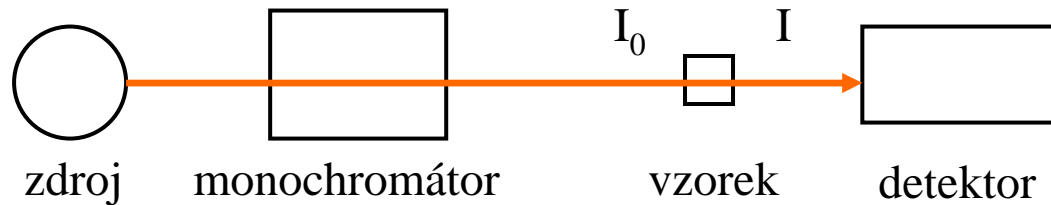


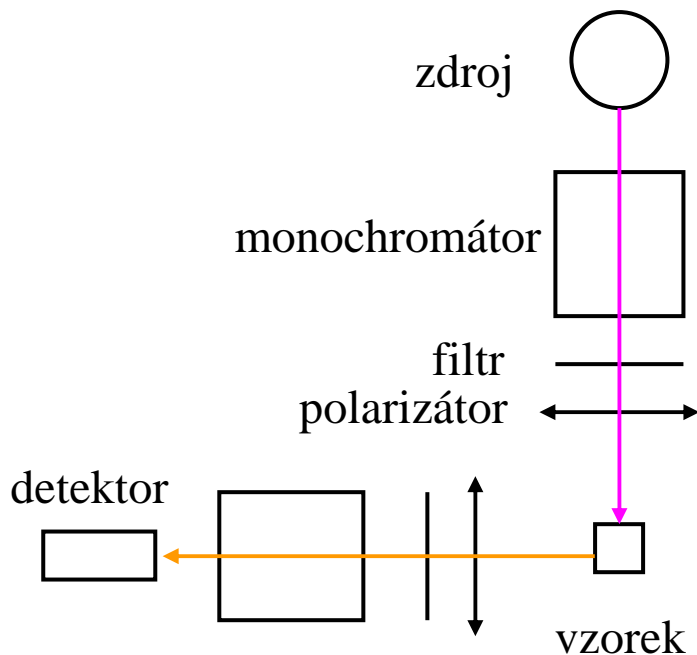
6. Experimentální technika pro měření fotoluminiscence

Absorpce vs. Fluorescence



$$A(\lambda) = -\log \frac{I(\lambda, l)}{I_0(\lambda)} = \varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot l$$

Při malých koncentracích hledáme malý rozdíl dvou velkých čísel



V měříme intenzitu emise proti „nulovému“ pozadí.

Pro malé koncentrace je intenzita úměrná

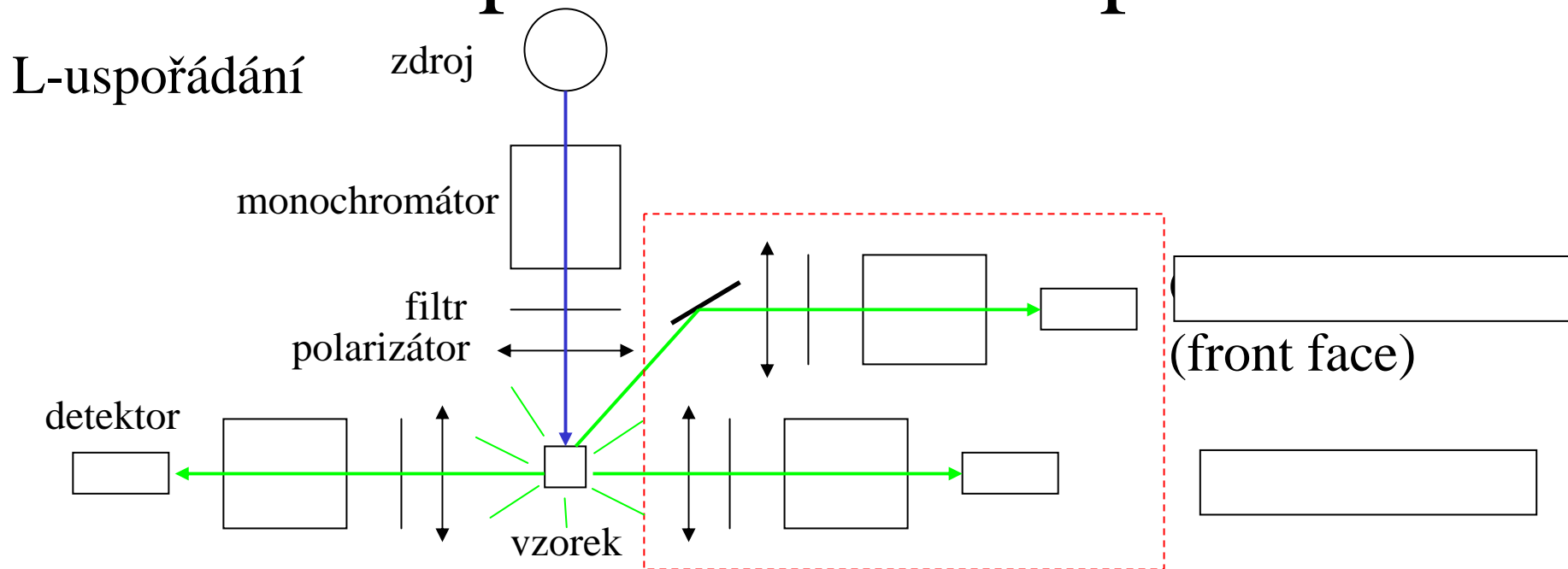
$$I \sim I_0 \varepsilon c l QY \eta$$

I závisí na koncentraci

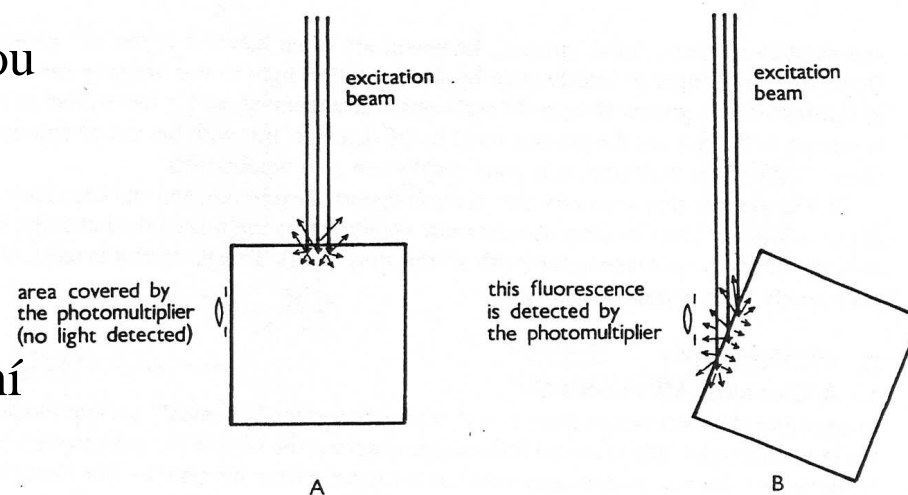
QY nezávisí na koncentraci

Pro přesné určení koncentrace potřebujeme

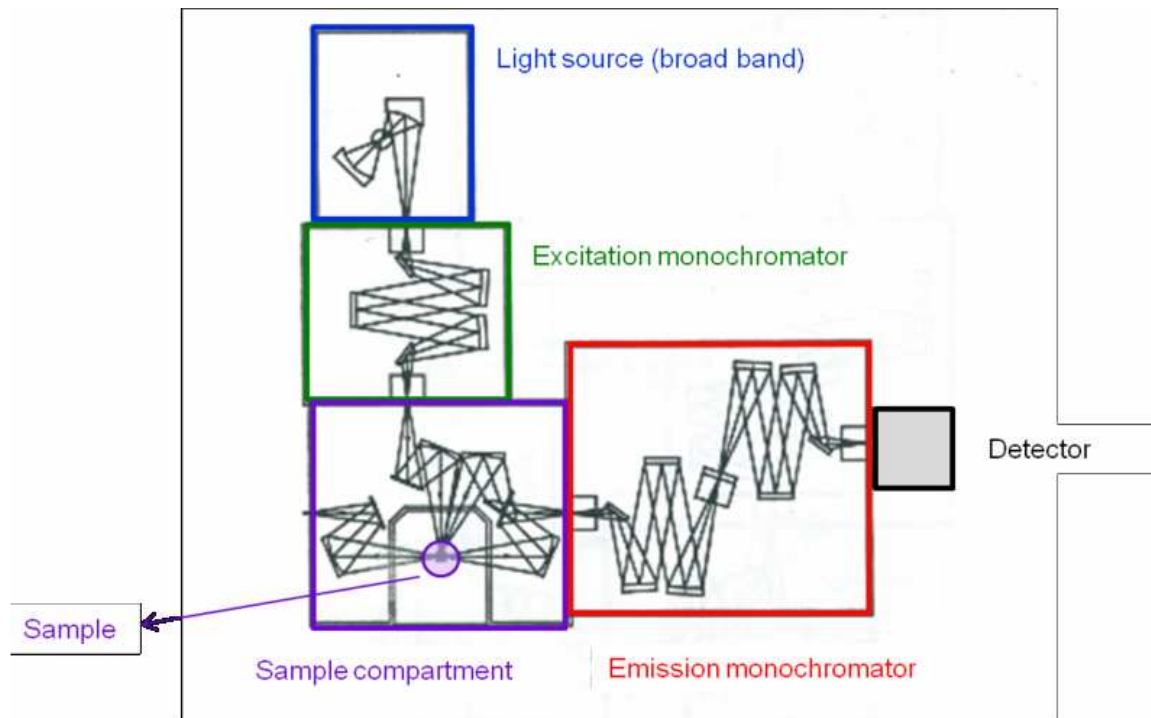
Další experimentální uspořádání



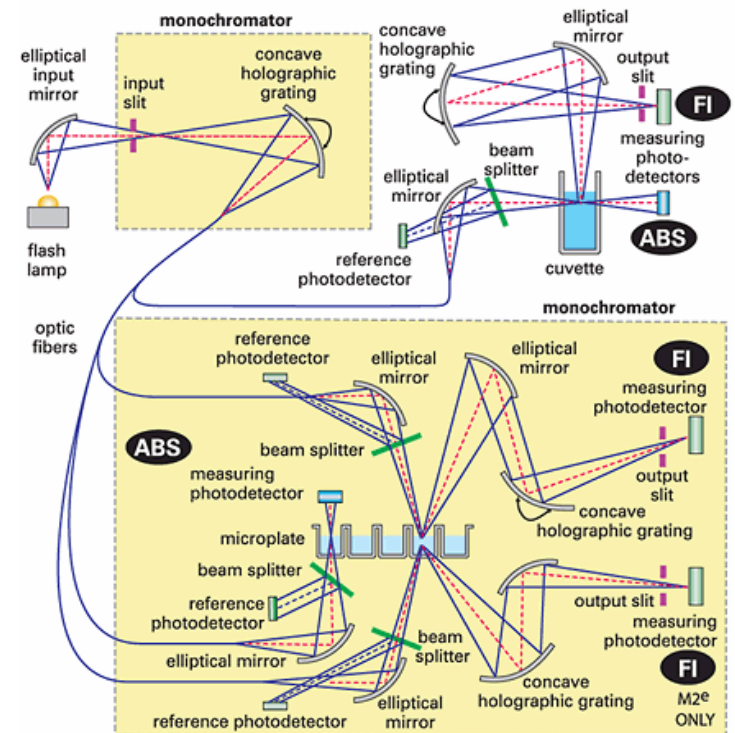
T-uspořádání umožňuje např. časově rozlišené měření anizotropie, nebo souběžnou detekci na 2 různých vlnových délkách. Osvětlení zepředu používáme pro měření silně absorbujících nebo rozptylujících vzorků (prakticky se většinou realizuje ne jako samostatný kanál, ale jako L-uspořádání + 2 zrcátka).



Fluorimetry



http://photonicswiki.org/index.php?title=File:Fluorometer_layout.png



http://e-powerlab.co.kr/bbs/view.php?id=MicroplateReader&page=1&sn1=&divpage=1&category=4&sn=off&ss=on&sc=on&&select_aran ge=headnum&desc=asc&no=14&keyword=

Absorpce a fluorescence

Emisi světla předchází absorpce - proto je většina používaných optických elementů i jejich vlastnosti totožných pro absorpční i fluorescenční spektroskopii.

Týká se to zejména:

Spektrálních omezení

Kontinuálních zdrojů světla (lampy)

Monochromátorů

Detektorů

ZOPAKUJTE SI - dále budou probírány jen věci, které jsou odlišné

Nejvýznamnější rozdíly mezi absorpční a fluorescenční spektroskopií

Absorpční

- Lineární uspořádání
- Především polychromatické zdroje světla (lampy)
- Zdroje kontinuálního světla
- 1 monochromátor
- U detektorů nás většinou nezajímají jejich časové charakteristiky

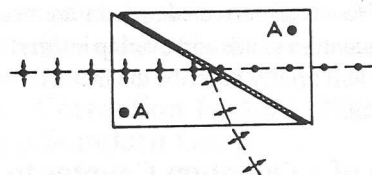
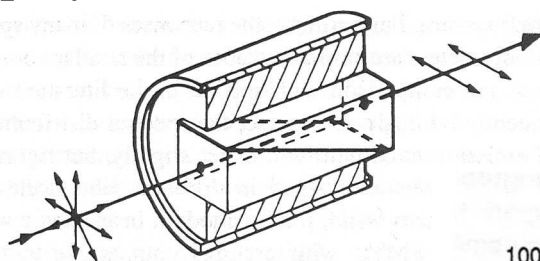
Luminiscence

- L-uspořádání (T, front-face)
- Polychromatické (lampy) i monochromatické zdroje světla (lasery, diody)
- Kontinuální, pulsní i harmonicky modulované zdroje světla
- 2 monochromátory
- Polarizátory
- Optické filtry
- U detektorů nás mohou zajímat jejich časové charakteristiky

Další optické elementy



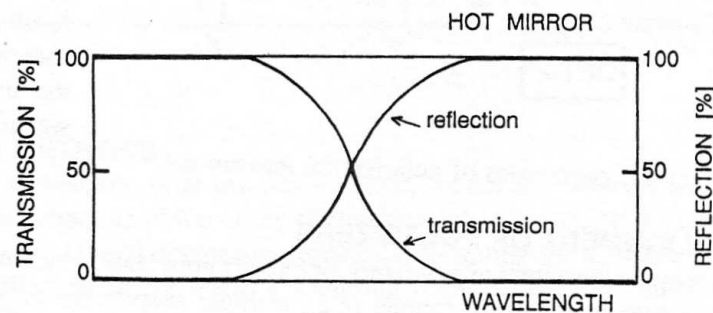
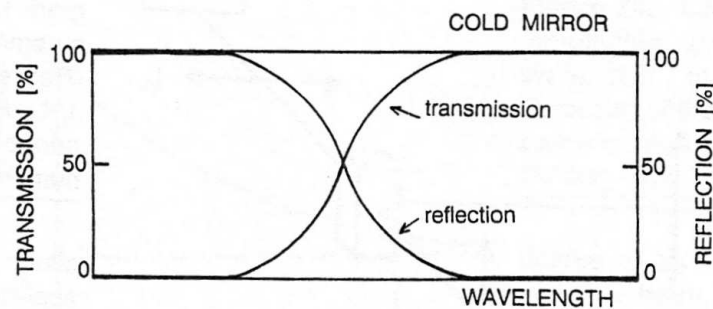
Většinou dvojlomný krystal, nebo natažený polymer



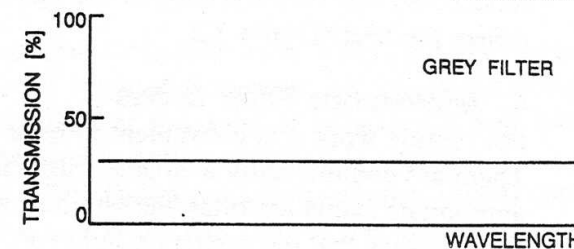
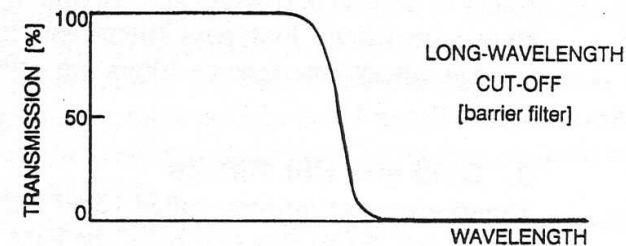
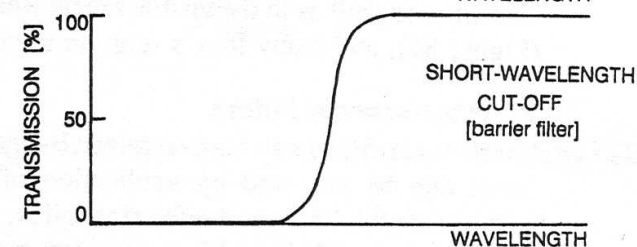
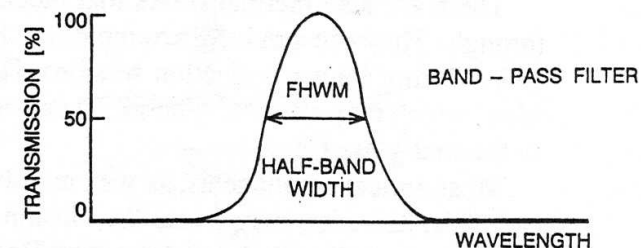
A = Crystal Optical Axis



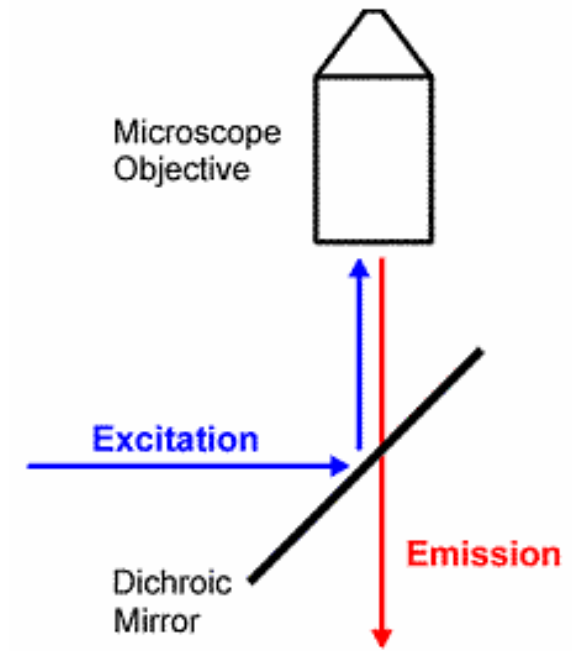
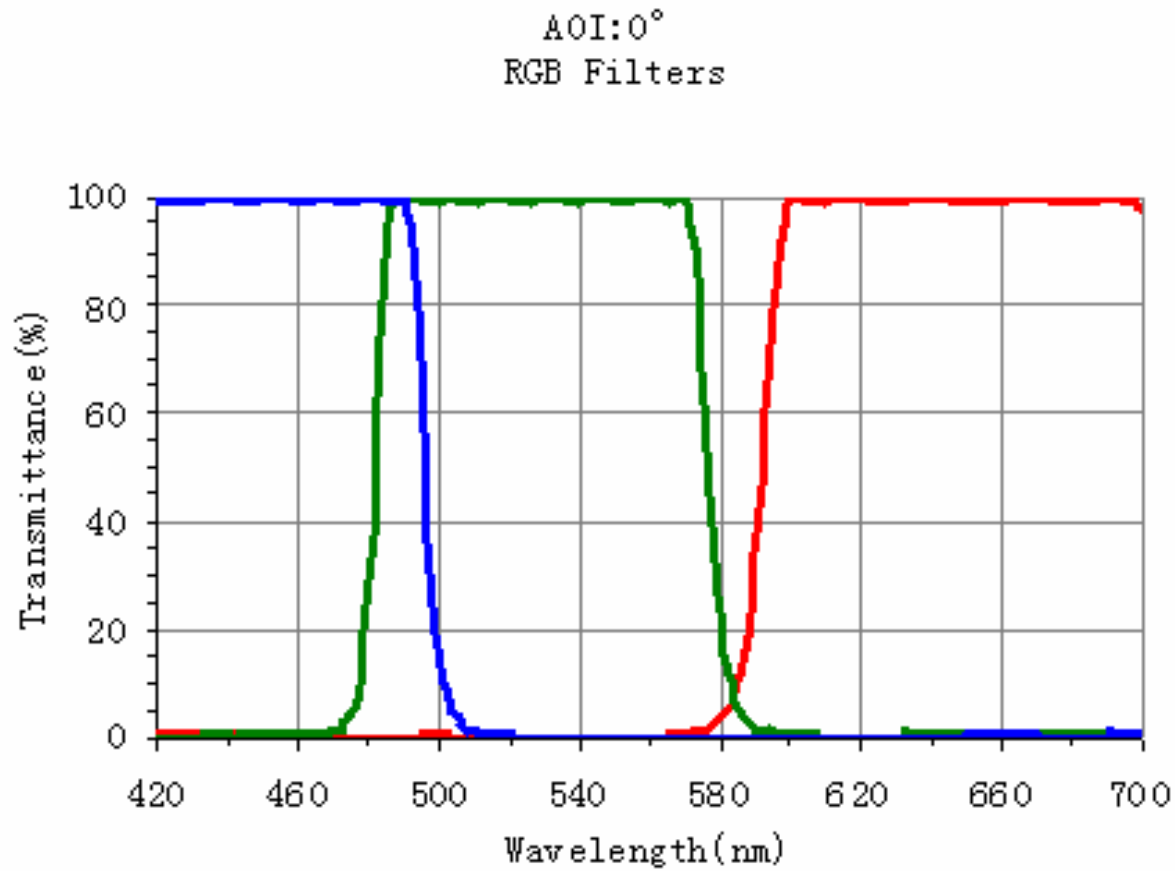
Cold-mirror – propouští IR část spektra a odráží UV-VIS, hot-mirror opačně



Skleněné, interferenční, tepelné



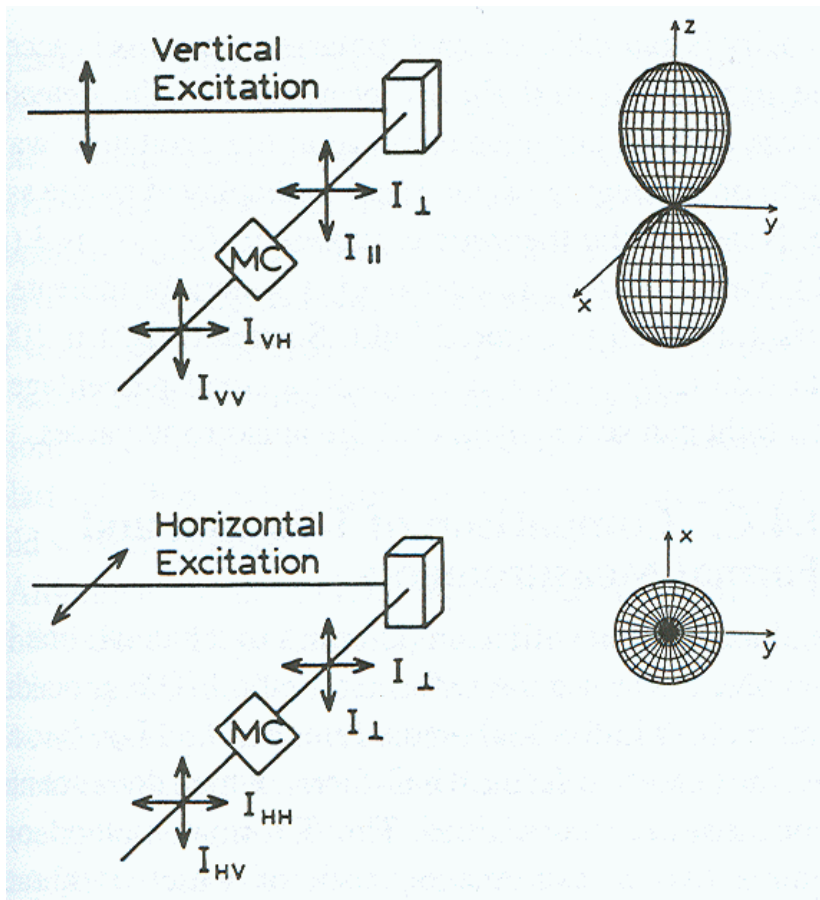
filtry



<http://www.fluorescence.com/tutorial/fm-optic.htm>

<http://www.amerinatech.com/Dichroic-Mirror.asp>

Měření s polarizovaným světlem



Lakowicz – Principles of Fluorescence Spectroscopy, 2.ed., Kluwer/Plenum, 1999

Mřížka monochromátoru může mít rozdílnou účinnost pro I_{\parallel} a I_{\perp} (závisí na vlnové délce). Tento rozdíl (tzv.) můžeme zjistit pomocí excitace horizontálně polarizovaným světlem

$$G = \frac{I_{HV}}{I_{HH}}$$

a zahrnout tuto korekci do výpočtu anizotropie

$$r = \frac{I_{\parallel} - GI_{\perp}}{I_{\parallel} + 2GI_{\perp}} = \frac{I_{VV} - \frac{I_{HV}}{I_{HH}} I_{VH}}{I_{VV} + 2 \frac{I_{HV}}{I_{HH}} I_{VH}}$$

Shrnutí

- Luminiscenční spektroskopie – **L-uspořádání** (T-uspořádání, front-face)
- **Spektrální omezení**
- **Zdroje** (lampy, lasery, synchrotron, LED)
- **Monochromátory** (štěrbiny, blaze-wavelength, vliv polarizace)
- **Kyvety** (materiál, geometrie)
- **Detektory** (fotonásobič, fotodiody, CCD kamery)
- **Další optické elementy** (polarizátory, zrcadla, filtry)
- **Měření s polarizovaným světlem** (G-faktor)