

ФИЗИКА

М. Д. ГАЛАНИН

## ИЗМЕРЕНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ НА «ФАЗОВОМ ФЛУОРОМЕТРЕ»

*(Представлено академиком С. И. Вавиловым 14 VI 1950)*

Для измерения времени флуоресценции порядка  $10^{-8} - 10^{-9}$  сек. применяется возбуждение высокочастотно модулированным светом. Излучаемая при таком возбуждении флуоресценция также модулирована с амплитудой и фазой, зависящими от среднего времени  $\tau$  затухания флуоресценции. Если люминесценция затухает по экспоненциальному закону  $I(t) = I_0 e^{-t/\tau}$  и возбуждение производится синусоидально модулированным светом, то глубина модуляции света люминесценции уменьшена по сравнению с глубиной модуляции возбуждающего света в  $\sqrt{1 + \omega^2 \tau^2}$  раз, а фаза отстает на угол

$$\varphi = \arctg(\omega\tau), \quad (1)$$

где  $\omega$  — циклическая частота модуляции (<sup>1,2</sup>). Методы измерения  $\tau$  при помощи «флуорометров» (<sup>1</sup>) основаны на косвенном определении  $\varphi$ . Для этого свет люминесценции подвергают второй синхронной модуляции и измеряют интенсивность света в зависимости от искусственно вводимой дополнительной разности фаз. Эта разность фаз осуществляется при помощи переменного оптического пути, проходимого светом между модуляциями. Сравнивая кривые зависимости интенсивности от длины оптического пути, полученные для рассеивающего и флуоресцирующего объектов, можно найти  $\tau$  (<sup>2</sup>). Таким образом значение  $\tau$  получается в результате довольно длительных и кропотливых измерений. Поэтому еще в 1940 г. в Физическом институте АН СССР была высказана мысль о том, что принципиальными преимуществами обладала бы флуорометрическая установка, позволяющая более непосредственное измерение  $\varphi$ , что возможно при фотоэлектрических методах и определения сдвига фазы между высокочастотными фототоками. Эта идея, осуществление которой в свое время не было доведено до конца, положена в основу нашей установки (рис. 1).

Модулирующее устройство, использующее дифракцию света на стоячей ультразвуковой волне в пьезокварце  $Q$ , сохранено таким же, как в флуорометре ФИАН. Новую часть установки составляет резонансный двухканальный усилитель, настроенный на частоту модуляции ( $\sim 24$  МГц) с общим для обоих каналов гетеродином  $G$ . На входе одного из каналов стоит фотоэлемент  $\Phi_2$ , другого — фотоумножитель  $U_m$ . Основная часть модулированного пучка возбуждает флуоресценцию в кювете  $F$ . Свет флуоресценции при помощи светосильного объектива  $L_6$  через фильтр  $\Phi_2$  (скрещенный с  $\Phi_1$ ) попадает на фотоумножитель  $U_m$ . Небольшая часть пучка падает на фотоэлемент  $\Phi_2$ , предварительно проходя некоторое расстояние, которое можно изменять передвижением каретки  $K$  с зеркалами.

Каждый канал усилителя состоит из двух каскадов высокой частоты и четырех каскадов на частоте около 3,5 Мгц. Полоса частот усилителей составляет около 0,3 Мгц. Общее усиление до  $10^6$ . Выходы каналов подаются непосредственно на горизонтальные и вертикальные пластины катодного осциллографа К. О. Вид получающегося эллипса

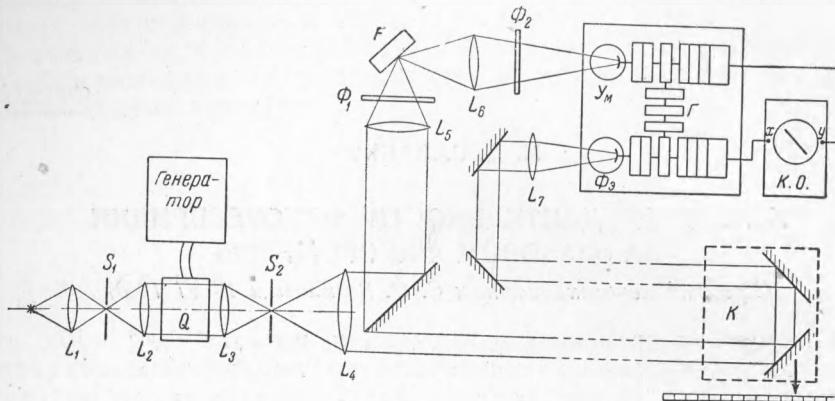


Рис. 1. Схема установки

зависит от положения на оптической скамье подвижной каретки  $K$  с зеркалами, а при данном положении — от дополнительной разности фаз, вызываемой конечной длительностью флуоресценции. Поставив вместо

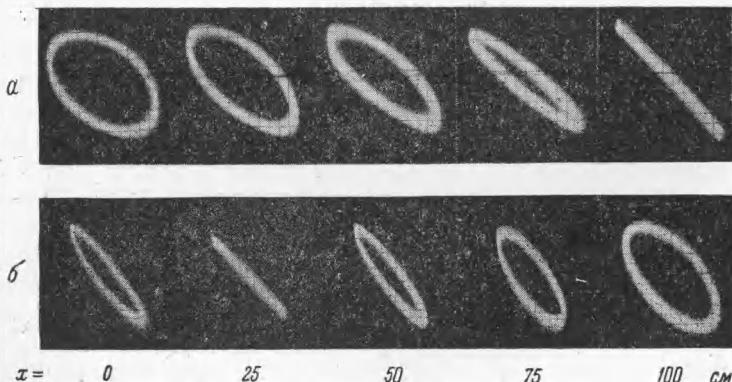


Рис. 2. Осциллограммы для раствора флуоресцина (a) и для рассеивающей поверхности (b) при различных положениях  $x$  каретки с зеркалами

флуоресцирующего вещества рассеивающую поверхность, можно определить насколько нужно сдвинуть зеркало для того, чтобы получить прежнюю фазу (например, вырождение эллипса в прямую). По величине  $\Delta x$  этого сдвига вычисляется  $\tau$  <sup>(2)\*</sup>. Таким образом процедура измерений чрезвычайно упрощается. На рис. 2 приведены осциллограммы, полученные для рассеивающей поверхности и раствора флуоресцина ( $\Delta x = 68$  см;  $\tau = 5,5 \cdot 10^{-9}$  сек.) при различных положениях зеркал.

\* Приблизительно  $\tau = \frac{2\Delta x}{c}$ , где  $c$  — скорость света. Для более точного вычисления нужно пользоваться формулой (1).

Точность измерений зависит от отношения сигнала к шуму. Последний определяется в основном шумом фотомножителя. При достаточно яркой флуоресценции установка дает возможность измерять  $\Delta x$  с точностью около  $\pm 3$  см (или  $\tau$  с точностью около  $\pm (2 \div 3) \cdot 10^{-10}$  сек., что во всяком случае не хуже, чем в прежнем методе. Для повышения точности или для измерений при малых интенсивностях необходимо, повидимому, некоторое усовершенствование установки, например, сужение полосы частот усилителей, что вызовет в свою очередь повышение требований к стабильности фазы. Сдвиг фазы, вносимый усилителями несколько зависит от величины усиления, а также изменяется при перегрузке усилителей, что приходится учитывать для избежания систематических ошибок.

В табл. 1 приводятся некоторые значения  $\tau$  для ряда веществ, измеренные на описанной установке. Для веществ, измерявшихся прежними методами, эти значения близки к ранее известным.

Таблица 1

Вещество	Растворитель	Концентрация $C \cdot 10^4$ г/см <sup>3</sup>	$\tau \cdot 10^9$ сек.
Флуоресцеин	Этил. спирт (щелочной раствор)	2	5,5
Эозин	Этил. спирт	2,5	3,4
Родамин 5G	Этил. спирт	2,5	4,9
Родамин В	Этил. спирт	1	3,3
Родулин оранжевый	Этил. спирт	2,5	3,4
Трипафлавин	Этил. спирт	5	3,4
Бензофлавин	Этил. спирт	2	3,9
Акрифлавин	Этил. спирт	5	3,2
Эскулин	Глицерин	10	2,5
Хинин сернокислый	Этил. спирт	20	12,5
Акридин сернокислый	Этил. спирт	5	$\sim 30$
Антрацен	Кристалл.	—	6,0
Салициловый натрий	Кристалл.	—	6,2

Пользуюсь случаем выразить благодарность акад. С. И. Вавилову за постоянное внимание к этой работе, а также К. В. Владимировскому и А. Б. Меликьяну за многочисленные советы по радиотехническим вопросам и Д. Ф. Коринфскому, проведшему монтаж и налаживание установки.

Физический институт им. П. Н. Лебедева  
Академии наук СССР

Поступило  
10 VI 1950

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> E. Gavioia, Ann. d. Phys., **81**, 681 (1926); W. Szumapowski, Zs. f. Phys., **95**, 440 (1935). <sup>2</sup> F. Duschinsky, Zs. f. Phys., **81**, 7, 23 (1933); М. Д. Галанин, Тр. Физич. ин-та АН СССР, **5**, 339 (1950).