به نام خدا

دانشگاه کاشان

دانشکده فیزیک

گروه لیزر و فوتونیک

پایان‌نامه

برای دریافت درجه کارشناسی‌ارشد در رشته فوتونیک

عنوان :

طراحی و ساخت سامانه طیف‌سنجی فلورسانس القایی لیزری برای ارزیابی کیفی محصولات کشاورزی

استاد راهنما:

دکتر مجید ناظری

استاد مشاور:

دکتر سید احمد میره‌ای

توسط:

حامد عباسی

شهریور ۱۳۹۳

تقدیم به:

آموزگارانی که به من الفبای زندگی آموختند،

پدر و مادر عزیزتر از جانم

سپاس گزاری

منّت خدای را عز و جل که طاعتش موجب قربتست و به شکر اندرش مزید نعمت هر نفسی که فرو می‌رود ممدّ حیات است و چون بر می‌آید مفرّح ذات پس در هر نفسی دو نعمت موجودست و بر هر نعمت شکری واجب[1].

پس از شکر ایزد بی همتا و پیش از هر چیز دیگری از پدر و مادر عزیزتر از جانم که با فدا کردن مهم‌ترین و پر انرژی‌ترین روزهای زندگی خویش زمینه تحصیل این خردترین را فراهم آوردند عمیق‌ترین درجه سپاس و قدردانی را به جا می‌آورم. آنان موهایشان سپید شد تا ما روسفید شویم و عاشقانه سوختند تا گرمابخش وجود ما و روشنگر راهمان باشند. همچنین از برادرانم که همواره در طول تحصیل متحمل زحماتم بودند و وجودشان مایه دلگرمی من است نیز خالصانه تقدیر می‌کنم. همچنین قدردان کمک‌های فراوان خواهر عزیزم هستم، سنگ صبوری که همواره وجودش شادی بخش و صفایش مایه آرامش اینجانب در طول زندگی بوده و در سایه همیاری و همدلی او ادامه تحصیل میسر شد.

بر خود واجب می‌دانم تا از استاد فرهیخته و ارجمند جناب آقای دکتر **مجید ناظری**، استاد راهنمای محترم پایان‌نامه، که هیچ گاه هیچ کمکی را از من دریغ نکردند کمال تشکر و قدردانی را داشته باشم. همچنین از جناب آقای دکتر **سید احمد میره ای**، استاد مشاور محترم پایان‌نامه، که با یاری‌ها و مشورت‌های با ارزش خود بسیاری از سختی‌ها را بر من آسان نمودند تشکر و قدردانی می‌کنم.

از اساتید ارجمند آقایان دکتر **حمید رضا زنگنه** و دکتر **سید محمد باقر قرشی** که زحمت داوری پایان‌نامه را قبول کردند و در کلاس‌های درس ایشان نیز بسیار آموختم تشکر می‌کنم. همچنین از آقایان دکتر **بهرام جزی** و دکتر **مصطفی زاهدی فر** که افتخار حضور در کلاس‌های ایشان را در این دوره تحصیلی داشتم صمیمانه سپاس‌گزاری می‌نمایم.

همچنین بر خود لازم می‌دانم از تکنسین فنی آزمایشگاه جناب آقای مهندس محمد رضا ناظری که همواره وقت ارزشمند خویش را در اختیار دانشجویان قرار می‌دهند تشکر کنم. در نهایت از دوستانم و سایر اعضای آزمایشگاه طیف‌سنجی لیزری و تراهرتز دانشگاه کاشان که روز هایی شاد و مفرح را در محیطی آرام و دلنشین برایم فراهم ساختند سپاس گزارم.

[1] برگفته از دیباچه گلستان سعدی

چکیده:

طی چندین سال گذشته تقاضا برای محصولات کشاورزی با کیفیت به صورت چشمگیری افزایش پیدا کرده است. بنابراین استفاده از روش‌های کنترل کیفیت محصولات کشاورزی، به ویژه روش‌های غیرمخرب، بیش از پیش ضروری است. امروزه، روش‌های مبتنی بر طیف‌سنجی مختلفی مانند فلورسانس، رامان، بازتابی و غیره به منظور ارزیابی کیفی محصولات کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند. توانایی روش طیف‌سنجی فلورسانس القایی لیزری در تشخیص برخی از معایب در میوه‌ها و سبزیجات مانند کوفتگی و قهوه‌ای شدگی بافت[1] به اثبات رسیده است. همچنین از روش ذکر شده برای تشخیص کم آبی در گیاهان نیز می‌توان بهره جست. در اکثر اوقات مواردی که باعث کاهش کیفیت محصول می‌شوند تغییر در ساختار مولکولی کلروفیل موجود در محصول را به همراه دارند که می‌توانند به عنوان نشانه‌ی بارزی از کاهش کیفیت محصول تلقی شوند. هدف این پایان‌نامه ساخت یک سامانه طیف‌سنجی فلورسانس القایی لیزری برای کنترل کیفی محصولات کشاورزی است. یک سامانه طیف‌سنجی فلورسانس القایی لیزری شامل دو قسمت طیف‌سنج حساس و منبع القا مناسب است. در ابتدا یک طیف‌سنج که با نرم افزار کنترل می‌شود طراحی و ساخته شده است. این طیف‌سنج قادر است طیف فلورسانس میوه‌ها و سبزیجات را مستقیماً در ناحیه دلخواه از سطح محصول اندازه‌گیری کند. بدین منظور طیف‌سنج به یک فیبر نوری مناسب مجهز شده است. ارتباط سخت‌افزاری طیف‌سنج از طریق درگاه USB صورت می‌گیرد و طیف‌سنج از طریق برنامه‌ای رایانه‌ای کنترل می‌شود. برای القای فلورسانس در میوه‌ها و سبزیجات از منابع گوناگونی می‌توان استفاده کرد. روشی که در این پایان‌نامه مورد استفاده قرار گرفته است استفاده از لیزر نیمرسانای فرابنفش و دیودهای نور گسیل فرابنفش و آبی با طول موج‌های مختلف است. در نهایت طیف فلورسانس برخی از میوه‌ها و سیزیجات با منابع القای مختلف اندازه‌گیری شد.

کلمات کلیدی: ۱- طیف‌سنج ۲- فلورسانس ۳- لیزر ۴- دیود نور گسیل ۵- ارزیابی غیرمخرب ۶- محصولات کشاورزی

[1] Tissue browning and bruising

فهرست مطالب

فهرست شکل‌ها ..... ج

پیشگفتار ۱

فصل اول: مقدمه: مطالعه پدیده فلورسانس ۳

۱-۱ انواع لومینسانس ۴

۱-۲ نمودار جابلونسکی ۸

۱-۳ جا به جایی استوکس ۱۱

۱-۴ قاعده کاشا ۱۲

۱-۵ اهمیت فلورسانس در محصولات کشاورزی ۱۳

فصل دوم: طراحی و ساخت طیف‌سنج ۱۵

۲-۱ طراحی و ساخت طیف‌سنج مبتنی بر منشور ۱۶

۲-۲ شکاف ورودی ۱۷

۲-۳ انتخاب منشور مناسب ۱۸

۲-۴ انتخاب عدسی مناسب ۲۰

۲-۵ انتخاب آشکار ساز مناسب ۲۲

۲-۶ انتخاب فیبر نوری مناسب ۲۳

۲-۷ طیف‌سنج مبتنی بر توری پراش ۲۳

۲-۸ قدرت تفکیک طیفی ۲۴

۲-۹ کالیبره کردن ۲۶

فصل سوم: یافتن منبع مناسب برای القای فلورسانس در محصولات کشاورزی ۲۸

۳-۱ لیزر مورد استفاده ۲۹

۳-۲ دیودهای نور گسیل مورد استفاده ۳۱

فصل چهارم: نتایج تجربی ۳۶

۴-۱ آزمایش صحت کارکرد طیف‌سنج ۳۷

۴-۲ مشاهده طیف فلورسانس محصولات کشاورزی ۳۸

۴-۳ کاربرد طیف‌سنجی فلورسانس در ارزیابی میزان تازگی کاهو پس از تابش پلاسمای سرد فشار اتمسفری..... ۴۷

فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری ۵۰

۵-۱ نتیجه گیری ۵۱

۵-۲ پیشنهادهای ادامه کار ۵۳

پیوست..... ۵۴

مراجع ۷۳

فهرست شکل‌ها

شکل ۱-۱: تصویر در حال تابش برخی از معروف‌ترین مواد فلوروفور همراه با ساختار شیمیایی آن‌ها ۷

شکل ۱-۲: نمودار تابش و جذب برای دو ماده فلوروفور کوئینین و پریلن ۹

شکل ۱-۳: حالت اصلی و کلی نمودار جابلونسکی ۱۰

شکل ۱-۴: نحوه انجام آزمایش توسط استوکس ۱۲

شکل ۲-۱: شمای طیف‌سنج‌های مبتنی بر منشور یا توری پراش ۱۶

شکل ۲-۲ نمودار پاشندگی برخی از مواد ۱۹

شکل ۲-۳: تاثیر ابیراهی آستیکماتیسم بر انحنا پیدا کردن تصویر شکاف ۲۱

شکل ۲-۴: تصویر طول موج‌های تفکیک شده در دوربین طیف‌سنج منشوری ۲۴

شکل ۲-۵: طیف‌سنج ساخته شده با فیبر شیشه ای ۲۵

شکل ۲-۶: طیف‌سنج ساخته شده با فیبر پلی اتیلنی ۲۵

شکل ۲-۷ تغییرات طول موج بر حسب پیکسل ۲۷

شکل ۳-۱: طیف تابشی لیزر مورد استفاده ۳۰

شکل ۳-۲ طیف دیود نور گسیل اول ۳۱

شکل ۳-۳ طیف تابشی دیود نور گسیل دوم ۳۲

شکل ۳-۳ طیف تابشی دیود نور گسیل دوم ۳۲

شکل ۳-۵: طیف تابشی چهارمین دیود نور گسیل ۳۳

شکل ۳-۶: طیف تابشی پنجمین دیود نور گسیل ۳۳

شکل ۳-۷: تصویر دیود نور گسیل همراه با قسمت خنک کننده ۳۴

شکل ۴-۱: خطوط طیفی لامپ آرگون ثبت شده با طیف‌سنج منشوری ساخته شده ۳۷

شکل ۴-۲: خطوط طیفی لامپ نئون ثبت شده با طیف‌سنج منشوری ساخته شده ۳۷
شکل ۴-۳: طیف فلورسانس سبزی کلم سفید القا شده با لیزر نیمرسانا فرابنفش ۳۸
شکل ۴-۴: طیف فلورسانس سبزی کلم قرمز القا شده با لیزر نیمرسانا فرابنفش ۳۹
شکل ۴-۵: طیف فلورسانس سیب گلاب القا شده با لیزر نیمرسانا فرابنفش ۴۰
شکل ۴-۶: طیف فلورسانس سیب قرمز القا شده با لیزر نیمرسانا فرابنفش ۴۰
شکل ۴-۷: طیف فلورسانس آلو شابلون القا شده با دیود نور گسیل 448 nm ۴۱
شکل ۴-۸: طیف فلورسانس گوجه فرنگی القا شده با دیود نور گسیل 448 nm ۴۲
شکل ۴-۹: طیف فلورسانس انبه القا شده با دیود نور گسیل 448 nm ۴۲
شکل ۴-۱۰: طیف فلورسانس برگ مو شده با دیود نور گسیل 448 nm ۴۳
شکل ۴-۱۱: طیف فلورسانس برگ گیلاس القا شده با دیود نور گسیل 448 nm ۴۴
شکل ۴-۱۲: طیف فلورسانس خیار شور القا شده با دیود نور گسیل 448 nm ۴۴
شکل ۴-۱۳: طیف فلورسانس ترشی آلبالو القا شده با دیود نور گسیل 448 nm ۴۵
شکل ۴-۱۴: طیف فلورسانس لیمو ترش القا شده با منابع مختلف ۴۶
شکل ۴-۱۵: طیف فلورسانس لیمو شیرین القا شده با منابع مختلف ۴۶
شکل۴-۱۶ : شمایی از جت پلاسما حین کارکرد ۴۷
شکل ۴-۱۷: طیف فلورسانس نمونه ها با زمان تابش متفاوت پلاسما ۴۸

پیشگفتار:

همواره در دنیای میکروسکوپیک اتم‌ها و مولکول‌ها اتفاقاتی رخ می‌دهد که اثرات مثبت یا منفی آن در دنیای ماکروسکوپیک بسیار تأثیر گذار خواهد بود. پژوهشگران علوم مختلف سعی دارند تا روش‌های اندازه‌گیری و تشخیصی‌ای را ابداع نمایند که بتواند زودتر از زمانی که در حالت عادی اثرات تغییر در ساختار کوانتومی اثر خود را آشکارا بروز می‌دهد، این تغییرات را تشخیص دهند. در این میان روش‌های تشخیص فیزیکی و شیمیایی از پیشروترین این روش‌ها هستند. روش‌های اپتیکی که زیر مجموعه روش‌های تشخیصی فیزیکی می‌باشند شامل روش‌های مختلفی هستند که طیف‌سنجی لیزری یکی از آن‌ها است. از روش‌های مختلف طیف‌سنجی لیزری می‌توان به طیف‌سنجی فروشکست القایی لیزری، طیف‌سنجی فروشکت القایی اسپارک، طیف‌سنجی رامان و طیف‌سنجی فلورسانس القایی لیزری اشاره کرد. این پایان‌نامه مرتبط با طیف‌سنجی فلورسانس القایی لیزری است.

روش‌های طیف‌سنجی بازتابی، عبوری، رامان و فلورسانس از محبوب‌ترین روش‌های طیف‌سنجی برای پژوهشگران علوم کشاورزی هستند. هدف این روش‌ها که با سامانه‌های مختلف انجام می‌شوند این است که اطلاعات حاصل شده به کمک روش‌های گوناگون با واقعیت مقایسه شوند تا یک ارتباط منطقی بین طیف ثبت شده و تغییر صورت گرفته در محصول بدست آید. طیف‌سنجی فلورسانس در تشخیص بسیاری از تنش‌های اعمال شده به گیاهان مانند کمبود آب مورد استفاده قرار می‌گیرد. طبقه بندی رقم‌های مختلف میوه‌ها و سبزیجات از دیگر کاربردهای طیف‌سنجی فلورسانس است. برخی از بیماری‌های محصولات کشاورزی را نیز می‌توان با این روش تشخیص داد. همچنین گزارش‌های مطلوبی در مورد تشخیص کوفتگی و قهوه‌ای شدن در بافت و عصاره میوه‌ها با استفاده از این روش وجود دارد. علاوه بر اندازه‌گیری‌های کیفی، از طیف‌سنجی فلورسانس القایی لیزری برای تعیین کمی برخی از متغیرها نیز می‌توان استفاده کرد. همزمان با توسعه کاربردهای طیف‌سنجی فلورسانس القایی لیزری سامانه‌های طیف‌سنجی نیز در حال توسعه هستند. در این پایان‌نامه یک سامانه طیف‌سنجی فلورسانس القایی لیزری طراحی و ساخته شده است.

فلورسانس نوع خاصی از لومینسانس است. لومینسانس تابش‌های نشر شده از ترازهای بر انگیخته الکترونی است. بسته به یگانه یا سه گانه بودن تراز برانگیخته ممکن است پدیده لومینسانس یا فسفرسانس اتفاق بیافتد. در پدیده فلورسانس الکترون برانگیخته به سرعت به تراز پایه باز می گردد، نتیجه این بازگشت تابش فوتونی خواهد بود که طول موج آن از طول موجی که باعث بر انگیختگی شده است بیشتر خواهد بود. در پدیده فسفرسانس تابش فوتون با تاخیر انجام خواهد شد و فوتون تابش شده بیش از حالت فلورسانس از طول موج برانگیختگی فاصله گرفته است. علل وقوع این پدیده ها در فصل یک بررسی خواهند شد.

برای داشتن سامانه‌ای که بتواند فلورسانس را اندازه‌گیری کند نیاز به یک منبع مناسب برای القای فلورسانس و یک طیف‌سنج حساس است. با توجه به محدوده طیفی مورد نیاز، از فرابنفش دور تا فروسرخ نزدیک، طراحی و ساخت دو نوع طیف‌سنج –مبتنی بر منشور و مبتنی بر توری پراش- در دستور کار قرار گرفت. پس از بررسی‌های لازم نوع مبتنی بر منشور برای ادامه کار مناسب تشخیص داده شد. اطلاعات تکمیلی در مورد نحوه‌ی انتخاب قطعات اپتیکی لازم جهت ساخت طیف‌سنج، شامل شکاف ورودی، عدسی‌ها، منشور، آشکارساز و فیبر نوری در فصل دوم آورده شده است. کالیبره کردن طیف‌سنج از دیگر نکات مهم ساخت یک طیف‌سنج دقیق است که بیان نحوه‌ی انجام آن در قسمت پایانی فصل دوم ارائه شده است.

منبع القا باید دارای محدوده طول موجی معینی باشد و شدت مناسبی را تابش کند. روند بررسی منابع مختلف القا شامل لیزر نیمرسانا و دیودهای نور گسیل با طول موج‌های مختلف در فصل سوم گزارش شده است.

فصل چهارم پایان‌نامه به گزارش مشاهدات تجربی اختصاص یافته است. در اولین قسمت از نتایج تجربی ارائه شده صحت کارکرد طیف‌سنج ساخته شده مورد آزمایش قرار گرفته است. قاعده‌ای وجود دارد که طول موج فلورسانس تابش شده را از طول موج القا مستقل می‌داند. این مورد در مورد میوه‌ها و سبزیجات مختلف آزمایش شده است. با توجه به نیاز به حصول اطمینان از توانایی طیف سامانه طیف‌سنجی فلورسانس القایی لیزری ساخته شده در اندازه گیری طیف فلورسانس میوه‌ها و سبزیجات مختلف، پنجاه گونه مختلف از محصولات کشاورزی مورد آزمایش قرار گرفتند که قسمتی از نتایج آن در فصل چهارم و قسمت دیگری از آن ها در پیوست ارائه شده است. در قسمت نهایی این فصل گزارشی از کاربرد طیف‌سنجی فلورسانس در ارزیابی میزان تازگی کاهو پس از تابش پلاسمای غیر حرارتی ارائه می شود.

نهایتاً در فصل پنجم نتیجه گیری و پیشنهادهایی برای توسعه کار ارائه شده است.

تا چه قبول آید و چه در نظر افتد

حامد عباسی

شهریور ۹۳

فصل اول

مقدمه: مطالعه پدیده فلورسانس

برای شناخت پدیده فلورسانس[1] ابتدا باید با پدیده لومینسانس[2] آشنا شد. لومینسانس به تابش‌های نوری نشر شده از هر ماده بر انگیخته‌ای گفته می‌شود. منظور از ماده بر انگیخته در اینجا ماده‌ای است که یک یا چند الکترون آن از تراز الکترونی پایه خود به تراز بالاتری انتقال یافته باشند [۱]. بر اساس عامل القا کننده، پدیده لومینسانس به دسته‌های مختلفی تقسیم می‌شود که در ادامه به اختصار به توضیح آن پرداخته می‌شود [۲].

۱-۱ انواع لومینسانس

انواع لومینسانس شامل فوتولومینسانس، شیمی لومینسانس[3]، بیولومینسانس[4]، کریستال لومینسانس[5]، الکترولومینسانس[6]، مکانیک لومینسانس[7]، تریبولومینسانس[8]، پیزو لومینسانس[9]، کاتودولومینسانس[10]، رادیو لومینسانس[11]، سونو لومینسانس[12] و ترمو لومینسانس[13] می‌شود که در زیر به تعریف اجمالی آن‌ها پرداخته می‌شود.

فوتولومینسانس: عامل القا کننده نور است. در این حالت به علت جذب نور الکترون‌ها به تراز بالاتر انتقال پیدا می‌کنند.

شیمی لومینسانس: عامل القا کننده یک فعالیت شیمیایی است. به این صورت که انرژی لازم از طریق آنتالپی واکنش تأمین می‌شود. واکنش انجام شده مولکول‌های جدیدی را به وجود می‌آورد که می‌توانند دارای الکترون‌های برانگیخته در همان لحظه آغازین تشکیل خود باشند.

بیولومینسانس: عامل القا کننده یک ارگانیسم زنده است. بیولومینسانس حالت خاصی از شیمی لومینسانس است. برخی از قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌توانند دارای این خاصیت باشند.

کریستال لومینسانس: این پدیده در حال کریستال شدن مواد ممکن است رخ دهد.

---

[1] Fluorescence
[2] Luminescence
[3] Chemiluminescence or Chemoluminescence
[4] Bioluminescence
[5] Crystalloluminescence
[6] Electroluminescence
[7] Mechanoluminescence
[8] Triboluminescence
[9] Piezoluminescence
[10] Cathodoluminescence
[11] Radioluminescence
[12] Sonoluminescence
[13] Thermoluminescence

الکترولومینسانس: هنگام عبور جریان الکتریسیته از برخی از مواد این پدیده رخ می‌دهد.

مکانیک لومینسانس: بر اثر واکنش‌های مکانیکی ممکن است انجام شود.

تریبولومینسانس: این پدیده حالت خاصی از مکانیک لومینسانس است. این نوع لومینسانس داری شدت ضعیفی است. این پدیده زمانی می‌تواند رخ دهد که باندهای بعضی از مواد شکسته شود. به عنوان مثال اگر در یک اتاق کاملاً تاریک مقداری شکر خردتر از اندازه اولیه خود شود، شکر کمی درخشان خواهد شد و به رنگ آبی دیده خواهد شد.

پیزو لومینسانس: این پدیده نیز حالت خاصی از مکانیک لومینسانس است که در مواد پیزوالکتریک صورت می‌گیرد. در این حالت بر خلاف پدیده قبل، باندها شکسته نمی‌شوند و تنها برخی باندها به صورت الاستیک از فرم اولیه خود تغییر موضع می‌دهد.

کاتودولومینسانس: این پدیده زمانی رخ می‌دهد که یک باریکه الکترونی به برخی از مواد خاص برخورد کند. از این پدیده در تلویزیون‌های قدیمی استفاده و میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده می‌شود.

رادیو لومینسانس: در این حالت پرتو یونیزه کننده‌ای مانند پرتوهای آلفا به مواد خاصی برخورد می‌کند که باعث برانگیختگی می‌شود.

سونو لومینسانس (صوت لومینسانس): در این حالت عامل القا کننده صوت است و در مایعات رخ می‌دهد. مکانیسم انجام این پدیده هنوز کاملاً شناخته شده نیست.

ترمو لومینسانس: در این حالت عامل القا کردن الکترون‌ها گرما است [۲].

در این پایان‌نامه از پدیده فوتولومینسانس استفاده می‌شود. حال به بررسی پدیده لومینسانس از دیدگاه دیگری می‌پردازیم. پدیده لومینسانس را بر اساس طبیعت تراز بر انگیخته، به دو دسته‌ی فلورسانس و فسفرسانس[1] تقسیم می‌کنند. در تراز بر انگیخته یگانه[2]، الکترون در اربیتال بر انگیخته با الکترون دوم در اربیتال تراز پایه جفت شده است (با اسپین معکوس)، بنابراین بازگشت به تراز پایه اسپین، مجاز[3] است و به سرعت به تراز پایه باز می‌گردد و می‌تواند فوتون تابش کند. سرعت تابش فلورسانس عمدتاً از مرتبه 10^{-8} s است [۳]. بنابراین طول عمر فلورسانس، τ_f ، در حدود 10 ns خواهد بود. طول عمر فلورسانس به صورت مدت زمان میانگین بین برانگیخته شدن تا بازگشت به تراز پایه تعریف می‌شود. موادی که قابلیت تابش

[1] Phosphorescence
[2] Singlet
[3] Spin allowed

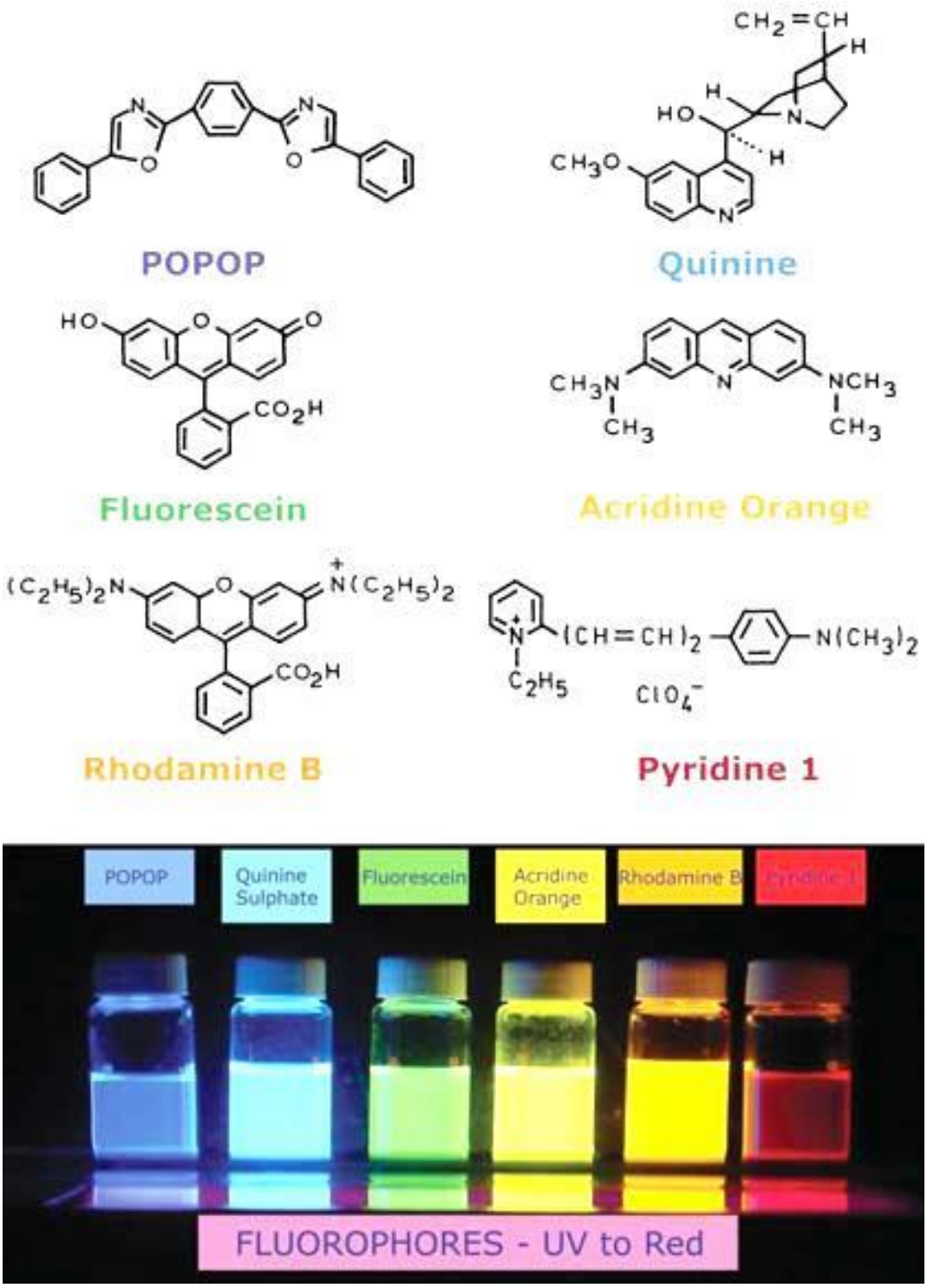
فلورسانس دارند فلوروفور[1] نامیده می‌شوند. ضد یخ‌ها نمونه‌ای از مواد داری فلوروفور در ترکیب خود هستند که در زندگی روزمره با آنها برخورد می‌کنیم. ضد یخ‌ها در زیر نور دارای تابش فرابنفش یا آبی (مانند نور خورشید یا مهتابی) القا شده و فلورسانس سبز یا قرمز- نارنجی از خود تابش می‌کنند. ضد یخ‌های حاوی فلوروسین[2] تابش فلورسانس سبز رنگ دارند و ضد یخ‌های حاوی رودامین[3] فلورسانس قرمز-نارنجی دارند. تصویر در حال تابش برخی از معروف‌ترین مواد فلوروفور همراه با ساختار شیمیایی آن‌ها در شکل ۱-۱ آورده شده است.

تابش فسفرسانس از تراز براتگیخته سه گانه[4] انجام می‌گیرد که در آن الکترون در اربیتال بر انگیخته دارای همان جهت‌گیری اسپینی الکترون تراز پایه است. از این رو بازگشت به تراز پایه از دید اسپینی ممنوع است، چرا که الکترون‌ها جز ذرات فرمیون هستند و از اصل طرد پائولی تبعیت می‌کنند و بر خلاف بوزون‌ها نمی‌توانند دارای اعداد کوانتومی یکسانی باشند. بنابراین الکترون بر انگیخته مجبور خواهد بود تا فراهم شدن شرایط بازگشت به تراز پایه صبر کند که این مسئله باعث طولانی شدن فرآیند بازگشت و به طبع آن تابش فوتون خواهد شد. طول عمر فسفرسانس، τ_{ph}، از مرتبه‌ای در حدود 1 s تا 10^3 s است. در موارد خاصی طول عمرهای بالاتری نیز مشاهده می‌شود، مانند آنچه در اسباب بازی‌های شب‌تاب دیده می‌شود که با دریافت نور در روز القا شده و سپس در شب پس از گذشت چندین ساعت همچنان به تابش ادامه می‌دهند.

کوئینین[5] یکی از اولین فلوفورهای شناخته شده است. کوئینین با نور فرابنفش خورشید القا می‌شود و در طول موج نزدیک 450 nm تابش آبی رنگ فلورسانس انجام می‌دهد. اولین گزارش تابش فلورسانس از کوئینین در سال ۱۸۴۵ میلادی توسط هرشل[6] ارائه شده است [۴]. علت این پدیده آن زمان ناشناخته بود و هرشل هم نتوانست علت آن را بیابد. به علت آن که کوئینین در داروی ضدمالاریا وجود داشت و در طول جنگ جهانی دوم نیز نیاز به این نوع داروها زیاد احساس می‌شد، تحقیقات برای ساخت دستگاهی که بتواند این نوع داروها را تشخیص دهد، رونق گرفت. این نیاز به وجود آمده منجر به ساخت اولین طیف‌سنج فلورسانس (اسپکتروفلورومتر[7]) در دهه ۱۹۵۰ میلادی شد [۵]. اولین نمونه ساخته شده را اسپکتروفوتوفلورومتر[8] نامیدند، گرچه امروزه از عبارت اسپکتروفلورومتر برای طیف‌سنج‌های فلورسانس

[1] Fluorophore
[2] Fluorescein
[3] Rhodamine
[4] Triplet
[5] Quinine
[6] Sir John Frederick William Herschel
[7] Spectrofluorometer
[8] Spectrophotofluorometer

استفاده می‌شود. اسپکتروفلورومترها امروزه معمولاً شامل یک طیف‌سنج و یک منبع القا است که به صورت یکجا استفاده می‌شوند.



شکل ۱-۱: تصویر در حال تابش برخی از معروف‌ترین مواد فلوروفور همراه با ساختار شیمیایی آن‌ها [۳]

داستان جالبی در مورد استفاده از تابش فلورسانس در سال ۱۸۷۷ میلادی (پیش از دانستن علت علمی به وجود آمدن تابش فلورسانس) در مورد دو رودخانه معروف و بزرگ راین[۱] و دانوب[۲] در اروپا وجود دارد [۳]. در آن سال بین دانشمندان رشته‌های مختلف اختلافی وجود داشت که آیا دو رودخانه از طریق آب‌های زیر زمینی به هم متصل هستند یا نه. برای پی بردن به جواب این سؤال، دانشمندان مقداری از ماده فلوروسین را داخل آب رودخانه دانوب ریختند. این ماده با تابش نور خورشید (به علت داشتن خطوط طیفی در ناحیه آبی و فرابنفش) القا شده و تابش سبز رنگ باز پس می‌دهد. حدوداً شصت ساعت پس از ریختن این ماده در آب رودخانه دانوب، تابش سبز رنگی در روی سطح آب رودخانه‌ای کوچک که به رودخانه بزرگ راین ریخته می‌شد، مشاهده شد که نشانگر این بود که این ماده از طریق آب‌های زیر زمینی متصل کننده دو رودخانه، از رودخانه دانوب به رودخانه راین انتقال پیدا کرده است.

از ماده فلوروسین امروزه همچنین به عنوان یک ماده جهت تعیین محل برخی از اشیا در حالت اضطراری در دریاها و اقیانوس‌ها استفاده می‌شود. برای مثال از این ماده زمانی که می‌خواهند از روی بالگرد محل محموله‌ای حیاتی مانند کپسول نجات در روی سطح آب مشخص باشد استفاده می‌کنند تا تابش سبز رنگ آن در روز کار را برای پیدا کردن آن آسان‌تر کند. در این حالت فلوروسین آزاد شده از بسته حاوی کپسول با استفاده نور فرابنفش خورشید القا می‌شود و در صورت وجود مقدار زیادی از ماده فلوروسین بسته از فاصله دور نیز قابل رویت خواهد بود.

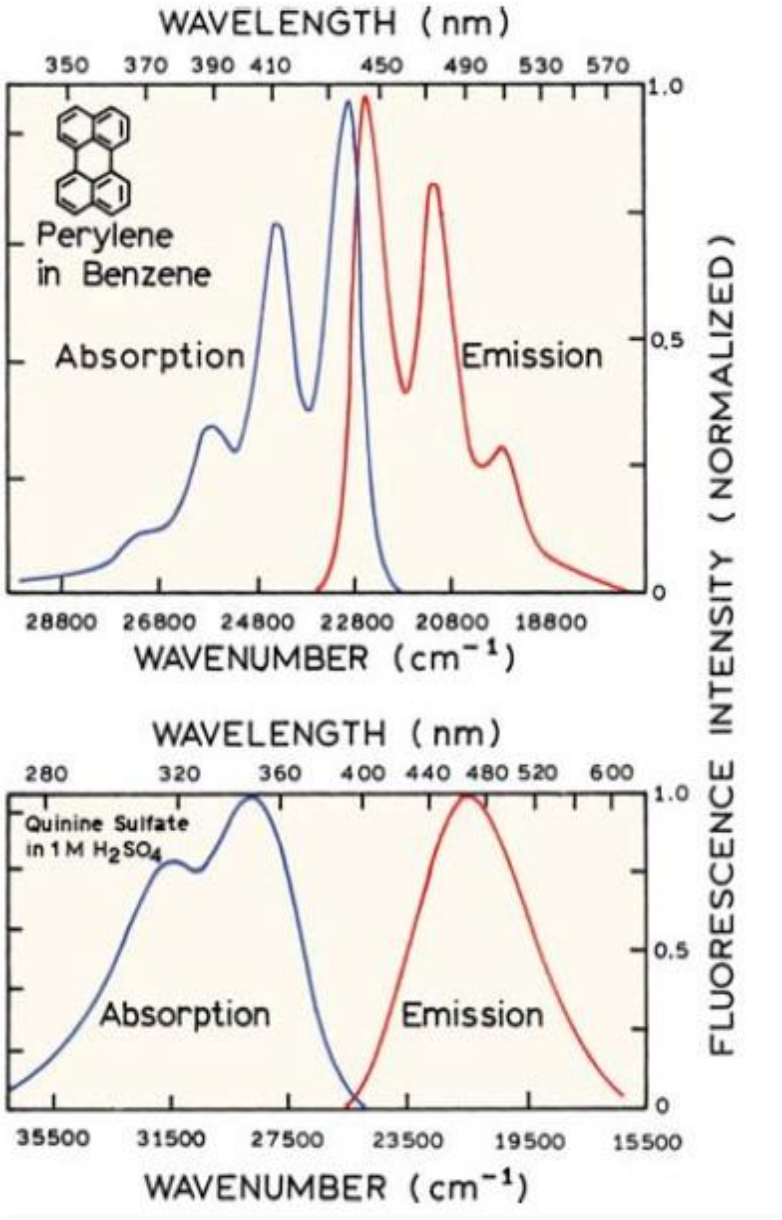
۱-۲ نمودار جابلونسکی[۳]

برای درک بهتر پدیده فلورسانس و پی بردن به علت تفاوت آن با فسفرسانس لازم است تا با نمودار جابلونسکی آشنا شویم. نام این نمودار از نام دانشمند اوکراینی، پروفسور الکساندر جابلونسکی[۴] گرفته شده است. از وی به عنوان پدر علم طیف‌سنجی فلورسانس یاد می‌شود. وی مطالعات نظری و همچنین آزمایش‌های زیادی در رابطه با پدیده فوتولومینسانس انجام داده است.

از این نمودار می‌توان برای توصیف چگونگی تفاوت بین نمودارهای جذب و تابش مواد مختلف استفاده کرد. در نمودارهای تابش و جذب، محور عمودی نشان دهنده شدت است و دارای واحد اختیاری است که معمولاً به یک یا صد بهنجار می‌شود و محور افقی نشان دهنده طول موج (معمولا بر حسب نانومتر،

[1] Rhine
[2] Danube
[3] Jablonski diagram
[4] Professor Alexander Jablonski

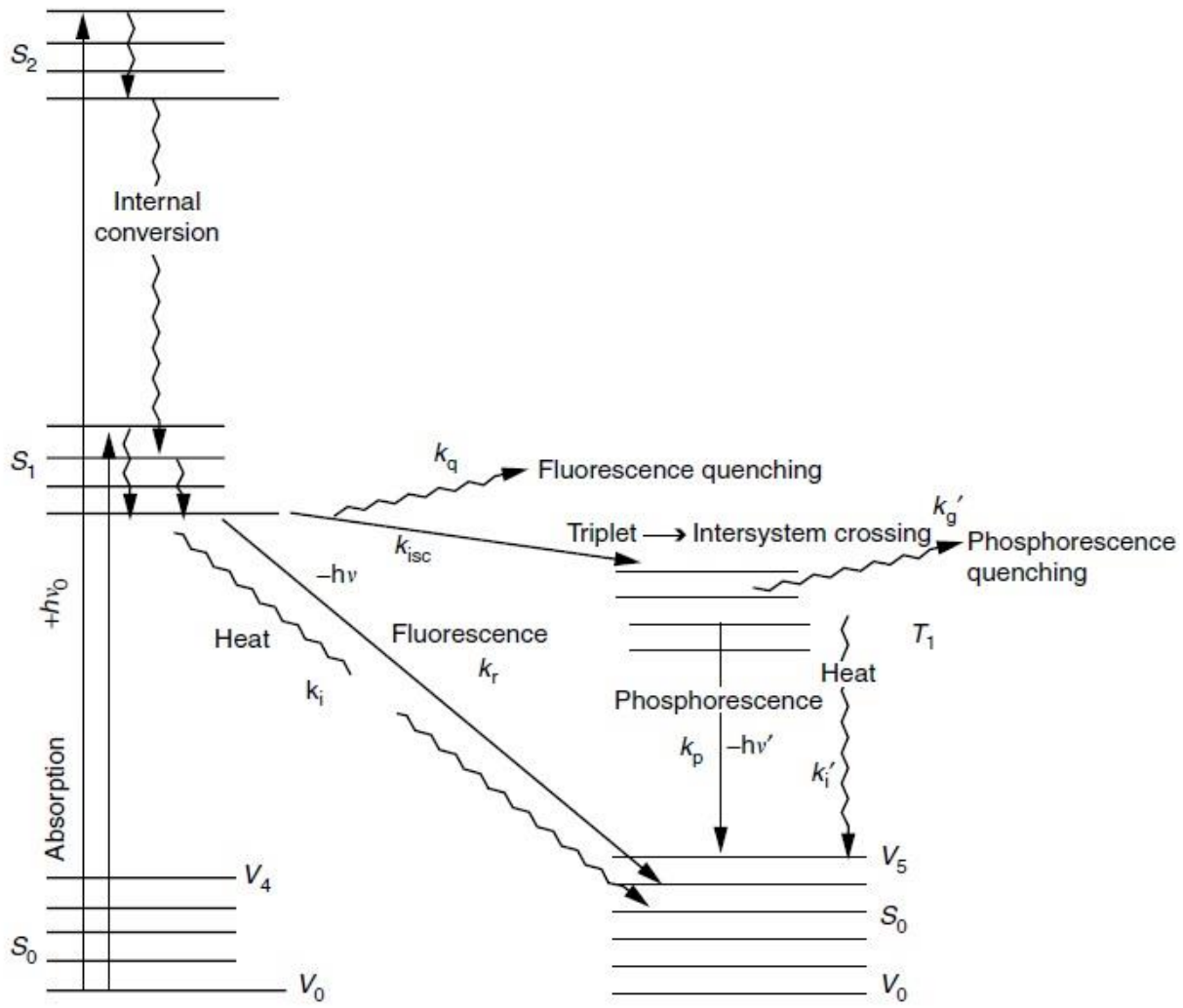
آنگستروم یا سانتی متر معکوس) است. نمودار تابش و جذب برای دو فلوروفور، کوئینین و پریلن[1]، در شکل ۱-۲ نشان داده شده است.



شکل ۱-۲: نمودار تابش و جذب برای دو ماده فلوروفور کوئینین و پریلن [۳]

حالت اصلی و کلی نمودار جابلونسکی در شکل ۱-۳ نشان داده شده است. S_0 تراز پایه یگانه، S_1 تراز الکترونی اول و S_2 تراز الکترونی دوم است. خطوط V_0 تا V_5 زیر ترازهای ارتعاشی[1] هر تراز الکترونی هستند.

[1] Perylene



شکل ۱-۳: حالت اصلی و کلی نمودار جابلونسکی [۱]

با جذب فوتونی الکترون از تراز پایه به یکی از ترازهای الکترونی بالاتر منتقل می‌شود. انرژی فوتون جذب شده تعیین کننده ترازی است که الکترون به آنجا می‌رود. حال اگر الکترون از تراز برانگیخته یگانه‌ای به تراز پایه بازگردد، پدیده فلورسانس اتفاق می‌افتد ولی در صورتی که با انجام فرآیندی که به آن خاموشی فلورسانس[۲] گفته می‌شود، الکترون به تراز سه گانه‌ای انتقال پیدا کرده و سپس به تراز پایه انتقال پیدا کند، فرآیند فسفرسانس اتفاق می‌افتد. از آنجایی که پس از انتقال الکترون به یکی از زیر ترازهای ارتعاشی پر انرژی، الکترون سریعاً به زیر تراز ارتعاشی کم انرژی‌تر انتقال پیدا می‌کند فرکانس فلورسانس از فرکانس القا کمتر است (چرا که میزانی از انرژی القا در انتقال‌های بین ترازی غیر تابشی هدر رفته است) و در نتیجه طول موج فلورسانس از طول موج القا بیشتر می‌شود. به همین دلیل است که وقتی از طول موج‌های ناحیه فرابنفش و آبی برای القای فلورسانس استفاده می‌شود، فلورسانس در طول موج‌های سبز تا مادون قرمز

[1] Vibrational
[2] Fluorescence quenching

نزدیک تابش می‌شود. در پدیده فسفرسانس نیز به دلیل هدر رفتن انرژی به وسیله فرآیندهای غیر تابشی، فرکانس تابش از فرکانس القا کمتر است و در نتیجه فسفرسانس نیز مانند فلورسانس در طول موج‌های بزرگ‌تر از طول موج القا ظاهر می‌شود. اما به دلیل این که در پدیده فسفرسانس انرژی بیشتری طی فرآیندهای غیر تابشی هدر می‌رود، طول موج فسفسرسانس از طول موج فلورسانس غالباً بیشتر است (با طول موج القای یکسان). زمان میانگین انتقال از تراز الکترونی دوم به اول یا انتقال از زیر ترازهای ارتعاشی بالاتر موجود در تراز الکترونی اول به کم انرژی‌ترین زیر تراز ارتعاشی تراز الکترونی اول در حدود 10^{-12} S یا کمتر است. پس از فرو افت به تراز الکترونی پایه ممکن است الکترون در یکی از زیر ترازهای ارتعاشی تراز الکترونی اول قرار بگیرد. وجود این زیر ترازهای ارتعاشی باعث ایجاد حالت قله-دره در طیف جذب یا فلورسانس مواد می‌شود (شکل ۱-۲ را ببینید).

۱-۳ جا به جایی استوکس

پدیده افزایش طول موج پس از بازتابش از یک ماده فلوروفور اولین بار توسط جرج گابریل استوکس[1]، دانشمند ایرلندی دانشگاه کمبریج کشف شد. این آزمایش چیدمان ساده‌ای داشت. چیدمان این آزمایش خلاقانه در شکل ۱-۴ نشان داده شده است. این آزمایش مانند بسیاری از آزمایش‌های دیگر آن قرون در کلیسا انجام شد (مانند آزمایش کشف ثبات دوره تناوب آونگ توسط گالیله). همانگونه که در شکل مشخص است در این آزمایش از نور خورشید که حاوی طیف فرابنفش نیز هست استفاده شده است. نور خورشید پس از عبور از شیشه آبی رنگ کلیسا به عنوان یک صافی (فیلتر) پایین گذر[2] وارد کلیسا می‌شد (به گونه‌ای که طول موج‌های بالای 400 nm اجازه عبور پیدا نمی‌کردند). استوکس از یک ظرف شیشه‌ای حاوی نوعی شراب به عنوان یک صافی بالا گذر[3] که طول موج‌های زیر 400 nm را جذب می‌کرد به عنوان صافی دوم استفاده کرد. بنابراین وقتی از پشت جام شراب به پنجره کلیسا نگاه می‌کرد هیچ نوری را مشاهده نمی‌کرد، چرا که هیچ طول موجی اجازه عبور پیدا نمی‌کرد. استوکس مشاهده کرد که وقتی ظرف حاوی ماده فلوفلور کوئینین را بین جام شراب و پنجره قرار می‌دهد، نوری را مشاهده می‌کند و متوجه شد که طول موج در این بین یک جا به جایی پیدا کرده است. حدس او درست بود چرا که کوئینین در طول موج‌های زیر 400 nm القا می شود و در طول موج بالای 400 nm (حدود 450 nm) فلورسانس تابش می‌کند. گرچه

[1] George Gabriel Stokes
[2] Short pass filter or Low pass filter
[3] Long pass filter or High pass filter