

Fyzikální praktikum 4

Měření fluorescence a stopování vodního toku

Úkoly

Zjistěte co nejvíce informací o tvaru neznámé hadičky protékané vodou pomocí stopovacího experimentu, tzn.:

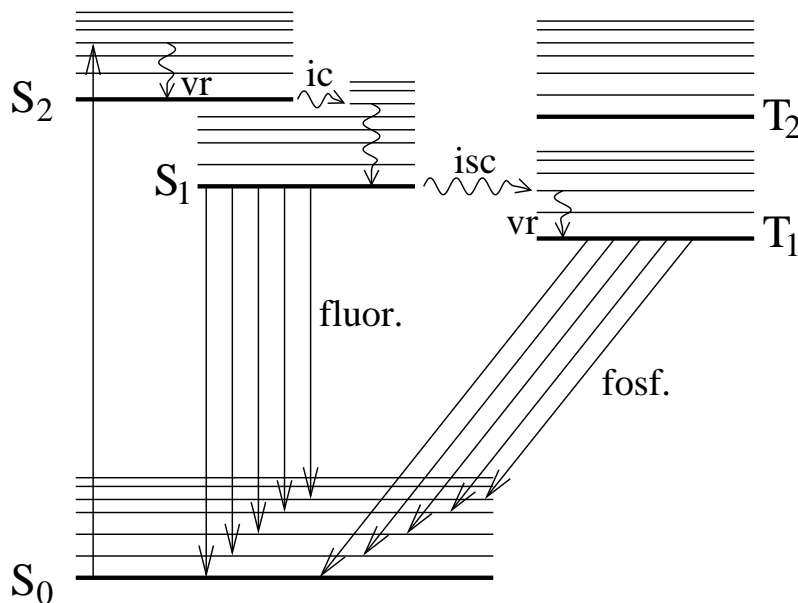
1. Zrealizujte měření koncentrace fluoresceinu ve vodném roztoku pomocí jeho fluorescence.
2. Proveďte a vyhodnoťte stopovací experiment průtoku vody neznámou hadičkou.

Luminiscence

Luminiscence je schopnost látky zářit intenzivněji než odpovídá rovnovážnému tepelnému záření. Podle způsobu, jakým je luminiscence vyvolána, mluvíme o termoluminiscenci, chemiluminiscenci, triboluminiscenci, elektroluminiscenci atd. Tento text se bude zabývat fotoluminiscencí, tedy luminiscenčním zářením vzniklým po excitaci dopadajícím elektromagnetickým zářením, většinou z UV oboru nebo viditelným světlem.

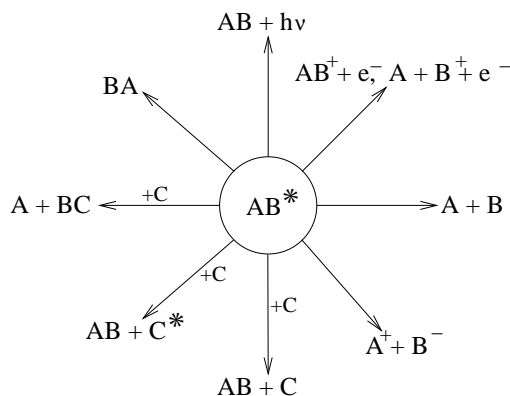
Když molekula pohltí foton UV záření nebo viditelného světla, je podle výběrových pravidel excitována do stavu se stejnou multiplicitou (tj. stejnou celkovou hodnotou spinu), jaký měla před excitací (viz obr. 1). Protože většina základních elektronových stavů molekul jsou singlety (stavy s nulovou celkovou hodnotou spinu), bude i stav molekuly po absorpci fotonu singlet. (Známou výjimkou je například molekula O_2 , jejímž základním stavem je triplet.) Rychlost přechodu excitovaného singletu do singletových stavů s nižší energií pomocí emise fotonu je vysoká, a proto excitované molekuly mohou okamžitě začít vyzařovat takzvané fluorescenční záření. V kapalinách ale záření z vysoce excitovaných stavů konkurují ještě řádově rychlejší nezářivé relaxační procesy, které většinu molekul převedou do nejnižšího excitovaného singletu, takže většina fluorescenčního záření pochází až od molekul v nejnižším vibračním stavu nejnižšího excitovaného singletu. Je zjevné, že fluorescence mívá větší, případně stejnou vlnovou délku jako excitující záření, jen vzácně má fluorescence vlnovou délku kratší. Protože při emisi fluorescenčních fotonů dochází k povoleným přechodům, bývá doba života excitovaného singletu velmi krátká a fluorescenční záření většinou pohasne řádově nanosekundy po vypnutí excitujícího záření. Intenzita fluorescence může být relativně vysoká, pokud ovšem excitovaný singlet není silně zhášen (deexcitován) konkurenčními nezářivými procesy (viz obr. 2), např. při srážkách s okolními molekulami. Protože rychlost zhášení v kapalině obvykle roste s rostoucí teplotou, je fluorescence intenzivnější a doba života excitovaného singletu delší při nižších teplotách.

Excitovaný singlet ovšem může samovolně nebo pomocí srážky přejít do tripletového stavu, ve kterém je spin jednoho elektronu v molekule otočen, kvantové číslo popisující velikost celkového spinu S má velikost jedna a multiplicita stavu $(2S + 1)$ je 3. Tímto způsobem může molekula přejít i do různých vyšších tripletových stavů, ty ale většinou rychle přejdou nezářivými i zářivými procesy do nejnižšího tripletu. Deexcitace nejnižšího tripletu emisí fotonu vyžaduje změnu multiplicity molekuly, jde tedy o zakázaný přechod. Střední doba života tripletu je proto výrazně delší než doba života excitovaných singletů, může trvat např. mikrosekundy. Záření tripletu se nazývá fosforescence a bývá mnohem slabší než fluorescence. V kondenzovaných látkách, stejně

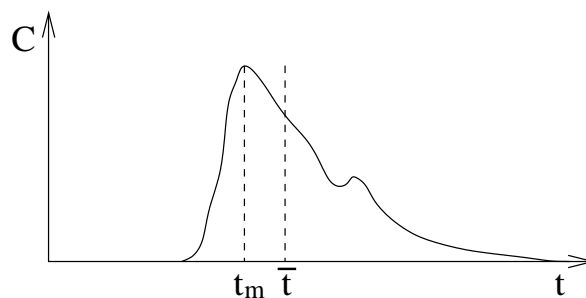


Obrázek 1: Jablonského diagram. Molekula je absorpcí fotonu excitována ze základního singletového stavu (S_0) do např. druhého excitovaného singletu (S_2). Rychlou vibrační relaxací (vr) a vnitřní konverzí (ic) přechází do nejnižšího excitovaného singletu (S_1) a emituje fluorescenční záření ($fluor.$). Mezisystémovým přechodem ($isc.$) může molekula přejít do tripletových stavů (T) a následně emitovat fosforescenční záření ($fosf.$) nebo dalším mezisystémovým přechodem přejít do vibračně excitovaného základního singletu (nezakresleno). Nezárivé procesy jsou naznačeny vlnovkou.

jako v případě fluorescence, doba dohasínání a intenzita fosforescence rostou s klesající teplotou. Vlnová délka fosforescence bývá v typických případech delší než vlnová délka fluorescence.



Obrázek 2: Mezi hlavní deexcitační procesy patří emise fotonu (luminiscence), ionizace (prostá nebo disociativní), různé typy fragmentace, zhasení při srážkách, přenos excitace, různé chemické reakce, přesmyky.



Obrázek 3: Příklad průnikové křivky s naznačenou dobou průtoku roztoku s maximální koncentrací (t_m) a střední dobou průniku barviva (\bar{t}).

Stopování neznámých toků

Stopováním vodního toku se označuje experiment, při kterém se voda potoka, řeky, nebo i jezera, studny atd. označí vhodným stopovačem (např. barvivem nebo solí zvyšující vodivost) jehož koncentrace se pak měří na jiném místě, např. za účelem prokázat spojení místa injektáže a místa odběru vzorků. Stopovací experimenty lze použít např. ke zjištění, jestli znečištění vody v jednom místě může vést ke kontaminaci okolních studní, dále ke kontrole potrubí, zda z něj neuniká část vody pryč, nebo ke zjištění charakteru neznámého vodního toku, typicky ve speleologii. K základnímu zjištění, kam sledovaná voda odtéká (např. spojení ponoru s vývěry) stačí kvalitativní měření přítomnosti stopovače v místě detekce. Pro určení charakteru neznámého toku je ale potřeba provést kvantitativní měření časové závislosti koncentrace stopovače (tzv. průniková křivka, viz obr. 3) spolu s měřením průtoku vody jak v místě injektáže stopovače, tak v místě jeho detekce.

Jednou ze skutečností, které stopovací experiment může odhalit, je větvení neznámého toku. Pokud tok obsahuje dvě větve, kterými voda teče různě dlouho, mohou se na průnikové křivce objevit dva píky. Neznámý přítok nebo naopak odtok části vody jinam, než do místa detekce, lze odhalit i bez stopovacího (většinou barvicího) experimentu prostým měřením průtoků. Když ale zkoumaná oblast obsahuje přítok i odtok části vod, je potřeba sledovat nejenom průtoky vody, ale i návratnost stopovače (tj. procento barviva, které dorazilo do místa detekce).

Průnikovou křivku lze ale využít i k odhadu rozměrů a charakteru neznámého toku. Nejúplnější informaci nese celý průběh průnikové křivky, často se ale sledují i její zjednodušené charakteristiky, jako jsou doba, za kterou dorazil roztok barviva s maximální koncentrací, nebo některé momenty průnikové křivky, zejména nultý moment (M_0) sloužící k výpočtu návratnosti barviva, první moment (\bar{t}) neboli střední doba průtoku barviva a druhý centrální moment (σ^2) používaný k výpočtu tzv. podélné disperze barviva:

$$M_0 = \int_0^{\infty} C(t) Q(t) dt \quad (1)$$

$$\bar{t} = \frac{\int_0^{\infty} t C(t) Q(t) dt}{\int_0^{\infty} C(t) Q(t) dt} \quad (2)$$

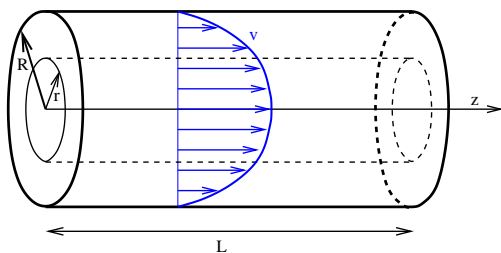
$$\sigma^2 = \frac{\int_0^{\infty} (t - \bar{t})^2 C(t) Q(t) dt}{\int_0^{\infty} C(t) Q(t) dt}, \quad (3)$$

kde t je čas uplynulý od injektáže barviva, C označuje koncentraci barviva a Q průtok vody v místě detekce. Kromě těchto veličin lze sledovat např. poměr \bar{t}^2/σ^2 , který charakterizuje, zda pohybu vody dominuje advekce nebo difúze, a řadu dalších parametrů. V tomto praktiku si ve velmi zjednodušené situaci můžete zjistit, jaké charakteristicky neznámého toku lze pomocí barvicího experimentu stanovit a jaké způsoby jsou k tomu vhodné.

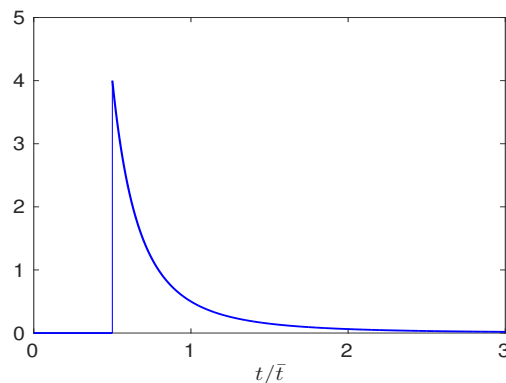
Laminární proudění vody vřalčovou trubicí

Rychlostní profil ustáleného laminárního proudění kapaliny vřalčovou trubicí, na které je tlakový spád Δp , se dá odvodit pomocí rovnováhy sil působících na myšlený válec s poloměrem r , který je znázorněn na obr. 4. Je-li výsledná tlaková síla působící na podstavu válce a urychlující válec v rovnováze s viskózní silou působící na plášř válce a brzdící válec, pak platí

$$\pi r^2 \Delta p = -2\pi r L \eta \frac{dv}{dr}, \quad (4)$$



Obrázek 4: Náčrtek myšleného válce použitého při odvození rychlostního profilu laminárního proudění ve válcové trubici.



Obrázek 5: Průniková křivka válcové trubice za předpokladu laminárního proudění a zanedbatelné difúze barviva.

kde L je délka trubice, $2\pi rL$ velikost plochy vystavené tření, v rychlost proudění a η viskozita kapaliny. Tato diferenciální rovnice vede k parabolickému rychlostnímu profilu

$$v = \frac{1}{4\eta} \frac{\Delta p}{L} (R^2 - r^2) \quad (5)$$

s maximem na ose trubice a nulovou rychlostí u stěn a k celkovému průtoku

$$Q = \frac{\pi}{8\eta} \frac{\Delta p}{L} R^4, \quad (6)$$

kde R je poloměr trubice.

Odvození průnikové křivky je ovšem obtížnější. V obecném případě je potřeba spočítat rozložení koncentrace stopovače (n) v trubici pomocí diferenciální rovnice

$$\frac{dn}{dt} = -v \frac{dn}{dz} + D \left(\frac{d^2n}{dr^2} + \frac{1}{r} \frac{dn}{dr} + \frac{d^2n}{dz^2} \right), \quad (7)$$

kde D představuje koeficient difúze stopovače v roztoku, a vyjádřit pak množství stopovače vystupující z trubice do detektoru jako integrál

$$F = \int_0^R n(r, L, t) v(r) 2\pi r dr. \quad (8)$$

Obecné řešení je obtížné, podívejme se ale alespoň na řešení jednoho mezního případu, kdy difúzi považujeme za zanedbatelnou. Potom pro počáteční velmi úzké rozložení stopovače na vstupu trubice $n(t=0) = n_0 \delta\left(\frac{z}{v}\right)$ dostáváme pomocí rovnic (7) a (8)

$$\begin{aligned} n &= n_0 \delta\left[\frac{z}{v(r)} - t\right] \\ A &= \frac{z}{v} - t \\ F &= \int_0^R n_0 \delta(A) v 2\pi r dr = n_0 2\pi r v \frac{dA}{dr} = n_0 \frac{4\pi\eta L^3}{\Delta p} \frac{1}{t^3}. \end{aligned}$$

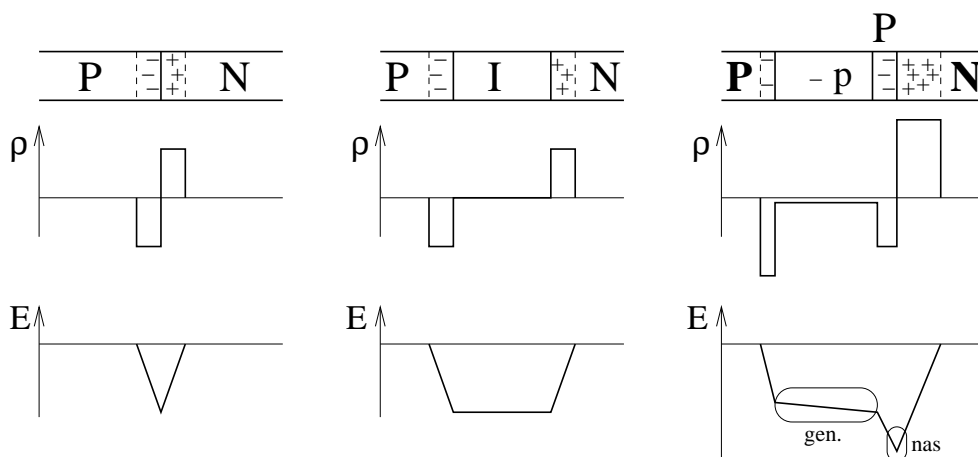
Tato rovnice má smysl pro $t \geq \frac{L}{v_{\max}}$, kde v_{\max} je rychlost kapaliny na ose trubice, pro dřívější časy je průniková křivka nulová. Spočítaná průniková křivka je ukázaná na obr. 5. Předpoklad zanedbatelné difúze je samozřejmě přílišným zjednodušením reality, ale jako odrazový můstek pro úvahy o skutečném tvaru průnikové křivky může být spočítaný průběh užitečný.

Detektory světla

Protože při řešení úlohy budete potřebovat detekovat luminiscenční záření, je vhodné stručně shrnout principy běžných detektorů světla. Při detekci světla je možné využívat několika jevů:

- fotochemické reakce – např. klasická fotografie
- vnější fotoefekt – např. ve fotonásobičích a intenzifikátorech ICCD kamer
- vnitřní fotoefekt – fotoodpory, fotodiody, fototranzistory, CCD . . .
- zahřívání vzorku po absorpci světla – např. pyroelektrické detektory pulzního laserového záření.

Následující text se bude týkat pouze fotodiody. Jak známo, na PN přechodu vzniká díky difúzi volných nosičů náboje ochuzená vrstva s nevykompenzovaným prostorovým nábojem (viz obr. 6), uvnitř které je relativně silné elektrické pole. Ochuzená vrstva má nízkou vodivost. Je-li v ochuzené vrstvě absorbován foton s energií větší než je šířka zakázaného pásu, vznikne v ní pár elektronu a díry, který zvýší vodivost ochuzené oblasti, což lze použít k detekci světla. Silné elektrické pole v ochuzené oblasti odtáhne vzniklý elektron a díru na opačné strany PN přechodu, což může vést ke změně napětí na fotodiodě a také může být použito k detekci světla.



Obrázek 6: Náčrtek struktury, hustoty prostorového náboje (ρ) a intenzity elektrického pole (E) ve fotodiodě (vlevo), PIN fotodiodě (uprostřed) a lavinové fotodiodě (vpravo). U lavinové fotodiody jsou znázorněny oblasti generace volných nábojů a jejich násobení v silném el. poli. Silně dopované oblasti lavinové fotodiody jsou označeny tučnými písmeny, slabě dopovaná oblast je označena malým písmenem p .

Fotony absorbované mimo ochuzenou oblast mohou také vytvořit elektron-děrový pár. Pokud ale jeden z těchto nosičů náboje náhodně díky difúzi nedorazí na hranici ochuzené oblasti a není jejím elektrickým polem přetažen přes PN přechod dříve, než dojde k jeho rekombinaci, pak elektron-děrový pár generovaný mimo ochuzenou oblast nemůže přispět k fotonapětí nebo fotoproudu. Citlivost fotodiody je tedy tím větší, čím větší je ochuzená oblast. Elektron-děrové páry vzniklé přímo v ochuzené oblasti navíc reagují na silné elektrické pole okamžitě, zatímco odezva diody na fotony absorbované mimo ochuzenou oblast je pomalá, protože je limitovaná pomalou difúzí nosičů náboje k PN přechodu. Rychlost fotodiody může být limitovaná i kapacitou PN přechodu, která klesá s rostoucí tloušťkou PN přechodu. Pro zvýšení citlivosti i rychlosti fotodiody je tedy žádoucí zvětšit tloušťku ochuzené vrstvy.

Tohoto cíle je dosaženo v tzv. PIN fotodiodě, ve které je do PN přechodu vložena vrstva intrinsického polovodiče s malou koncentrací volných nosičů náboje (viz obr. 6). To vede k rozšíření ochuzené vrstvy a zvýšení citlivosti i rychlosti PIN fotodiody, takže některé PIN fotodiody jsou schopné měřit děje s časovým rozlišením pod jednou nanosekundou.

Citlivost fotodiody lze dále zvýšit lavinovým zesílením signálu v tzv. lavinových fotodiodách. Tyto diody mají v oblasti PN přechodu tak silné elektrické pole, že volné nosiče náboje tekoucí PN přechodem vyvolávají lavinovou ionizaci polovodiče podobně jako elektrony vyvolávají ionizaci plynu v doutnavém výboji. Tento proces vede ke zvýšení citlivosti fotodiody, ale také ke zvýšení šumu a snížení rychlosti odezvy fotodiody. Aby lavinová fotodioda dosahovala co nejvyšší citlivosti a měla co nejmenší šum, bývá oblast generování elektron-děrových párů v široké slabě dopované oblasti PN přechodu oddělena od úzké oblasti násobení, jak je znázorněno na obr. 6.

Průběh úlohy

1. Je vhodné začít sestavením aparatury pro detekci fluorescenčního záření fluoresceinu. Má-li být měření citlivé, je potřeba nejenom soustředit co nejvíce fluorescence na detektor, ale také co nejvíce potlačit vliv ostatních zdrojů světla.
2. Pomocí detekční aparatury proveďte stopovací experiment vodního proudění neznámou hadičkou. Hadičkou bude protékat voda s přibližně konstantním průtokem. Během proudění vody Vám vyučující vodu na vstupu hadičky označuje malým množstvím roztoku fluoresceinu. Voda vytékající z druhého konce hadičky bude proudit skleněnou trubičkou, kde můžete provádět fluorescenční měření.
3. Analogické stopovací experimenty můžete provést samostatně s vámi zvolenými (známými) hadičkami.
4. Pomocí výsledků stopovacího experimentu vyvoďte závěry o rozměrech hadičky. Hadička má kruhový průřez.

Pomůcky

- LED různých barev
- PIN diody
- Dva hranové optické filtry (nizkofrekvenční a vysokofrekvenční) s hranou na 500 nm
- Spojka ($f = 2.54$ cm)
- Klíčková uchycení optických komponent
- Arduino, tedy jednoduchá počítačová deska umožňující ovládat zdroj světla a zpracovávat napěťový signál z detektoru fluorescence.
- Osciloskop, multimetr, elektronické součástky (odpory, vodiče, časovač CM 555 ...)
- Roztok fluoresceinu se známou koncentrací
- Odměrný válec
- Plastové hadičky různých průřezů