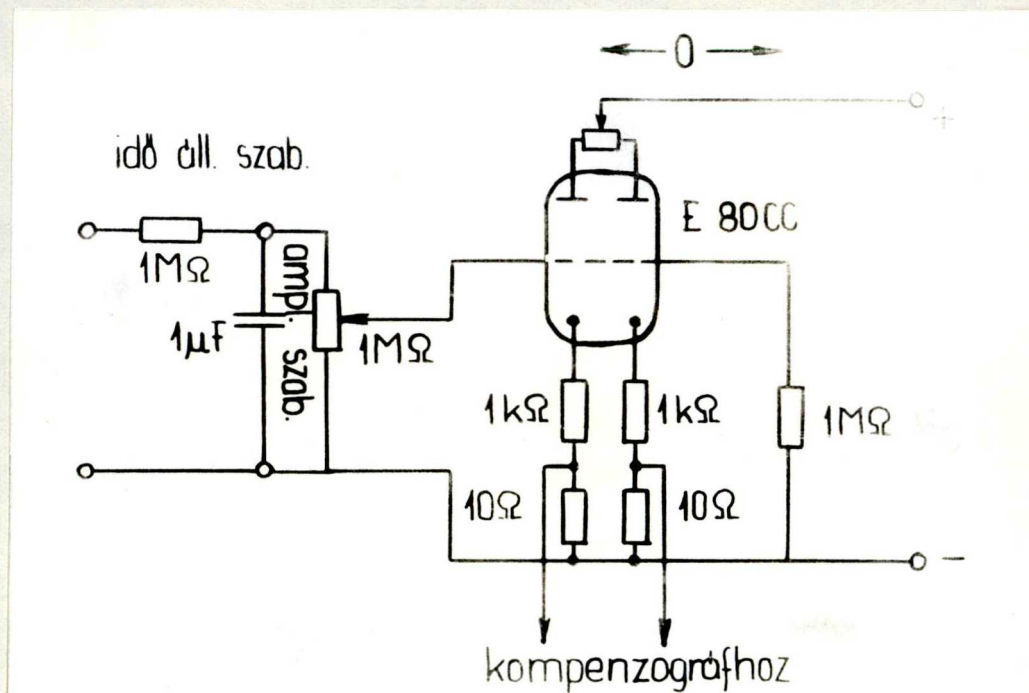
Mindkét fotoelektronsokszorozó anódja egy szelektív nagyfrekvenciás tranzisztoros differenciális erősítőhöz (24) csatlakozik (kapcsolási rajza a 12. ábrán látható),



12. ábra

amelynek a két bemenő jel között lévő fáziskülönbségtől függő kimenő feszültsége egy nagyfrekvenciás keskenysávú erősítőként használt hullámanalizátorba (28) jut. Utóbbi

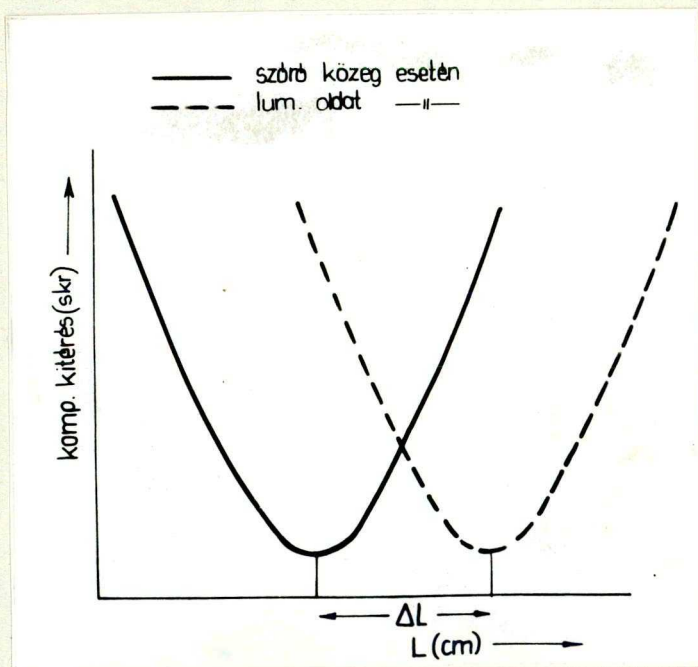
frekvenciája a mechanikus modulátor (9) frekvenciájára van hangolva. A hullámanalizátorhoz – megfelelő illesztés után, amelynek kapcsolási rajza a 13. ábrán látható – egy ЭП09 típusú kompenzográfot (29) csatolunk, amely felrajzolja a fáziskülönbségtől függő jelet.



13. ábra

Essék a 10,26 MHz-cel modulált gerjesztő fény a kivetta helyébe tett szóróközegre. Mivel A és B csatornák között fényut-különbség van, a fotoelektronsokszorozók jele között fáziskülönbség adódik, amelynek értéke – a sinen futó kiskocsra szerelt – tükrök (30), (31) helyzetétől függ. Kb. 1500 cm-es tükrörelmozdulással elérhető, hogy a két csatorna fáziskülönbsége π legyen. Ekkor minimális jelet kapunk. Ezen tükrőrhelyzettől jobbra-balra

elmozdulva, ún. "tükörgörbét" kapunk. A nagyfrekvenciás erősítő bemenő rezgőkörének megfelelő elhangolásával azonban az A és B csatorna közötti π fáziskülönbség a sinen mozgó kiskocsi tetszőleges helyzetében elérhető, így a tükrök elmozdulásának nagyságát más – elsősorban a kívánt mérési tartomány – határozza meg. Célszerű szóróküreg esetén a minimumot a sin első részére állítani úgy, hogy a tükörgörbe még felvehető legyen. Kaután a szóróküregot eltávolítva, a lumineszkáló oldatot tartalmazó küvettát helyezzük a gerjesztő fény útjába. A csillapodás miatt a kibocsátott lumineszcenciafény fáziskésést szenved, így az A és B csatorna közötti π fáziskülönbség, azaz a tükörgörbe minimuma a sinen mozgó kiskocsi más – távolabbi – helyzetében lesz. (14. ábra) Ezen minimumok közötti ΔL távolság ismeretében a lumineszkáló oldat átlagos csillapodási ideje meghatározható.



14. ábra

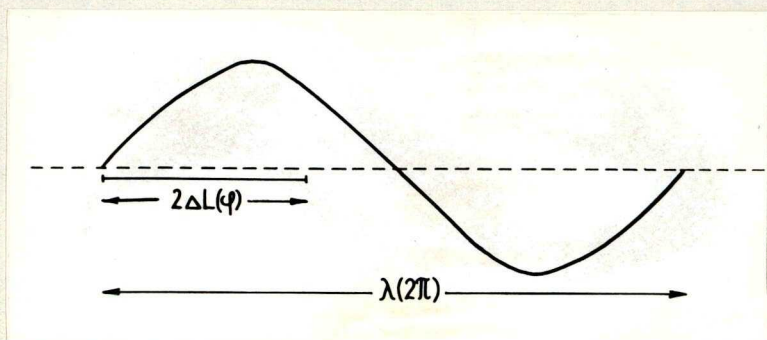
(4,1) szerint

$$\tau = \frac{\operatorname{tg} \varphi}{\omega}$$

ahol φ a tükörgörbe minimumának ΔL eltolódásához tartozó fáziskülönbség, ω a moduláló körfrekvencia. Ha a $\operatorname{tg} \varphi \approx \varphi$ közelítés alkalmazható, akkor

$$\tau = \frac{2\Delta L}{c}$$

ahol c a fény terjedési sebessége. Ezt bemutathatjuk a következőképpen. (15. ábra) A $2\Delta L$ -nek megfelelő valamilyen φ



15. ábra

fáziskülönbség, tehát

$$2\Delta L : \lambda = \varphi : 2\pi$$

ahonnan

$$\varphi = \frac{4\pi \Delta L}{\lambda} = \frac{4\pi \nu \Delta L}{c} = \frac{2\omega \Delta L}{c}.$$

Ezt behelyettesítve

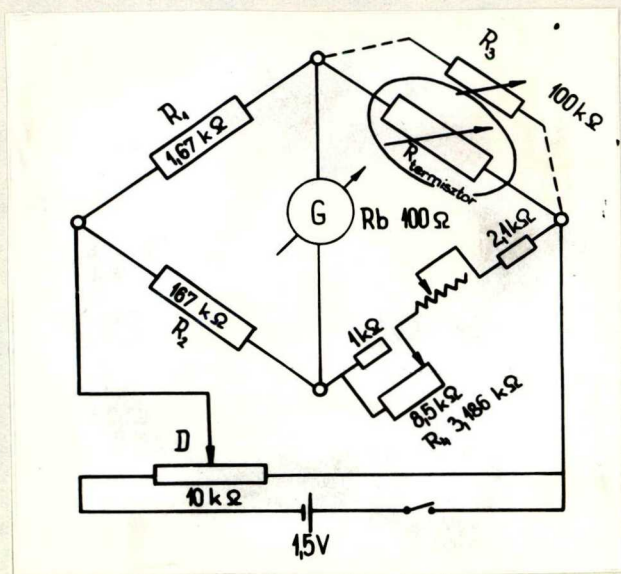
$$\tau = \frac{\operatorname{tg} \varphi}{\omega} = \frac{\operatorname{tg} \frac{2\omega \Delta L}{c}}{\omega}.$$

Ha $\operatorname{tg} \varphi \approx \varphi$ fennáll, nyerjük a már említett közelítő formulát: $\tau = 2\Delta L/c$.

Készülékünkkel lehetséges a gerjesztő fény elektromos vektorával párhuzamos, arra merőleges, ill. azaz tetszőlegesen szöget bezáró irányú megfigyelés. (Ezt a célt szolgálják a (12) és (20) polaroidok). A küvettát tartalmazó mérőtér (13) kettősfalu, ultratermosztáttal temperálható. Tükrök (16), (17) és lencse (18) révén a gerjesztő fényt a küvettára fókuszáljuk, majd lencse (19) segítségével $R = 0,8$ cm sugarú felületdarab megfigyelését alkalmassuk.

A hőmérsékletet egy precíziós Wheatstone-hídra épített 2 TT 2 típusú termisztorral mérjük /30/. A 16. ábrán látható kapcsolás megvalósításával elérhető, hogy bizonyos - beállítással szabályozható - hőmérséklet tartományban az alkalmazott 10^{-8} A érzékenységgű fénymérés

galvanométeren (típusa: MSZ 608) áthaladó áramerősség a hőmérséklettel egyenesen arányos legyen. Méréseink



16. ábra

során olyan beállítást alkalmaztunk, amelyből $0,1^{\circ}\text{C}$ hőmérsékletváltozás 10^{-3} A változást, azaz a galvanométer mutatójának 1 skk elmozdulását eredményezi.

A mérőter elrendezése lehetővé teszi a gerjesztő fény irányá-

val megegyező, azaz el-

lentétes és az arra merőleges irányu megfigyelést. Méréseink során a küvettára jutó gerjesztő fénynyaláb és a megfigyelés közötti szög kb. 20° . Így megvalósítjuk a szekunderlumineszcencia korrekció alkalmazásának feltételét. A fotoelektroncsokaszorozók közös feszültségét úgy állítjuk be, hogy a jel/szaj viszony maximális legyen. A kétfokozatú szelektív nagyfrekvenciás, ill. a keskeny sávú hangfrekvenciás erősítők alkalmazása nagymértékben csökkenti a szaj. Tekintettel a nagyfrekvenciás, 60 w-os adóra, nagyon fontos a nagyfrekvenciás erősítő árnyékolása, amit csak kb. 1 cm vastag vas, ill. réz burkolás biztosított.

A jó optika biztosítása végett "finom-beállítókat"

kellett alkalmaznunk, ill. hosszantartó, fáradságos munkával pontos beállítást kellett végeznünk a masszivitás követelményének is eleget tevő 400 cm hosszú sinen, amelyen a tükröket mozgató kiskocsi gurul.

A kompenzográf a sinen futó kiskocsi helyzetének függvényében rajzolja fel a jelet. A kocsit motor mozgatja egyenletesen, és a papirtekercs mozgatása is egyenletes. Ezért a kocsi helyzetének a papirtekercsen való megjelölésére egy marker-kört építhettünk, amely a kocsi helyzetét $\pm 0,2$ cm hibával jelzi.

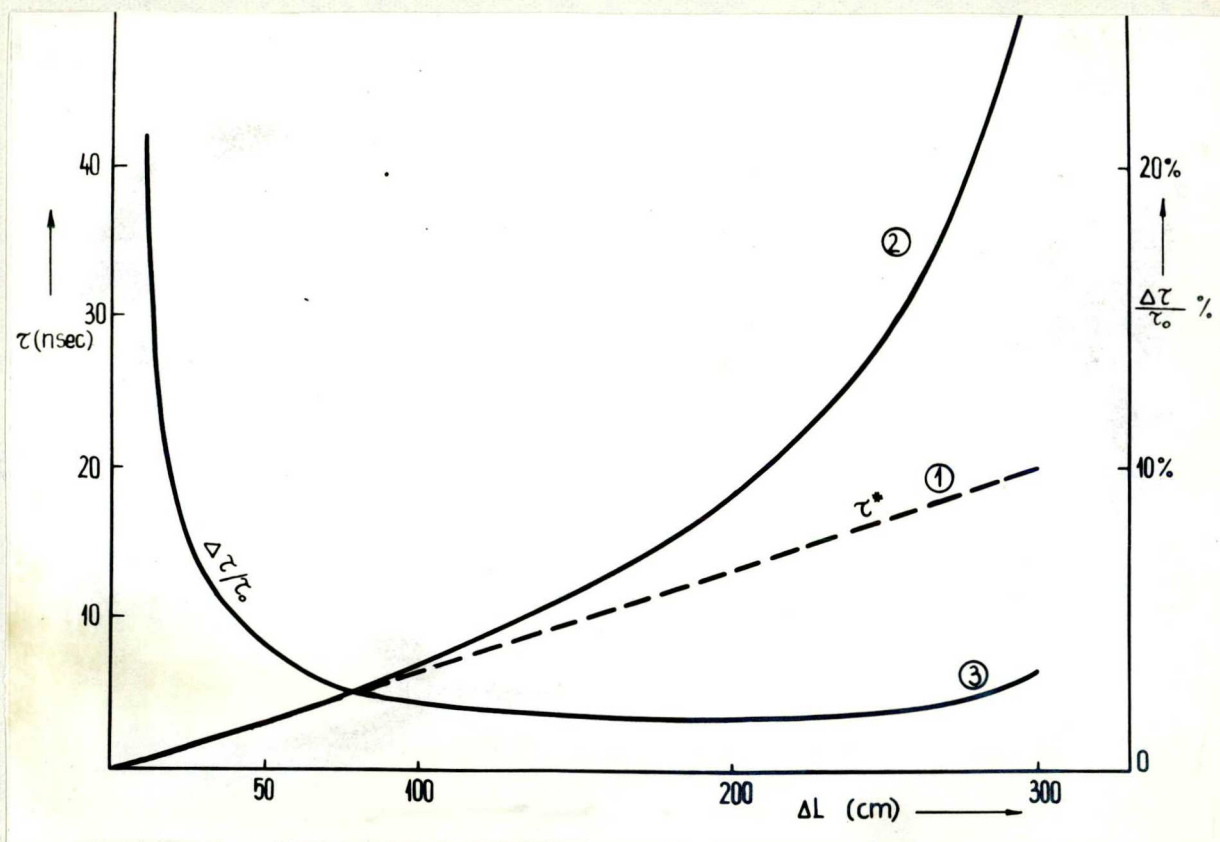
Arra törekedtünk, hogy az adott technikai lehetőségekben belül egyszerűvé tegyük a készülék kezelését. És bár az egyik legegyszerűbb fluorométer típust választottuk, méréseket, amelyek az elrendezésből adódó nehezen megvalósítható teljes fényárnyékolás hiánya miatt félhomályban történnek, mégis csak a készüléket alapos részletességgel ismerő személy végezhet. Előkészítés, beállítás után egy tükrögörbe felvétele - a fényintenzitástól függően - néhány perc.

Az oldatok fluoreszcenciája csillapodási idejét legalább két különböző küvetta töltéssel vizsgáltuk, minimálisan négyszer ismételve egy töltés esetén a lumineszcencia és a szórt tükrögörbék felvételét. A készülék hitelesítő vizsgálataihoz és a disszetációban bemutatott egyéb mérési eredményekhez több mint tízezer tükrögörbe felvétele és értékelése volt szükséges. A tükrögörbe minimumának meghatározása a papirtekercs összehajtásával, ill. a kocsi

helyzetét mutató jelek segítségével egyszerűen 0,1 cm beosztású vonalzóval történik.

3. A készülék teljesítőképessége, alkalmazásának korlátai

Mérési tapasztalataink szerint a szórt és a lumineszcencia tükrögörbe minimumainak ΔL távolságot ± 1 cm, egyen-
ge fényintenzitásoknál ± 2 cm pontossággal határozhatjuk meg. Ebből következik, hogy a legkisebb időtartam, amely még mérhető, kedvező fényintenzitás esetén kisebb mint 10^{-10} sec. Ekkor azonban nagyon pontatlan a mérésünk. Ez látható a 17. ábrából is, ahol a cs-ekben megadott ΔL



17. ábra

függvényében ábrázoltuk az átlagos csillapodási időt (①, ② görbe), ill. a $\frac{\Delta\tau}{\tau}$ relatív hibát (lásd (4,3) összefüggést) százalékban (③ görbe). Ez utóbbi arra az esetre vonatkozik, ha a ΔL meghatározása ± 1 cm pontossággal történik. A ②-es görbe a $\tau = \frac{t_{99}}{\omega}$, a ①-es a $\tau = \frac{2\Delta L}{c}$ egyenletekből nyerhető átlagos csillapodási idő értékeket tartalmazza.

Az a maximális időtartam, amelyet még mérni tudunk, kb. 30 nsec. Fluorométerünk nemcsak szerves festékek oldatai lumineszcenciája átlagos élettartamának mérésére alkalmas, hanem más anyagok átlagos csillapodási idejének meghatározására is, ha a kibocsátott fényintenzitás exponenciális lecsengésű és a csillapodási idő a készülék mérési tartományába esik. A gerjesztő fényt moduláló frekvencia megválasztásával elérhető, hogy az egy-két nsec csillapodási időket is kisebb relatív hibával lehessen mérni.

Jelen időben az alkalmazott polaroidok ultraibolya fényre nézve csekély áteresztőképessége miatt 3650 Å alatti gerjesztést nem tehetünk. A közeljövőben, az ultraibolyában is áteresztő polaroidok beszerzése révén ez megoldódik. Az alkalmazott fotosokszorozók érzékenysége széles tartományban, egészen a 8000-9000 Å-ig elnyulik.

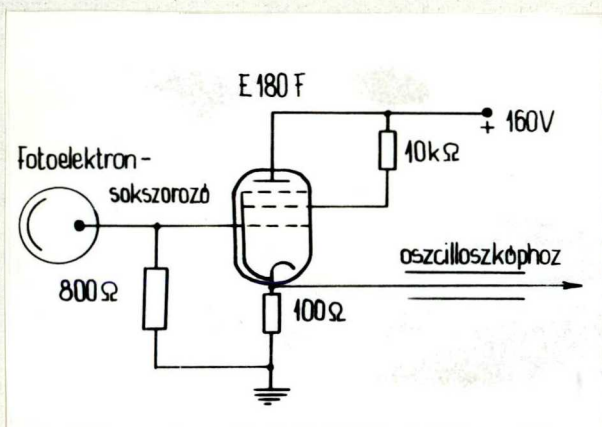
Hátránya e készüléknek, hogy csak exponenciális csillapodás esetén alkalmazható. Vannak módszerek, amelyekkel bizonyos esetekben eldönthető, hogy ez a csillapodási tör-

vény teljesül-e, ill. amelyekkel speciális esetekben az exponenciálistól eltérő csillapodás átlagos élettartama is meghatározható (pl. viszkózus oldatoknál). Nem előnyös a készülék viszonylag nagy helyigényessége és hogy a fény-árnyékolási problémák megoldatlansága miatt félhomályban kell végezni a méréseket. Hiányossága még készülékünknek, hogy nem lehet tetszőleges hullámhosszu monokromatikus gerjesztő fényt alkalmazni, ill. monokromatikusan megfigyelni. A mi fluorométerünk nem vethető össze az impulzus jel módszerrel működő fluorométerrel ama szempontból, hogy ott közvetlenül látható, elemezhető a csillapodás folyamata is.

VI. Kísérleti viszonylatok

1. Modulációs-mélység mérése

A készülék felépítését szemléltető 11. ábrán a (36) jelű modulátor-egység optikai beállításra érdekében /27/ szerint az alábbi módon jártunk el. Egy wolframszálas izzólámpa párhuzamos fénynyalábját átbocsátottuk a modulátoregységen és a mechanikus modulátoron (9). Az innen kilépő nagy- és hangfrekvenciával modulált fényt egy RCA 931 típusú fotoszokszorozó katódjára ejtettük. A sokszorozóban létrejövő nagy- és hangfrekvenciás fotoáramot katódkövető közebeiktatásával egy EMI 1589-U-1 típusú nagyfrekvenciás oszcilloszkóppal indikáltuk (18. ábra). A mo-



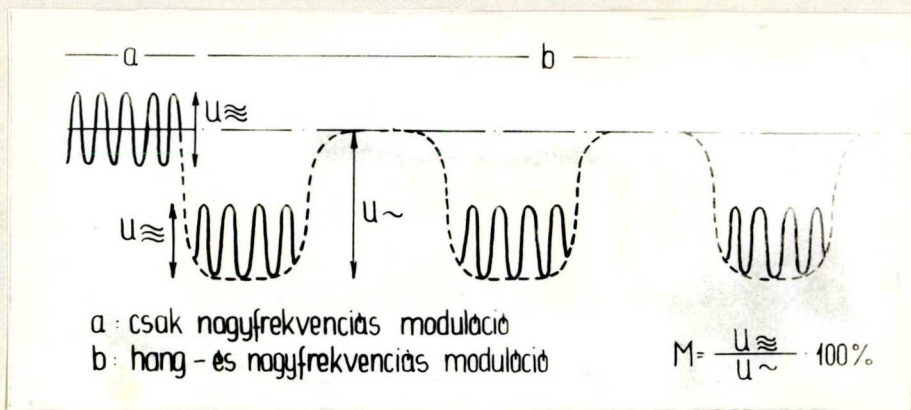
18. ábra

a 19. ábrán vázoljuk.)

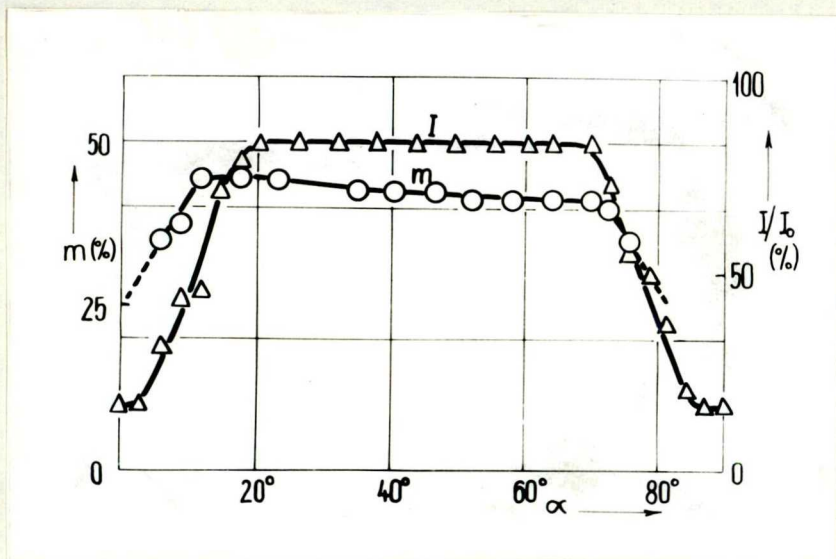
A 20. ábrán m-el jelölt görbén a mért a modulációs-mélység β -os értéke a modulátor-egység második polaroid

dulációs-mélységet az $u \approx$ nagyfrekvenciás és az $u \sim$ hangfrekvenciás amplitudók hányadosa adja. A hangfrekvenciás amplitúdó egyúttal arányos a modulált fény intenzitásával. (Az oszcilloszkóp ernyőjén látható képet





19. ábra



20. ábra

szűrője (6) rezgési síkjának a hasábjában (7) létrejövő ultrahang állóhullám normálisával bezárt φ szöge függvényében. Az I jelzésű görbe az említett módon mért modulált fény relatív intenzitását ábrázolja, ugyancsak a φ szög függvényében. Mindkét görbe menete lapos maximumot mutat.

Ez lehetőséget nyújt arra, hogy a második polaroidot minél kisebb φ szög alatt állítsuk be (21°). Ez azért fontos, mert ez esetben a mérőtér előtt elhelyezett függőleges rezgésirányú polaroid (12) minimálisan csökkenti a gerjesztő fény intenzitását. A (12) polaroid használata szükséges, mivel a mérőtérben lévő függőleges helyzetű tükrök (16), (17) csak a vertikális elektromos vektoru lineárisan poláros gerjesztő fény síkját nem forgatják el.

2. Szórt fény-korrekcio

A mérőtér tartozékairól, a küvetta faláról, s az oldatról visszaverődő gerjesztő szórt fény – különösen kis lumineszcencia-intenzitásoknál – csökkenti a gerjesztő és lumineszcenciafény közötti fáziskülönbséget, így a valóságosnál kisebb τ értéket mérünk. Ezért ha a szórt fény számottevő, a mérési eredményt korrigálni kell. Többek között Boncs-Brujevics /17/, valamint METCALF és munkatársai /28/ foglalkoztak ezen körülmény vizsgálatával. Megadott formuláik csak látszólag, ill. csekély mértékben térnek el egymástól. Az irodalomban ezek a legelterjedtebbek. Boncs-Brujevics /17/ szerint

$$\varphi = \varphi_p + \arcsin \frac{\sin \varphi_p}{\sqrt{1 + F^2 - 2F \cos \varphi_p}},$$

ahol φ a valóságos, φ_p a mért fáziskülönbség, F a lumineszcencia + szórt fénynek és a szórt fénynek az intenzitás-hányadosa. Metcalf és munkatársai /28/ közvetlenül a $\Delta\tau$ időtartam csökkentést adják meg:

$$\Delta\tau = \frac{\tau_0}{F \cdot \cos\varphi_p - 1},$$

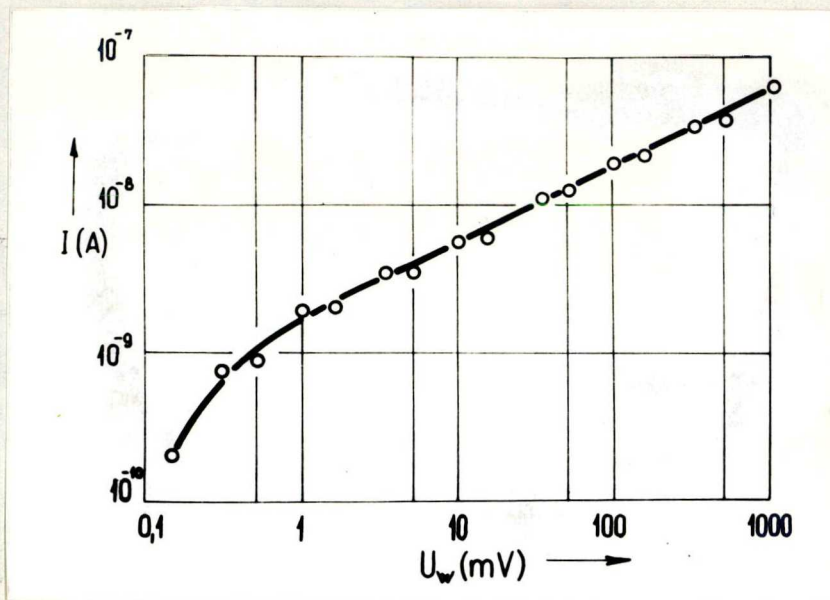
ahol τ_0 a mért csillapodási idő. Eme formulákat elemeztük és azt tapasztaltuk, hogy a megfelelőségükön túl néhány tizednyi százalék eltéréssel ugyanazt a korrekciót kapjuk eredményül, ha a

$$\tau = \frac{\tau_0}{1 - \frac{1}{F}}$$

formulát alkalmazzuk, ahol τ a valóságos csillapodási idő. Méréseink során ezt alkalmaztuk.

3. A készülék erősítőinek hitelesítése

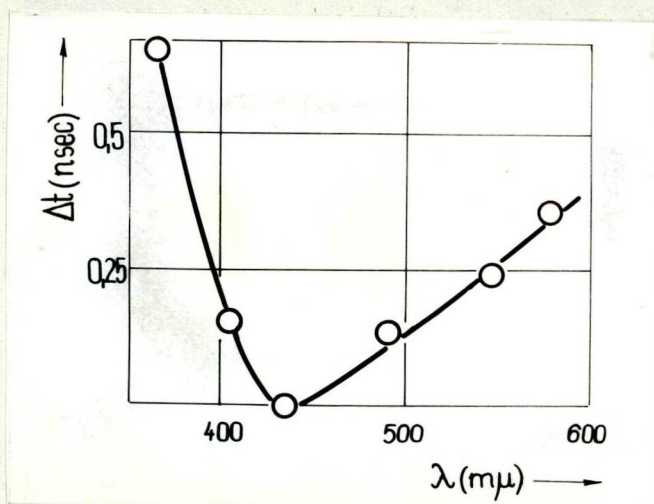
A kis lumineszcenciafény intenzitásoknál, mint említettük, a szórt fény jelentősen csökkenti a mért csillapodási időt. Ezt a fentebb tárgyaltak szerint korrekcióba kell venni. Ehhez a szórt fény korrekcióhoz szükséges ismerni a szórt fény és a lumineszcenciafény intenzitás viszonyát. A készülékünk kimenetén megjelenő jel az erősítők nem lineáris karakterisztikája miatt nem arányos nagysága a sokszorozó fotokatódjára jutó fényintenzitással. Ezért fontos ismerni a hullámanalizátorból kijövő U feszültség és a sokszorozó I_m fotoárama közötti összefüggést. Ezt mutatja a 21. ábra kétszer logaritmikus léptékben.



21. ábra

4. Egyéb hatások figyelembevétele

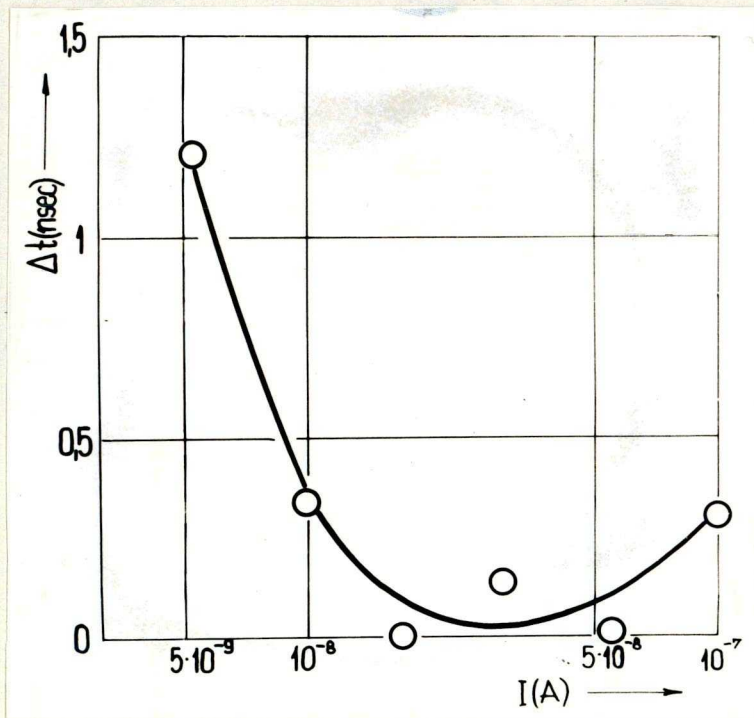
A IV. fejezetben említettük, hogy a fotoelektron-szorzók elektronátfutási ideje, amely nsec nagyságrendű, függ a fotokatódra eső fény hullámhosszától [13], [17].



22. ábra

A 22. ábra ama fotoelektron-szorzók elektronátfutási idejének a hullámhossztól függő - külön mérés-sorozattal megállapított - relatív megváltozását mutatja, amelyre a lumineszcencia-, ill. a szórt gerjesztő fény jut. Mivel a

gerjesztő fény és a megfigyelt lumineszcenciafény súlyponti hullámhossza különböző, a mért csillapodási időt a 22. ábra alapján mindig korrigálni kell.



23. ábra

megváltozását ábrázoltuk. Készülékünkön a lumineszcenciafény és a szórt gerjesztő fény intenzitásának egyenlőségét τ mérésénél fénygyengítők alkalmazásával általában könnyen biztosítani tudjuk, ezért az esetek többségében nem kell a 23. ábra diagramja alapján végezhető korrekciót alkalmaznunk.

A 23. ábra szóróküszeg esetében különböző fényintenzitásokkal végzett mérések eredményeit mutatja. A fotoelektroncskenőrozóra jutó fényintenzitással arányos fotoáram I átlagértékének függvényében az elektronátviteli idő relatív

VII. Praktikus korrekciós eljárás a szekunderlumineszcencia csillapodási időre gyakorolt hatásának figyelembevételére

Amint azt a III. fejezetben tárgyaltuk, a valódi csillapodási idő (τ) és a mért csillapodási idő (τ') között a következő összefüggés áll fenn:

$$\tau' = \frac{\tau}{1 - \kappa} \quad (7.1)$$

ahol κ a szekunder és primer fluoreszcencia-intenzitások hányadosa. Ennek kiszámítása azonban nemcsak fáradságos, hanem szükséges hozzá abszorpciós és emissziós szinkép, valamint lumineszcencia kvantumhatásfoka. Ezért a /31/-ben megadottak szerint, bizonyos egyszerűsítő feltételek mellett, a valódi polarizációs fok /32/-ben megadott kiszámításához hasonló eljárással olyan módszert lehet megadni a valódi csillapodási idő kiszámítására, amelyhez nem szükséges ismernünk a többi lumineszcencia-jellemzőt, hanem csupán három, különböző, eléggé kicsiny l rétegvastagság mellett kell a τ' értékeket megmérnünk.

A rétegvastagságokat úgy kell megválasztanunk ennél az eljárásnál, hogy κ sem α -tól, sem pedig β -tól ne függjön észrevehető mértékben.

Ha ebben az esetben κ -t a γ növekvő hatványai szerint sorba fejtjük, egyszerű, de hosszadalmas számítás után a következő kifejezést nyerjük:

$$\kappa = -\frac{1}{2} \left[\bar{y} \left(\ln m + \frac{3}{2} \right) - \bar{y}^2 \left(m - \frac{1}{3} \right) + \frac{\bar{y}^3}{2 \cdot 2!} \left(m^2 - \frac{1}{6} - \dots \right) \right], \quad (7.2)$$

ahol a felülvonással jelzett átlagérték a

$$\bar{y}^k = \int_0^{\infty} \eta(\lambda') f(\lambda') y^k d\lambda'$$

integrállal fejezhető ki; a sorfejtésre vonatkozólag lásd pl. /33/-t.

Ebből a kifejezésből a κ -nak az l rétegvastagságtól való függését közvetlenül megkapjuk, ha az $m = R/l$ (R a közel pontszerű gerjesztés esetén a mérőberendezés fényérzékelője által megfigyelt körfelület sugara) összefüggést behelyettesítjük a (7.2) egyenletbe

$$\kappa = l \left(\frac{\bar{k}_\lambda}{2} \ln R + \frac{3}{4} \bar{k}_\lambda - \frac{1}{2} \bar{k}_\lambda^2 R + \frac{1}{8} \bar{k}_\lambda^3 + \dots \right) - l \ln l \left(\frac{\bar{k}_\lambda}{2} + \frac{1}{6} \bar{k}_\lambda^2 - \frac{l^3}{48} \bar{k}_\lambda^3 + \dots \right). \quad (7.3)$$

Ha az l^2 -et és az l magasabb hatványait tartalmazó tagokat kicsiny l rétegvastagság esetén (pontosabban szólva a (7.2)-ben szereplő $\bar{y}^2/6 = (\bar{l} k_\lambda')^2/6$ tagot és a l magasabb hatványainak középértékeit tartalmazó tagokat) elhanyagoljuk, akkor

$$\kappa = l f_1(R, k_\lambda) - l \ln l f_2(k_\lambda) \quad (7.4)$$

kifejezést nyerjük, ahol

$$f_1(R, k_\lambda) = \frac{\bar{k}_\lambda}{2} \ln R + \frac{3}{4} \bar{k}_\lambda - \frac{1}{2} \bar{k}_\lambda^2 R, \quad \text{és} \quad f_2(k_\lambda) = \frac{\bar{k}_\lambda}{2}.$$

Mivel $\tau = \tau'(1 - \kappa)$, ezért

$$\tau = \tau' (1 - l f_1 + l \ln l f_2),$$

ahonnan

$$\tau' = \frac{\tau}{1-\kappa} = \frac{\tau}{1-lf_1+l\ln l f_2},$$

azaz

$$\frac{1}{\tau'} = \frac{1}{\tau} - l \frac{f_1}{\tau} + l \ln l \frac{f_2}{\tau} = \frac{1}{\tau} + lF_1 + l \lg l F_2, \quad (7,5)$$

ahol

$$F_1(=F_1(R, k_{\lambda}, \tau)) = -\frac{f_1}{\tau}; \quad F_2(=F_2(k_{\lambda}, \tau)) = 2,3026 \frac{f_2}{\tau}.$$

A három ismeretlent (τ , F_1 , F_2) tartalmazó (7,5) egyenlet alapján a minket érdeklő τ valódi csillapodási idő meghatározható, ha három különböző rétegvastagság (l_1 , l_2 , l_3) mellett mért csillapodási idő (τ'_1 , τ'_2 , τ'_3) felhasználásával felírjuk a következő háromismeretlenes inhomogén lineáris egyenletrendszert:

$$\left. \begin{aligned} \frac{1}{\tau'_1} &= \frac{1}{\tau} + l_1 F_1 + l_1 \lg l_1 F_2 \\ \frac{1}{\tau'_2} &= \frac{1}{\tau} + l_2 F_1 + l_2 \lg l_2 F_2 \\ \frac{1}{\tau'_3} &= \frac{1}{\tau} + l_3 F_1 + l_3 \lg l_3 F_2 \end{aligned} \right\}; \quad (7,6)$$

ebben számítástechnikai szempontok miatt a tizes alapu logaritmusra térünk át.

(7,6)-ból a τ valódi csillapodási idő meghatározható.

$$\tau = \begin{vmatrix} 1 & l_1 & l_1 \lg l_1 \\ 1 & l_2 & l_2 \lg l_2 \\ 1 & l_3 & l_3 \lg l_3 \end{vmatrix} : \begin{vmatrix} \frac{1}{\tau'_1} & l_1 & l_1 \lg l_1 \\ \frac{1}{\tau'_2} & l_2 & l_2 \lg l_2 \\ \frac{1}{\tau'_3} & l_3 & l_3 \lg l_3 \end{vmatrix},$$

vagy kifejtve a determinánst

$$\tau = \frac{l_2 l_3 l_1 g \frac{l_3}{l_2} + l_3 l_1 l_2 g \frac{l_1}{l_3} + l_1 l_2 l_3 g \frac{l_2}{l_1}}{\frac{1}{\tau_1} l_2 l_3 l_1 g \frac{l_3}{l_2} + \frac{1}{\tau_2} l_3 l_1 l_2 g \frac{l_1}{l_3} + \frac{1}{\tau_3} l_1 l_2 l_3 g \frac{l_2}{l_1}} . \quad (7,7)$$

A fenti kifejezés a γ négyzetes és magasabb hatványai középértékének elhanyagolása miatt az általános esetben elvileg csak $\gamma_{\max} (= k_{\lambda \max} \cdot 1) < 1$ esetén adja meg egy-két százaléknyi pontossággal a valódi τ értéket, de gyakorlati számítások szerint a spektrumok átfedésének erős volta esetében is az adódik, hogy ez a felső korlát

$\gamma_{\max} = 3$ -ig kitolódik.

A fenti szekunderlumineszcenciás korrekciót természetesen csak azon esetekben kell elvégezni, amikor az abszorpció és emissziós spektrumok jelentősen átfedik egymást, és a hatások nem túl kicsiny.

VIII. Kisérleti vizsgálatok, mérési eredmények

1. A vizsgált oldatok kiválasztásának szempontjai

Mindenekelőtt olyan oldatok csillapodási idejének mérését terveztük, amelyeket már számos kutató tanulmányozott, hogy így módunkban legyen minél biztosabb összehasonlítást tenni az általunk alkalmazott módszerrel nyert eredményeket illetően. Ilyen oldatok pl. a fluoreszcein, a rodamin B, az eozin stb. oldatai.

Tekintettel arra, hogy a disszertáció témája a csillapodási idő vizsgálatával kapcsolatos, lehetőség szerint olyan oldatokat választottunk, amelyek abszorpciós és emissziós szinképe, valamint hatásfoka ismeretes. Eme fluoreszcencia-jellemzők ugyanis a α számításához szükségesek.

Avégett, hogy minél jobban és minél sokoldalubban megismerhessük, ill. ellenőrizhessük fluorométerünket, a fentiekkel összhangban úgy választottuk meg a vizsgálandó oldatokat, hogy a csillapodási idők átfogják készülékünk mérési tartományát ($1 \cdot 10^{-10}$ - $3 \cdot 10^{-8}$ sec).

Szempont volt az is, hogy legyenek az oldatok között olyanok, amelyek spektrumai jelentős mértékben átfedik egymást és amelyek kvantumhatásfoka közel egységnyi, (a szekunderlumineszcencia hatása ez esetben a legnagyobb), továbbá az, hogy legyenek olyan oldatok is, amelyeknél vagy elhanyagolható mértékű az átfedés, vagy néhány tized-

nél kisebb a kvantumhatásfok. (Ekkor a szekunderlumineszcencia hatása a mérési hibahatáron belül várható.)

Az anyagokat a szokásos kémiai úton tisztítottuk. Ez alól kivételt képeznek az extrémálisan kicsiny koncentrációjú oldatok, ahol nagyon körültekintő munkával tudtuk csak - többé-kevésbé - megközelíteni a kívánt tisztaságot.

2. Ellenőrző mérések a hőmérsékletre és a megfigyelési hullánghosszra vonatkozóan

A fluoreszkáló anyagok hőmérsékletének emelkedése az un. hőmérsékleti kioltást és az átlagos csillapodási idő csökkenését eredményezi. Ez elsősorban a poláros lumineszcencia esetén jelentős, ezért glicerines oldatoknál 0,1 % pontosságú temperálást biztosítottunk.

Ha az oldószer alkohol, ill. víz, akkor a τ hőmérsékletfüggése, a szobahőmérséklet tartományában, a mérési hibán belül van. Példaként bemutatjuk a fluoreszcein vizes oldatán végzett ellenőrző mérésünket az I. táblázatban.

I. táblázat

10^{-4} mol/l Fluoreszcein H_2O , 1 % NaOH ($l = 1$ cm)

t (°C)	20	30	40	50
τ (nsec)	5,05	5,13	5,02	5,10

(A közölt τ értékek nincsenek szekunderlumineszcenciára korrigálva. A fenti vizsgálat szempontjából ez nem szükséges, mert τ gyakorlatilag nem függ a hőmérséklettől a fenti tartományban.) Alkoholos és vizes oldatoknál tehát nem temperáltunk, a méréseket 25-30°C körüli hőmérsékleten végeztük.

Az irodalomban csupán néhány esetben található utalás arra, hogy változik-e a fluoreszcencia átlagos csillapodási ideje a gerjesztő fény hullámhosszával. Ez a probléma önmagában is érdekes, különösen az antistokesi gerjesztés tartományában. De meg kell vizsgálni a kérdést a mérési metodika szempontjából is. Alkoholos fluoreszcein oldatra végeztünk ilyen irányban méréseket, s azok eredményeit a II. táblázatba foglaltuk.

II. táblázat

10^{-3} mol/l koncentrációju alkoholos fluoreszcein oldat átlagos csillapodási ideje, a gerjesztő fény hullámhosszát változtatva. A csillapodási idők szekunderlumineszcenciára korrigált értékek

λ (m μ)	436	491	546
τ (nsec)	3,42	3,51	3,48

Eredményül a /13/ és a /29/ közleményel megegyezésben az adódik, hogy a τ nem függ a gerjesztő fény hullámhosszától.

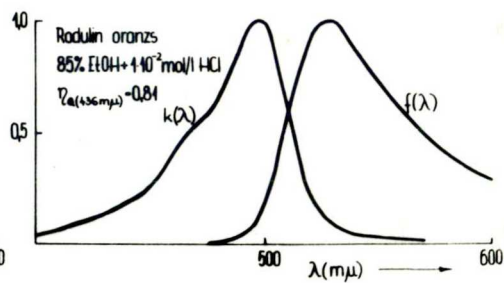
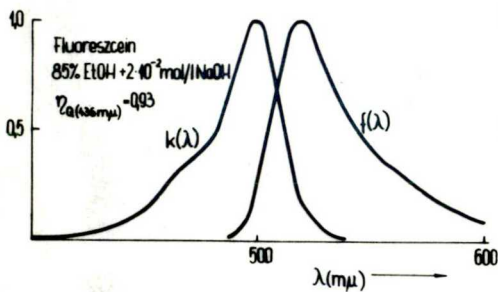
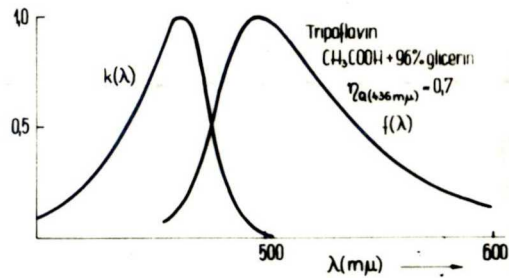
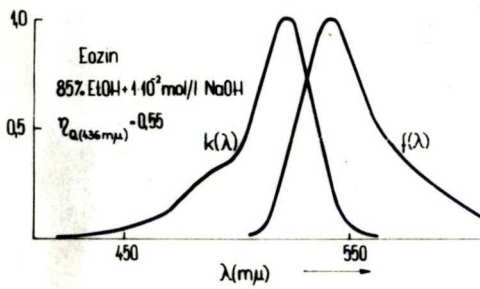
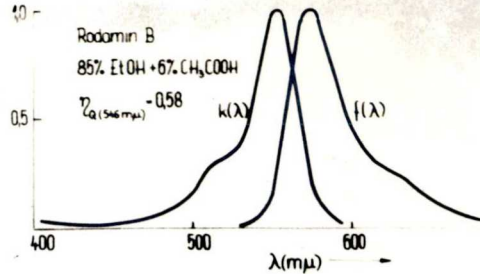
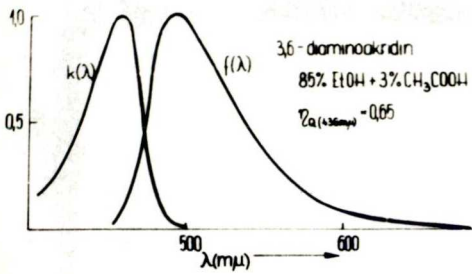
3. a) A szekunderlumineszcencia hatása a csillapodási időre
ama oldatoknál, amelyeknél az emissziós és abszorpciós spek-
trumok nagymértékben átfedik egymást és a kvantumhatásfok
közel egységnyi

A fluoreszkáló oldatok csillapodási idejére nincs un. "irodalmi" adat. A különböző szerzők mérési eredményei igen nagy százalékos eltérést mutatnak. Ennek illusztrálására bemutatjuk a III. táblázatban az egyik legtöbbet tanulmányozott szerves fluoreszkáló festékre, a fluoreszceinre vonatkozó mérési adatokat. A táblázat összeállításakor - a terjedelem korlátozottságától eltekintve - nem végeztünk semmiféle szelektálást. A rendelkezésünkre álló közleményekből csupán ama nagy ($c > 5 \cdot 10^{-3}$ mol/l) koncentrációkat hagytuk el, amelyeknél már fellép a koncentrációs kioltás. Az oldószerrel függ ugyan a csillapodási idő, mégis azért gyűjtöttük össze együtt az alkoholos, vizes és glicerines fluoreszceinre vonatkozó mérési eredményeket, mert a τ mérés pontatlansága miatt gyakorlatilag nem mutatkozik az oldószerhatás. (Hasonló táblázat adható meg sok más festékoldataira is.)

A 24. ábrán a fluoreszcein, rodamin B, 3,6-diaminoakridin, eozin, tripaflavin és a rodulin oranza relatív $k(\lambda)$ abszorpció, relatív $f(\lambda)$ emissziós spektrumát mutatjuk be illusztráció szándékkal és feltüntetjük az abszolút kvantumhatásfok értékét is. Ezek a fluoreszcencia-jellemzők módosulhatnak az oldó-

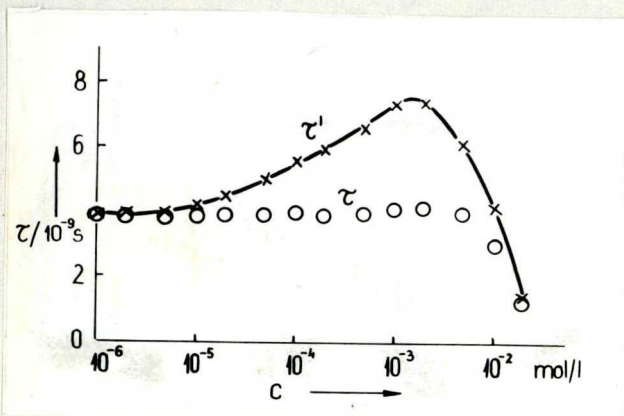
III. táblázat

Oldószer	Koncentráció	Rétegvast. cm	Fluorométer típusa	τ nsec	Szerző	Évszám
H ₂ O	$17-66 \cdot 10^{-4} \text{ g/cm}^3$	1	fázis	5,07	Szymanowski	1935
"	10^{-4} mol/l	-	"	4,50	Boncs-Bruevics	1956
"	10^{-5} mol/l	1	impulzus	4,8	Bennett	1960
"	10^{-4} mol/l	0,001	"	3,9	Röllig	1966
"	10^{-4} g/cm	-	fázis	3,5	Venetta	1959
"	$3 \cdot 10^{-4} \text{ mol/l}$	0,8	"	5,5	Galanin	1960
"	$3 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$	0,004	"	4,2	Galanin	1960
"	10^{-4} g/cm^3	-	"	4,5	Bailey-Rollefson	1955
"	10^{-4} mol/l	-	"	6,3	Rohatgi	1961
"	$2 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$	kicsiny	"	3,6	Schmillen	1953
"	10^{-3} mol/l	1	impulzus	6,7	Bennett	1960
"	10^{-6} mol/l	igen kicsiny	fázis	3,83	Miller et al.	1963
EtOH	-	-	"	5,07	Szymanowski	1935
"	$2 \cdot 10^{-4} \text{ g/cm}^3$	1	"	5,5	Galanin	1950
"	10^{-5} g/g	1	"	4,45	Bauer	1963
"	10^{-4} mol/l	-	"	6,57	Rohatgi	1961
Glicerín	$1,15 \cdot 10^{-4} \text{ g/cm}^3$	1	"	5,13	Szymanowski	1935
"	$3 \cdot 10^{-4} \text{ mol/l}$	0,02	"	4,0	Galanin	1950
"	10^{-4} mol/l	1	"	4,18	Hevesi et al.	1965



szernek megfelelően (a kioltástól eltekintünk), azonban az oldószertől függetlenül, valamenyi oldat közös jellemzője az, hogy nagy a szinképek közötti átfedés és a kvantumhatásfok közel 1.

A vizes fluoreszcein oldat csillapodási idejének az oldat koncentrációjától való függését vizsgálta - többek között - SCHMILLEN /34/ állandó rétegvastagság ($l = 1$ cm) mellett. Mérési eredményeit a 25. ábrán τ' -vel jelzett

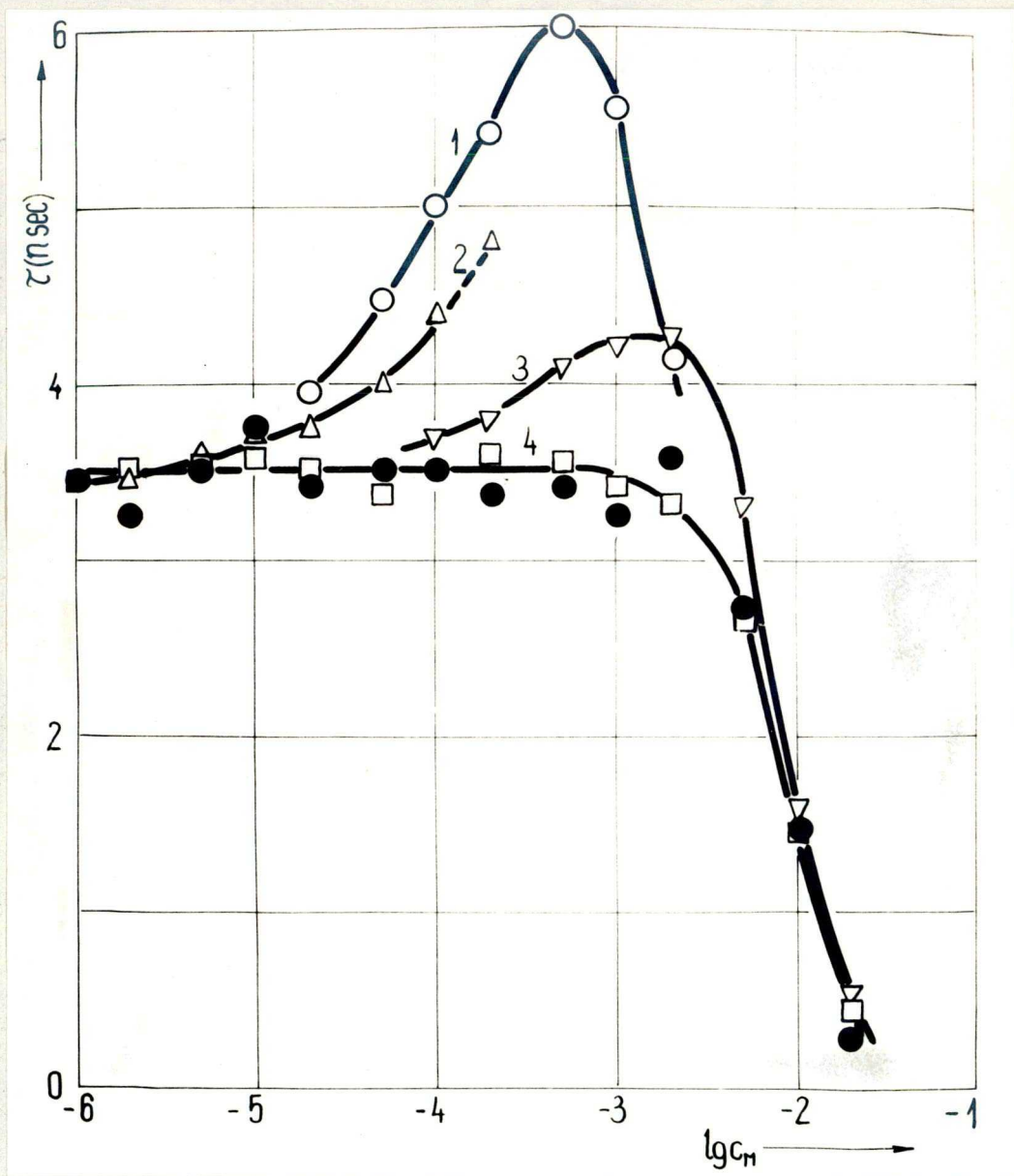


25. ábra

görbe mutatja. Amint látható, a csillapodási idő változása igen nagy, 3,8 nsec-től kerekén 7 nsec-ig. Budó és Szalay /1/ kimutatták, hogy ez a változás a szekunderlumineszcencia következményeként jön létre.

A (7.1) összefüggés szerint korrigálták a Schmillen által mért csillapodási idő értékeket (a 25. ábrán τ -val jelzett ki nem húzott görbe), s azok gyakorlatilag nem változnak a koncentrációs kioltás bekövetkeztéig.

Mérési programunkban egyik első feladatunk volt, hogy saját méréseinkkel - a szekunderlumineszcenciás korrekció elvégzéséhez szükséges feltételek megvalósításával - megerősítsük a Budó és Szalay által adott eljárás helyességét. A 26. ábra a fluoreszcein 1 %-os NaOH-s vizes oldatának



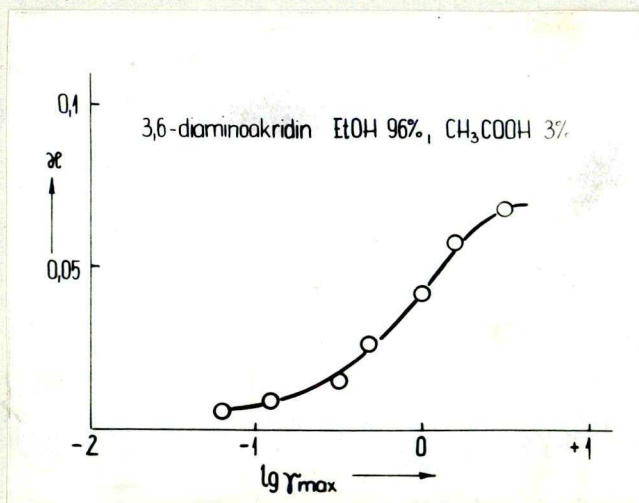
26. ábra

különböző koncentráció és rétegvastagság mellett mért, ill. korrigált csillapodási idő értékeit mutatja. Az 1. görbe az 1 cm, a 2. görbe a 0,1 cm, a 3. görbe a 0,01 cm rétegvastagság mellett mért τ' értékeket, a 4. görbe a (7,1)

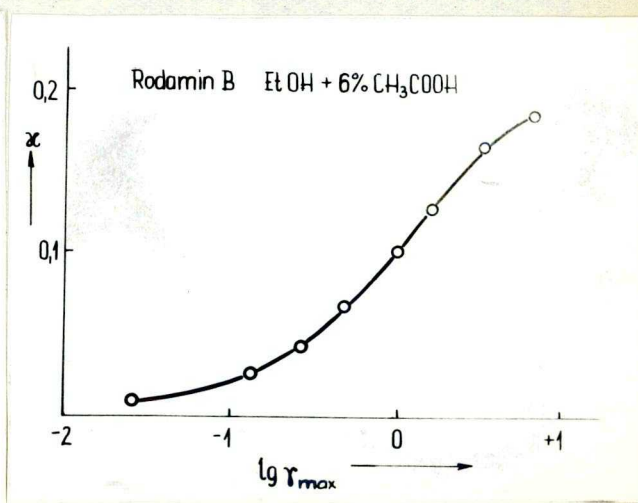
Összefüggés alapján számított valódi csillapodási időket, míg a "●" jellel felmért pontok a három különböző rétegvastagság mellett mért τ' -ből, (7,7) összefüggés alapján korrigált τ értékeket jelentik. Az 1., 2. és a 3. görbe menete hasonló és a 25. ábrán τ' -vel jelzett görbe menetével. A 4. görbe igen jó egyezésben van a 25. ábrán τ' -vel jelzett korrigált értékekkel.

Szeretnénk továbbá hangsúlyozni azt, hogy kisebb szórástól eltekintve meggyugtató módon közel azonos eredményre vezet a (7,1) és a (7,7) alapján végrehajtott korrekció.

Széleskörű vizsgálatokat végeztünk a 24. ábrán megnevezett többi oldatra vonatkozóan is. Eredményeinket az alábbi táblázatokba foglaltuk. A szekunderlumineszcenciás korrekció elvégzéséhez szükséges α számított értékeit az $\lg \gamma_{\max}$ ($\gamma_{\max} = k(\lambda)_{\max} \cdot l$) függvényében az egyes oldatokra vonatkozóan grafikusan adjuk meg. A táblázatokban l a rétegvastagságot, τ' a mért-, τ a korrigált csillapodási időket jelenti.



27. ábra

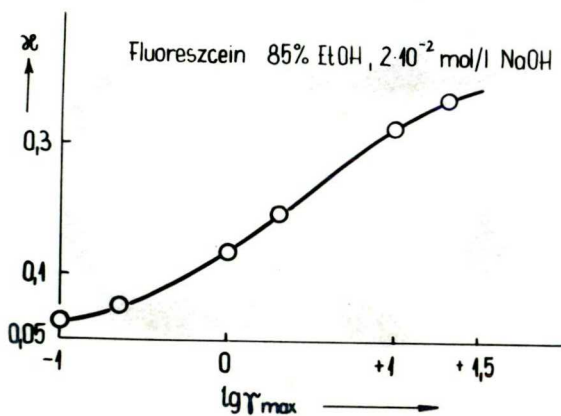


28. ábra

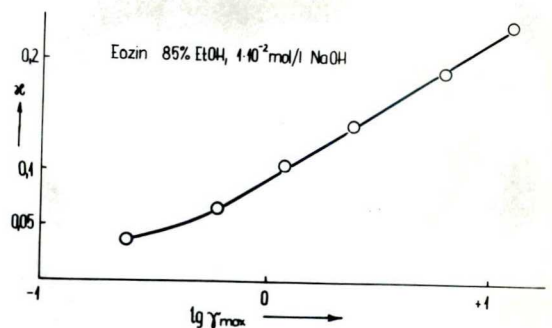
IV. táblázat

3,6-Diaminoakridin 96 % EtOH, 3 % CH₃COOH

c (mol/l)	l (cm)	$\gamma_{\max}$ $\lg \gamma_{\max}$	τ' (nsec)	$\tau = \tau' (1 - \alpha)$ (nsec)
$5 \cdot 10^{-5}$	0,2501	1,570 0,1956	4,29	4,05
	0,1002	0,629 0,7986-1	4,23	4,09
	0,05	0,314 0,4986-1	4,09	4,02
$1 \cdot 10^{-5}$	0,2501	0,314 0,4986-1	4,10	4,03
	0,1002	0,126 0,1004-1	4,22	4,18
$2,5 \cdot 10^{-3}$	0,01	3,139 0,4968	4,22	3,94
	0,005	1,569 0,1956	4,29	4,05
	0,001	0,314 0,4968-1	4,22	4,14



29. ábra



30. ábra

V. táblázat

Rodamin B EtOH + 6 % CH₃COOH

C (mol/l)	l (cm)	$\gamma_{\max}$ lg $\gamma_{\max}$	τ^* (nsec)	$\tau = \tau^*(1-\alpha)$ (nsec)
5.10 ⁻⁵	0,01	0,134 0,1271-1	2,61	2,54
	0,005	0,0670 0,8261-2	2,36	2,33
2,5.10 ⁻⁵	0,2501	1,676 0,2243	2,78	2,42
	0,1002	0,6713 0,8269-1	2,65	2,43
	0,05	0,335 0,5250-1	2,44	2,31
	0,01	0,067 0,8261-2	2,44	2,40
1.10 ⁻⁵	0,5001	1,340 0,1871	2,80	2,47
	0,2501	0,670 0,8261-1	2,68	2,46
	0,1002	0,269 0,4297-1	2,60	2,54
	0,05	0,134 0,1271-1	2,49	2,42
	0,01	0,0268 0,4283-2	2,49	2,47
5.10 ⁻⁴	0,02	2,680 0,4283-2	3,07	2,59
	0,001	0,134 0,1271-1	2,67	2,59

VI. táblázat

Fluoreszcein 85 % EtOH, $2 \cdot 10^{-2}$ mol/l NaOH

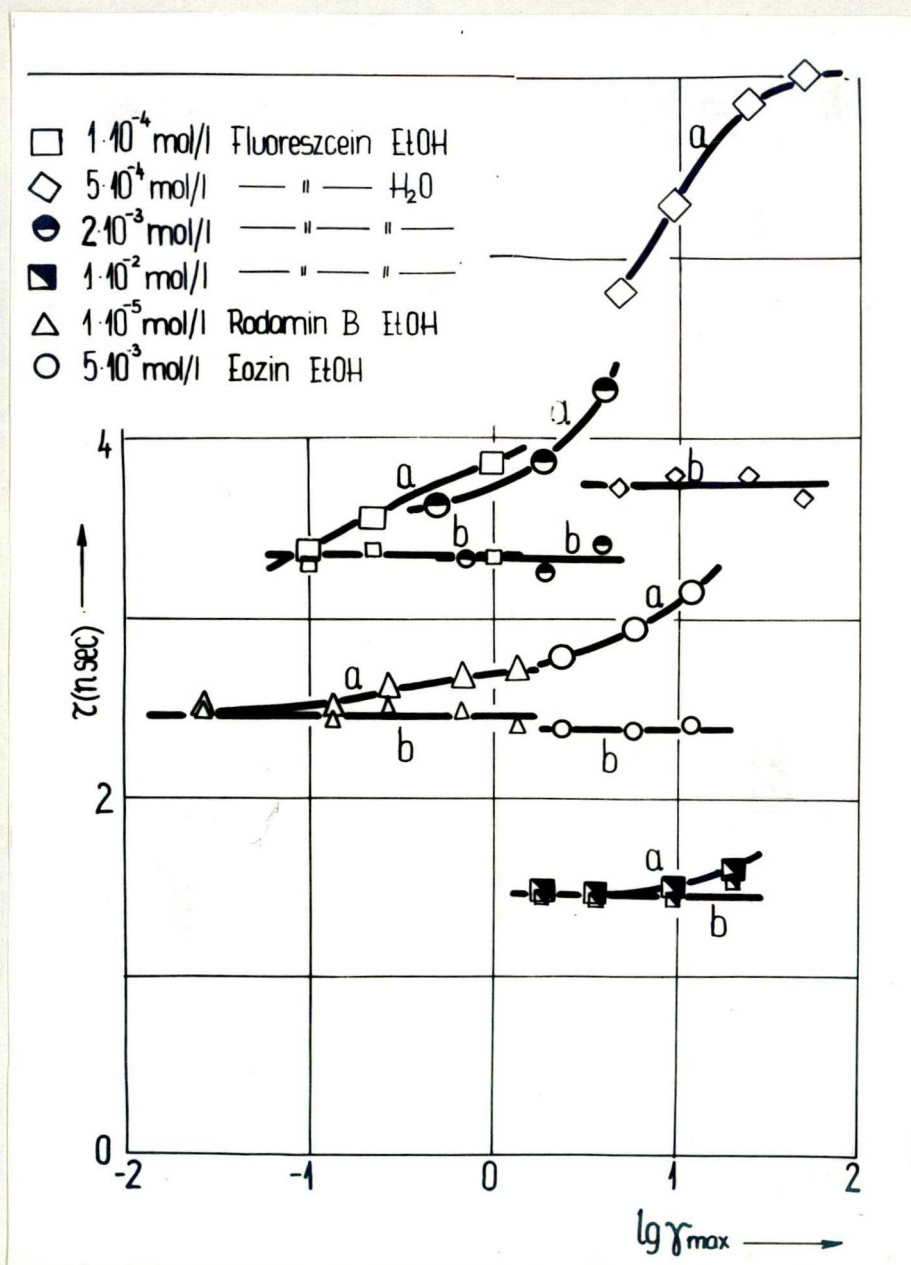
c (mol/l)	l (cm)	$\gamma_{\max}$ $\lg \gamma_{\max}$	τ' (nsec)	$\tau = \tau'(1-\alpha)$ (nsec)
$1 \cdot 10^{-5}$	0,25	0,509 0,7067-1	3,63	3,31
	0,1	0,2037 0,3090-1	3,37	3,21
	0,0489	0,0996 0,9982-2	3,39	3,30
$1 \cdot 10^{-4}$	0,506	1,031 0,0133	3,86	3,34
	0,011	0,2241 0,3501-1	3,66	3,48
	0,0051	0,1039 0,0166-1	3,57	3,48
$1 \cdot 10^{-3}$	0,0489	9,960 0,9983	5,60	3,78
	0,041	2,2406 0,3504	4,34	3,48
	0,0051	1,0388 0,0166	4,19	3,63

VII. táblázat

Eozin 85 % EtOH, $1 \cdot 10^{-2}$ mol/l NaOH

c (mol/l)	l (cm)	$\gamma_{\max}$ $\lg \gamma_{\max}$	τ' (nsec)	$\tau = \tau' (1 - \alpha)$ (nsec)
$1 \cdot 10^{-5}$	0,5	1,211 0,0831	2,95	2,64
	0,25	0,6055 0,7821-1	2,35	2,19
	0,1	0,2422 0,3842-1	2,06	1,98
$1 \cdot 10^{-4}$	0,5	12,11 1,0831	3,15	2,41
	0,25	6,055 0,7821	2,95	2,37
	0,1	2,422 0,3842	2,78	2,37
	0,05	1,2050 0,0809	2,65	2,39
$1 \cdot 10^{-3}$	0,011	2,664 0,4255	2,86	2,43
	0,010	2,4221 0,3842	2,77	2,37
	0,0051	1,2353 0,09177	2,47	2,21

A szekunderlumineszcencia hatásának szemléltetése érdekében a 31. ábrán néhány festékkoldatnak különböző l rétegvastagság mellett mért és a (7.1) alapján korrigált, valódi csillapodási idő értékeit tüntettük fel, a $\gamma_{\max}$



31. ábra

logaritmusfüggvényében. A mérésnél alkalmazott festékeloldatok, a koncentráció és az oldószer az ábrán van felsorolva; az $\underline{a}$, ill. $\underline{b}$ jelölések a mért, ill. a korrigált értékekre utalnak.

Ha az emisszió anizotrop eloszlású, akkor a csillapodási idő függ a lineárisan poláros gerjesztő fény elektromos vektorának és a megfigyelésre jutó, szintén lineárisan poláros fény elektromos vektorának kölcsönös helyzetétől. Párhuzamos, ill. merőleges kölcsönös helyzetű elektromos vektorok esetén jelöljük $\tau^{\parallel}$ -sal, ill. $\tau^{\perp}$ -sel a mért csillapodási időket. A $\tau^{\parallel}$ értéke mindig kisebb, a $\tau^{\perp}$ pedig mindig nagyobb a valódi τ értékénél mindama esetekben, amikor az anizotropia fennáll. (Ha a viszkozitás nullával egyenlő vagy végtelen nagy, akkor $\tau^{\parallel} = \tau^{\perp} = \tau$)

A τ , $\tau^{\parallel}$ és $\tau^{\perp}$ közötti kvantitatív összefüggést Jablonskinak a poláros lumineszcencia csillapodási idejére vonatkozó elmélete alapján, BAUER /35/ adta meg:

$$\tau = \frac{\tau^{\parallel}(1+2\bar{r})+2\tau^{\perp}(1-\bar{r})}{3}, \quad (8,1)$$

ahol $\bar{r}$ az emisszió anizotropia átlagos értéke. (Az emisszió anizotropia a következő összefüggésben van az általunk definiált p polarizációs fokkal: $r = 2p/(3 - p)$.)

A (8,1) összefüggés akkor igaz, ha feltesszük, hogy az I fluoreszcencia-intenzitás követi az egyszerű $I(t) = I_0 \exp(-t/\tau)$ csillapodási törvényt. A gerjesztő fény elektromos vektorával párhuzamos, ill. arra merőleges elektromos vektorhoz tartozó intenzitás-komponensek ($I^{\parallel}$ ill. $I^{\perp}$) csillapodá-

ez a következő alakban írható:

$$j^{\parallel}(t) = \frac{j_0}{3} \cdot e^{-\frac{t}{\tau}} + j_0 A$$

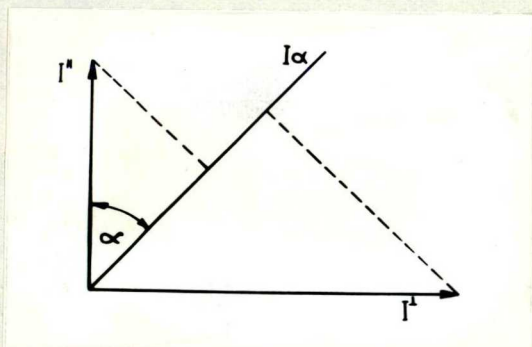
$$j^{\perp}(t) = \frac{j_0}{3} \cdot e^{-\frac{t}{\tau}} - j_0 A, \quad (8,2)$$

ahol A egy jól definiált függvény.

Kiszámítható az $I^{\parallel}$ iránnyal bezárt α szög ana értéke, amelynél az I_{α} komponens csillapodása megegyezik az I csillapodásával; azaz exponenciális. A 32. ábra alapján $I_{\alpha} = I^{\parallel} \cos^2 \alpha + I^{\perp} \sin^2 \alpha$. A (8,2) felhasználásával

$$\begin{aligned} j_{\alpha} &= \frac{j_0}{3} \cdot e^{-\frac{t}{\tau}} \cdot \cos^2 \alpha + 2 j_0 A \cos^2 \alpha + \frac{j_0}{3} e^{-\frac{t}{\tau}} - j_0 A \sin^2 \alpha \\ &= \frac{j_0}{3} \cdot e^{-\frac{t}{\tau}} (\cos^2 \alpha + \sin^2 \alpha) + j_0 A (2 \cos^2 \alpha - \sin^2 \alpha), \end{aligned}$$

amelyből látható, hogy I_{α} csak akkor követi az egyszerű exponenciális törvényt, ha $j_0 A (2 \cos^2 \alpha - \sin^2 \alpha) = 0$. Ebből adódik, hogy $\alpha = 54,72^{\circ}$.



32. ábra

Lehetséges tehát poláros lumineszcenciát emittáló oldat csillapodási idejének meghatározása a $\tau^{\parallel}$, $\tau^{\perp}$ és a polarizációs fok ismerete nélkül is, ha a megfigyelésre jutó fény vektora a lineárisan poláros gerjesztő fény elektro-

mos vektorával $54,72^\circ$ -os szöget zár be. Viskózus oldatok esetében, méréseink során, ezt alkalmaztuk.

A VIII. táblázatban glicerines festékeloldatok τ' mért és a (7,7) alapján korrigált τ értékeit foglaltuk össze.

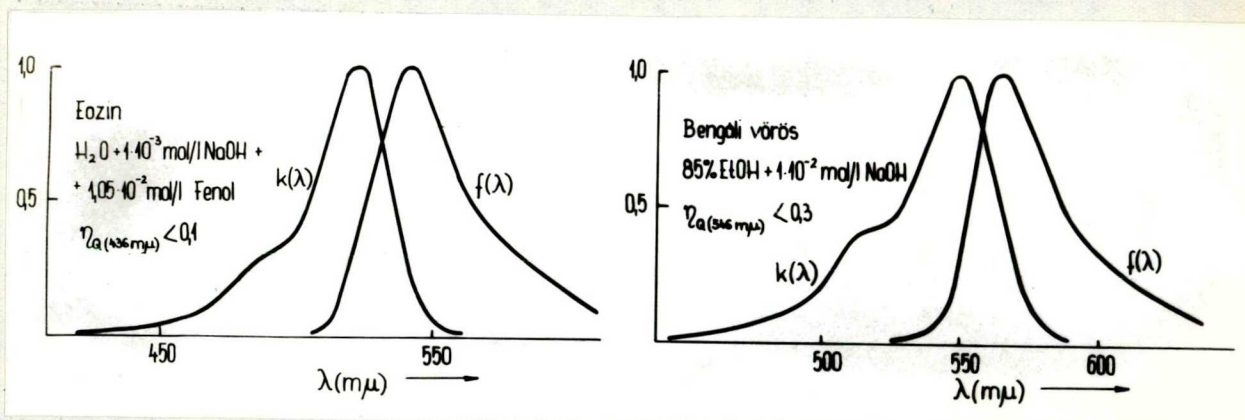
VIII. táblázat

Fluoreszkáló anyag	Koncentr. mol/l	Oldószer	l cm	τ' mért (nsec)	τ szám(7,7) alapján (nsec)
Fluoreszcein	$1 \cdot 10^{-4}$	Glicerín 96%	0,02	2,98	2,15
		NaOH 1 %	0,05	3,78	
		H ₂ O	0,1	3,98	
Rodamin B	$1 \cdot 10^{-4}$	Glicerín 96 %	0,02	3,74	2,94
			0,05	4,55	
			0,1	5,17	
Tripaflavin	$1 \cdot 10^{-4}$	Glicerín 96 %	0,05	4,14	3,92
			0,1	4,26	
			0,25	4,39	
Rodulin oranzs	$1 \cdot 10^{-4}$	Glicerín 96 %	0,1	3,06	2,71
			0,25	3,36	
			0,5	3,59	

3. b) A szekunderlumineszcencia hatása a csillapodási időre
az oldatoknál, amelyeknél a spektrumok közötti átfedés is-
lentős és a kvantumhatásfok egy-két tized

A α szekunderlumineszcenciás tényező igen erősen függ a hatásfoktól. Ha az η_q kvantumhatásfok nem nagyobb né-
hány tizednél, akkor α értéke olyan kicsiny, hogy a sze-
kunderlumineszcencia hatása a csillapodási idő mérésének
hibahatárán belül van abban az esetben is, ha az abszorp-
ciós és emissziós szinképek nagymértékben fedésben vannak.

A 33. ábrán láthatók a bengáli vörös és a fenollal ki-
oltott eosin relatív szinképei. Az átfedés nem kisebb,



33. ábra

mint a 24. ábrán feltüntetett oldatoknál. Azonban a ben-
gáli vörös kvantumhatásfoka kisebb mint 0,3; az $1,05 \cdot 10^{-2}$
mol/l fenolt tartalmazó eosin kvantumhatásfoka pedig 0,1-
nél kisebb. A IX. táblázatban bemutatott mérési eredmé-
nyek teljes mértékben igazolják azt, hogy a különböző ré-

IX. táblázat

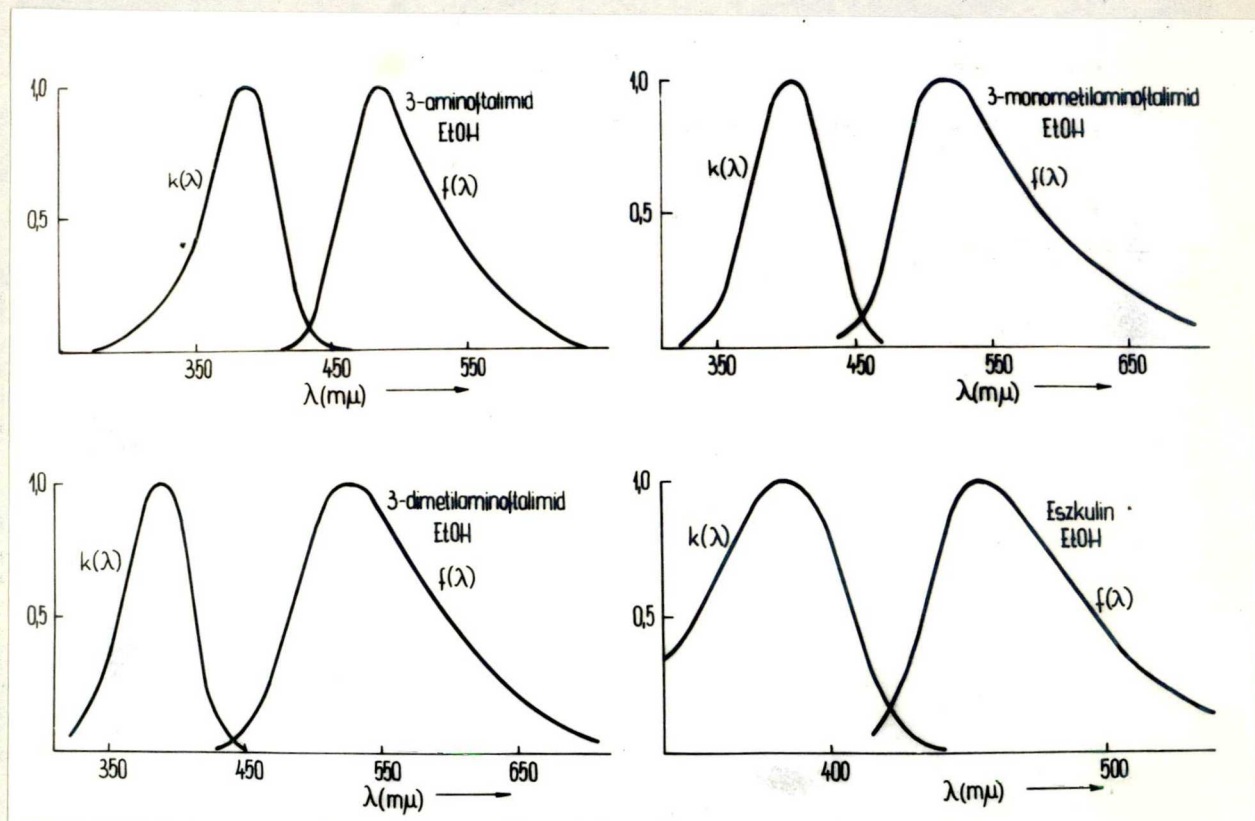
Fluoreszkáló anyag	Koncentr. mol/l	Oldószer	l cm	τ' mért (nsec)
Bengáli vörös	$1 \cdot 10^{-4}$	EtOH 85 %	0,05	0,76
		H ₂ O 15 %	0,25	0,80
		$1 \cdot 10^{-2}$ mol/l NaOH	0,50	0,68
Eozin	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$ mol/l NaOH	0,5	0,83
		H ₂ O $4,05 \cdot 10^{-2}$ m/l Fenol	0,1	0,80

tegvastagságok esetében nyert csillapodási idő értékek a mérési hibahatáron belül megegyeznek egymással (természetesen, azonos koncentráció esetén).

3. c) A szekunderlumineszcencia hatása a csillapodási időre
ama oldatoknál, amelyeknél csekély mértékű az abszorpció
és emissziós szinképek átfedése

Különböző ftalimidek, valamint eszkulin és kininszulfát relatív abszorpció és emissziós spektrumát ábrázoltuk a 34. ábrán. A szinképek átfedése olyan kicsiny mértékű, hogy a lumineszcenciafény elenyészően csekély hányada szenvedhet reabszorpciót, következésképpen a szekunderlumineszcencia elhanyagolható. Ebben az esetben, a hatásfoktól függetlenül, adott koncentráció esetén a különböző rétegvastagságok alkalmazásával mért csillapodási idő értékeknek meg

kell egyezniük. A X. táblázatban bemutatott mérési eredmények teljes mértékben igazolják a fenti állítást. A táblázatból leolvasható továbbá az is, hogy ha a szekunderlumineszcencia elhanyagolható mértékű, akkor a különböző szer-



34. ábra

zők által nyert mérési eredmények sokkal jobban megegyezésben vannak egymással. (A fluorométerek számos hibaforrása miatt egy-két kiugróan eltérő csillapodási idő érték található - pl. Galanyin kininszulfátra vonatkozó τ értéke.) Külön figyelemreméltó, hogy a rétegvastagság két nagyságrendű növelésével sem változik a csillapodási idő (ftali-

X. táblázat

Fluoreszkáló anyag	Saját eredményeink				Irodalmi eredmények					
	Koncentráció mol/l	Oldószer	l cm	τ mért (nsec)	Koncentráció mol/l	Oldószer	l cm	τ mért (nsec)	Szerzők	év irod utalás
3-Aminoftalimid	$5 \cdot 10^{-3}$	EtOH 96% H ₂ O 4 %	0,005 0,01 0,05 0,1 0,5	10,8 11,2 11,2 10,8 10,9	-	H ₂ O	-	12,0	Szevcsenko et al.	(1965) /29/
3-Dimethylamino- N-methylftalimid	$1 \cdot 10^{-2}$	EtOH 96% H ₂ O 4 %	0,005 0,01 0,05 0,1 0,5	7,29 7,25 6,98 7,10 7,11	-	-	-	-	-	-
3-Monomethyl- aminoftalimid	$1 \cdot 10^{-3}$	EtOH 96% H ₂ O 4 %	0,005 0,01 0,05 0,1 0,5	5,05 5,40 5,38 5,52 5,52	-	-	-	-	-	-
Eszkulin	$1 \cdot 10^{-4}$	EtOH NaOH +	0,05 0,1 0,5	3,8 3,8 4,7	-	EtOH	-	3,8	Szevcsenko et al.	(1965) /29/
Kininszulfát	$1 \cdot 10^{-5}$ $1 \cdot 10^{-5}$ $1 \cdot 10^{-4}$ $1 \cdot 10^{-3}$ $1 \cdot 10^{-3}$	H ₂ O + nH ₂ SO ₄	0,10 0,50 0,50 0,01 0,50	19,8 18,9 20,2 18,3 18,5	$2 \cdot 10^{-3}$ g/cm ³ $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l 10^{-6} - 10^{-4} mol/l $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l	EtOH 1n H ₂ SO ₄ " H ₂ SO ₄ 10^{-2} mol HNO ₃ 2n H ₂ SO ₄	- 1 - 2 1	12,5 20,1 19,4 20,8 22,8	Galanyin Birke, Dyson Ware, Baldwin Metcalf Röllig	(1950) /12/ (1963) /6/ (1964) /36/ (1965) /28/ (1966) /24/

midék esetén), valamint hogy ugyanazon rétegvastagság mellett egy-két nagyságrendnyi koncentráció-különbség sem eredményezi a csillapodási idő megváltozását a koncentráció kioltás tartományán kívül (kininszulfát).

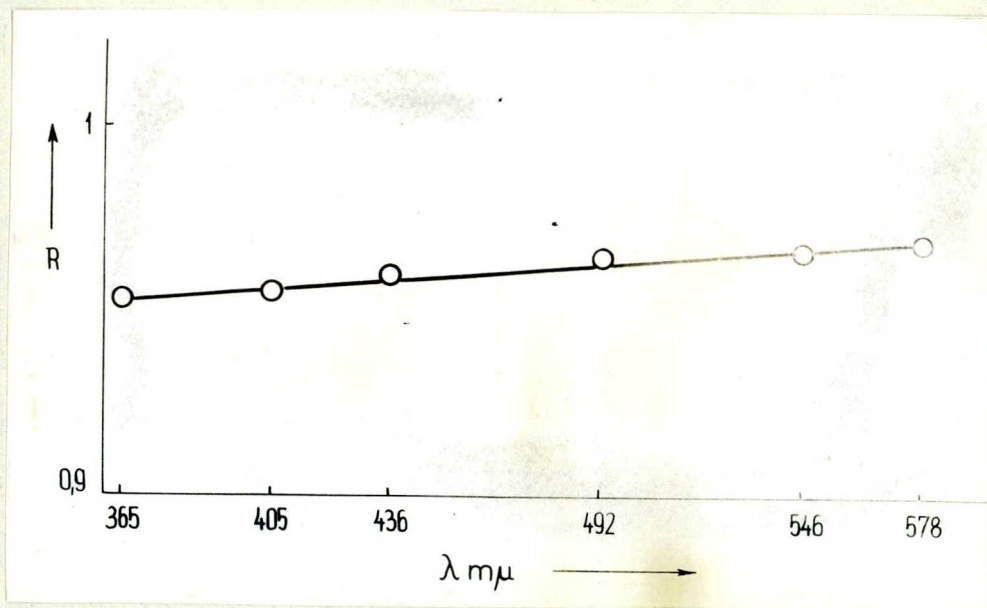
4. Extrémálisan kicsiny koncentrációju oldatok csillapodási idejének mérése

Az eddig vizsgált oldatok koncentráció tartományába általában nem tartoztak bele azon koncentrációk, amelyeknél fellép a koncentrációs kioltás. A csillapodási idő mérése szempontjából - beleértve a korrekciószámítást is - a nagy koncentrációk, egy bizonyos határig, nem jelentenek különösebb problémát. (Megjegyezzük, hogy az általunk kidolgozott "három-pontos" módszer nagy koncentrációknál többnyire nem alkalmazható, mert a $\gamma_{\max} < 3$ feltétel nem teljesíthető három eltérő rétegvastagságnál.)

Ezzel szemben, elsősorban a készülék véges érzékenységből eredően (abban az értelemben, hogy a különböző zajforrásokból származó zavaró hatások miatt szükséges egy minimális fluoreszcencia fényintenzitás ahhoz, hogy a mérés értékelhető legyen) lényegesen nehezebb feladatot jelent extrémálisan kicsiny koncentrációju oldatok csillapodási idejének a mérése. Az eddig bemutatott mérési eredményekből látható, hogy a vizsgált szerves festékeloldatok legkisebb mérhető koncentrációja - az eddig alkalmazott eljárásoknál - általában 10^{-5} mol/l, esetleg néhányszor 10^{-6} mol/l. Egyes esetekben, különösen ha a rendelkezésünkre álló minta mennyisége nagyon csekély, nagy jelentőségű lehet, ha 10^{-7} - 10^{-8} - 10^{-9} mol/l koncentrációju oldatok csillapodási idejét is mérni tudjuk.

Az intézetünkben kialakított egyik legújabb módszer alapján méréseket végeztünk extrémülisan kicsiny koncentrációja oldatokkal is. A módszer lényege az, hogy alkalmasan megválasztott reflektáló elrendezéssel megsokszorozzuk mind az oldat által abszorbeált fotonok számát, mind a megfigyelésre jutó lumineszcencia fotonok számát, a szokásos mérési módhoz képest. Ez a fényesokszorozás úgy érhető el, ha az oldatot tartalmazó küvettát olyan anyaggal vesszük körül, amely reflexiója együttthatója közel egységnyi.

Szükséges ismeretek a mérési eredmények értékeléséhez a reflexió együtttható nagyságát a hullámhossz függvényében (ez fluorometriánál uton határozható meg). A 35. ábrán a reflexió együttthatót (R) ábrázoltuk a hullámhossz függvényében.



35. ábra

Néhány extrémálisan kicsiny koncentrációju fluoreszkáló oldatra vonatkozó mérési eredményeinket a XI. táblázatban foglaltuk össze.

XI. táblázat

Fluoreszkáló anyag	Koncentr. mol/l	Oldószer	τ mért (nsec)
Rodamin B	$1 \cdot 10^{-9}$	EtOH 6% CH_3COOH	1,75
	$5 \cdot 10^{-9}$		1,88
	$2,5 \cdot 10^{-5}$		2,43 (korrigált)
Fluoreszcein	$5 \cdot 10^{-9}$	85 % EtOH	5,66
	$1 \cdot 10^{-8}$	15 % H_2O	5,57
	$5 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-2}$ mol/l	3,45
	$1 \cdot 10^{-4}$	NaOH	3,48 (korrigált)
Tripaflavin	$5 \cdot 10^{-9}$	85 % EtOH	4,88
	$1 \cdot 10^{-8}$	$3 \cdot 10^{-3}$ mol/l	5,12
	$5 \cdot 10^{-5}$	HCl	4,05 (korrigált)
Bengáli vörös	$1 \cdot 10^{-8}$	85% EtOH, 15% H_2O	1,9
	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-2}$ mol/l NaOH	0,75
Eozin	$1 \cdot 10^{-8}$	85 % EtOH	2,73
	$5 \cdot 10^{-8}$	15 % H_2O	4,42
	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-2}$ mol/l NaOH	2,37 (korrigált)
Rodulin oranzs	$1 \cdot 10^{-8}$	85 % EtOH	4,12
	$5 \cdot 10^{-8}$	15 % H_2O	3,84
	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-2}$ mol/l HCl	2,65 (korrigált)

Minden anyagnál megadunk közepesen nagy koncentrációval mért (szekunderlumineszcenciára korrigált) csillapodási idő értéket is. Ezekkel a τ értékekkel összevetve az extrémálisan kicsiny koncentrációju oldatok csillapodási idejét, megállapítható, hogy az egyezés nem teljesül maradék nélkül. Figyelembe véve azonban, hogy az igen kis koncentrációju oldatok csillapodási idejének a mérésénél, monokromátor hiányában, nagyon komoly problémát jelent a megfigyelési oldalon a gerjesztő fény kiszűrése, továbbá, hogy itt is szükséges szekunderlumineszcenciára korrigálni a mért adatokat (az itt alkalmazandó korrekciós eljárás kidolgozása még megoldandó feladat), az eddigi vizsgálatok nagyon biztató kezdeti eredménynek tekinthetők.

IX. Összefoglalás

A fluoreszkáló oldatok lumineszcenciájának törvényei a fluoreszcencia-jellemzők segítségével írhatók le. A diszszertáció keretében a fluoreszcencia-jellemzők közül az átlagos csillapodási idő (τ) vizsgálatával foglalkoztunk.

A lumineszcencia exponenciális csillapodása esetén (a szerves festéköldatok Fotolumineszcenciájának lecsengése többnyire exponenciális) τ jelenti azt az időtartamot, amely alatt a világitás intenzitása e-ed részére csökken. Ezzel egyenértékű az a megfogalmazás, hogy átlagosan τ ideig vannak gerjesztett állapotban a lumineszcenciafényt kibocsátó molekulák.

Festéköldatok lumineszcenciájának az átlagos csillapodási ideje 10^{-9} sec nagyságrendű. Az ilyen rövid időtartamok mérésére szolgáló berendezéseket fluorométereknek nevezzük. Az általunk megépített készülék működése azon az elven alapszik, hogy a nagyfrekvenciával modulált intenzitású gerjesztő fényhez képest fáziskésést szenved a lumineszcenciafény modulációja. A mért fáziskülönbségből exponenciális lecsengés esetén egyszerű módon számítható az átlagos csillapodási idő. Fluorométerünk mérési tartománya $1 \cdot 10^{-10}$ sec - $3 \cdot 10^{-8}$ sec.

Annak érdekében, hogy a szisztematikus hibákat minimálisra csökkenthessük, ill. hogy alkalmas korrekciót alkalmazhassunk, számos vizsgálatot, hitelesítő mérést végez-

tünk (moduláció-mélység mérés, erősítők vizsgálata, szórt fény korrekció, egyéb hatások figyelembevétele).

A szekunderlumineszcenciának a csillapodási időre gyakorolt hatása miatt a valódi csillapodási idő eltér a "külső", a mérhető csillapodási időtől. Ez az eltérés a reabszorpció mértékétől függ. Budó és Szalay /1/ végeztek elsőként egzakt vizsgálatokat erre vonatkozóan. Eredményül nyerték, hogy a τ' mért és a τ valódi csillapodási idők között az alábbi összefüggés áll fenn

$$\tau = \tau' (1 - \kappa),$$

ahol κ a koncentráció, a rétegvastagság, a szinképek és a határfok ismeretében számítható, korrekciós tényező. Rendszeres vizsgálatokat végeztünk - a szekunderlumineszcenciás korrekció elvégzéséhez szükséges feltételek megvalósításával - a fenti összefüggés érvényességére vonatkozóan. Mérési eredményeink azt mutatják, hogy a szekunderlumineszcencia hatására a τ' 100 %-kal is nagyobb lehet τ -nál. E hatás figyelmen kívül hagyása eredményezi elsősorban azt a tényt, hogy nincsenek un. "irodalmi adatok", azaz az egyes szerzők által ugyanazon oldatra mért csillapodási idő értékek a fluorométerek mérési hibahatárán túl jelentős mértékben eltérnek egymástól. Az egyes oldatoknál a különböző rétegvastagság, ill. koncentráció esetén a mért τ' értékek korrigálásával vizsgálataink során nyert τ értékek viszont - a koncentrációs kioltás tartományán kívül - a fluorométer mérési hibáján belül megegyeznek.

A hosszadalmas, fáradságos κ számítás elkerülése cél-

jából kidolgoztunk egy praktikus korrekciós eljárást a sekunderlumineszcencia csillapodási időre gyakorolt hatásának figyelembevételére. A $\gamma_{\max} < 3$ feltétel betartása esetén három különböző (l_1, l_2, l_3) rétegvastagságnál mért τ' értékekből (rendre $\tau'_1, \tau'_2, \tau'_3$) az alábbiak szerint számítható a valódi csillapodási idő:

$$\tau = \frac{l_1 l_3 l_2 \frac{l_3}{l_2} + l_3 l_1 l_2 \frac{l_1}{l_3} + l_1 l_2 l_3 \frac{l_2}{l_1}}{\frac{1}{\tau'_1} l_2 l_3 l_2 \frac{l_3}{l_2} + \frac{1}{\tau'_2} l_3 l_1 l_2 \frac{l_1}{l_3} + \frac{1}{\tau'_3} l_1 l_2 l_3 \frac{l_2}{l_1}}$$

Vizsgálataink szerint az ilyen módon korrigált τ értékek jó egyezésben vannak a Budó és Szalay /1/ által adott korrekciós eljárás alapján korrigált τ értékekkel.

Végül - az intézetben kidolgozott legújabb megfontolások alapján - méréseket végeztünk extrémálisan kicsiny koncentrációjú oldatok csillapodási idejének meghatározására vonatkozóan. Ezek az eredmények kezdeti biztató sikernek tekinthetők, de még további finomításra szorulnak.

Összegezve, a disszertációban beszámoltunk egy fázis-fluorométer megépítéséről és olyan mérési módszerek ellenőrzéséről, ill. kidolgozásáról, amelyek elengedhetetlenül szükségesek minden további - a csillapodási idővel kapcsolatos téma - kísérleti vizsgálatához.

Köszönetnyilvánítás

A jelen disszertáció a József Attila Tudományegyetem Kísérleti Fizikai Intézetében működő Lumineszcencia és Félvezető Akadémiai Tanszéki Kutató Csoportban készült. Ezen a helyen is szeretném megköszönni DR. BUDÓ ÁGOSTON akadémikus, egyetemi tanárnak, a Kutatócsoport vezetőjének munkám iránt tanúsított érdeklődését, DR. KETSKEMÉTY ISTVÁN egyetemi tanárnak a disszertáció anyagának összeállításakor nyújtott értékes tanácsait, továbbá DR. GÁTI LÁSZLÓ adjunktusnak a kísérleti munkával kapcsolatos útmutatásait, baráti segítségét.

Irodalomjegyzék

- /1/ Budó, A.: Magyar Fizikai Folyóirat, 2, 269 (1961);
Budó, A., L. Szalay: Z. Naturforschg., 18a, 90 (1963).
- /2/ Ketskeméty, I.: Akadémiai doktori értekezés, Szeged (1963).
- /3/ Ljovsin, V.L.: Opt. i Szpektr., 11, 362 (1961).
- /4/ Förster, Th.: Fluoreszenz organischer Verbindungen
(Vandenhoech und Ruprecht, Göttingen 1951).
- /5/ Strickler, S.J., R.A. Berg: J.Chem.Phys., 37, 814 (1962).
- /6/ Birks, J.B., D.I. Dyson: Proc. Roy. Soc. London, 275,
135 (1963).
- /7/ Ketskeméty, I., J. Dombi, R. Horvai: Ann. Phys. (Leipzig),
8, 342 (1961).
- /8/ Kozma, L.: Kandidátusi értekezés (megjelenőben).
- /9/ Kozma, L., L. Szalay, J. Hevesi: Acta Phys. et Chem.
Szeged, 10, 67 (1964).
- /10/ Budó, A., I. Ketskeméty: Acta Phys. Hung., 7, 207 (1957).
- /11/ Török, M.: Egyetemi doktori értekezés, Szeged (1967).
- /12/ Galanyin, M.D.: DAN SzSzsZR, 73, 925 (1950).
- /13/ Miller, A., R. Lumry, H. Kokubun: Rev. Sci. Instr.,
36, 1214 (1965).
- /14/ Gaviola, E.: Ann. Phys., 81, 681 (1926);
Z. Phys. 42, 853 (1927).
- /15/ Dusinszkij, F.A.: DAN SzSzsZR, 14, 73 (1937); Z. Phys.,
81, 7, 23 (1933); Acta Phys. Polon., 4, 435 (1935).
- /16/ Szymanowski, W.: Z. Phys., 95, 460 (1935).

- /17/ Bones-Brujevics, V.: *Ueszpehi Fiz. Nauk.*, 58, 85 (1956).
- /18/ Bailey, E.A., G.K. Rollefson: *J. Chem. Phys.*, 21,
1315 (1955).
- /19/ Birks, J.B., D.I. Dyson: *J. Sci. Instr.*, 38, 282 (1961).
- /20/ Birks, J.B., W. Little: *Proc. Phys. Soc.*, 66, 921 (1953).
- /21/ Carbona, R.J., P.R. Longaker: *Appl. Phys. Letters*, 4,
32 (1964).
- /22/ Bródy, S.S.: *Rev. Sci. Instr.*, 28, 1021 (1965).
- /23/ Bennett, R.G.: *Rev. Sci. Instr.*, 31, 1214 (1965).
- /24/ Röllig, K.: *Inaugural-Dissertation*, Marburg (1966).
- /25/ Steingraber, O.J., J.B. Berlman: *Rev. Sci. Instr.*, 34,
524 (1963).
- /26/ Bauer, R., M. Rozwadowski: *Bull. Acad. Polon. Sci.*,
7, 365 (1959).
- /27/ Cekhanski, E., A. Pankpateva, V.R. Vafiadi: *I. Prikl.*
Szpektr., 5, 284 (1966).
- /28/ Metcalf, W.S. et al.: *J. Sci. Instr.*, 42, 603 (1965).
- /29/ Szevesenke, A.N. et al.: *DAN SzSzSzR*, 162, 97 (1965).
- /30/ Schmidt és Kuzma: *A termisztor*, Műszaki K., Budapest
(1964).
- /31/ Gáti, L., I. Szalma: *Acta Phys. et Chem. Szeged*, 14,
3 (1968).
- /32/ Gáti, L., L. Szalay: *Acta Phys. et Chem. Szeged*, 4,
90 (1958).
- /33/ Gáti, L.: *Egyetemi doktori disszertáció*, Szeged (1958).
- /34/ Schmillen, A.: *Z. Phys.*, 135, 294 (1953).
- /35/ Bauer, R.: *Z. Naturforschg.*, 18a, 718 (1963).
- /36/ Ware, W.R., B. Baldwin: *J. Chem. Phys.*, 40, 1703 (1964).

