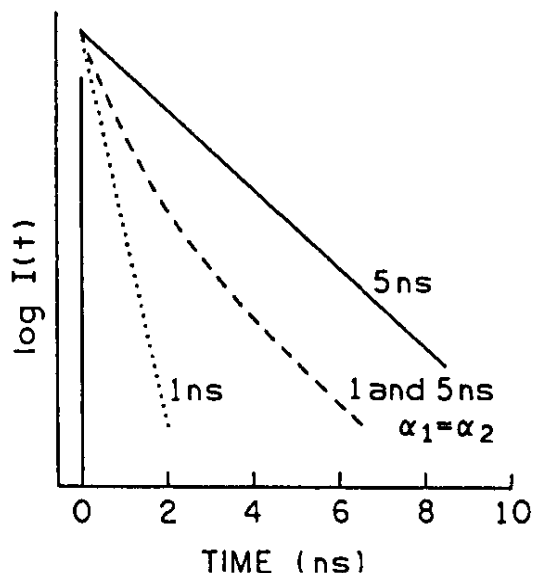


Pomiar krzywych zaniku fluorescencji metodą zliczania pojedynczych fotonów skorelowanych czasowo

(metoda TCSPC - time correlated single photon counting)

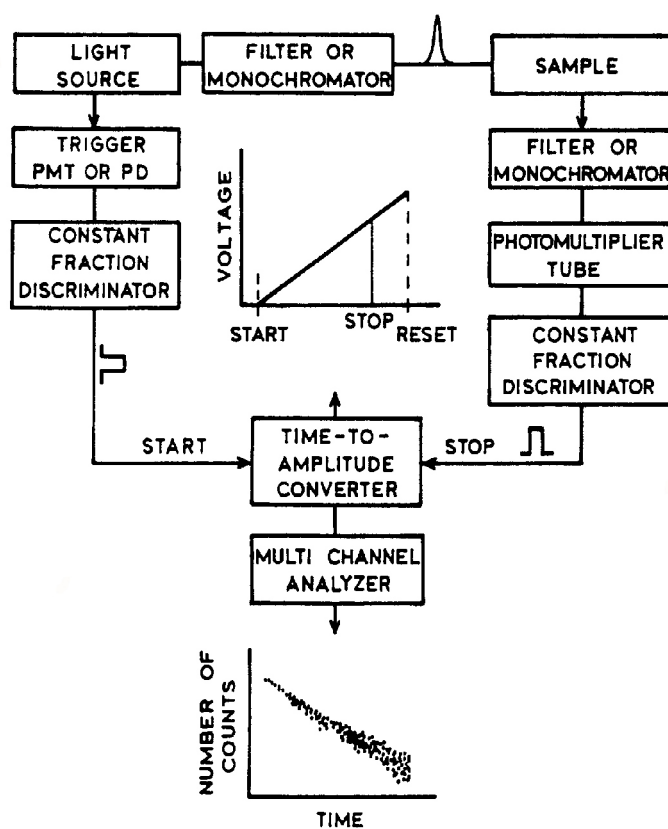


Zanik jednoeksponencjalny
(homogeniczny)

$$I = I_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right)$$

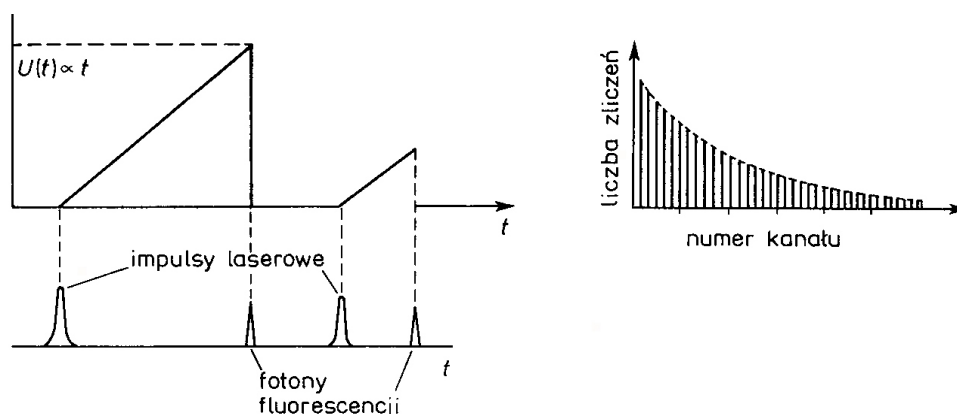
Zanik wieloeksponencjalny
(heterogeniczny)

$$I = I_0 \sum_i \alpha_i \exp\left(-\frac{t}{\tau_i}\right)$$



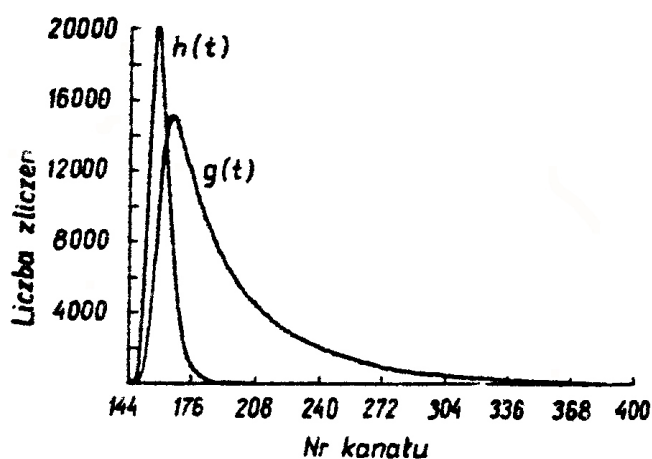
Schemat aparatury do zliczania pojedynczych fotonów skorelowanych czasowo.

Fluorometria impulsowa, cd



Zasada działania konwertera czas-amplituda i wielokanałowego analizatora amplitud.

Rejestrowana przez analizator amplitud krzywa zaniku $g(t)$ jest w istocie splotem „odpowiedzi” aparatury na impuls wzbudzający $h(t)$ oraz „prawdziwego” rozkładu $f(t)$ natężenia fluorescencji



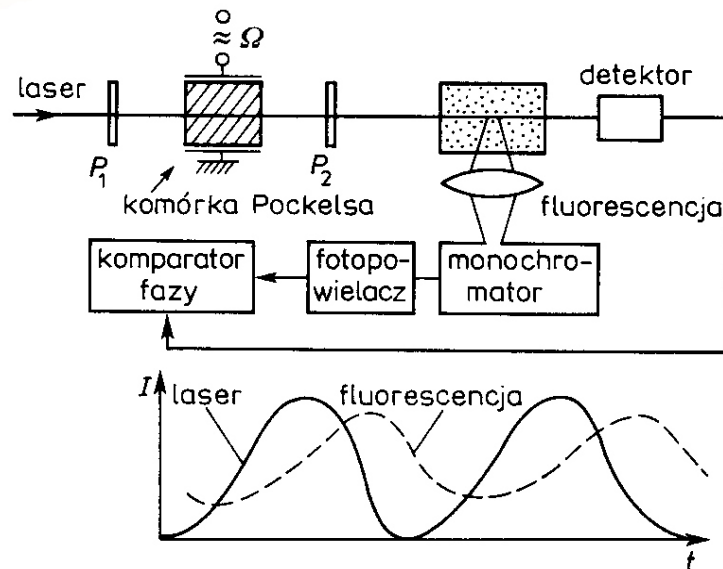
i opisana jest zależnością

$$g(t) = \int_0^t h(t') f(t - t') dt = h(t) \otimes f(t)$$

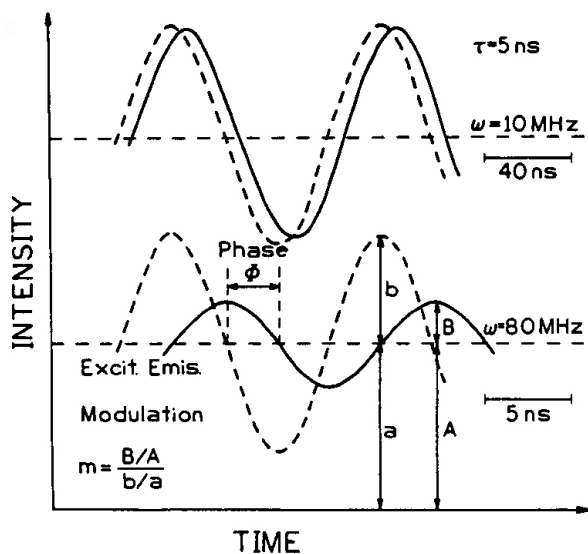
Znalezienie kształtu funkcji $f(t)$ wymaga rozwikłania splotu, czyli przeprowadzenia obliczeń numerycznych.

Metoda fazowo-modulacyjna pomiaru krzywych zaniku fluorescencji

Polega na wzbudzaniu fluorescencji światłem zmodulowanym i pomiarze przesunięcia fazowego światła fluorescencji względem światła wzbudzającego oraz pomiarze względnej głębokości modulacji światła fluorescencji.



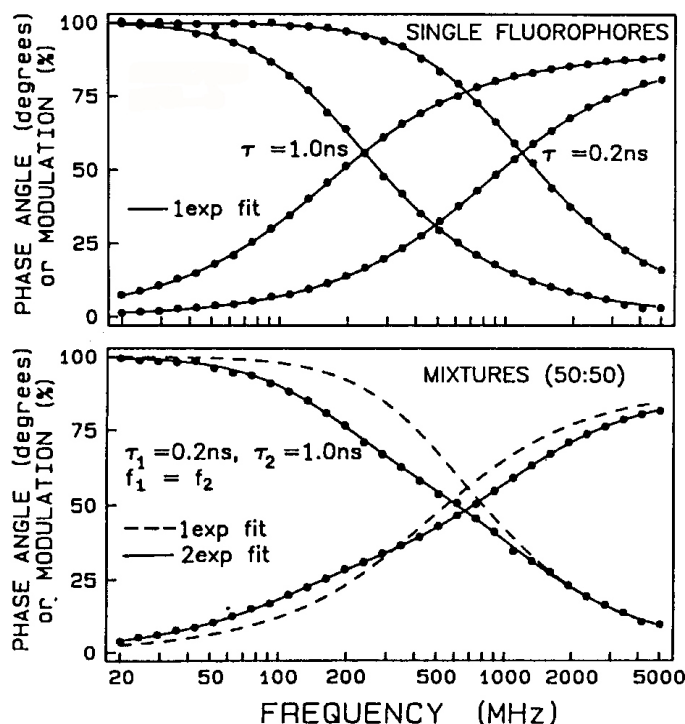
Im dłuższy czas życia fluorescencji, tym większe przesunięcie fazowe ϕ i tym mniejsza głębokość modulacji m . Dla zaniku jednoeksponencjalnego zachodzi



$$\operatorname{tg} \phi_{\omega} = \omega \tau$$

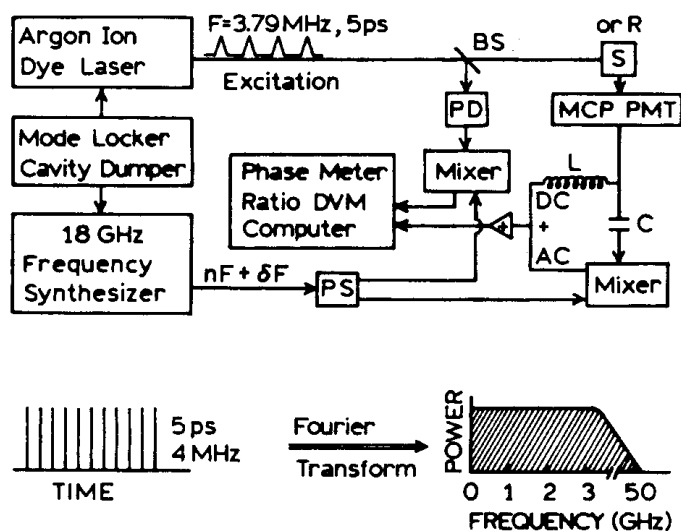
$$m_{\omega} = \frac{1}{\sqrt{1 + \omega^2 \tau^2}}$$

Metoda fazowo-modulacyjna pomiaru krzywych zaniku fluorescencji, cd



Reprezentacje różnych kształtów krzywych zaniku w fluorometrii fazowo-modulacyjnej: górny panel - zaniki jednoeksponencjalne, dolny panel: zanik dwueksponencjalny, krzywa przerywana: zanik jednoeksponencjalny najbardziej zbliżony do wyników doświadczalnych.

Im większa częstość modulacji, tym krótszy może być zmierzony czas życia. Zakres górnych częstości modulacji w większości fluorometrów fazowo-modulacyjnych jest ograniczony do ok. 200 MHz (elementy elektrooptyczne

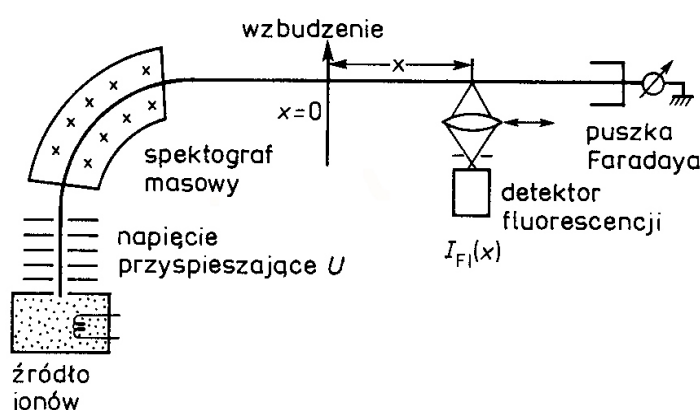


nie są w stanie modulować światła z wyższą częstością). Tę trudność przezwycięża technologia oparta na wykorzystaniu częstości harmonicznnych zawartych w ciągu impulsów. Np. ciąg impulsów powtarzających się z częstością 4 MHz zawiera częstości 4, 8, 12, 16, ... MHz.

BS - zwierciadło półprzepuszczalne, S - próbka, PD - fotodioda, MCP PMT - fotopowielacz mikrokanalikowy, PS - dzielnik mocy, F - częstość repetycji impulsów, n - numer harmonicznnej, δF - niska częstość (rzędu 25 Hz).

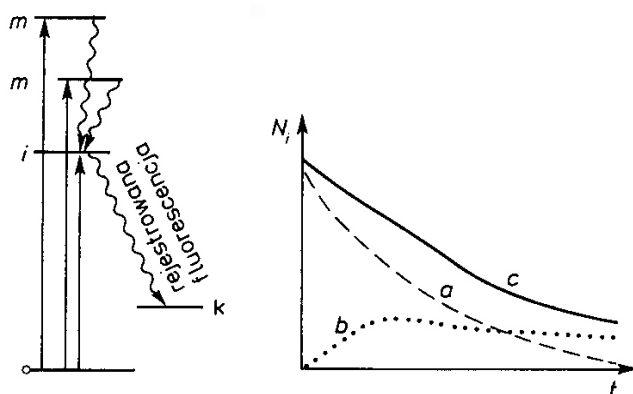
Zastosowanie laserów do pomiarów czasów życia w szybkich wiązkach atomowych

W metodzie tej korzysta się z szybkich wiązek atomowych, molekularnych lub jonowych o energiach rzędu keV lub MeV. Atomy poruszające się w kierunku x są wzbudzone w dobrze określonym, małym obszarze wokół $x = 0$. Źródłem wzbudzenia jest laser, lub zderzenia z innymi atomami tarczy (folii) albo w komórce zawierającej gaz.



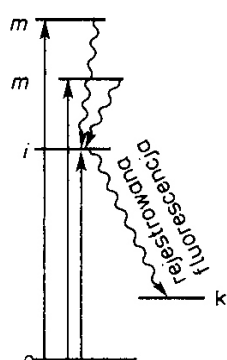
Rejestruje się fluorescencję $I_{FI}(x)$ jako funkcję odległości x od punktu wzbudzenia. Aby otrzymać zależność fluorescencji od czasu $I_{FI}(t)$, korzysta się z zależności $x = vt$, gdzie prędkość jonów $v = (2eU/m)^{1/2}$ określa się na podstawie napięcia przyspieszającego U i masy jonu m .

Wadą tej metody jest wpływ efektów kaskadowych związany z równoczesnym nieselektywnym wzbudzeniem wielu poziomów.

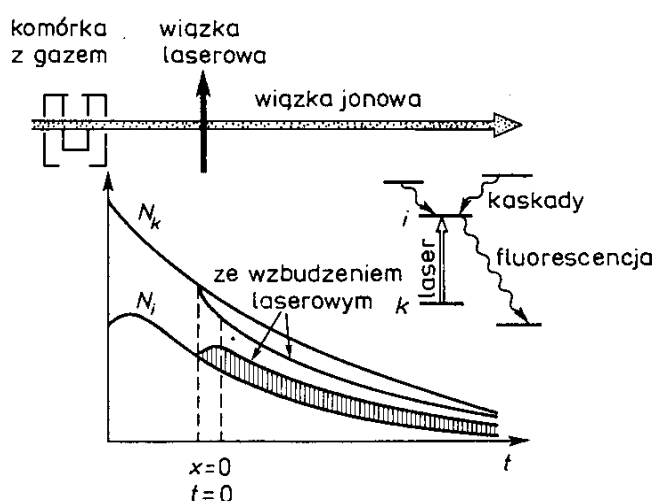


- a - czysto wykładniczy zanik obsadzenia poziomu i ,
- b - wzrost obsadzenia i spowodowany przejściami kaskadowymi.
- c - zanik obserwowany.

Zastosowanie laserów do pomiarów czasów życia w szybkich wiązkach atomowych, cd



Selektywne wzbudzenie laserem dostrojonym do przejścia $E_k \rightarrow E_i$ rozwiązuje problem kaskad. W tym przypadku w odległości kilku cm od szczeliny wyjściowej z komórki zawierającej gaz wiązka jonów zostaje oświetlona laserem. Jeżeli laser dostrojony jest do przejścia $E_k \rightarrow E_i$, dzięki pompowaniu optycznemu obsadzenia obydwu poziomów



zmieniają się o wielkość ΔN , zależną od natężenia światła laserowego, prawdopodobieństwa przejścia A_{ik} oraz od początkowego obsadzenia obu poziomów. Po wprowadzeniu do wiązki laserowej przerywacza można wyznaczyć różnicę sygnałów

$$\Delta I_{Fl}(x) = I_1(x) - I_2(x)$$

$I_1(x)$ - natężenie fluorescencji ze wzbudzeniem laserowym,

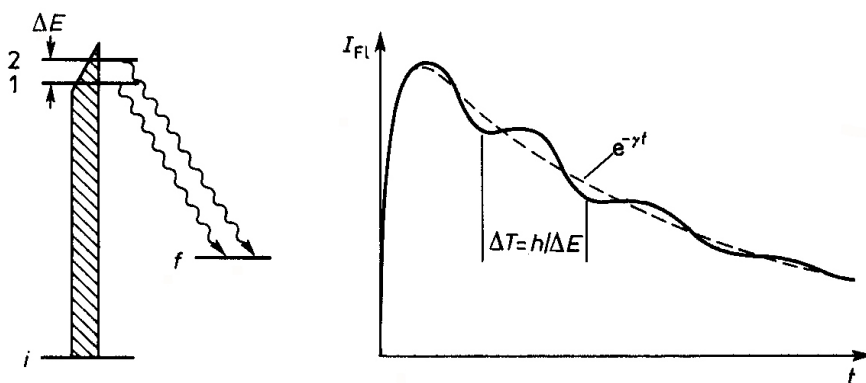
$I_2(x)$ - natężenie fluorescencji bez wzbudzenia laserowego.

Sygnał $\Delta I_{Fl}(x)$ stanowi tę część sygnału fluorescencji, która jest wynikiem selektywnego wzbudzenia laserowego. Sygnał ten zawiera informację o zaniku czysto wykładniczym nawet w obecności kaskad.

Dudnienia kwantowe

Jest to współczesna metoda spektroskopowa umożliwiająca rozdzielenie położonych blisko siebie poziomów energetycznych.

Jeżeli krótkim impulsem laserowym wzbudzić równocześnie dwa lub więcej położonych blisko siebie poziomów cząsteczkowych, zależność od czasu natężenia fluorescencji z tych spójnie przygotowanych poziomów ma charakter wykładniczy z modulacjami.



Aby osiągnąć spójne wzbudzenie poziomów 1 i 2 impulsem laserowym o czasie trwania ΔT , jego szerokość wynikająca z ograniczenia fourierowskiego $\Delta \nu = a/\Delta T$ (a jest stałą rzędu jedności zależną od kształtu impulsu) musi być większa od różnicy częstości $(E_2 - E_1)/h$.

Prosty opis teoretyczny dudnień kwantowych

Funkcję falową stanu wzbudzonego można przedstawić jako liniową superpozycję funkcji podpoziomów φ_k ($k = 1, 2$)

$$|\psi(t)\rangle = \sum_k a_k |\varphi_k(0)\rangle \exp(-i E_{kf}/\hbar - \gamma_k/2)t, \quad E_{kf} = \hbar \omega_{kf}$$

a_k - amplitudy prawdopodobieństwa, że impuls światła wzbudził atom do poziomu E_k ,

γ_k - stałe zaniku poziomów k .

Prosty opis teoretyczny dudnień kwantowych, cd

$$|\psi(t)\rangle = \sum_k a_k |\varphi_k(0)\rangle \exp(-i E_{kf}/\hbar - \gamma_k/2) t$$

Zależność od czasu natężenia fluorescencji wysyłanej ze wzbudzonych poziomów określa kwadrat modułu macierzowego elementu przejścia

$$I(t) = C |\langle \varphi_f | \vec{\epsilon} e \vec{r} | \psi(t) \rangle|^2$$

$\vec{\epsilon}$ - wektor polaryzacji wysyłanego fotonu fluorescencji,

$e \vec{r}$ - operator momentu dipolowego,

C - współczynnik proporcjonalności zależny od warunków doświadczenia.

Przy upraszczającym założeniu $\gamma_1 = \gamma_2 = \gamma$ otrzymujemy

$$I(t) = C e^{-\gamma t} (A + B \cos \omega_{21} t)$$

gdzie

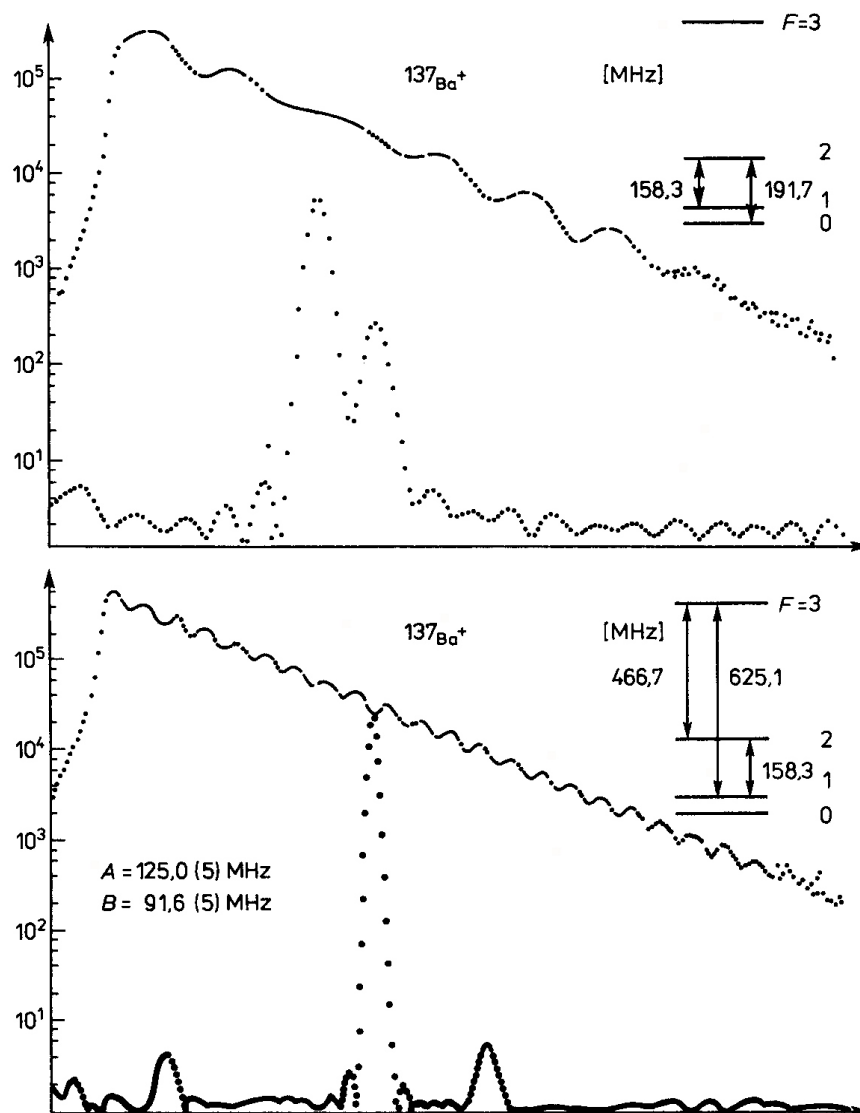
$$A = a_1^2 |\langle \varphi_f | \vec{\epsilon} e \vec{r} | \varphi_1 \rangle|^2 + a_2^2 |\langle \varphi_f | \vec{\epsilon} e \vec{r} | \varphi_2 \rangle|^2$$

$$B = 2 a_1 a_2 |\langle \varphi_f | \vec{\epsilon} e \vec{r} | \varphi_1 \rangle| |\langle \varphi_f | \vec{\epsilon} e \vec{r} | \varphi_2 \rangle|$$

$$\omega_{21} = (E_2 - E_1)/\hbar$$

Modulacje można zaobserwować na podkładzie zaniku wykładniczego, jeżeli obydwa elementy macierzowe przejść $1 \rightarrow f$ i $2 \rightarrow f$ są różne od zera. Pomiar częstotliwości modulacji ω_{21} pozwala na określenie odstępów energetycznych obu poziomów, nawet gdy ich rozszczepienie jest mniejsze od szerokości dopplerowskiej.

Dudnienia kwantowe, cd



Dudnienia kwantowe we fluorescencji jonu $^{137}\text{Ba}^+$ obserwowanej w następstwie wzbudzenia światłem o długości fali $\lambda = 455,4\ \text{nm}$ oraz odpowiadające im widmo fourierowskie. Schemat poziomów energetycznych ukazuje strukturę nadsubtelną stanu $6p\ ^2P_{3/2}$ z zaznaczeniem obserwowanej częstości dudnień.