

## **Bandinių fluorescencijos ir jos laikinių pokyčių matavimas**

### **Darbo užduotys:**

1. Susipažinti su šviesolaidinės sistemos, skirtos fluorescencijos spektrų registravimui, moduliais.
2. Susipažinti su programine įranga skirta fluorescencijos spektrų ir jų laikinių pokyčių matavimams ir registavimui.
3. Išmatuoti gautų bandinių fluorescencijos spektrus.
4. Išmatuoti gautų bandinių fluorescencijos spektrų blukimo kinetikas ties keliais pasirinktais bangos ilgiais.
5. Atlikti fluorescencijos intensyvumo blukimo kinetikų matematinės aproksimacijas.

### **Darbo atlikimo planas:**

1. Sujungti šviesolaidinės sistemos modulius fluorescencijos matavimams ir nuspiešti optinę sistemos schemą.
2. Gautus bandinius padėti ant objektinio stikliuko ir perkelti ant matavimo staliuko taip, kad bandinys būtų virš bifurkacinio šviesolaidžio antgalio.
3. Matavimo programoje parinkti tinkamus parametrus eksperimentui atlikti.
4. Išmatavus pateiktų bandinių autofluorescencijos ir fluorescencijos spektrus, juos išsaugoti standartiniu formatu bei pakeisti ir išsaugoti tekstiniu formatais.
5. Išmatavus bandinių fluorescencijos intensyvumo blukimo kinetikas ties parinktais bangos ilgiais ir jas išsaugojus, kaip minėta, gautus duomenis aproksimuoti viena ir dvejomis eksponentėmis pagal formules:

$$I(t) = I_0 \cdot \exp(-t/\tau_1) + I_f;$$

$$I(t) = I_1 \cdot \exp(-t/\tau_1) + I_2 \cdot \exp(-t/\tau_2) + I_f$$

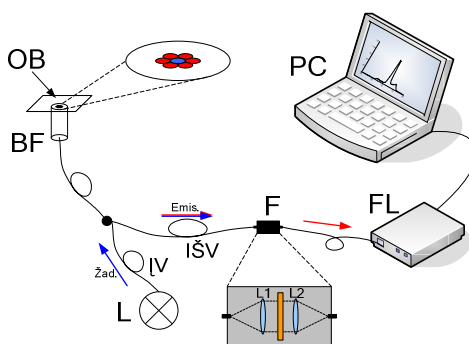
### **Kontroliniai klausimai:**

1. Kas yra bandinio fluorescencija, koks jos ryšys su į bandinį krintančia šviesa.
2. Fluorescencijos spektras elektromagnetinių bangų skalėje.
3. Bandinių fluorescenciją nusakantys parametrai ir jų matavimo vienetai.
4. Fluorescencijos matavimo schemas elementai ir jų savybės.
5. Bandinio savybės / parametrai lemiantys jo fluorescencijos savybes.
6. Išoriniai veiksniai lemiantys bandinių fluorescencijos intensyvumą.

Fluorescencijos spektrų ir jų laikinių parametrų registravimas.

### ***Fluorescencijos spektrų matavimas***

Fluorescencijos spektrus matuojame šviesolaidiniu Ocean Optics USB 2000 spektrofluorimetru (FL), kurio matavimo ribos yra nuo 200 nm iki 1100 nm. Fluorescencijos žadinimui naudojama Ocean Optics LS-450 lempa (L) su adaptuotu mėlynos šviesos diodu. Diodo emituojamos spinduliuotės smailė yra ties 403 nm, jos plotis pusės intensyvumo aukštyje (angl. – FWHM) yra 20 nm. Lempos optiniais elementais diodo emituojama šviesa sufokusuojama į bifurkacinio šviesolaidžio įvadą (IV). Bifurkacinį šviesolaidį sudaro du tarpusavyje sujungti šviesolaidžiai, kurių kiekvienas turi atskirą galą, o trečiame gale (BF), kuris nukreipiamas į bandinį, atskirų šviesolaidžių optinės skaidulos suglaudžiamos drauge. Naudojamas „saulutės“ tipo šviesolaidis, kuriame vieno šviesolaidžio galo gija yra centrinė, o šešios kito šviesolaidžio galo gijos išsidėstę aplink ją ratu. Fluorescencijos žadinimui dažniausiai naudojama centrinė gija, tuomet fluorescencijos signalas renkamas aplink centrinę giją išdėstytomis šviesolaidinėmis skaidulomis. Siekiant atsiriboti nuo išsklaidytos žadinimo šviesos, bifurkacinio šviesolaidžio išvado (IŠV) galas sujungiamas su optiniu moduliu sudarytu iš dviejų lęšių ir filtro. Tarp lęšių  $L_1$  ir  $L_2$  statomas filtras F, kuris parenkamas taip, kad nepraleistų žadinimo šviesos signalo, tačiau netrukdytų registruoti bandinio fluorescenciją. Praėjusi filtrą šviesa šviesolaidžiu (SV) patenka į spektrofluorimetrą. Iš spektrofluorimetro spektroskopiniai duomenys perduodami į kompiuterį (PC), kuriame jie toliau tvarkomi OOIBASE32 programine įranga.

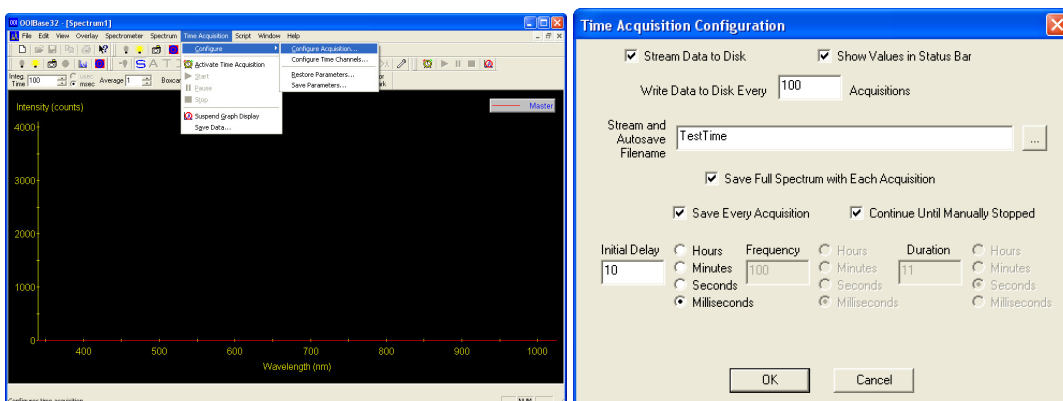


1 pav. Fluorescencijos spektrų registravimo sistemos schema. L – Ocean Optics LS-450 lempa; IV – žadinančios spinduliuotės perdavimui naudojamas šviesolaidis; IŠV – fluorescencijos signalo perdavimui naudojamas šviesolaidis; BF – bifurkacinio šviesolaidžio antgalis; OB – tiriamasis objektas;  $L_1$  ir  $L_2$  – lęšiai; F – optinis filtras; FL – spektrofluorimetras; PC – kompiuteris su sistemos valdymo programa

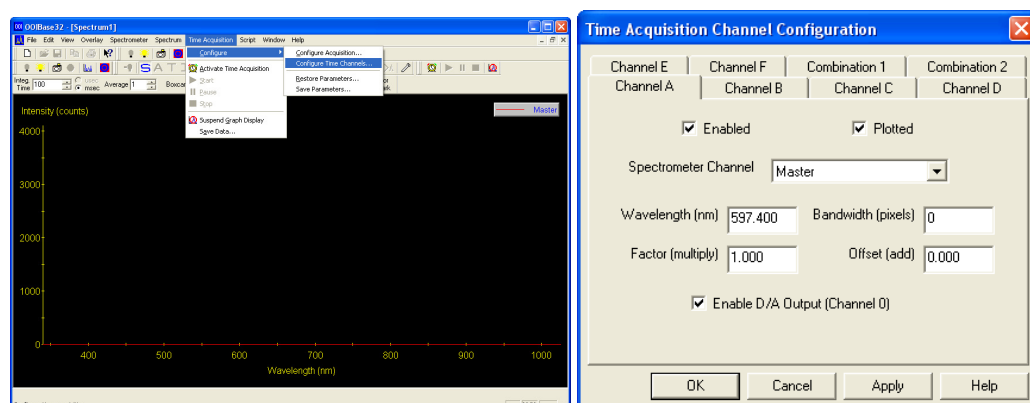
Fluorescencijos spektrų ir jų laikinių pokyčių registravimo parametrų parinkimas, registravimas bei duomenų išsaugojimas atliekamas naudojantis OOIBASE32 programinės įrangos įrankiais. Fluorescencijos

spektrai matuojami lygiai taip pat, kaip ir sugerties spektrai, pagal metodinėje literatūroje nurodytas procedūras. Fluorescencijos spektrų intensyvumo laikinių pokyčių registravimas atliekamas šiais etapais:

1. Pasirenkami spektrų ir jų laikinių pokyčių registravimo parametrai programos meniu lange “Time Acquisition→ Configure→ Time Acquisition Configuration”



2. Pasirenkamas norimas išmatuoti intensyvumo laikinių pokyčių kiekis ir nustatomos jų spektrinių padėčių vertės programos meniu lange “Time Acquisition→ Configure→ Time Acquisition Channel Configuration”



3. Aktyvuojamas laikinių parametru registravimo langas “Time Acquisition→ Activate Time Acquisition”

4. Laikinių parametru registravimas paleidžiamas ir stabdomas naudojantis šiuo įrankių langu:



5. Sustabdžius matavimą, laikinių parametru išsaugojimas atliekamas meniu lange “Time Acquisition→ Save Data...”