

第二章 實驗技術

時間解析螢光光譜技術 (time-resolved fluorescence spectra techniques)，可以用來研究分子經由放光或非放光過程所發生的光物理過程，現今的技術可以將時間解析度提升至皮秒 (picosecond)、甚至飛秒 (femtosecond) 等級，我們因此可以更清楚地觀測到一些超快的反應。此技術除了可以幫助我們瞭解分子緩解機制的動力學，更可以清楚的偵測環境對分子的影響，多方面的應用使得此技術在各個研究領域擁有很大的潛力。本章節的重點在介紹本論文研究中使用到的相關實驗儀器之作用原理。

2-1-1 螢光光柵系統 (Fluorescence Optically Gated, FOG; FOG100, CDP)³³

本實驗室的飛秒時間解析光譜是使用鎖模 (mode-locked) 的鈦藍石脈衝雷射 (Ti:Sapphire Laser, Coherent, Mira 900D) 作為激發光源，配合 CDP 公司所生產的螢光光柵系統 FOG 100 來進行量測，FOG 100 的儀器配置如圖 2-1 所示。關於鈦藍石脈衝雷射在下一小節有詳細的介紹。

飛秒脈衝雷射系統可以在重複週期 (repetition rate) 為 76 MHz，產生最小半高寬約為 150 fs 的脈衝雷射。此雷射光源可調變的波長範圍為 700 nm ~ 1000 nm，因此我們可以利用的激發波長，經由二倍頻或三倍頻後所產生的波長範圍分別是 233 nm ~ 333nm 及 350 nm ~ 500 nm。我們測量飛秒時間解析光譜的程序如下先將脈衝雷射經由 LBO 晶體產生倍頻雷射 (Second Harmonic Generation, SHG) 作為激發光束 (pump beam, blue line) 用以激發樣品，並經由二色性分光稜鏡 (dichroic beam splitter, BS1)，從倍頻雷射中分離出的殘存未倍頻雷射，以作為探測光束 (probe beam, red line)。激發光束通過貝雷克極化補償器 (berek polarization compensator, Berek) 來控制其偏極性。

³³ Claude Rulliere. *Femtosecond Laser Pulses Principles and Experiment*; Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1998

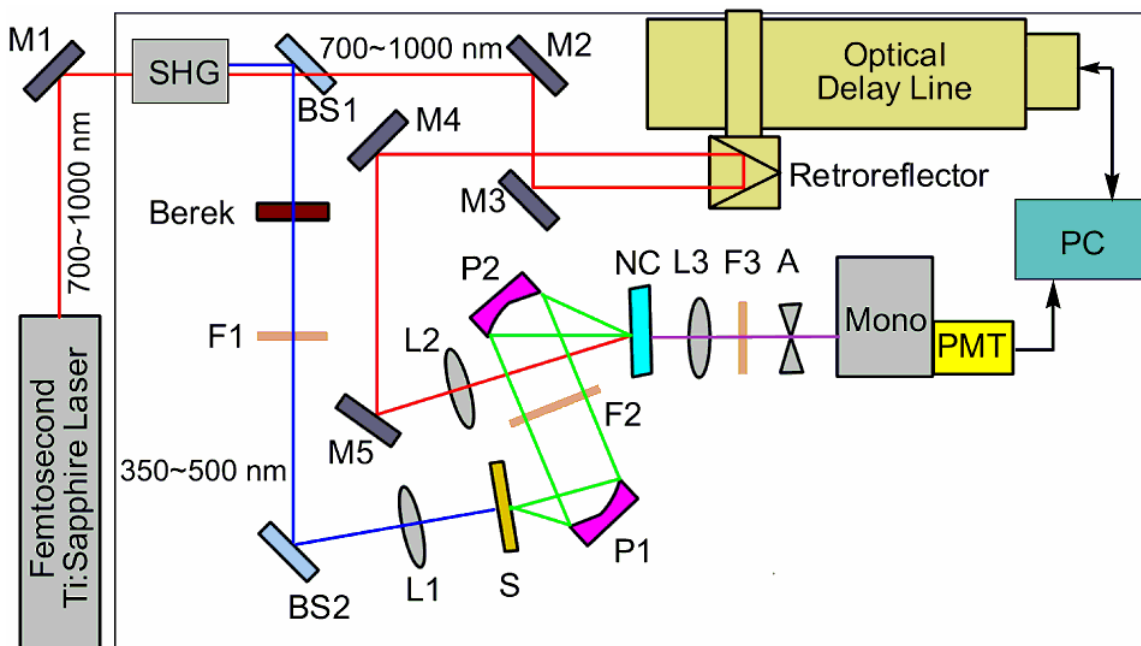


圖 2-1. FOG100 儀器配置圖。

一般而言，激發光束和探測光束間的相對偏極性固定在 54.7° (magic angle)。激發光束的強度經過適當地減弱後，通過 L1 透鏡聚焦在轉動的樣品槽 (S)。樣品受激發後所放出的螢光經由兩個拋物面鏡 (P1、P2) 收集，聚焦在 BBO type-I 晶體上 (NC2，厚度約 0.5 mm)，同時光柵脈衝 (探測光束，probe beam) 也聚焦在 BBO type-I 晶體的相同位置上，與樣品激發所放出的螢光產生和頻訊號 (sum frequency generation, SFG)。為了使探測光束和螢光同時時間聚焦在 BBO 上並改變光閘的時間，我們藉由一個步徑移動平台來調控探測光束的延遲時間 (delay time) (最大延遲時間為 2.0 ns；每步最小間距為 6.25 fs)。樣品螢光與探測光束的和頻訊號藉由透鏡 (L4) 收集後，再經由光圈 (iris, A)、帶通濾波器 (band-pass filter) 去除一些干擾的訊號 (未倍頻雷射、倍頻雷射) 後，再通過單光儀 (monochromator)，最後在光電倍增管探測器中 (Photomultiplier; R1527P, Hamamatsu) 收集，再接上電腦控制的光子計數系統程式產生時間解析的螢光光譜。

2-1-2 Up-conversion原理³³

首先將雷射光束分成兩束一為激發光束另一則為探測光束，激發光束用來激發樣品，並以拋物面鏡收集樣品螢光且聚焦在非線性光學晶體(nonlinear crystal)上，另一探測光束則是經過一個延遲路徑後也聚焦在非線性光學晶體上。要產生 up-converted 訊號必須使得樣品螢光與探測光束同時間聚焦才得以產生混頻 (frequency mixing) 現象，如圖 2-2 所示，且 $\omega_{\Sigma} = \omega_S + \omega_L$ 換算成波長

$\frac{1}{\lambda_{\Sigma}} = \frac{1}{\lambda_S} + \frac{1}{\lambda_L}$ 。而 up-converted 訊號的位置取決於螢光與探測光束交會的角度。由於必須樣品螢光與探測光束同時間聚焦非線性光學晶體上才會產生混頻訊號，因此晶體上會發生光學柵門(optical gate)的現象。我們只要改變探測光束所行徑的延遲路徑即延遲時間(delay time)就可以獲得不同時間下的螢光訊號，如圖 2-3 所示。

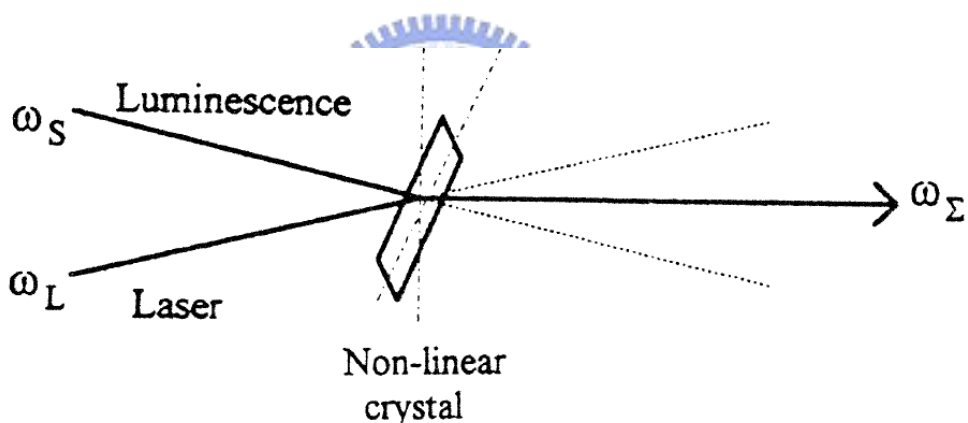


圖 2-2 在非線性光學晶體上的混頻現象

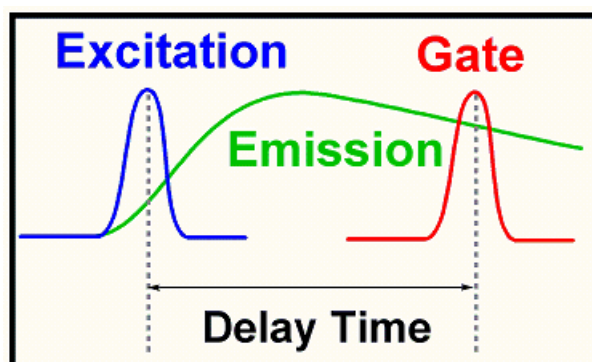


圖 2-3 光學柵門示意圖

2-2 雷射光源 (Laser source)³⁴

本實驗使用兩種雷射作為激發光源：一為美國 Coherence 雷射公司所生產的摻鈦藍寶石飛秒雷射系統 (Ti:Sapphire Laser, Coherent, Mira 900D)。二為 PicoQuant 公司所生產的脈衝式二極體雷射及脈衝式光源 (pulsed light source)。

(1) 摻鈦藍寶石飛秒雷射系統

自鎖模摻鈦藍寶石飛秒雷射系統 (Self-mode-locked Ti-sapphire laser, Model 900-D Mira, Coherence)，經由一固態二極體激發倍頻Nd:YVO₄雷射 (solid-state diode-pumped, frequency-doubled Nd:YVO₄ laser, Verdi™ V-10) 作為激發光源，其產生波長為 532nm，雷射脈衝重複頻率 (repetition rate) 為 76 MHz，波長可調變範圍為 700 ~ 1000 nm，輸出脈衝寬度小於 150 fs，平均功率約 1.2 W。之後經由脈衝選擇器 (Pulse Picker; Model 9200, Coherence) 進行脈衝重複頻率的調變。並且利用超快倍頻產生系統 (Ultrafast Harmonic Generation System) 上的二階諧波 (second-harmonic generation, SHG) 及三階諧波 (third-harmonic generation, THG) 非線性晶體將基頻雷射光藉由滿足相位匹配 (phase matching, 即動量守恆) 及能量守恆的條件產生二倍頻及三倍頻的光，延伸可調變波長的範圍。

摻鈦藍寶石是個可產生夠大頻寬的增益介質 (gain medium)，由測不準原理 (uncertainty principle) 可知，時寬 (Δt) 越短的光脈衝其頻寬 ($\Delta \nu$) 越大，因此利用摻鈦藍寶石可得到超短時寬的雷射脈衝。另外，若要達到超短脈衝，必須對雷射做鎖模 (mode-locking)，讓雷射震盪器同時工作在許多頻率上，且不同頻率的相位 (phase) 保持一致，使其互相干涉，讓特定的波峰隨著模式 (mode) 越多強度越強，而其他沒有規則性的波峰則互相抵消而漸弱到幾乎沒有強度。³⁵

鎖模 (mode-locking) 分為兩種，分別是主動鎖模 (Active mode locking)，及被動

³⁴ 國立交通大學應用化學系暨研究所黃健源碩士論文，民國 94 年

³⁵ Ducassee A., Rulliere C., Couillaud B., *Femtosecond Laser Pulses: Principles and Experiments*; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 1998; pp 53-81.

鎖模(passive mode locking)。首先介紹主動鎖模的原理及作用方式，在共振腔內放置一聲光調變器 (acousto-optic modulator) 簡稱 AOM，如圖 2-4 所示，並加入無線電波(radiofrequency)簡稱 RF，當調至 $\Omega = \frac{C}{2L} \times 2\pi$ ，且 $\Delta\nu = \frac{C}{2L}$ ， $\Delta\nu$ 是相鄰兩個模式(mode)的差距，當雷射在來回經過多次之後，就會使特定的模式增強。

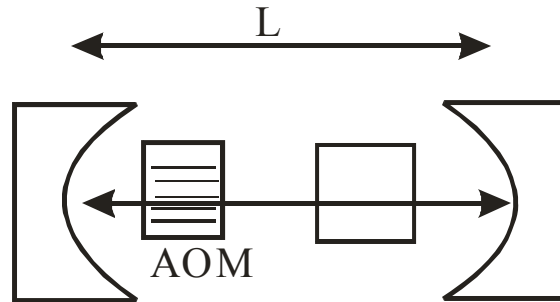


圖 2-4. 主動鎖模的示意圖

在被動式鎖模(passive mode locking)中，AOM 被替換成易吸收飽和的材質，通常是有機的染料。此材質吸收弱光，而強光會通過，如圖 2-5 所示，T 代表傳透率。

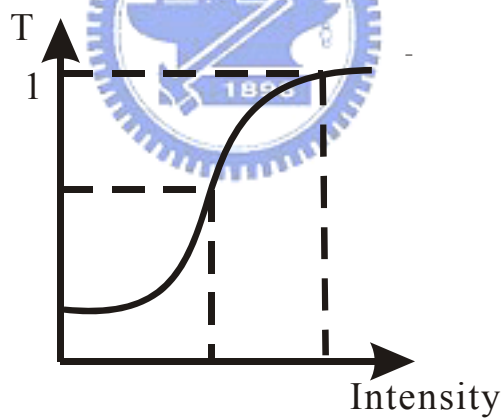


圖 2-5. 被動式鎖模示意圖

然而 Coherent 的團隊已經成功發展一套飽和吸收的系統(Saturable Absorber System)，重要的是此系統不需染料或液體，因此沒有更新替換染料的問題。其原理是利用狹縫 (slit) 擋掉低強度的空間模態，而高強度的脈衝因為其光束較窄而可以通過，而之所以稱為飽和吸收的系統，是因兩個部份，一個部份是其會讓高強度的光束變窄，另一部份是狹縫會擋掉寬的光束。另外，一般而言介質的折射係數 n 會隨著光強度 $I(t)$ 而變化，如式 2-1 所示：

$$n = n_0 + \frac{1}{2}n_2 I(t) \quad (\text{式 2-1})$$

其中 n_0 是介質的正常折射係數(refraction index)， n_2 則為非線性折射係數。³⁶ 藉由這種特性可以利用狹縫 (slit) 擋掉低強度的光束，如圖 2-6 所示，使得高強度的空間模態能從雷射晶體得到較高的能量，如此強者越強、弱者越弱，脈衝時寬因而被壓縮的更短。在此實驗系統所使用的脈衝壓縮機制便是克爾透鏡鎖模 (Kerr-lens mode-locking, KLM)。

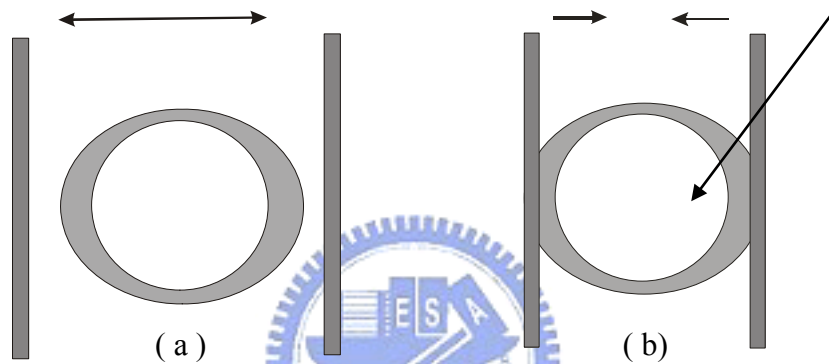


圖 2-6. 克爾透鏡鎖模的脈衝壓縮機制的光束橫切面示意圖

- (a) 狹縫打開，沒有任何的損耗或鎖模，輸出為連續波(cw)。
- (b) 調整狹縫以達成鎖模，輸出為飛秒脈衝。

當雷射脈衝經過增益介質時，由於不同頻率進入介質所對應的折射率 n 值不同，如圖 2-7(A) 所示，低頻的折射率較低，光束在介質中行進的速率 $C = C_0 / n(\lambda)$ ，因此低頻成分(長波長)速率比高頻(短波長)成分快，使其變為一個時寬變大且瞬間頻率隨時間變化的啾頻脈衝 (chirped pulse)，這個現象就稱為群速度色散 (group velocity dispersion, GVD)。當 $GVD > 0$ 時稱為正啾頻(positive chirped)， $GVD < 0$ 時稱為負啾頻(negative chirped)，對於在可見光的位置，其 $GVD > 0$ ，一般補償方式是利用一對稜鏡進行補償，圖 2-7 (B) 所示為利用稜鏡對進行補償的機制，調整適當的間距下，將可補償增益介質所引起的色散現象而將脈衝壓縮回原本時寬。

³⁶ Operator's Manual of The Mira Model 900-F Laser (Coherent)

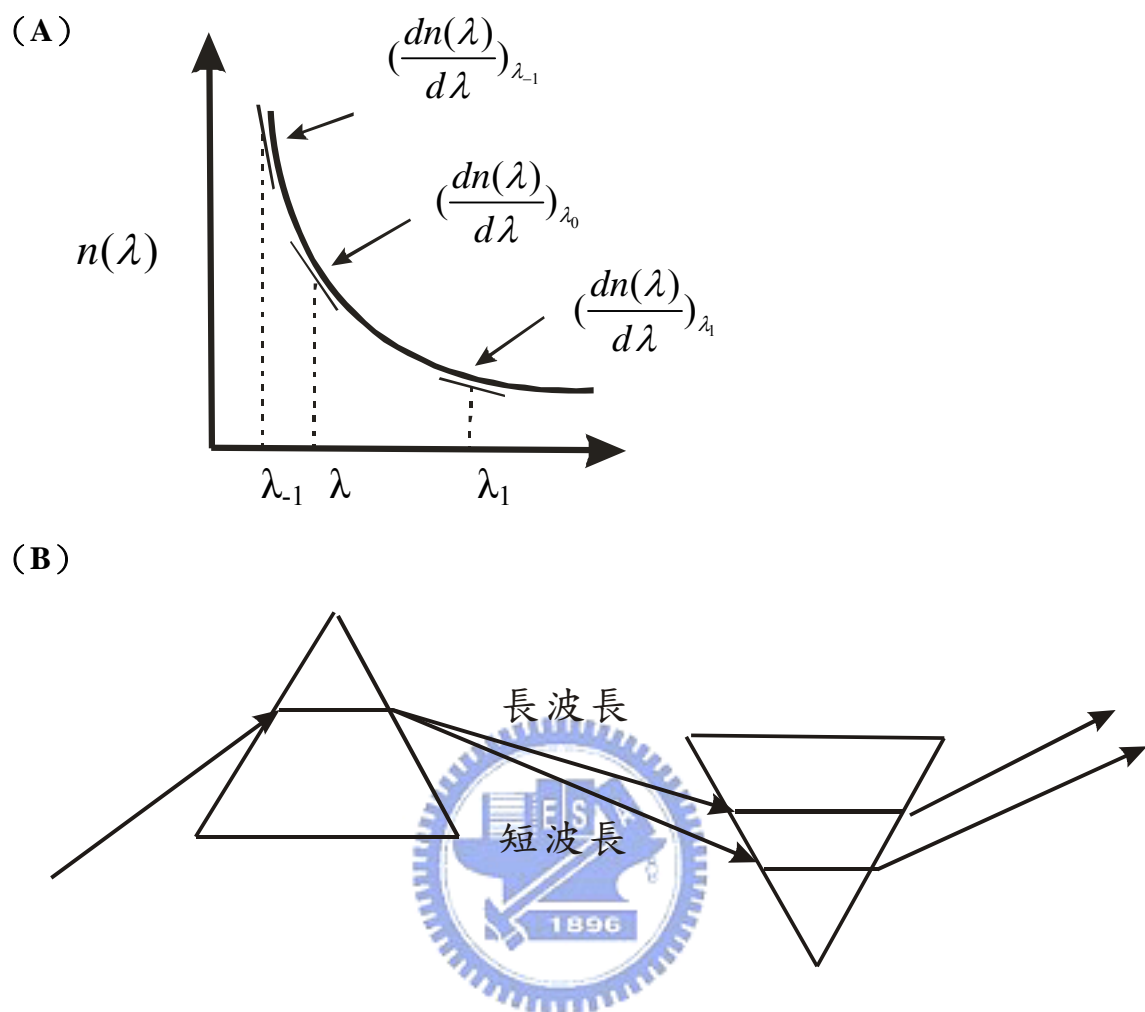


圖 2-7. 群速色散的示意圖 (A) 不同波長的電磁波通過介質時，所對應的折射率 n 值不同。 (B) 群速度色散的補償。

本系統的儀器配置如圖 2-8 所示。由 $\text{Nd}:\text{YVO}_4$ 雷射激發摻鈦藍寶石進行克爾透鏡鎖模，並由雙折射濾光鏡 (birefringent filter, BRF) 進行波長的改變以及兩個稜鏡組進行 GVD 的補償，產生的雷射光通過狹縫輸出。

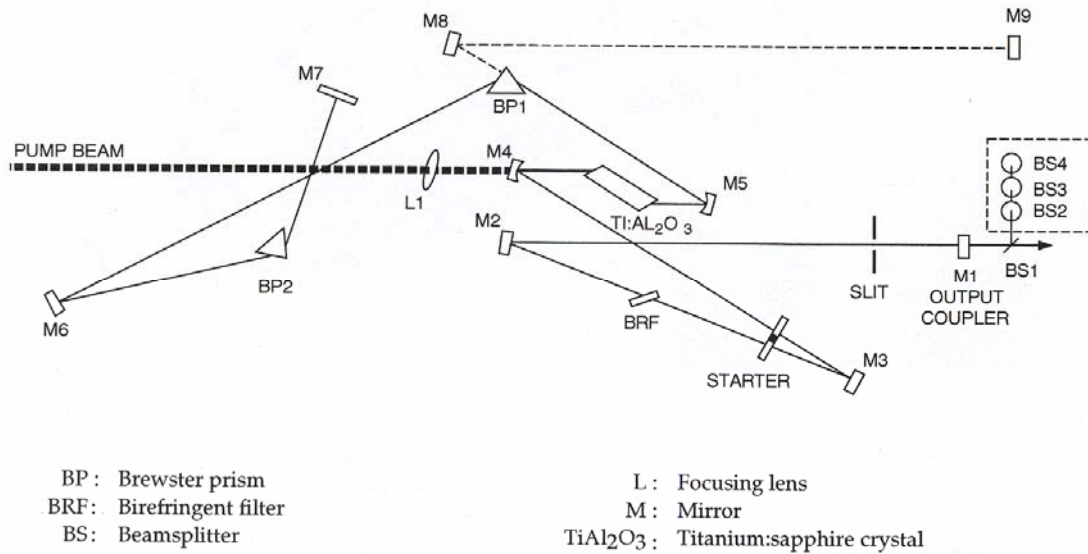


圖 2-8. Model 900-D Mira 儀器配置圖。

(2) 脈衝選擇系統 (Pulse Picker ; Model 9200 , Coherence)

脈衝選擇系統為 Model 900-D Mira 自鎖模摻鈦藍寶石雷射的附件。脈衝選擇系統將 Mira 共振腔內之光二極體 (photodiode) 所輸出的訊號作為同步觸發訊號，其可調變脈衝重複頻率範圍為 4.75 MHz 到 73 kHz。

其內部構造如圖 2-9 所示，其中 Bragg cell 是一聲光調變器 (AOM) 由一壓電聲光轉換器 (piezoelectric acousto-optic transducer) 及 TeO₂ 晶體所組成，用來週期性由脈衝序列中擷取單一脈衝，以降低雷射重複頻率。³⁷ 當未外加 RF 脈衝時，雷射光光徑如 path1 所示，此時雷射光會受到 beam stop 的阻隔而無法通過脈衝選擇系統；而當控制器提供一夠短時寬 RF 脈衝作用在壓電聲光轉換器上時，壓電聲光轉換器會將 RF 脈衝轉換為一短時寬聲波進入 TeO₂ 晶體，並在晶體上形成聲波駐波，當聲波擠壓介質時，會使介質密度發生改變，進而使得折射率產生改變，此時在晶體上會形成一光學相位光柵 (optical phase grating)，使通過的雷射光受到光柵的繞射而改變其行進方向如 path2 所示，而能夠通過脈衝選擇系統。由上可知，施加 RF 脈衝與否即決定了雷射光能否通過脈衝選擇系統，因此我們可藉由控制 RF 脈衝的

³⁷ Operator's Manual of The Model 9200 Pulse Picker (Coherent)

頻率來決定雷射光的重複頻率。使用TeO₂晶體之系統下，繞射效率（diffraction efficiency）大於 60%，對比率(contrast ration)大於 500 : 1，而適用的波長範圍為 700 –1000 nm。

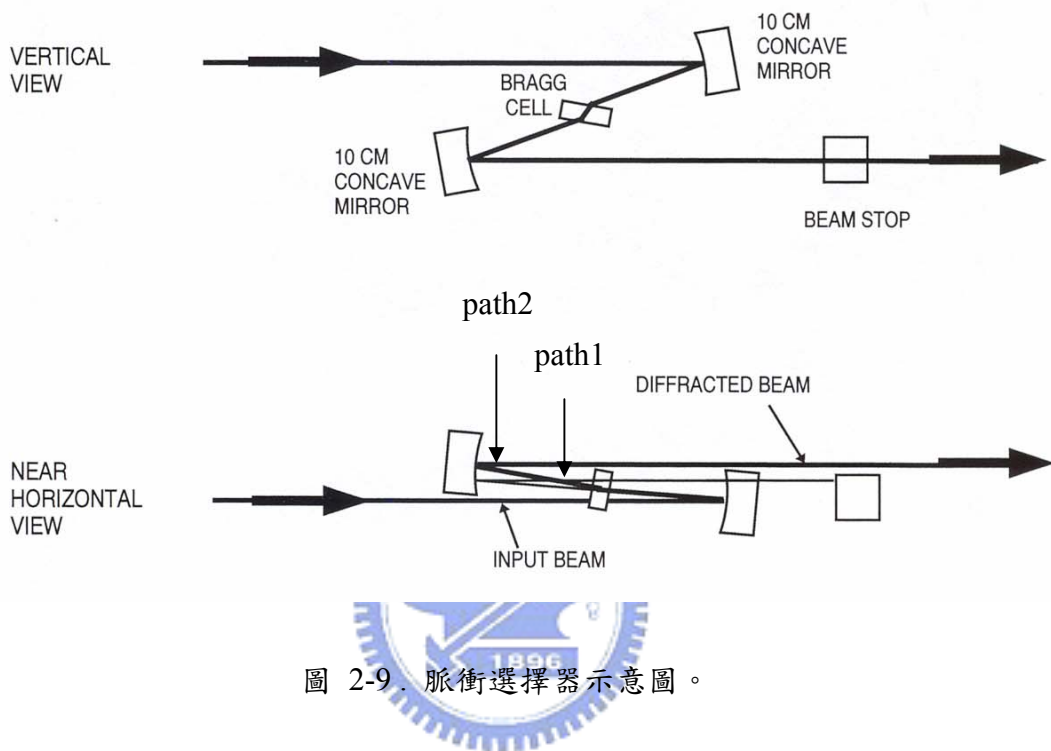


圖 2-9. 脈衝選擇器示意圖。

(3) 超快倍頻產生系統 (Ultrafast Harmonic Generation System ; Model 5-050 , Inrad)

二倍頻光的產生是由基頻雷射光(fundamental pulse)經由拋物面鏡聚焦於LBO非線性光學晶體上產生倍頻雷射光 (SHG)，利用分光鏡 (beam splitter, BS) 將基頻光與倍頻光分離，其中倍頻光經由半波片 (half-wave plate) 調整光波相位，經由手動式移動鏡組控制基頻的光程差，使同時聚焦在另一個LBO非線性光學晶體以產生三倍頻光。此系統理論上將可調變波長延伸至二倍頻光350到500 nm及三倍頻光233到333 nm範圍。

(4) 自相干儀 (Autocorrelator ; Mini , Inrad)

一般電子偵測的方式最好也只能到幾十ps，因此在飛秒雷射系統中，無法利用電子元件測量脈衝時間寬度，而必須藉由光學的方法。自相干儀是一使用光學方法量測雷射脈衝時間寬度的重要工具，其工作原理如圖 2-10 所示，將入射脈衝分成兩道，其中一道當成參考光束並相對於另一光束延遲時間 τ 值，將兩光束聚焦於SHG非線性晶體上，產生倍頻光，強度為 I_{τ} 。³⁸

在此系統中，利用一可前後移動位置的反射鏡造成兩道光的光程差 $\Delta l = 2\Delta S$ ，且由光程差造成的時間延遲 $\tau = \Delta l / c$ ， c 為光速，以空間換取時間，經由掃描延遲時間 τ ，可以得到雷射脈衝的自相干函數 (autocorrelation function, ACF)，且當雷射脈衝為高斯函數時，其自相干函數的半高寬值為雷射脈衝半高寬值的 $\sqrt{2}$ 倍。

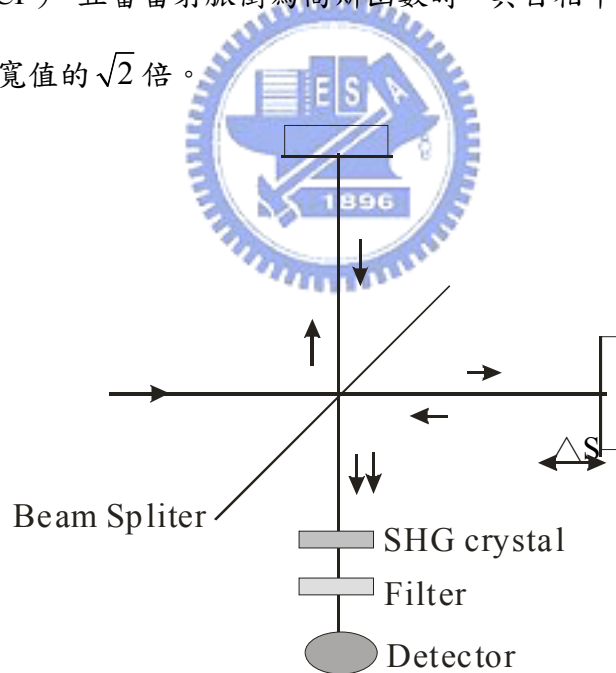


圖 2-10. 自相干儀工作原理示意圖

(5) 皮秒二極體雷射 (picosecond diode laser)

本實驗使用PicoQuant公司所生產的脈衝式二極體雷射LDH-P-C 375、LDH-P-C 400及LDH-P-C 435B，激發波長分別為375nm、406及435 nm，半高寬為 53、54及

³⁸ Steinmeyer G., *J. Opt. A: Pure Appl. Opt.* **2003**, R1–R15

59 ps。³⁹可由控制器選擇脈衝的重複率（2.5 MHz～40 MHz）及調整雷射輸出的能量。

2-3 時間相關單光子計數系統（Time-Correlated Single Photon Counting， TCSPC；Fluo Time 200，PicoQuant）

本實驗主要利用PicoQuant公司所生產的時間相關單光子計數系統來進行時間-解析螢光光譜（time-resolved fluorescence spectra）的測量。其工作原理，如圖 2-11 所示⁴⁰。我們利用週期性脈衝光源來激發樣品以進行單一光子的偵測，精確的紀錄所偵測到的光子訊號與雷射同步觸發訊號（synchronization trigger，SYNC trigger）的相對時間，並對單一光子所測得的相對時間進行累計，以重建螢光訊號波形。由於”pile up”的效應⁴¹，TCSPC技術所要求的實驗條件為”每個週期所偵測到的光子數目遠小於 1”，在此偵測條件下才可正確地重現實際放光訊號的時間波形（temporal profile）。

圖 2-12 為TCSPC的配置圖。⁴²所使用之激發光源為脈衝式的二極體雷射（pulsed diode laser），其最小半高寬（full width half maximum，FWHM）約為 80 ps的脈衝。當雷射輸出時，由光源本身的控制器（driver；PDL 800-B，PicoQuant）送出同步觸發訊號，經由分數式時間鑑別器（constant fractional discriminator，CFD）判別訊號有效與否並設定訊號到達時間，再由可調節式延遲器（variable delay line；425A，ORTEC）調整進入TCSPC模組（SPC630，PicoQuant）的延遲時間。

³⁹ Operator's Manual of The Light Sources and Technical Data (PicoQuant)

⁴⁰ Becker, H. GmbH, Time-Correlated Single Photon Counting Modules Multi SPC Software.

⁴¹ Valeur, B., *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*; Weinheim; Wiley-VCH, New York, 2002; pp175.

⁴² web site: [http:// diau08.ac.nctu.edu.tw/tcspc_pop.htm](http://diau08.ac.nctu.edu.tw/tcspc_pop.htm)

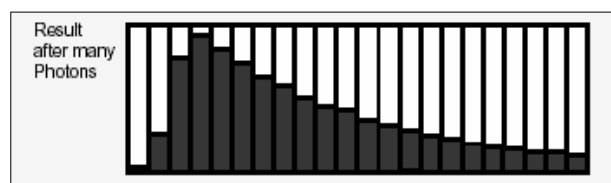
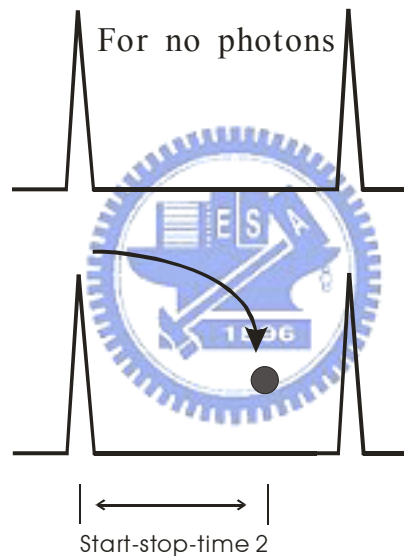
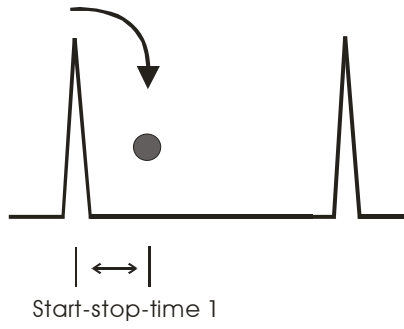
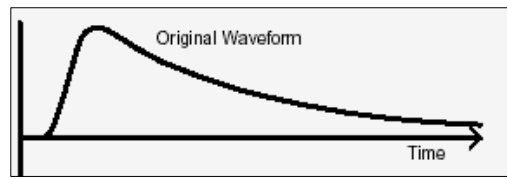


圖 2-11. TCSPC 的工作原理。³⁴

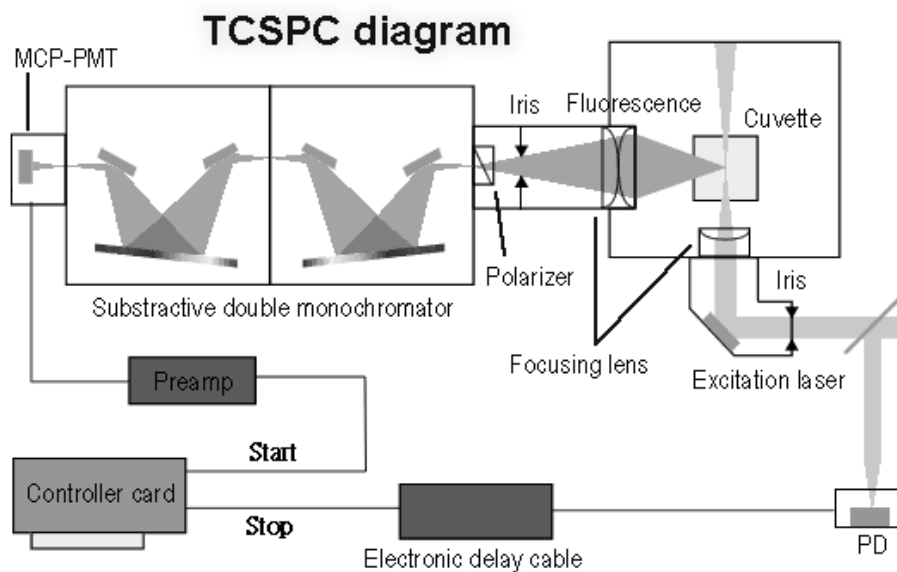


圖 2-12. Fluo Time 200 儀器配置圖。

激發光源經由一面反射鏡導向樣品室 (sample chamber)，可經由調整鏡面上的兩個旋鈕控制導向樣品的雷射光方向，反射鏡前具有一光圈 (iris) 可調節進入樣品室的雷射光通量，接著通過一個聚焦透鏡 (focusing lens) 聚焦到樣品上。樣品的放光利用兩面透鏡進行收集，再經由一個光圈調節收集的光通量及一可選擇垂直 (perpendicular)、水平 (horizontal) 或魔術角度 (magic angle) 偏振方向的偏振器 (polarizer)，接著再通過相減式的雙光柵光譜儀 (subtractive double monochromator; 9030DS, Sciencetech)，而進入偵測器。偵測器為微頻道光電倍增管 (micro-channel plate photon-multiplier tube, MCP-PMT; R3809U-57, Hamamatsu)，其輸出的電流值經由一個前置放大器 (Pre-Amplifier) 將訊號轉換成正電壓值並放大以達到 TCSPC 模組可以接受的範圍，接著進入 TCSPC 模組進行訊號計時的工作。

TCSPC 模組進行訊號計時的程序，如圖 2-13 所示。利用兩個分數式鑑別器 (constant fractional discriminator, CFD) 分別判別螢光及觸發訊號有效與否並決定其所到達的時間，再以標準訊號 (NIM) 送入時間-振幅轉換器 (time-to-amplitude converter, TAC) 中。當 TAC 收到螢光訊號後，內部的電容便開始充電，直到收到下一發觸發訊號時停止充電，並產生電壓輸出，所輸出的電壓振幅正比於兩訊號輸

入TAC的相對時間差。最後以類比-數位轉換器 (analog-to-digital converter, ADC) 將電壓振幅轉換為個別的時間頻道 (channel), 再送入多頻道分析儀 (multi-channel analyzer, MCA) 進行個別時間頻道的累計, 完成一次單一光子計時的偵測。針對單一光子持續進行計時並累積, 可將螢光隨時間的分佈完整重現。

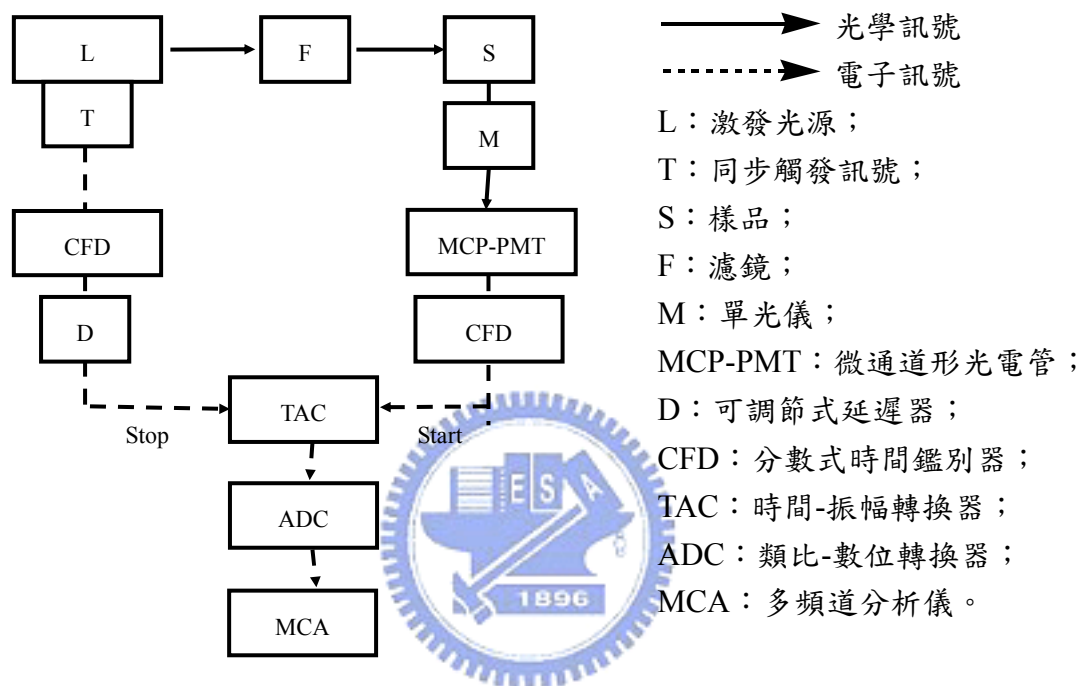


圖 2-13. TCSPC 模組之訊號擷取及計時程序。

2-4. Up-conversion 技術 和 TCSPC 間的差異

在 DPAMN 分子的時間解析螢光光譜的量測中, 我們發現使用 FOG - up-conversion 技術量測到的的螢光衰減在 >20 ps 已經完全衰減到背景值, 但使用 TCSPC 卻觀察大約 6 ns 的螢光衰減, 且在短時間並沒有看到使用 FOG 所觀察到的快速過程。為了要能夠解釋上述的差異, 我們首先必須要對此兩種方式所能達到的偵測極限有所認知。在圖 2-14(A)中是由 up-conversion 技術所得到 DPAMN 在正己烷溶劑中的時間解析光譜原始數據, up-conversion 技術背景值主要是有兩個

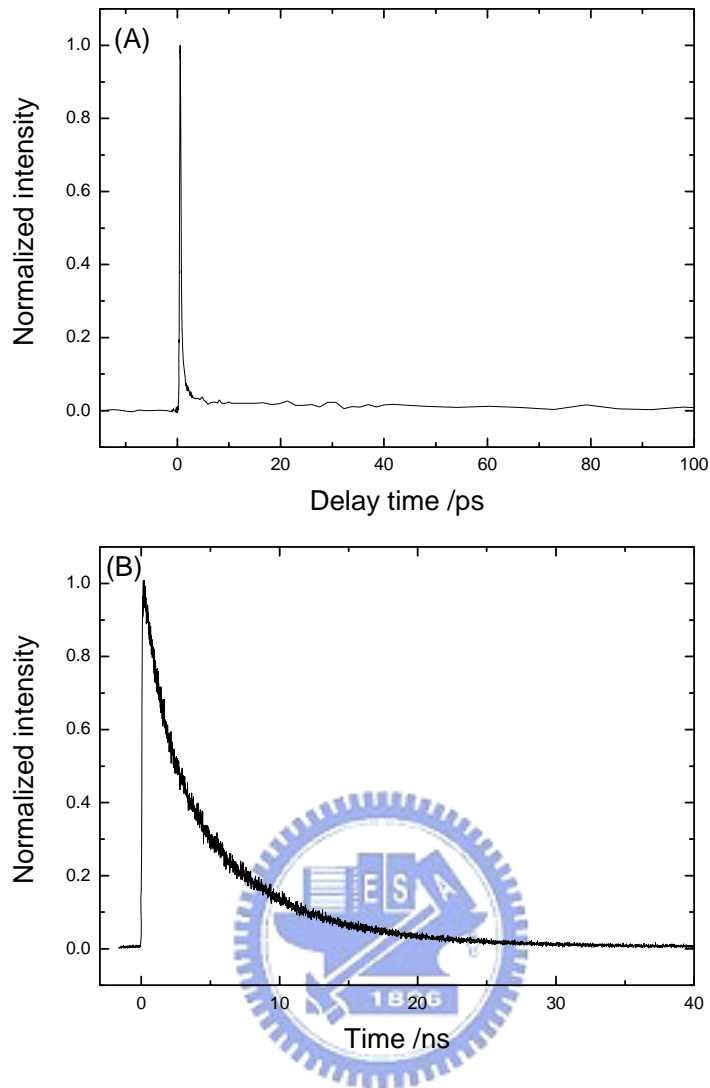


圖 2-14. (A)利用 up-conversion 技術所得到的 DPAMN 時間解析光譜原始數據。(B)由 TCSPC 所得到的 DPAMN 原始數據。

來源，一個是 PMT 本身所產生的暗電流，而另一個則是由於我們所使用雷射的 Repetition Rate 太快(76MHz, pulse 與 pulse 的間隔為~13 ns)。所以如果有螢光的生命期大於 13 ns，其在第一發雷射激發後尚未衰弱至零點時第二發雷射又再度激發樣品，因此未衰減完全的訊號也會變成我們的背景值。圖 2-14(B)中是由 TCSPC 所得到 DPAMN 在正己烷溶劑中的原始數據,其 S/N ration > 100 而 flucuation 也約為 1/10。在瞭解此二方法所測量的極限後,我們便可利用程式來模擬某一特定的螢

光衰減過程在此兩種偵測環境下所能測得的訊號。首先我們假設一個由四個指數函數所構成的螢光衰減,其各個衰減的速率與 DPAMN 正己烷溶劑中我們所得到的時間常數相同。此時如我們用一儀器去偵測其所見到的訊號 $S(t)$ 可由下式 2-2 表示:

$$S(t) = \int_{-\infty}^t g(s) * I(t-s) ds \quad (\text{式 2-2})$$

其中 $g(s)$ 為儀器之 Instrument response function (IRF)，在此我們假設其為一高斯函數，對 up-conversion 系統而言其 FWHM 約為 0.2 ps，而 TCSPC 則為 50 ps 儀器之 fluctuation 則利用一亂數產生器在特定範圍內產生亂數來模擬，背景值則將所有的訊號都加上一個特定的值來模擬，其所得到的結果如圖 2-15(A) 和 2-15(B) 所示，其和所實際取得的訊號十分的相似，顯示了由於測量技術的不同，的確會使得所觀測到的時間解析光譜產生相當大的差異。首先在圖 2-15(A) 中可看到在利用 up-conversion 所取出來的數據其在短時間內能夠有效的反應出實際的螢光衰減，但是對於較長時間時，受限於系統本身偵測靈敏度的關係，其所產生的 fluctuation 就大於我們所要測量的訊號，因此所看到的訊號就像是已經回到了背景值，無法由其得到相關的螢光衰減資訊。

在圖 2-15(B) 中模擬 TCSPC 取得的訊號時，由於其儀器本身的時間解析度不好 (~50 ps)，前面兩個快速的衰減過程由於其訊號被分散到了 50 ps 的範圍內因此使得在模擬訊號中並看不到一快速衰減的過程，但另一方面的由於 TCSPC 此一技術對於微弱的訊號十分的靈敏，因此模擬出的訊號主要反映出來的都是在經過前兩個快速的衰減過程後剩餘的螢光訊號。

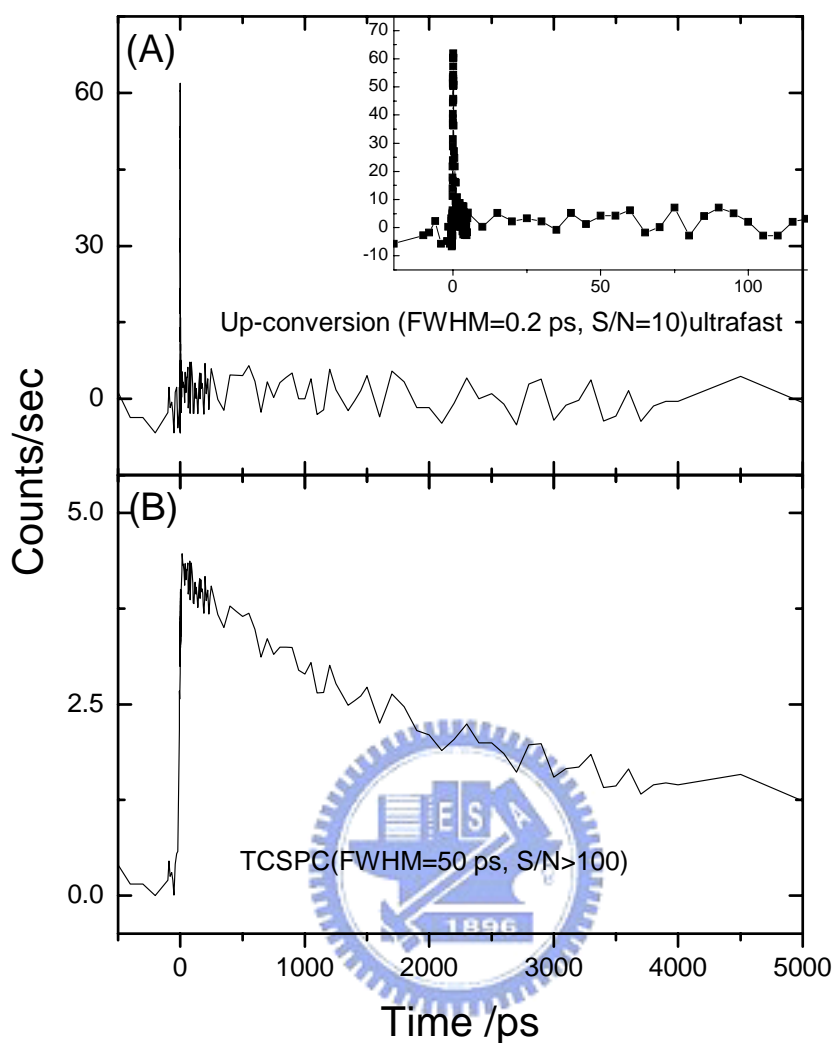


圖 2-15. (A) 加上亂數背景值所模擬的 up-conversion 訊號。(B) 加上亂數背景值所模擬的 TCSPC 訊號。

由以上兩個技術可知，up-conversion 以及 TCSPC 因為在雷射 pulse 的 FWHM 有很大的不同，所以分別擁有不同的時間解析度，我們針對各種不同時間的螢光衰減中必須適當的利用此兩種技術來做互補。因此為了能夠得到完整的螢光生命期，在以下的數據中我們對於 DPBMN 與 DPAMN 分子均會利用此二技術來作測量。

2-5 紫外-可見光光譜儀 (UV-Vis spectrometer)

吸收光譜之測量是使用 Varian 公司，型號為 Cary50 的紫外-可見光光譜儀。使用光源為氫燈，其光區範圍為 190 ~ 1100 nm，實驗所使用的掃描速率為每秒 1200 nm，光譜解析度為 0.25 nm。

2-6 螢光光譜儀 (Fluorescence spectrometer)

本實驗螢光光譜的測量利用脈衝式二極體雷射為激發光源，經由光纖打入樣品，在 90° 方向上以光纖收集樣品的放光並傳送到 CCD 光譜儀 (USB2000-FLG, Ocean Optics) 進行光譜的偵測。偵測波長範圍 378-1050 nm，入射孔徑為 200 μm ，解析度為 10 nm，偵測器為 2048-要素線性 CCD 列陣。

2-6-1 CCD(Charge-Coupled Device)光譜儀

本實驗所使用之 CCD 光譜儀，購買自 Ocean Optics，圖 2-14 所示為其內部結構的示意圖，以下簡單介紹每一個元件 (標號為 1-10) 的功能：⁴³

- (1) 為 SMA 905 連接器 (connector)，連接光纖和 CCD，使光可以精確地進入 CCD。
- (2) 為固定的狹縫 (slit)，固定光通量。
- (3) 為吸收濾鏡 (absorbance filter)，其功用為阻擋二級 (second order) 或三級反射的入射光，及色彩平衡。
- (4) 為準直鏡 (collimating mirror)，原本發散的入射光經過此鏡反射後成為準直的光束進入光柵。
- (5) 為光柵 (grating)，其功能為分散入射光。
- (6) 為聚焦鏡 (focus mirror)，將第一級反射的入射光聚焦後在反射至偵檢器 (detector)。
- (7) 為 L2 偵檢器收集透鏡 (L2 detector collection lens)，其功能為增加光的收集效

⁴³ Product Catalog (Ocean Optics).

率。

(8) 為 OFLV 濾鏡，避免二級或三級反射光進入偵檢器。

(9) 為 UV2 偵檢升級器 (UV2 detector upgrade)，增加光譜儀的偵測範圍。

(10) 為偵檢器，由一線性的 CCD 陣列 (array) 組成。

當我們的偵測訊號經由光纖進入 CCD 後，光依序由標號 1 至標號 10 的路徑到達偵檢器，最後由電腦取得光譜。

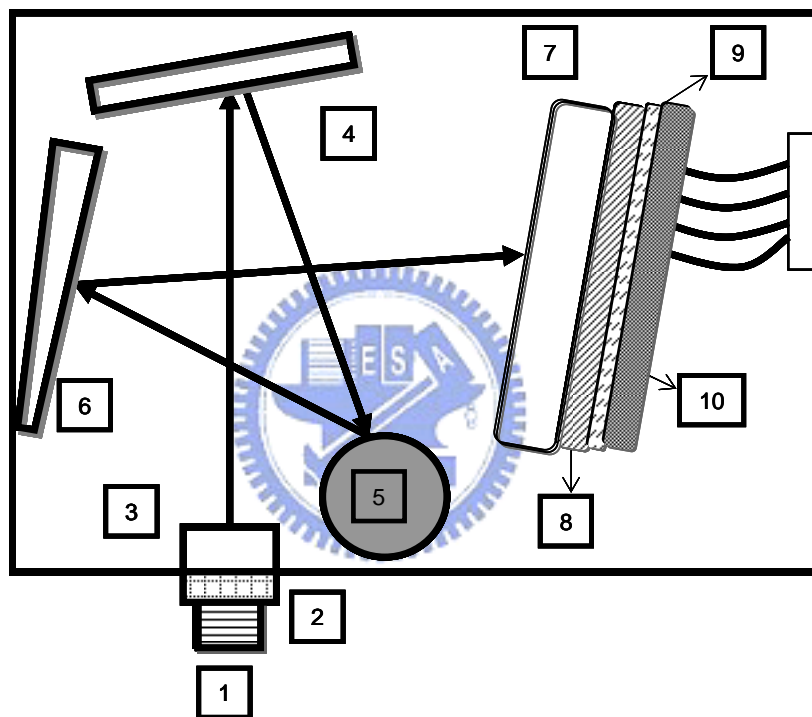


圖 2-16. CCD 光譜儀 之內部結構示意圖。

2-7 資料分析(Data analysis)

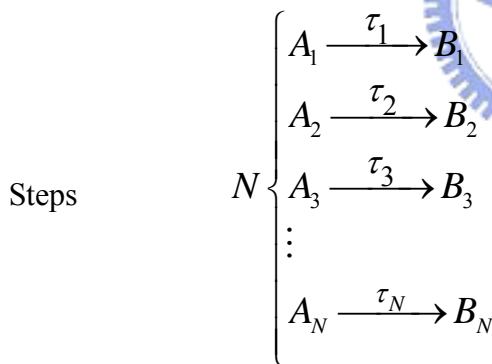
時間解析的螢光衰減曲線提供了頻譜所無法得到的資訊。螢光生命期可以提供樣品與週遭環境的光物理及光化學性質。經由 TCSPC 與 FOG 所取得的螢光衰減曲線可利用兩種資料分析軟體進行動力學模型的擬合，其一為 Scientist，另一為 FluoFit。

由於激發脈衝本身具有時間的分布且經由儀器造成色散的結果，因此我們所觀

測到的螢光衰減曲線 $S(t)$ 為儀器相關函數 (instrument response function, IRF) $g(s)$ 及分子相關函數 (molecular response function) $I(t-s)$ 的迴旋積分 (convolution), 如式 2-2 所示。

在 Scientist 軟體中, 提供一高斯函數 (Gaussian function) 作為儀器相關函數, 然而由於儀器相關函數脈衝寬度並不為一高斯函數分佈, 故在 FluoFit 軟體中則經由偵測光源的散射光求得儀器相關函數進行擬合。本系統所使用脈衝式光源的。在螢光生命期很短、螢光強度很弱的情況下, 利用高斯函數作為儀器相關函數將造成擬合結果的誤差, 此時需要利用 FluoFit 來進行資料分析, 否則短時間位置的放光則無法得到好的擬合結果。

(1) **平行模型**: 當分子被激發後, 電子由 A_i 能階經由 N 個輻射或非輻射方式緩解到 B_i 能階, 其生命期為 τ_i , 此 N 個緩解途徑為平行過程, 其反應式由 $A_i \xrightarrow{\tau_i} B_i$ 表示, 此時 $i=1, 2, \dots, N$, 各代表不同的緩解途徑。



此時, 分子相關函數如式 2-3 所示。

$$f_{tot}(t) = \sum_{i=1}^N A_i(t) = \sum_{i=1}^N a_i \exp(-t / \tau_i) \quad (\text{式 2-3})$$

此時, $A_i(t)$ 為第 i 個指數組成的螢光時間表現; a_i 為第 i 個指數組成的振幅 (amplitude); τ_i 為第 i 個指數組成的衰減時間常數 (decay time coefficient)。

(2) **連續模型**：當分子被激發後，電子由 A 能階緩解到 B 能階，再經由 B 能階緩解到 C 能階，此連續緩解過程的生命期分別為 τ_1 、 τ_2 ，其反應式由 $A \xrightarrow{\tau_1} B \xrightarrow{\tau_2} C$ 表示。

此時，分子相關函數如式 2-4 所示。

$$f_{tot}(t) = A(t) + B(t) \quad (\text{式 2-4})$$

$$A(t) = ae^{-t/\tau_1}; \quad B(t) = \frac{b\tau_2}{\tau_1 - \tau_2} (e^{-t/\tau_1} - e^{-t/\tau_2})$$

此時， $A(t)$ 為 A 能階的螢光時間表現， a 代表振幅， τ_1 為 $A \rightarrow B$ 的衰減時間常數； $B(t)$ 為 B 能階的螢光時間表現； τ_2 為 $B \rightarrow C$ 的衰減時間常數。



2-8 理論計算

量子化學計算的發展再加上近年來電腦技術的精進，藉由理論計算來模擬分子激發態的軌域及能量已不是一項耗費多時的工作，而量子計算的基礎在於解 Schödinger equation: $\hat{H}\Psi = E\Psi$ ， \hat{H} 是 Hamiltonian operator，將其作用在分子的波函數 Ψ 上會得到能量 E ，另外 $\hat{H} = T_e + T_N + V_{NN} + V_{ee} + V_{Ne}$ ，其中 T_e 為電子的動能， T_N 為原子核的動能， V_{NN} 為原子核間的排斥力， V_{ee} 為電子和電子的排斥力， V_{Ne} 則為原子核與電子間的吸引力，而根據 Born-Oppenheimer Approximation 原子核相對於電子是靜止不動的，因此在解電子的波函數時假設 $T_N = 0$ 及 $V_{NN} = \text{定值}$ 。

Gaussian 計算程式為量子理論計算領域最著名和應用最為廣泛的程式之一，其由量子化學家 John Pople 所開發，可以應用全始計算方法 (ab initio)、半經驗方法和密度泛函等計算方法進行分子能量和結構、過渡態能量和結構、化學鍵、反

應路徑、偶極矩、紅外光譜、拉曼光譜等分子相關計算。Gaussian可以在Windows、Linux及Unix操作系統中運作，目前最新版為Gaussian03。⁴⁴

2-9 樣品處理 (Sample handling)

實驗所研究的 DPBMN[2-(4-(diphenylamino)benzylidene)malononitrile] 及其 DPAMN[2-((10-(diphenylamino)anthracen-9-yl)methylene)malononitrile] 分子皆為本系許慶豐教授實驗所提供。所使用的光譜級溶劑正己烷 (n-Hexane)、四氫呋喃 (Tetrahydrofuran, THF)、丙酮 (Acetone)、二甲基亞砜 (*N,N*-dimethylsulfoxide, DMSO)、乙腈 (acetonitrile, ACN) 皆購自默克 (E.Merck) 公司。



⁴⁴ Aileen Frisch, Michael J. Frisch, Gary W. Trucks. *Gaussian03 User's Reference*; Gaussian, Inc. Pittsburgh, PA, 2003.