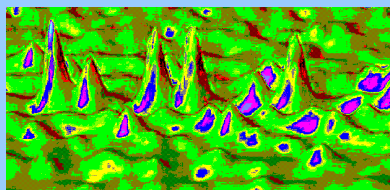




Detekcja światła



Sebastian Maćkowski

Instytut Fizyki

Uniwersytet Mikołaja Kopernika

Adres poczty elektronicznej: mackowski@fizyka.umk.pl

Biuro: 365, telefon: 611-3250

Konsultacje: czwartek 13-16

WS 2008/2009



Repeta z wykładu nr 11

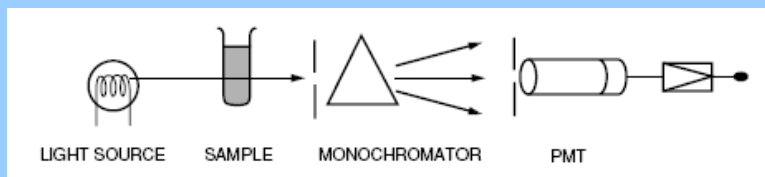


CCD (urządzenie ze sprzężeniem ładunkowym)
(urządzenie z przekazem ładunku)

WS 2008/2009



Eksperyment optyczny

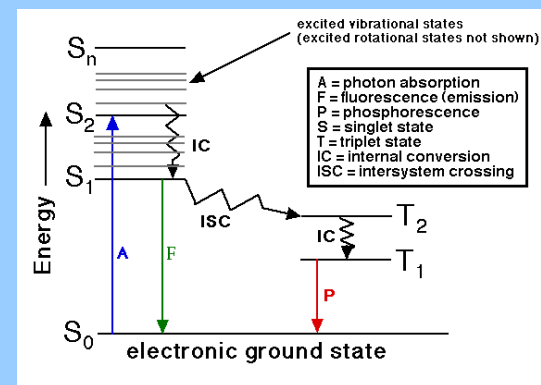


-) roztwór czy ciało stałe, temperatura
-) pomiar dynamiczny lub stacjonarny
-) zakres widmowy pobudzenia i emisji
-) szybkość zachodzących procesów (czy ps czy s)
-) ... (rozdzielczość, natężenie światła, liczba obiektów)

WS 2008/2009



Fluorescencja

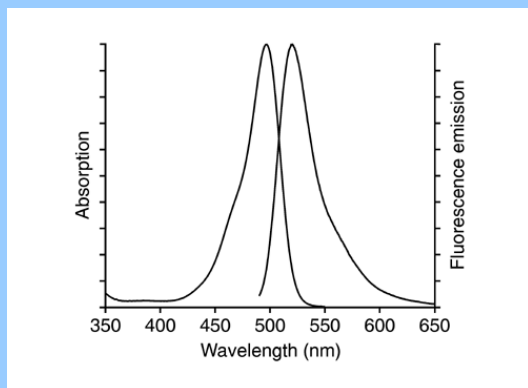


WS 2008/2009



Fluorescencja

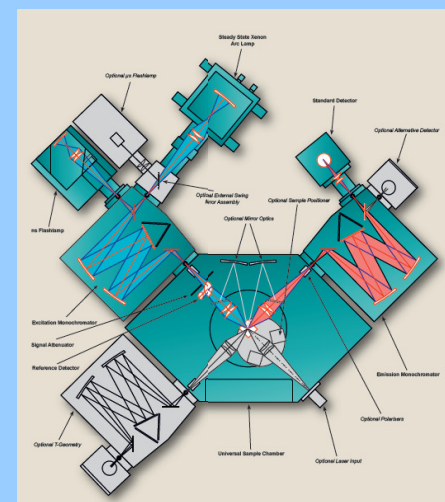
rodamina 110



WS 2008/2009



Spektrofluorymetr



roztwór

pobudzenie: lampa Xe
230-2000 nm

standard: T = 300K,
możliwość pomiarów w
niskich temperaturach

pomiar widma emisji
oraz widma pobudzenia

WS 2008/2009



Detektory

pomiar stacjonarny: czułość na poziomie pojedynczych fotonów

Detector

Photomultiplier	Blue Sensitive	Red Sensitive
Spectral Range	185 – 680 nm	185 – 870 nm
Window Material	UV Glass	UV Glass
Dark Count Rate (+24°C)	< 100 cps	< 2000 cps
Dark Count Rate (-25°C)	< 5 cps	< 50 cps
Options	To allow NIR measurements, photomultipliers and analogue detectors are available	

pomiar rozdzielony w czasie

Detector

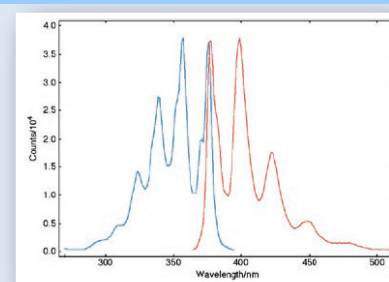
Type	(for standard detectors, see FS920 specifications)	
Options	MCP-PMT	NIR-PMT
Spectral Range	160-850 nm	300-1400 nm (300-1700nm)
Dark Count Rate	< 50 cps @ -25°C	< 20 kcps @ -80°C (<200kcps @ -80°C)
Instrument Response Function	< 50ps	800ps

WS 2008/2009



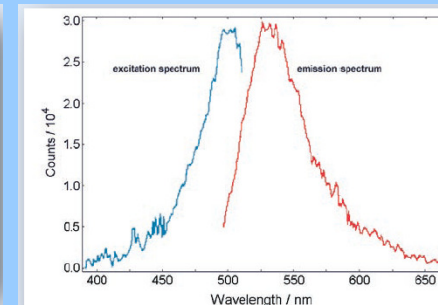
Przykład – fluorescencja

pomiar stacjonarny



Sample: Anthracene in Cyclohexane (10^{-5} M)

Measurement Conditions: $\lambda_{ex} = 358$ nm for corrected emission scan,
 $\lambda_{em} = 400$ nm for corrected excitation scan, $\Delta\lambda_{ex} = \Delta\lambda_{em} = 0.4$ nm,
step size = 1nm, integration time = 1s



Sample: 100 fM fluorescein in 0.1N H₂SO₄

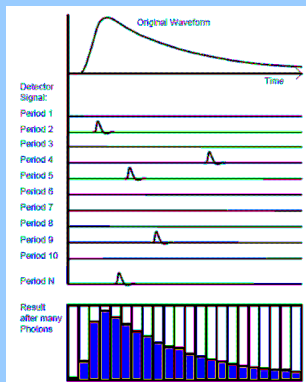
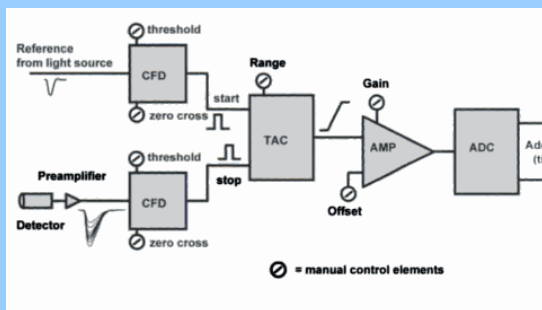
Measurement Conditions: $\lambda_{ex} = 485$ nm, $\lambda_{em} = 525$ nm, $\Delta\lambda_{ex} = \Delta\lambda_{em} = 4$ nm,
step size = 1nm, integration time = 1s (curves are background subtracted)

WS 2008/2009



Przykłady – TCSPC

pomiar rozdzielony w czasie: TCSPC (skorelowane czasowo zliczanie pojedynczych fotonów)



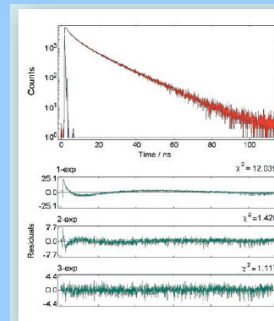
WS 2008/2009



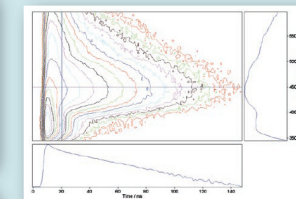
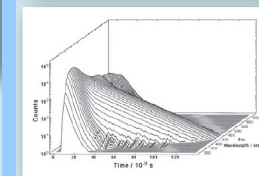
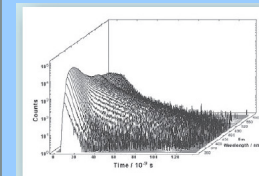
Przykłady – TCSPC

pomiar rozdzielony w czasie

czasowo-rozdzielcza spektroskopia emisyjna



Sample: Hematoporphyrin IX in a phosphate buffer (pH 7.2)
 Measurement Conditions: picosecond diode laser, $\lambda_{exc} = 398\text{nm}$,
 rep. rate = 1MHz, MCP-PMT detector, $\lambda_{em} = 720\text{nm}$
 Fit Results: (relative fluorescence contribution in brackets)
 $\tau_1 = 14.80 \pm 0.06\text{ ns}$ (69.69%)
 $\tau_2 = 4.62 \pm 0.09\text{ ns}$ (27.11%)
 $\tau_3 = 0.81 \pm 0.05\text{ ns}$ (3.20%)



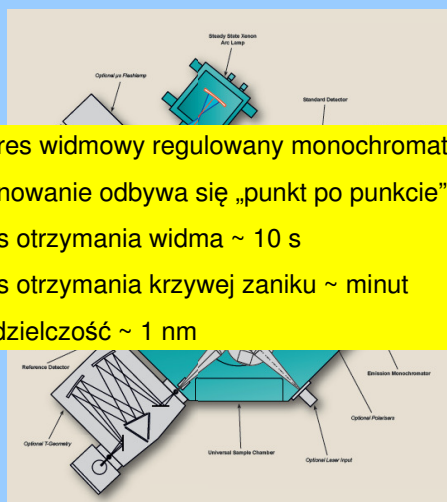
Sample: Norharman in methanol ($5 \times 10^{-4}\text{M}$)
 Measurement Conditions: n990, hydrogen filled, rep. rate = 40kHz,
 $\lambda_{exc} = 285\text{nm}$, $340\text{nm} \leq \lambda_{em} \leq 600\text{nm}$, $\Delta\lambda_{exc} = 20\text{nm}$, $\Delta\lambda_{em} = 5\text{nm}$,
 step size = 5nm.
 (Above Left) Raw data
 (Left) Fit results (global analysis), with three lifetimes of
 2.27ns, 5.02ns, and 18.0ns
 (Above) Contour plot with cross hair and corresponding
 emission spectrum and decay profile

WS 2008/2009



Spektrofluorymetr

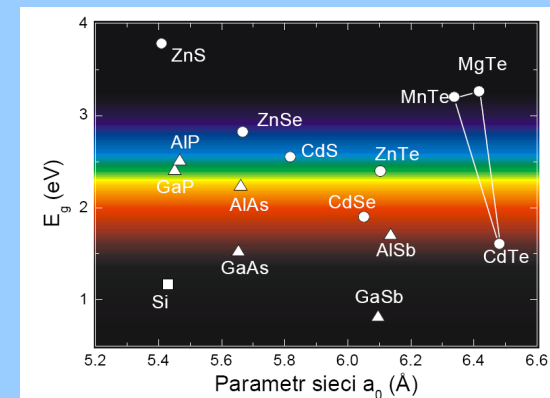
-) zakres widmowy regulowany monochromatorami
-) skanowanie odbywa się „punkt po punkcie”
-) czas otrzymania widma ~ 10 s
-) czas otrzymania krzywej zaniku ~ minut
-) rozdzielczość ~ 1 nm



WS 2008/2009



Przerwa energetyczna



WS 2008/2009



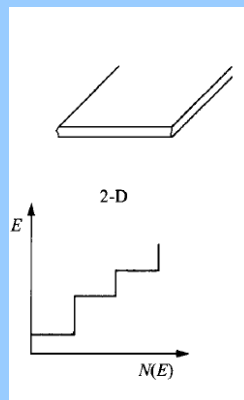
Studnia kwantowa

studnia kwantowa

kwantowanie energii w kierunku prostopadłym do płaszczyzny studni

$$E_i = \frac{\hbar^2 \pi^2 i^2}{2m^* L_x^2}$$

$$N(E) = \frac{m^* i}{\pi \hbar^2 L_x}$$

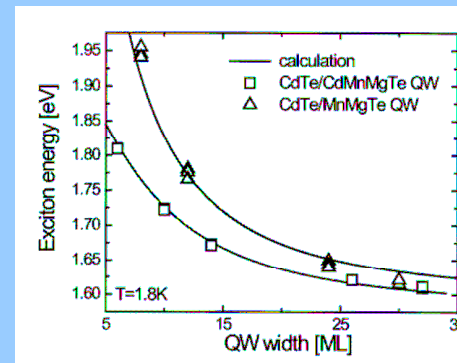
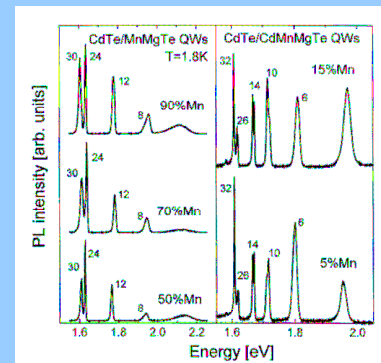


WS 2008/2009



Studnia kwantowa

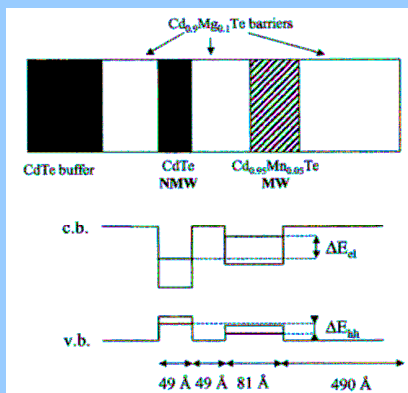
energia emisji maleje z rosnącą szerokością studni kwantowej



WS 2008/2009



Dwie studnie kwantowe



w układzie podwójnych studni kwantowych możliwe jest tunelowanie ekscytonu z jednej studni do drugiej

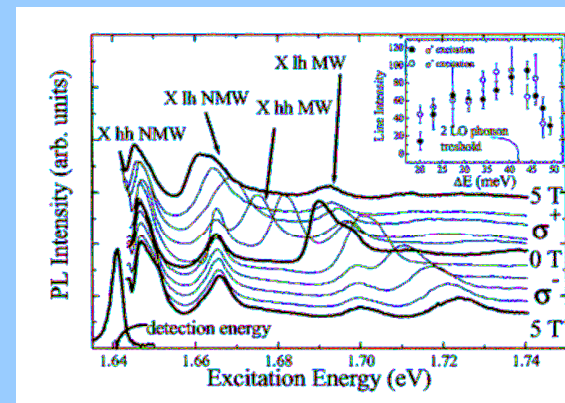
detekcja: energia studni o niższej E
skanowanie energią pobudzenia

eksperyment w niskiej temperaturze (1.5K), analogiczny do pomiaru widma wzbudzenia dla roztworu

WS 2008/2009



Eksperyment



WS 2008/2009



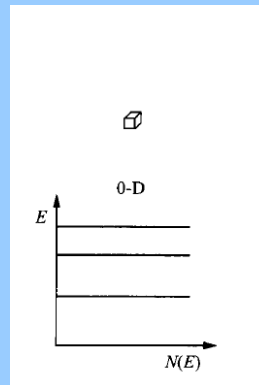
Kropka kwantowa

kropka kwantowa

kwantowanie energii we wszystkich trzech kierunkach przestrzennych: dyskretne poziomy energetyczne

$$E_{i,j,k} = \frac{\hbar^2 \pi^2}{2m^*} \left(\frac{i^2}{L_x^2} + \frac{j^2}{L_y^2} + \frac{k^2}{L_z^2} \right)$$

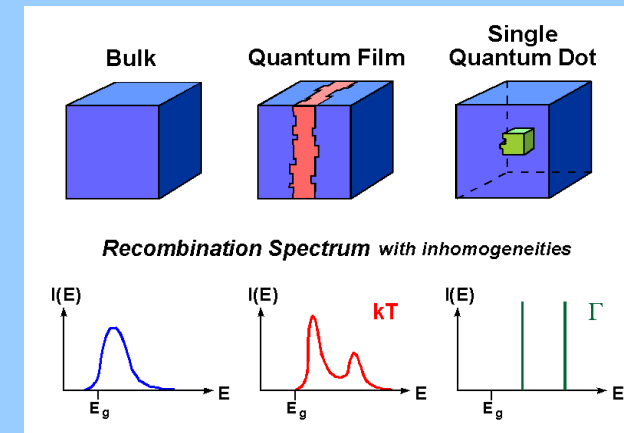
$$N(E) = \frac{2}{L_x L_y L_z} \sum_{i,j,k} \delta(E - E_{i,j,k})$$



WS 2008/2009



Widmo nanostruktur

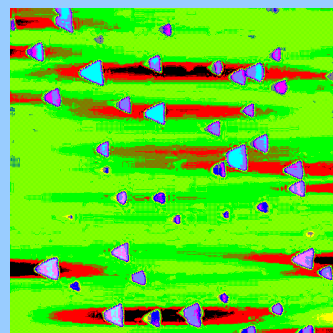
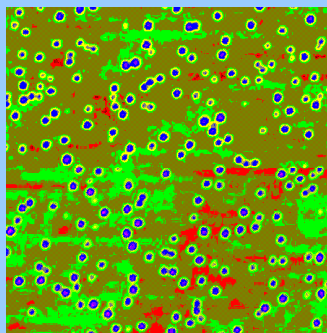


WS 2008/2009



Emisja z kropki kwantowej

energia emisji z kropki zależy od jej kształtu, rozmiaru i składu chemicznego → trudno przewidzieć jaka będzie dokładnie długość fali luminescencji

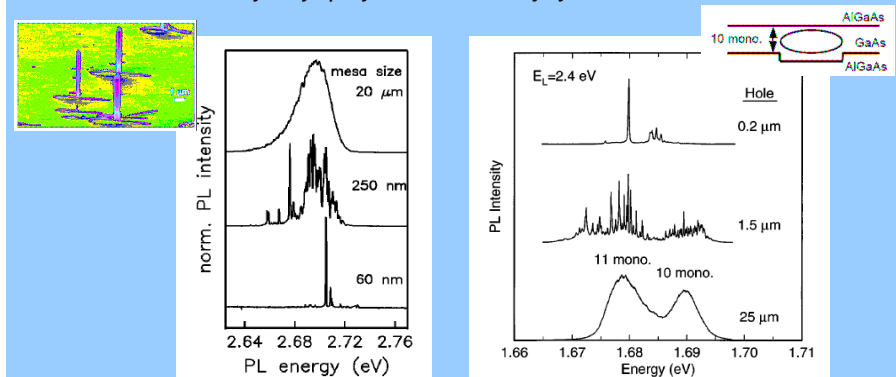


WS 2008/2009



Emisja z kropki kwantowej

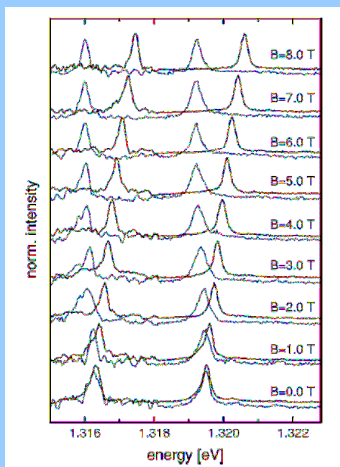
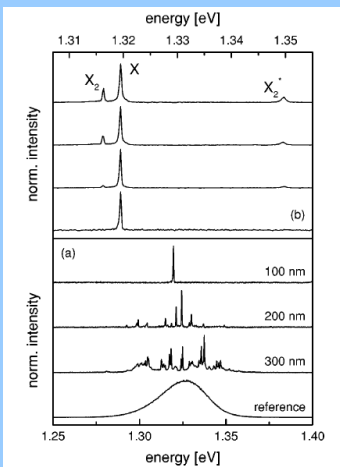
niewielka intensywność emisji z pojedynczej kropki kwantowej wymaga detektora o wysokiej wydajności kwantowej, najlepiej w formie matrycy → CCD



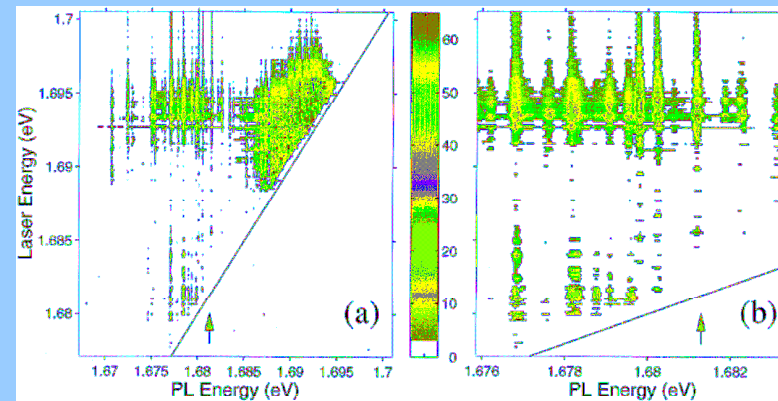
WS 2008/2009



Emisja z kropki kwantowej



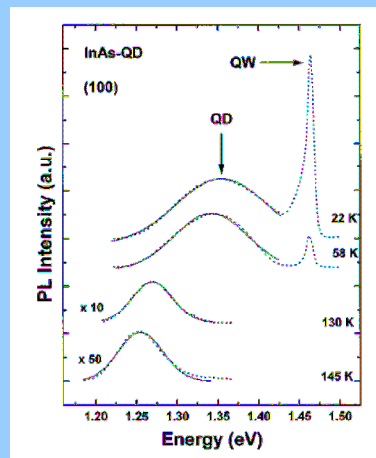
Widmo wzbudzenia



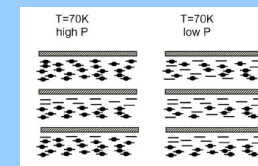
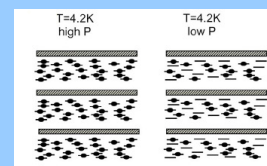
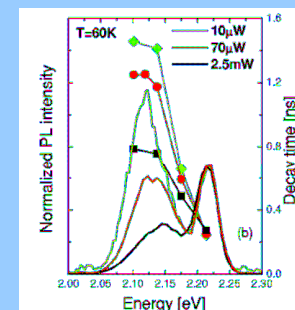
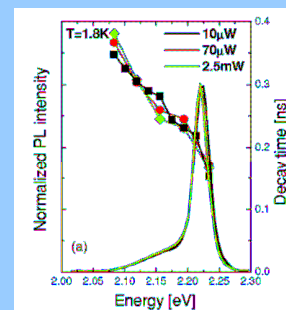
Dynamika nośników



wzbudzenie termiczne nośników z kropek do studni kwantowej prowadzi do redystrybucji nośników



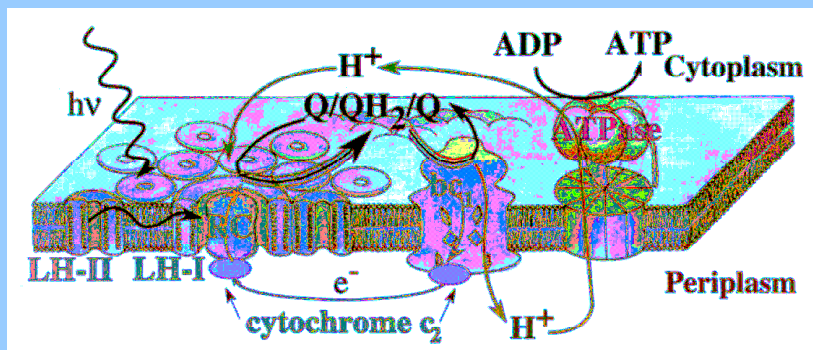
Dynamika nośników





Co to jest LH2?

LH2 (LH II) – light-harvesting complex 2
kompleks białkowy wchodzący w skład aparatu fotosyntetycznego bakterii purpurowej, np. *Rhodobacter sphaeroides*

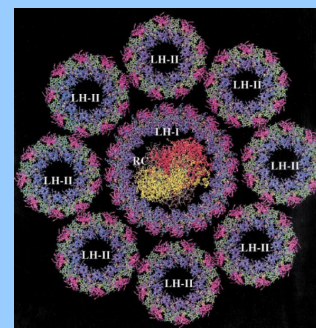


19 listopada 2008



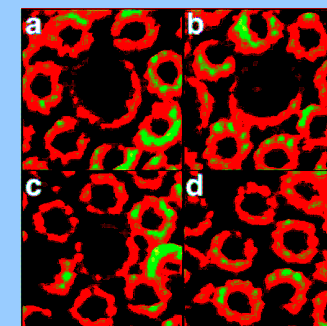
Co to jest LH2?

membrana – model



X. Hu, T. Ritz, A. Damjanovic, F. Autenrieth, & K. Schulten (2002) Q. Rev. Biophys. 35, 1–62

membrana – obraz AFM

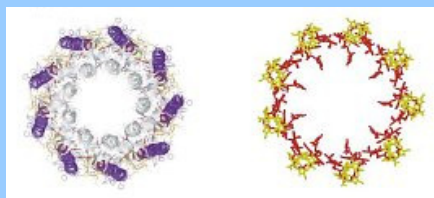


Scheuring S. & Sturgis J. (2005) Science 309, 484-487

19 listopada 2008



Struktura kompleksu LH2



PIĘKNA SYMETRIA

27 molekuł bakteriochlorofilu tworzących dwa pierścienie

B850 – silne oddziaływanie, odległość między najbliższymi sąsiadami ~ 9 Å

B800 – słabe oddziaływanie, odległość między najbliższymi sąsiadami ~ 21 Å

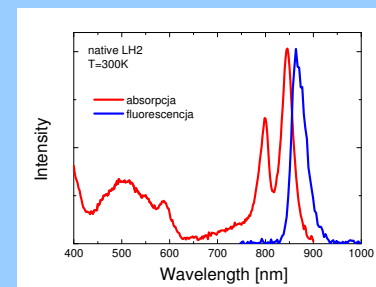


19 listopada 2008

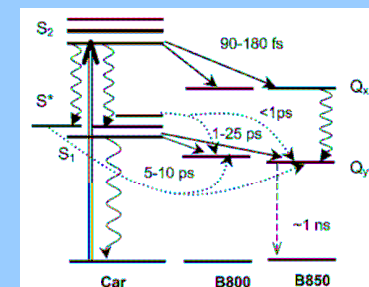


Własności optyczne

absorpcja i emisja



przekaz energii



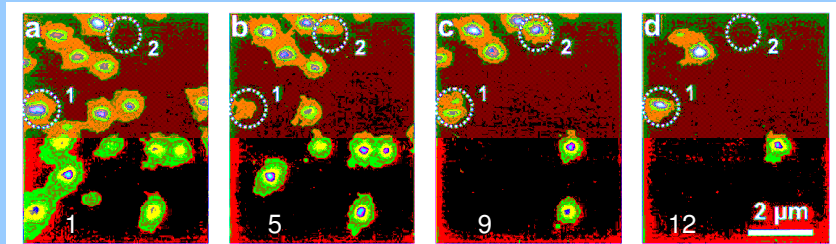
szybki i wydajny przekaz energii między karotenoidami a chlorofilem
fluorescencja związana z pierścieniem B850

19 listopada 2008



Pojedyncze kompleksy LH2

mikroskopia konfokalna unieruchomionych kompleksów LH2
 energia pobudzenia – 800 nm
 rozdzielczość przestrzenna – 700 nm
 rozdzielczość czasowa ~ 100 ps



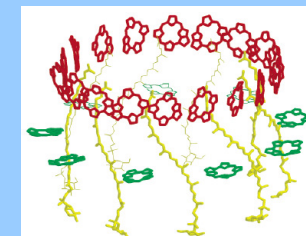
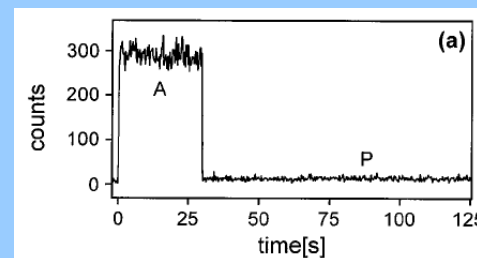
brak informacji spektralnej

19 listopada 2008



Pojedyncze kompleksy LH2

gaszenie fluorescencji w jednym kroku
 – efekt silnego oddziaływania między
 molekułami tworzącymi pierścień B850



19 listopada 2008



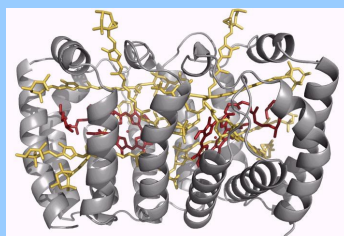
Słabe oddziaływanie



Amphidinium carterae



perydynina-chlorofil-białko

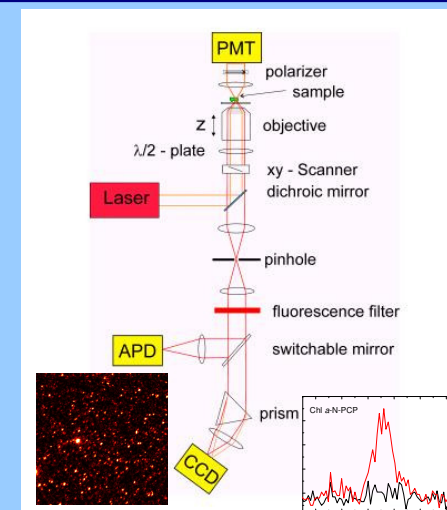
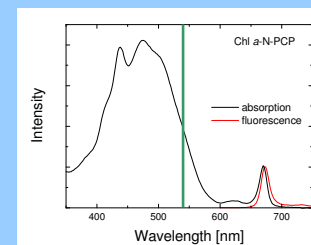


WS 2008/2009



Metoda badawcza

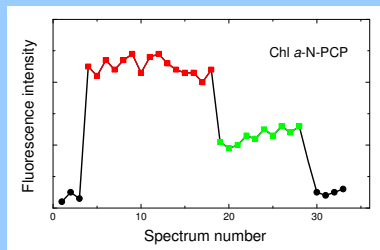
mikroskop konfokalny LSM 410
 obiektyw immersyjny NA = 1.3
 rozmiar obrazu 30 μm x 30 μm
 moc lasera I = 32 μW
 plamka lasera ~ 300 nm
 energia lasera 532 nm, 632 nm



WS 2008/2009

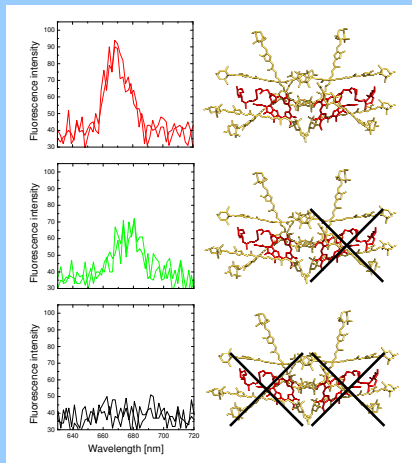


Słabe oddziaływanie



dwustopniowy zanik intensywności świecenia – słabe oddziaływanie

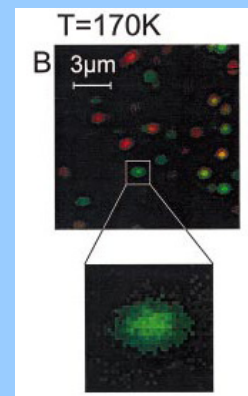
niezależny pomiar fluorescencji z obu Chl w monomerze



WS 2008/2009



Eksperymenty w $T < 300K$



mikroskopia i spektroskopia konfokalna unieruchomionych kompleksów LH2 energia pobudzenia – 800 nm

pomiar zależności polaryzacyjnych: przy pobudzeniu pierścienia BChl o wyższej energii, emisja molekuł z pierścienia B850 nie zależy od polaryzacji pobudzenia

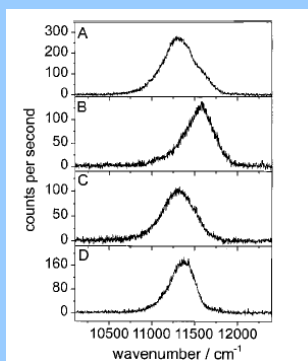
radikalna poprawa fotostabilności kompleksu LH2 w niskiej temperaturze

19 listopada 2008

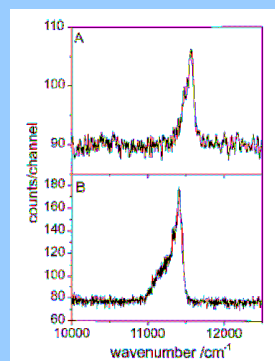


Fluorescencja

T=200 K



T=19 K & T=9.5 K

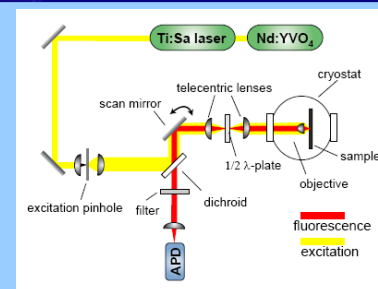


z powodu silnego oddziaływania ekscytonowego brak jest wąskiej linii zero-fononowej

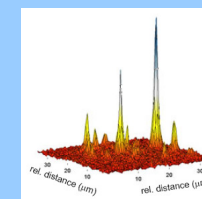
19 listopada 2008



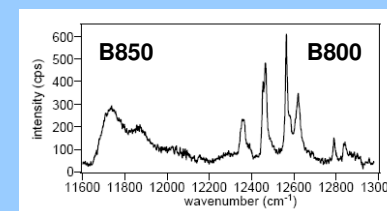
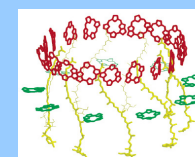
Widmo wzbudzenia



emisja pojedynczych kompleksów LH2



widmo wzbudzenia

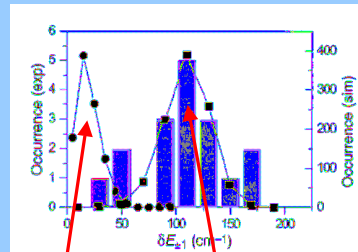
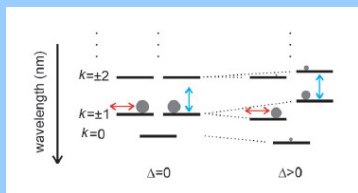
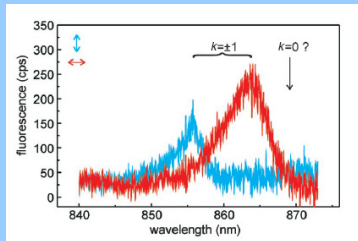


19 listopada 2008



Symetria kompleksu LH2

rozszczenie poziomów ekscytonowych



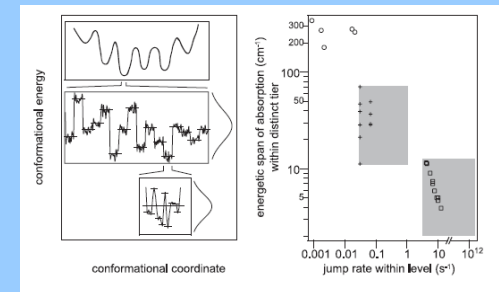
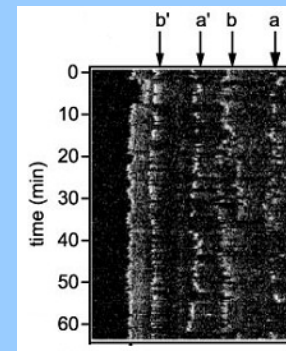
nieporządek
nieporządek + asymetria

19 listopada 2008



Dynamika konformacyjna

pojedynczy kompleks LH2, pasmo B800



hierarchiczny model krajobrazu energetycznego białka tworzącego kompleks LH2

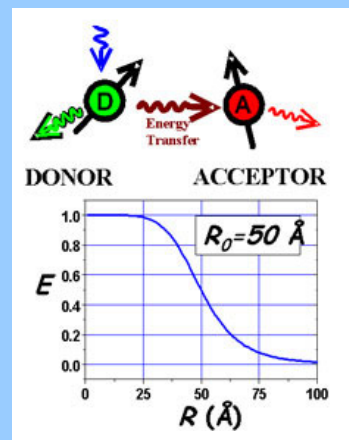
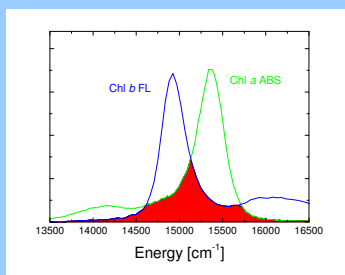
19 listopada 2008



Przekaz energii (FRET)

FRET – nieradiacyjny przekaz energii między donorem a akceptorem

$$k_{\text{Förster}} = \frac{1}{\tau_D} \frac{9000(\ln 10)\kappa^2\phi_D I}{128\pi^5 N n^4 R^6}$$

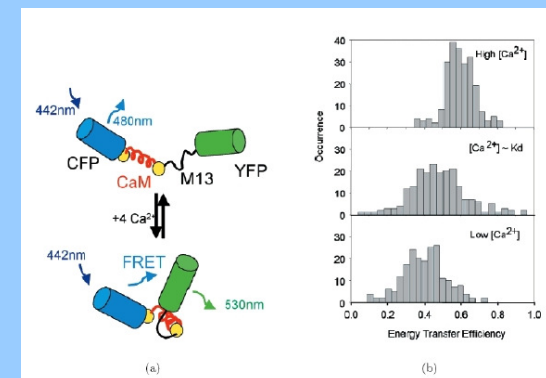
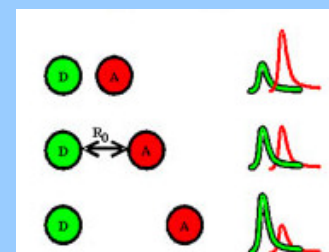


WS 2008/2009



Przekaz energii (FRET)

doskonały miernik odległości w nanoświecie



WS 2008/2009