

# Fotoluminestsentsi spektraalkarakteristikute mõõtmine

Valter Kiisk

Viimati redigeeritud: 7. juuni 2015. a.

Töö eesmärk .....	1
Tööülesanne .....	1
Töövahendid .....	1
1. Sissejuhatus .....	1
2. Töö käik .....	2
3. Andmete töötlemine ja protokoll vormistamine .....	2
Viited .....	3

## Töö eesmärk

Fotoluminestsentsi nähtusega tutvumine, kogemuse omandamine fotoluminestsentsi iseloomustavate põhiliste spektraalkarakteristikute korrektseks mõõtmiseks.

## Tööülesanne

Spektraalseadme lahutusvõime määramine ning lainepikkuste skaala kontrollimine, värvaine lahuse fotoluminestsentsi kiirgus- ja ergastusspektrite registreerimine.

## Töövahendid

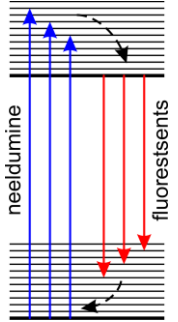
Spektrofluorimeeter FluoroMax-4P, küvetid värvainete vesilahustega.

## 1. Sissejuhatus

Luminestsentsiks nimetatakse sellist kiirguse emissiooni ainet, mis ei ole soojusliku päritoluga, st ületab aine soojuskiirgust antud temperatuuril. Selline kiirgus järelkult saabki tekkida vaid mingit laadi *mittesoojusliku* energia arvel, mis — vastandina kuumutamisele — ergutab spetsiifiliselt vaid teatud seisundeid ja protsesse aines. Kõige tavalisem luminestsentsiliik on fotoluminestsents, mis tekib aine kiiritamisel valgusega. Peale ergastamise peatamist luminestsents ei lakka hetkeliselt, sest aine on endiselt ergastatud seisundis. Täheledatav järehelendus on reeglina siiski väga lühikese kestusega, sageli nanosekundite diapsoonis, ja seega praktiliselt hetkeline. Sellist laadi luminestsentsi nimetatakse fluorestsentsiks.

Fluorestsentsi võivad anda mitmesugused aatomid ja molekulid, paiknegu nad siis gaasilises faasis, lahuses või tahkes maatriksis. Praktilistes rakendustes (luminestsentslambid, valgusdiodid, plasmakuvarid, valgusvõimendid, laserid jms) on oluline roll mitmesugustel luminestsentsmaterjalidel, mis põhinevad harilikult lisanditega aktiveeritud anorgaanilistel tahkistel (näiteks  $Y_2O_3:Eu$ , mis tekitab punast kiirguskomponenti luminestsentslambis, või  $YAG:Ce$ , mis annab kollast kiirguskomponenti valgetes LED-lampides). Seevastu analüütilise spektroskoopia jaoks (põhiliselt keemia ja bioloogia rakendused, aga ka keskkonnauuringud) on oluline eelkõige vedelas keskkonnas (vesi või mõni muu lahusti) lahustunud molekulide kindlakstegemine neeldumise või fluorestsentsi kaudu.

Mitmesugused orgaanilised värvained on tuntud kui suure efektiivsusega kromofoorid ja luminofoorid lahustes ja polümeermaatriksites. Nende neeldumis-, kiirgus- ja ergastusspektrid sisaldavad enamasti ühte (vahel ka mitut) väga intensiivset ja laia spektraalriba. Kõige primitiivsem energiatasemete skeem molekuli spektraalomaduste kirjeldamiseks on kujutatud kõrvaltoodud joonisel, kus on näidatud põhi- ja ergastatud elektronseisund koos kaasnevate võnkenivoodega. Tulenevalt elektron-võnkeseisundite omavahelisest interaktsioonist toimub kõige efektiivsem valguse neeldumine molekuli põhiseisundist ergastatud elektronseisundi kõrgematele võnketasemetele. Peale kiiret mittekiirguslikku relaksatsiooni kõige madalamatele võnkesisunditele järgneb kiirguslik siire, mis eelistatult toimub omakorda põhielektronseisundi kõrgematele võnketasemetele. Kirjeldatud mudel ennustab ühte laia neeldumisriba ja ühte samalaadset kiirgusriba, kusjuures viimase tsentraalne lainepikkus on suurem kui neeldumisriba keskne lainepikkus (Stokes'i seadus). Vahepealse mittekiirgusliku relaksatsiooni tõttu molekul „unustab ära“ ergastava kiirguse lainepikkuse ning kiirgusspekter sellest enam ei sõltu. Mõningatel molekulidel võivad spektris eristuda ka individuaalsed vibroonsed üleminekud, andes molekulile iseloomulikuma spektraalse „sõrmejälje“. Kõrgema energiaga elektronseisundid võivad tekitada täiendavaid neeldumisribasid UV piirkonnas.



Oma intensiivse fluorestsentsi ja selle spektraalomaduste tõttu on värvained rakendust leidnud timmitava lainepikkusega värvilasereis, fluorestsentsmarkeritena ja valguse konverteeritena. Orgaaniliste luminofooride peamiseks probleemiks rakendustes on nende vähene fotostabiilsus: kestev intensiivne kiiritamine kutsub esile fotokeemilised muutused (nt molekulide lagunemise), mille tulemusel aine fluorestsentsomadused degradeeruvad. Siinses praktikumis on värvaine (rodamiin 6G) lahuse mugav katseobjekt demonstreerimaks fluorestsentsi spektraalkarakteristika korrektse mõõtmise põhimõtteid ja kaasnevaid aparatuurseid probleeme.

Fotoluminestsentsil on kaks spektraalkoordinaati (vabadusastet): ergastava kiirguse lainepikkus  $\lambda_{erg}$  ja detekteeritava kiirguse lainepikkus  $\lambda_{det}$ . Vastavalt saab defineerida ka kaks põhilist spektraalkarakteristikut. Kiirgusspekter kirjeldab luminestsentskiirguse spektraalkoostist (seejuures ergastamine toimub teatud kindlal lainepikkusel  $\lambda_{erg} = const$ ). Seevastu ergastusspekter kirjeldab luminestsentsi tugevuse sõltuvust ergastava kiirguse lainepikkusest (seejuures luminestsentsi detekteeritakse teatud kindlal lainepikkusel  $\lambda_{det} = const$ ).

Lahuste mõõtmisel toimub fluorestsentsi vaatlemine alati risttuvas konfiguratsioonis, mis minimeerib hajumise ja on ühtlasi sobilik ka kvantitatiivseteks mõõtmisteks, sest analüüdi piisavalt väikeste kontsentratsioonide korral (st kui neelduvus on hulga väiksem ühest) võime eeldada, et neeldunud kiirguse

hulk ja seega ka registreeritava fluorestsentsi tugevus on võrdelised kontsentratsiooniga. See on ühtlasi ka kõige levinum konfiguratsioon spektrofluorimeetrite korral, mille ülesanne ongi fotoluminesentsi kõikide erinevate spektraalkarakteristike mõõtmine.

Fluorestsentsi spektraalkarakteristikute adekvaatne mõõtmine on paraku komplitseeritum võrreldes neeldumise mõõtmisega spektrofotomeetris. Kõige rohkem tööd on ergastusspektri mõõtmisel, kus lisaks luminesentsisignaalile tuleb paralleelselt teise detektoriga jälgida ka proovi ergastava kiirguse tugevust ja normeerida luminesentsisignaal selle järgi. Lisaks tuleb arvesse võtta mõlema detektori spektraaltundlikkused. Kuigi meie praktikumides kasutatava seadme juhtprogramm suudab seda kõike automaatselt teha, siis antud praktikumi õpetuslikke eesmärgi arvestades me teostame kõik vastavad korrektsioonid käsitsi hilisemal andmetöötlusel.

## 2. Töö käik

Spektrofluorimeetri ehitust ja kasutamist selgitav juhend on eraldi saadaval aineveebis [1]. See tuleks läbi lugeda enne töö alustamist.

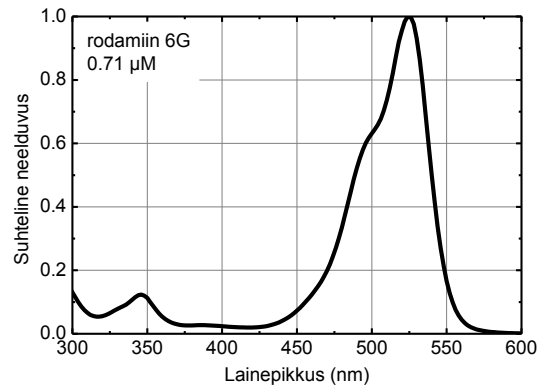
**1. Töö alustamine.** Lülitage sisse spektrofluorimeeter ja selle juhtarvuti ning käivitage arvuti töölaualt programm **FluorEssence**. Salvstage vaikimisi avatud uus projekt kausta „C:\Kasutajad\Praktikum“ (vastasel korral küsitakse seda peale esimese mõõtmise lõppu).

**2. Neonlampi kiirgusspektri mõõtmine.** Neonlampi katseobjekti tavalisse asukohta asetada ei ole mõistlik, sest selle kiirgus on kaugelt liiga tugev otseseks mõõtmiseks. Selle asemel eemaldage objektihoidja ja asetage selle kohale tükk valget paberit, mis toimiks hajutajana (selle täpne positsioneerimine on siinkohal ebaoluline). Neonlamp tuleks paigutada objektikambri väljapoole laua peale, nii et selle kiirgus oleks suunatud hajutaja poole. Kuna ksenoonlampiga ergastamist ei lähe antud mõõtmise juures üldse vaja, siis monokromaatorite seadistamise dialoogis tuleks ergastusmonokromaatori seadetes võtta maha märgistus **Activate**. Registreerige neooni kiirgusspekter diapsoonis 580–730 nm spektraalpiluga mitte üle 0,5 nm ja sammuga 0,1 nm (ribalaiuse seadmine alla 0,5 nm antud seadme spektraallahutust praktiliselt enam ei parenda, kuid väiksema sammu kasutamine võimaldab hiljem spektrijoonete asukohti ja laiuseid väiksema vaevaga järgi vaadata). Nagu eespool mainitud, süsteemi spektraalse koste arvestamine on jäetud selles praktikumis hilisema andmetöötluse hooleks, seega kastike **Correction** jääb siin ja edaspidi kummagi detektori jaoks märgistamata. Antud juhul tekib aga täiendav probleem seoses taustafooni arvestamisega. Nimelt lahtise katsekambri puhul annab taustafooni mõningase panuse ka toa valgustatus (millel on teatud spektraalsõltuvus), seega valik **Dark Offset** praegusel juhul ei anna korrektset tulemust (sest aparaat mõõdab taustsignaali vaid ühe korra vahetult enne skaneerimise alustamist). Selle asemel tuleb sama mõõtmist korrata nii, et neonlamp on välja lülitatud, aga muus osas on identsed tingimused. Taustaspektri maha lahutamine jääb sel juhul jällegi hilisema andmetöötluse hooleks.

**3. Kiirgusspektri mõõtmine.** Asetage fluorimeetrisse objektihoidja, mis on ette nähtud lahuste fluorestsentsi mõõtmiseks standardses 10 mm paksusega küvetis. Automaatse pime-

signaali korrektsiooni (**Dark Offset**) võib nüüdsest sisse lülitada, sest objektikamber on siin ja edaspidi suletud. Selle tõttu mõõdetavaks signaaliks saab olema S1c. Kuna antud proovi fluorestsents on võrdlemisi tugev, siis mõistliku signaal-müra suhte saavutamiseks piisab 0,1 s pikkusest signaali kogumisest ajast katsepunkti kohta kombineerituna spektraalpiluga 1 nm (kummagi monokromaatori jaoks). Kuna kiirgusspekter on võrdlemisi lai, piisab skaneerimissammust 2 nm.

Ergastamiseks sobilik lainepikkus valitakse tavaliselt neeldumisspektri põhjal, mis antud värvaine jaoks on toodud järgneval graafikul. Kiirguse registreerimise spektraaldiapasoon võiks ulatuda ergastusest umbes 50 nm sinisesse ning 200 nm punasesse.



**4. Ergastusspektri mõõtmine.** Fluorestsentsi ergastusspekter on eeldatavasti üsna sümmeetriline kiirgusspektri suhtes ja sarnaneb neeldumisspektriga. Fluorestsentsi detekteerimise kiirgusspektri maksimumis, mis on teada eelmisest mõõtmisest. Kuigi värvaine kiirgus- ja ergastusribad on ühtviisi laiad, siis antud juhul õpetuslikel kaalutlustel mõõdame ergastusspektri siiski suurema spektraallahutusega, et spetsiaalselt esile tuua ksenoonlampi enda kiirgusest pärinevad peenemad spektrijooned, mille hilisem (korrektn) andmetöötlus peab elimineerima. Seega ergastusmonokromaatori skaneerimissammuks seame 0,5 nm.

Ergastusspektri leidmisel on tarvis paralleelselt jälgida ergastava kiirguse intensiivsust fotodiodiga. Seega antud mõõtmise tulemiks peab olema korraga kaks spektraalsõltuvust, mida kajastavad signaalid S1c ja R1c. Need sõltuvused salvestada eraldi failidesse.

Et unifitseerida ja lihtsustada järgnevat andmetöötlust, ekspordige kõik mõõdetud spektraalsõltuvused (kokku 5 tk) eraldi kaheveeruliste tekstifailidena (**File ▶ Export ▶ Ascii**). Veelgi lihtsam on kasutada **Notepad**'i, kuhu tuleb lihtsalt kleepida andmeveerud.

## 3. Andmete töötlemine ja protokoll vormistamine

Detailsed juhised või vihjed andmetöötluse läbiviimiseks **Mathcad**'i keskkonnas on dokumenteeritud eraldi failis, mis on saadaval aineveebis.

**1. Spektraalne tundlikkus.** Laadige failidest spektraalse tundlikkuse sõltuvused mõlema detektori jaoks ja defineerige funktsioonid, mis *interpoleeriksid* mõlemat sõltuvust lineaarselt suvalise etteantud lainepikkuse jaoks. Neid funktsioone läheb hiljem korduvalt tarvis spektrite parandamisel. Esitage mõlemad tundlikkuskõverad ühel ja samal graafikul.

**2. Neonlambi kiirgus.** Laadige neonlambi spekter ja esitage koos vastava parandatud spektriga samal graafikul. (Siin ja edaspidi kõik spektraalsõltuvused võib normeerida maksimumi järgi ühikule kuna intensiivsuste telg on niikuinii suhteline.) Kuivõrd fotokordisti tundlikkus punases spektriosas kukub drastiliselt, siis neonlambi spektri korral on spektraalse korrektsiooni tulemust ka kõige selgemini näha spektrijoonte intensiivsuste vahekorra muutuse kaudu.

Hinnake neooni spektrijoonte alusel aparadi spektraallahutust ja lainepikkuste skaala täpsust. Neonlambi spektrijoonte tegelik laius on antud spektraalseadme seisukohalt kaduvväike. Kuivõrd antud spekter on üles võetud palju peenema sammuga kui on süsteemi spektraallahutus, siis piisab kui andmed lugeda (või arvutada) spektrist ühe katsepunkti täpsusega. Skaala täpsuse kirjeldamiseks piisab näiteks ruutkesmise erinevuse arvutamisest tegelike ja mõõdetud lainepikkuste vahel.

**3. Värvaine spektrid.** Selle etapi tulemina peab tekkima kolm graafikut. Esimesel graafikul tuleb näidata fluorestsentsi aparatuurne kiirgusspekter koos vastava parandatud spektriga (viimase saamisel tuleb arvesse võtta spektrometri tundlikkust). Teisel graafikul tuleb esitada kolm kõverat: (1) algne ergastusspekter (ilma igasuguste parandusteta); (2) tegelik ergastusspekter, mis on juba parandatud ergastava kiirguse intensiivsuse muutustele; (3) ergastava kiirguse tegeliku intensiivsuse käik skaneerimise vältel. Kahe viimase kõvera leidmisel tuleb arvesse võtta fotodiodi spektraalset tundlikkust. Korrektsete arvutuste korral ergastusspekter muutub peale parandamist siledaks. Viimasel graafikul esitage võrdlevalt värvaine neeldumis-, kiirgus- ja ergastusspektrid (lahuse neeldumisspekter on saadaval aineveebis). Kui suur on Stokes'i nihe antud ainel?

Korrektset vormistatud protokoll tuleb saata e-posti teel praktikumi juhendajale aadressil [kiisk\(at\)ut.ee](mailto:kiisk(at)ut.ee).

## Viited

[1] Spektrofluorimeetri Jobin-Yvon Fluoromax-4P juhend, [www.physic.ut.ee/~kiisk/Fluoromax.pdf](http://www.physic.ut.ee/~kiisk/Fluoromax.pdf).