

Fluoreszenz Messungen

Simon Heinzmann, Hannes Albers, Dominik Huber

Experimental Methods for Engineers

ETH Zürich, D-MAVT, Group 4, 13.12.2019

1. Einleitung

Messungen der Fluoreszenz in Abhängigkeit des Druckes, wie in diesem Experiment, finden heute vor allem in der Raumfahrt und in der Luftfahrt Anwendung. Das Verfahren kann verwendet werden, um Druckverteilungen auf Oberflächen zu bestimmen. So können beispielsweise maximal belastete Stellen in der Konstruktion identifiziert werden. Da mit dieser Methode jedes Pixel des Fotos als einzelner Drucksensor fungiert, ist dieses Verfahren effizienter und genauer als punktuell angebrachte Drucksensoren am Modell. Die Methodik der Fluoreszenzmessung wurde zuerst in der Biologie verwendet, um Aktivitäten in Zellen zu visualisieren, und fasste erst später im Ingenieursbereich Fuss. Die Absicht dieses Experimentes ist es die Intensität des emittierten Lichtes eines fluoreszierenden Farbfilmes zu messen, nachdem dieser mit einer LED Lampe beleuchtet wurde. Zu zeigen ist, dass die Intensität stark vom Druck abhängig ist.

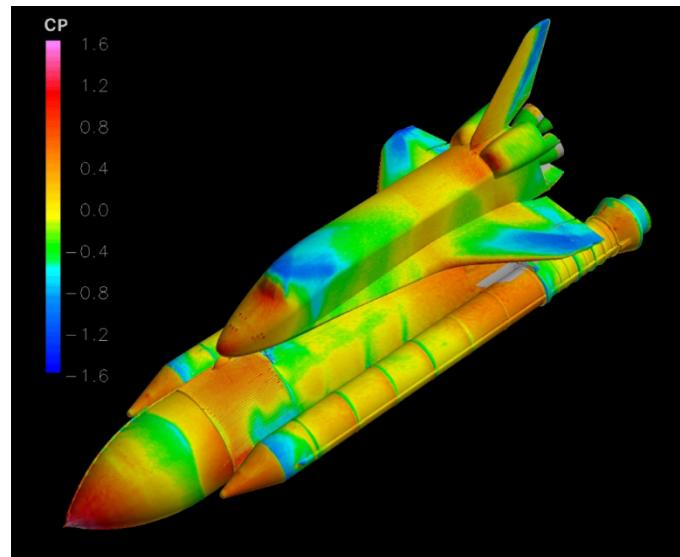


Abbildung 1: Farbflussvisualisierung der Drücke eines Space Shuttle, der im Windkanal des Arnold Engineering Development Center der Luftwaffe getestet wurde.

2. Theoretische Grundlagen

Das Phänomen der Fluoreszenz beinhaltet verschiedene Prozesse der Energieübertragung. Zwei davon sind relevant für dieses Experiment.

Eine Lichtquelle sendet Photonen aus. Diese Photonen treffen wiederum auf einen fluoreszierenden Farbfilm auf. Die Photonen gelangen in die Atomare Struktur des Farbfilmes, wo sie Elektronen mit dem Energieniveau E_0 anregen. Dieses Elektron

absorbiert das Photon, nimmt dessen Energie auf und wird folglich auf ein erhöhtes Energieniveau E_2 gebracht. Jedoch ist das Elektron auf diesem Energieniveau nicht stabil und tendiert dazu, wieder in den energetischen Grundzustand E_0 zurückzukehren. Dies geschieht indem es zuerst Energie durch Schwingungen oder Wärme abgibt, bis es ein Energieniveau E_1 erreicht. Von diesem Energieniveau E_1 aus ist es dem Elektron wieder möglich, über bestimmte Wege auf E_0 zurückzukehren. Eine Möglichkeit ist, dass das Elektron ein Photon der passenden Wellenlänge emittiert, und damit die überschüssige Energie wieder abgeben kann. Diese Art des Übergangs wird auch als Licht emittierender Übergang bezeichnet, und ist somit verantwortlich für das fluoreszierende Licht. Das Elektron hat jedoch einen zweiten möglichen Weg auf das ursprüngliche Energieniveau zu gelangen. Dieser Übergang heisst «quenching»: Dabei überträgt das Elektron die Energie durch Vibration auf ein O_2 Molekül und fällt damit in den Grundzustand zurück. Entscheidend ist hier, dass bei diesem Vorgang kein Photon emittiert wird, und somit auch kein Licht sichtbar ist. Es liegt somit auf der Hand, dass bei höherem Druck mehr O_2 Moleküle sich in unmittelbarer Umgebung des Elektrons aufhalten, und damit die Wahrscheinlichkeit von «quenching» erhöhen. Anhand der Theorie, sollte somit die Lichtintensität der Fluoreszenz mit zunehmendem Druck geringer werden.

3. Versuchsaufbau

Der Versuchsaufbau besteht aus einer Testzelle, einer Lichtquelle (Lightspeed Technologies HPLS-36, 447nm), einer Kamera (pco.1600, PCO GmbH, 1280x1024 Pixel), einem Digital Delay Generator (Berkeley Nucleonic BNC-575) links in Abbildung 2, einem Datenerfassungsmodul, einem Drucksensor der via Schlauch mit der Testzelle verbunden ist.

Diese enthält eine kleine Glasplatte mit einer Silica-Gelschicht, die den Fluoreszenzfarbstoff enthält. Die Zelle ist mit einer Vakuumpumpe verbunden, die es erlaubt den Druck darin zu verringern. Ein Drucksensor überträgt den aktuellen Druck innerhalb der Zelle über ein Datenerfassungsmodul an den Computer. Die LED Lampe die direkt auf die Testzelle gerichtet ist, erzeugt kurze Belichtungen mit einer Pulsbreite von

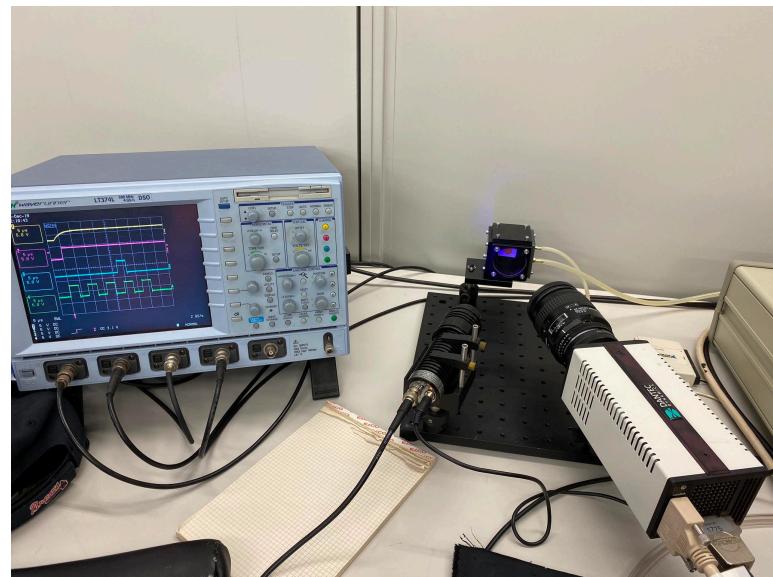


Abbildung 2: Versuchsaufbau

150ns. Die Aufgabe der Kamera ist es, zwei Bilder der Zelle aufzunehmen, nachdem diese beleuchtet wurde. Die beiden Bilder müssen extrem schnell nacheinander geschossen werden. Um alle Komponenten des Experimentes aufeinander

abzustimmen, wird ein «digital delay generator» verwendet, um die Impulse im Bereich von Nanosekunden zu ermöglichen. Dieser Generator steuert nicht nur die Lichtimpulse der LED Lampe, sondern auch die Funktion der Kamera.

In diesem Experiment wird unter verschiedenen Druckverhältnissen jeweils mittels dreier Methoden die Stern-Vollmer Beziehung experimentell verifiziert. Um ein repräsentatives Ergebnis zu erreichen werden mehrere Messungen für verschiedene Drücke im Bereich zwischen 0.2 bis 1 bar erhoben.

4. Vorgehen

Insgesamt werden drei verschieden Messungen durchgeführt. Primär ist die «Stern-Vollmer» Beziehung zu verifizieren. Die Geschwindigkeitskonstante k_Q beschreibt den Elektronenübergang in den Grundzustand via "quenching" und ist somit die «quenching rate». « τ » beschreibt die Lebensdauer (= Abklingzeit) und « Q » die Anzahl der Sauerstoffmoleküle. Die «Stern-Vollmer» Beziehung besagt, dass die Inverse des Verhältnisses zwischen den fluoreszierenden Intensitäten linear zu der «quenching rate» und somit zur «quencher concentration» ist.

$$\frac{I_{Fluoreszenz}^0}{I_{Fluoreszenz}^Q} = 1 + k_Q \tau Q \quad (1)$$

Dabei setzt das erste Experiment die Fluoreszenzhelligkeit in den Vergleich zu einem geeigneten Referenzbild. Dazu werden drei Bildausschnitte verwendet. Zum einen ein Referenzbild, welches nicht beleuchtet wurde und somit als Dunkelreferenz definiert wird. Hierbei tritt keine Fluoreszenz auf. Dazu kommen noch zwei Bilder, eines bei einem Referenzdruck, sowie eines bei einem variierten Druck. Dabei wird gemäss Formel 2 das Fluoreszenz-Verhältnis berechnet.

$$\rho(p) = \frac{I(p) - I_{dark}}{I(p_{ref}) - I_{dark}} \quad (2)$$

Eine zweite Messung befasst sich mit der Lebensdauer. Um diese zu untersuchen werden zwei Bilder schnell hintereinander aufgenommen und verglichen.

$$\rho = \frac{I_1 - I_1^{dark}}{I_2 - I_2^{dark}} = [1 - \exp(-\delta/\tau)] \exp(\Delta/\tau) \quad (3)$$

Mit den zwei Bildern der Intensität und deren Dunkelbildern, kann das Bildverhältnis $\rho(p)$ berechnet werden, und durch dieses dann mit der Gleichung (3) die «Lebensdauer» τ . Gemäss der Theorie sollte nun ein Stern-Vollmer Plot zu den bekannten Drücken eine lineare Abhängigkeit aufweisen.

Die letzte der Messungen benötigt kein Dunkelreferenzbild. Es werden vier Messungen mit verschiedenen Phasenverzögerungen generiert für ein moduliertes Anregungssignal, um daraus auf die Lebensdauer zu schliessen.

Nachdem die erste Messung durchgeführt wurde, folgen die anderen Messungen jeweils mit einer Belichtung verschoben um jeweils 0.5 , 1 oder 1.5 der Pulsbreite. Die Kamerabilder mit konstanter Verzögerung werden integriert und man erhält vier Intensitäten. Aus diesen kann gemäss (4) die Lebensdauer berechnen.

$$\tau = \frac{1}{\omega} \tan \left[\arctan \left(\frac{I_2 - I_4}{I_1 - I_3} \right) \right] \quad (4)$$

5. Resultate

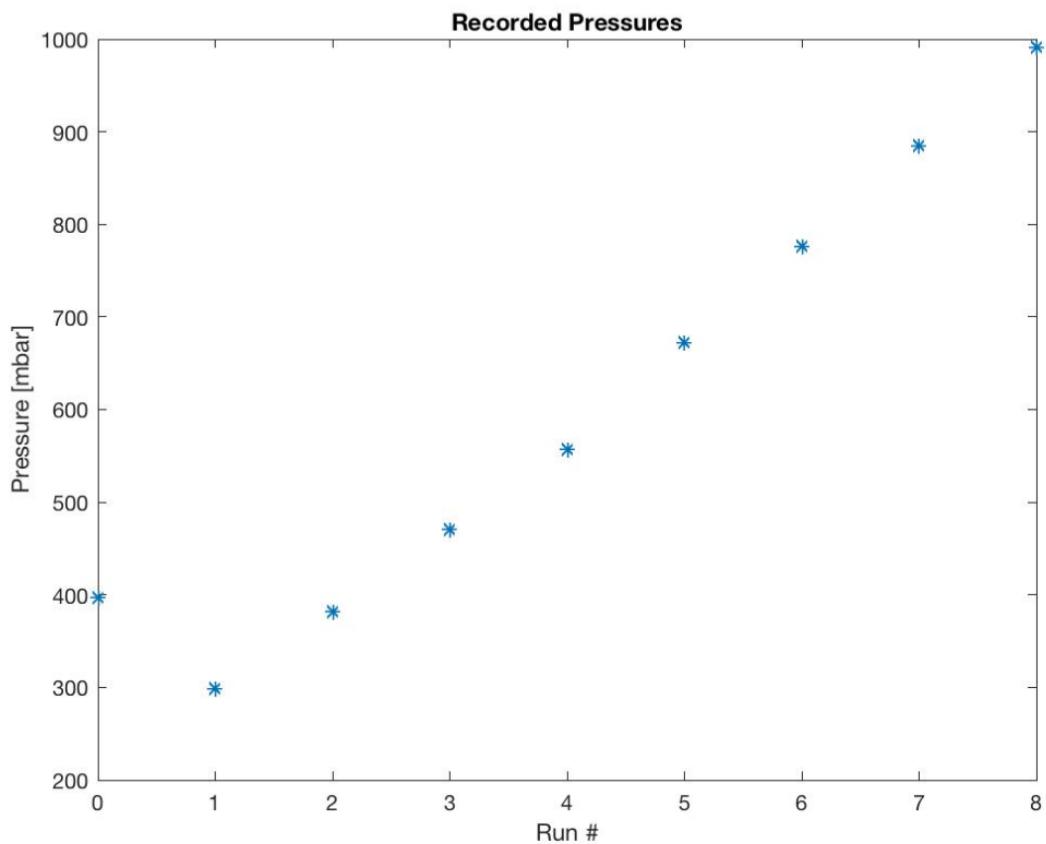


Abbildung 3: Drücke bei den jeweiligen Messungen

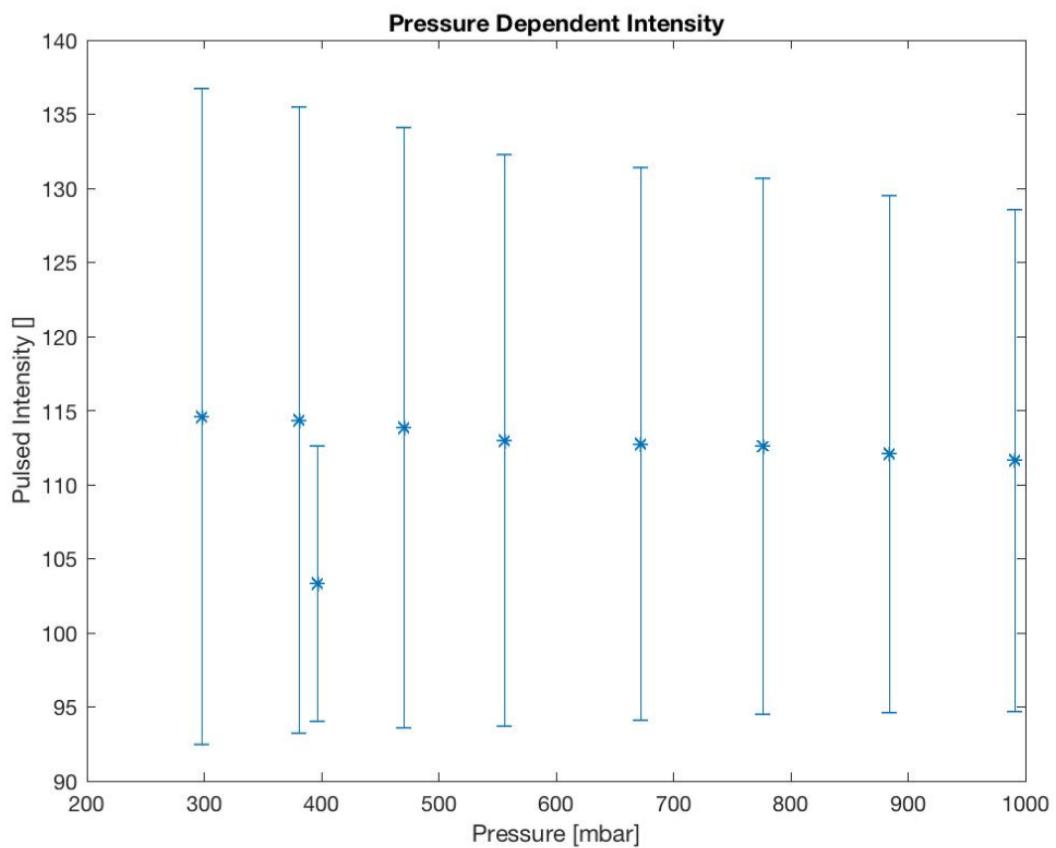


Abbildung 4: Streuung der Intensitäten bei verschiedenen Drücken

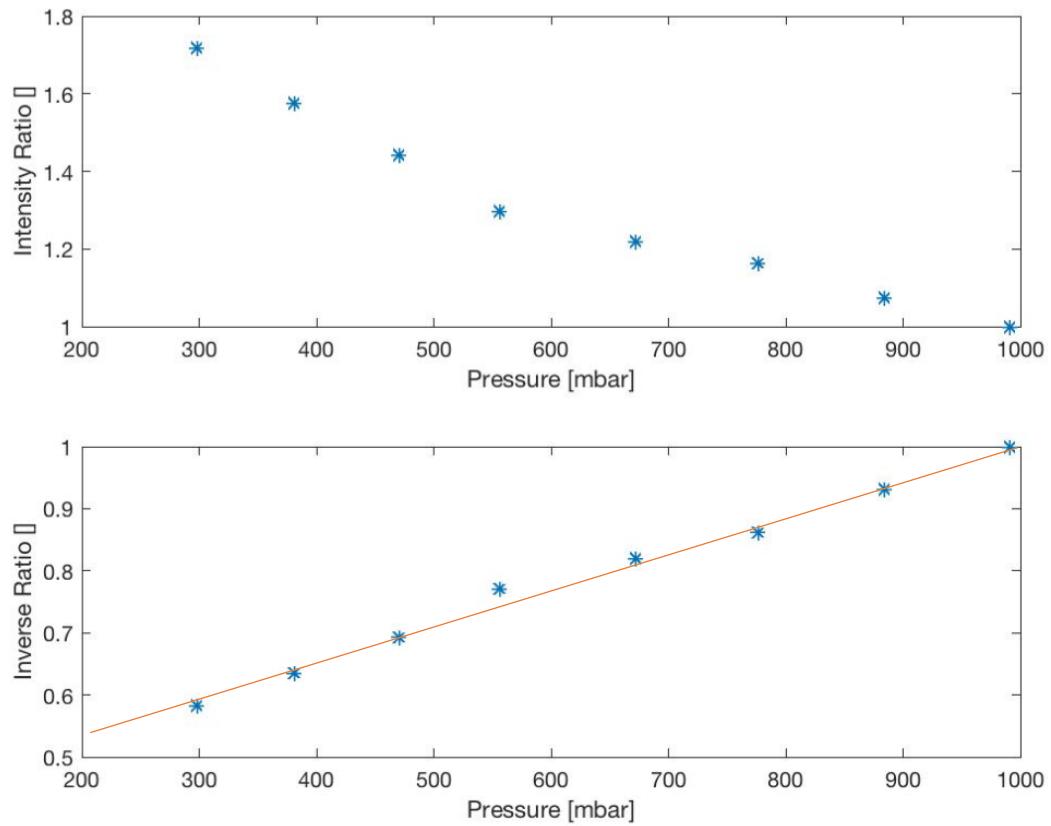


Abbildung 5: Messung der Intensitätsverhältnisse bei verschiedenen Drücken (gemäss Methode 1)

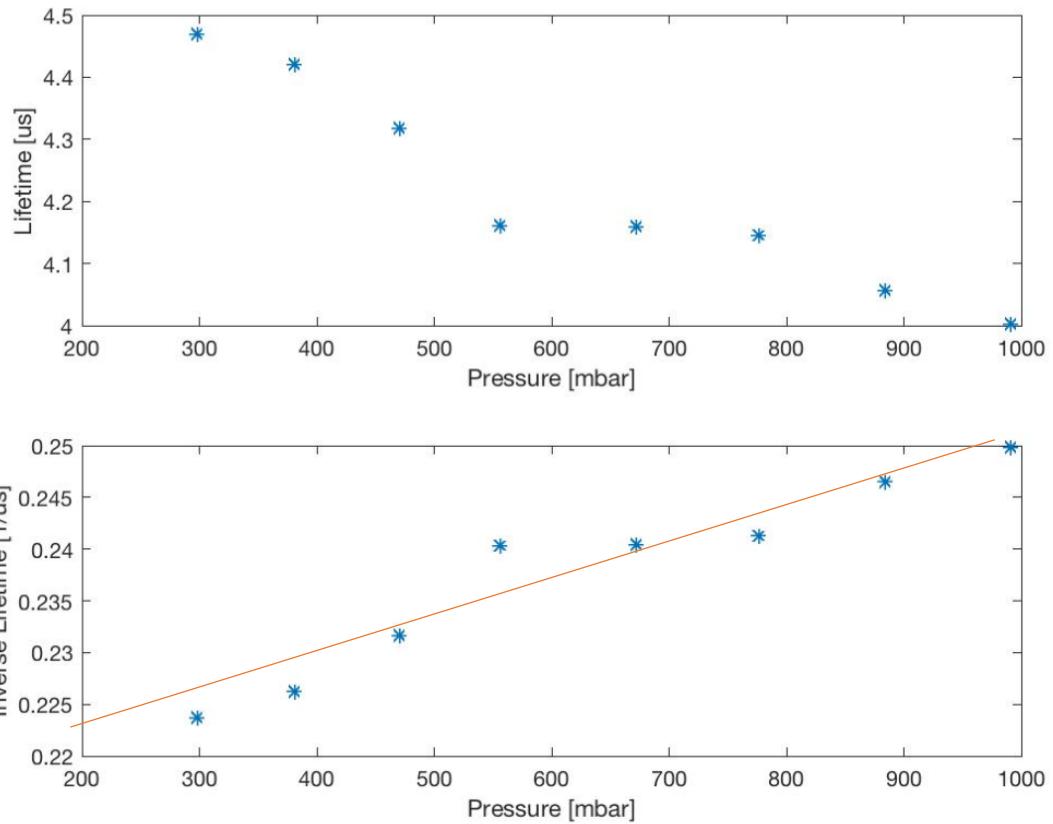


Abbildung 6: Messung der Lebensdauer bei verschiedenen Drücken (gemäss Experiment 2)

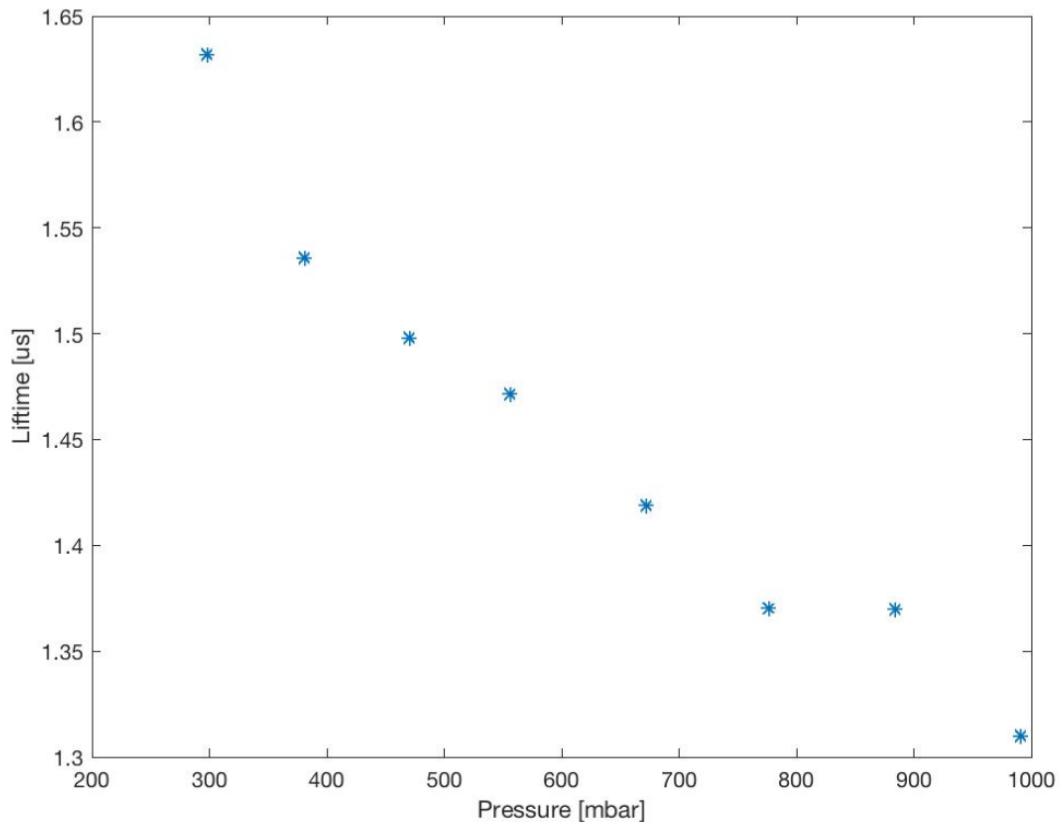


Abbildung 7: Messung der Lebensdauer bei verschiedenen Drücken (gemäss Experiment 3)

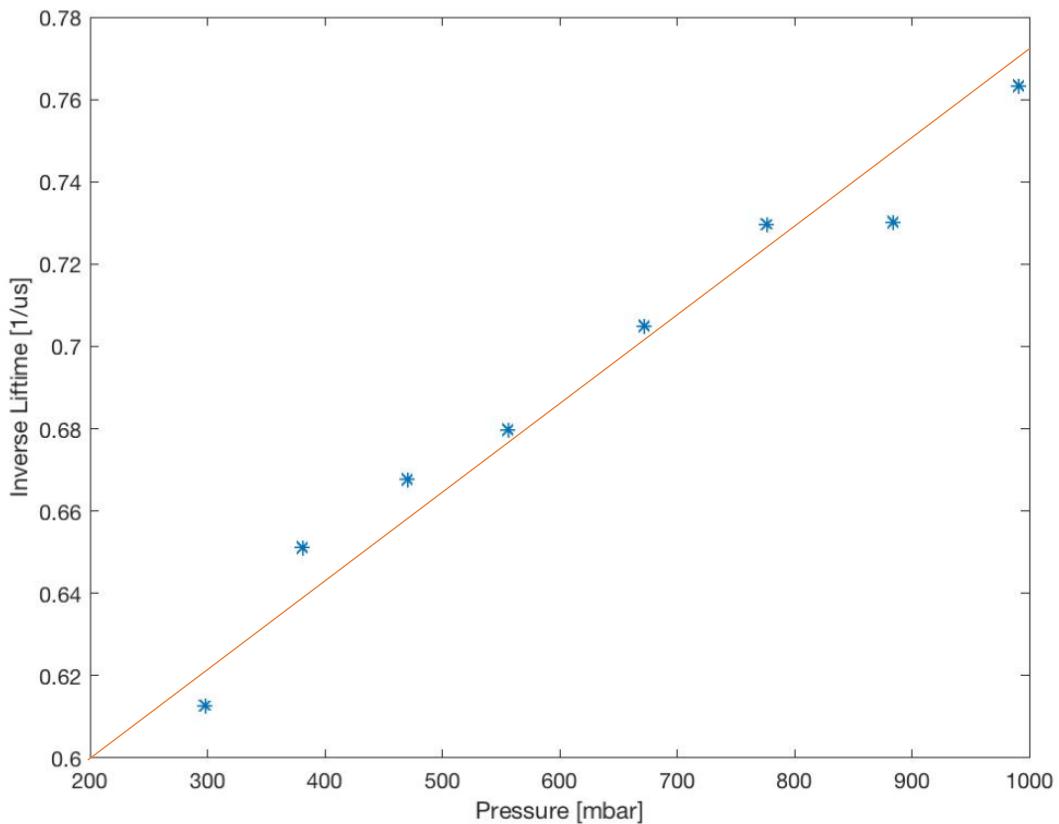


Abbildung 8: Messungen der inversen der Lebensdauer bei verschiedenen Drücken (gemäss Experiment 3)

In Abbildung 3 sind die Drücke gegenüber den Messintensitäten aufgelistet. Zu erkennen ist der lineare Anstieg von jeweils 100mbar pro Messung bei einem Startpunkt von 300mbar.

In Abbildung 4 ist zu sehen, dass mit zunehmendem Druck sich mehr Sauerstoffteilchen in der Nähe der fluoreszierenden Farbe befinden. Dies resultiert in einer grösseren Wahrscheinlichkeit, dass die Elektronen ihre Energie via «quenching» abgeben und somit der Durchschnitt der Lichtintensität mit zunehmendem Druck abnimmt.

Diagramm 5 stellt die Verhältnisse der Intensitäten zu den jeweiligen Drücke dar. Hierfür wurde eine Aufnahme von der mit einem Impuls angeregten Probe gemacht und mit einem Referenzbild verglichen. Wie zu erwarten werden die Intensitäten mit zunehmendem Druck geringer, was an der negativen Steigung einer Trendlinie gut zu sehen währe.

Abbildung 6 ist representiert das zweite Experiment. Dieses vergleicht nur zwei aufeinanderfolgende Bilder ohne dunkles Referenzbild und schliesst so unter geeignetem Ansatz auf die Lebensdauer.

Abbildung 7 und 8 zeigen die Ergebnisse auf, welche bei der «Phase-Shift» -Messung erzielt wurden. Zum jeweiligen Druck wurden vier Intensitätsmessungen bei vier verschiedenen, gleichverschobenen Belichtungszeiten durchgeführt und so die

Lebensdauer ermittelt. Abb. 8 zeigt die Ergebnisse des 3. Experiments mit der Inversen Funktion der Lebensdauer auf der y-Achse. Klar ersichtlich ist, dass die Lebensdauer der Fluoreszenz mit zunehmendem Druck stark abnimmt.

6. Diskussion

Die Ergebnisse ähneln den theoretischen Voraussagen stark. Jedoch sind unsere Resultate nicht hinreichend eindeutig, um die theoretischen Überlegungen klar zu bestätigen. Gemäss der Theorie sollte eine exponentielle Abnahme, bzw. die Inverse eine lineare Zunahme gegenüber dem Druck aufweisen. Dies sollte in Abb. 5, 6, 7 und 8 ersichtlich sein. Grund hierfür ist die Stern Vollmer Beziehung (1). Unsere Plots lassen nur schwer auf eine geeignete Funktion schliessen. Um die Theorie genauer zu belegen wären mehr Messungen notwendig.

Bei allen Messungen können kleine Messungenauigkeiten auftreten. Diese sind in unserem Experiment durch die Präzisionsgeräte jedoch zu klein, um für die Messfehler verantwortlich zu sein. Es ist eher zu vermuten, dass Erschütterungen auf dem Tisch durch Berührungen zu einem Einfluss führten. Eine weitere Möglichkeit ist, dass die fluoreszierende Farbe durch ihre Alter nicht mehr optimale Ergebnisse liefern konnte. Ein anderer Faktor wäre, dass unsere Kamera noch im transienten (Abschnitt in einem Signal, der von einem instationären oder unstetigen Vorgang kündet) Bereich misst, in welchem noch kein lineares Verhalten vorliegt. Zudem ist es möglich, dass andere Effekte welche in unserem Modell nicht berücksichtigt wurden, eine Rolle spielen und unsere Messung beeinflussen. Denkbar wäre ein Druckverlust über die Ventile. Dieser setzt ein nachdem der gewünschte Druck erreicht wurde.

Mögliche Verbesserungen wären eine Kamera mit einer höheren Auflösung und einer kürzeren Verzögerungszeit. Dies würde das Risiko einer transienten Messung weiter verkleinern. Durch die höhere Auflösung steigt zudem die Datenqualität und man könnte sicherstellen, dass man sich nur im abfallenden Bereich aufhält. Externe Lichtquellen könnten zudem ein Störfaktor sein und die Resultate beeinflussen. Um diesen entgegenzuwirken wäre eine bessere Abdeckung vorteilhaft.

7. Fazit

Die Methode der Fluoreszenzmessung ist eine einfache, aber effektive Methode den Druck zu messen. Es wurden drei Experimente bei jeweils 8 verschiedenen Drücken durchgeführt um die «Stern-Vollmer» Beziehung zu bestätigen. Unsere Resultate konnten die «Stern-Vollmer» Theorie nicht klar bestätigen, da die Inversen der Funktionen keinen linearen Zusammenhang mit den Drücken aufwies. Für genauere Ergebnisse empfiehlt es sich, mehr Messdaten zu erheben. Diese Messmethode eignet sich in anderen Anwendungen sehr gut, um grosse Druckunterschiede zu messen, wie zum Beispiel in der Modellanalyse im Windkanal.