

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

PIERGIULIO DI MARCO, GABRIELE GIRO

## Il metodo della simulazione della curva nel calcolo dei tempi di vita di fluorescenza

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 58 (1975), n.3, p. 415–420.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1975\\_8\\_58\\_3\\_415\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1975_8_58_3_415_0)>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)  
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>



## SEZIONE II

(Fisica, chimica, geologia, paleontologia e mineralogia)

**Chimica fisica.** — *Il metodo della simulazione della curva nel calcolo dei tempi di vita di fluorescenza.* Nota di PIERGIULIO DI MARCO e GABRIELE GIRO, presentata (\*) dal Socio G. SEMERANO.

SUMMARY. — In this Note is described the curve simulation method which allows the determination of fluorescence lifetimes in the nanosecond and subnanosecond range. Application of the method to anthracene and 5-5' F-oxacarbo-cianina is presented, using as exciting source a Febetron electron accelerator.

### INTRODUZIONE

Il tempo di vita di fluorescenza è uno dei parametri più importanti nello studio delle proprietà luminescenti delle sostanze; per eseguire la misura di esso sono stati impiegati alcuni metodi, il più semplice dei quali consiste nell'eccitare la sostanza in esame con impulsi luminosi e nel registrare su di un oscilloscopio la cinetica di decadimento della fluorescenza vista da un fotomoltiplicatore ad alta velocità di risposta. Perchè la misura possa essere correttamente interpretata, occorre che la durata del flash luminoso sia inferiore al tempo di vita di fluorescenza della sostanza; in questa favorevole circostanza, il tempo di vita si ricava semplicemente ponendo in grafico il logaritmo del segnale uscente dal fotomoltiplicatore in funzione del tempo e ricavando la pendenza della retta così ottenuta, che risulterà proporzionale al reciproco del tempo di vita. Un limite all'uso di questo semplice metodo è posto dalla durata del flash, che può essere uguale o superiore al tempo di vita della sostanza in esame. Anche in questa sfavorevole circostanza, tuttavia, è possibile ottenere il tempo di vita di fluorescenza utilizzando il metodo matematico della simulazione della curva [1]. In questo lavoro verrà illustrato il metodo, insieme a due esempi pratici che ne dimostreranno l'utilità.

### PARTE TEORICA

Supponiamo di avere un impulso luminoso con una durata molto breve rispetto al tempo di vita di fluorescenza della sostanza; in tal caso l'emissione di fluorescenza dopo un tempo  $a$  dall'inizio dell'impulso luminoso avrà una intensità pari a

$$(1) \quad I(a) = kF(0)D(a)$$

dove  $I(a)$  è l'emissione di fluorescenza al tempo  $a$ ,  $k$  è una costante,  $F(0)$  è l'intensità del flash al tempo zero, che in queste condizioni corrisponde

(\*) Nella seduta dell'8 marzo 1975.

all'intensità totale del flash, e  $D(a)$  è il valore al tempo  $a$  della funzione  $D(t)$  che rappresenta il decadimento della luminescenza. Nel caso di un decadimento esponenziale di avrà

$$(2) \quad I(a) = kF(0) e^{-a/\tau}$$

dove  $\tau$  è il tempo di vita.

Supponiamo ora di avere un flash luminoso la cui intensità vari nel tempo nella maniera illustrata in fig. 1 ed una sostanza con un decadimento molto rapido, dello stesso ordine di grandezza o addirittura inferiore alla durata del flash. In questo caso la relazione esistente tra eccitazione ed emis-

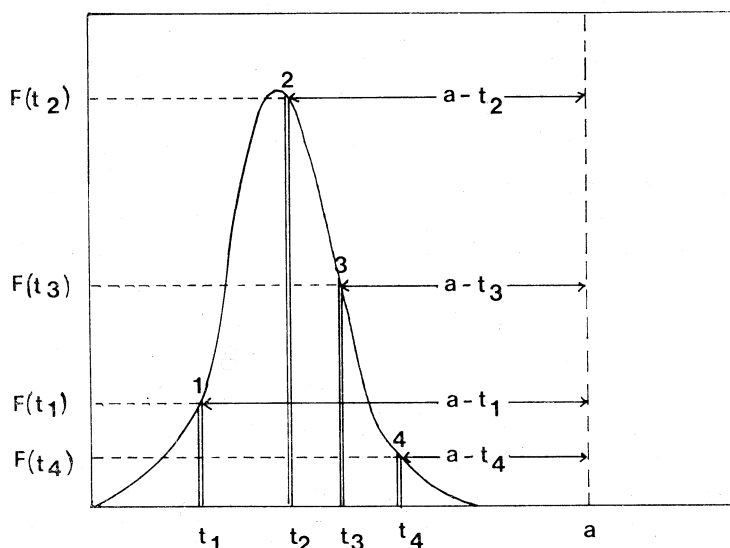


Fig. 1. - Variazione nel tempo dell'emissione di una ipotetica sorgente luminosa.

sione dovrà essere considerata per tempi di poco superiori alla durata del flash, tempi per i quali i fotoni successivamente emessi del flash daranno ognuno un diverso contributo alla emissione di fluorescenza della sostanza. Se tuttavia si considera l'impulso luminoso come costituito da tanti subimpulsi di larghezza  $dt \ll \tau$ , la (1) si può ancora utilizzare. Per semplicità si consideri solo alcuni di questi subimpulsi (vedi fig. 1); dopo un tempo  $a$  dall'inizio del flash luminoso la sostanza emetterà un segnale fluorescente la cui intensità terrà conto di tutti i singoli subimpulsi costituenti il flash eccitante prima del tempo  $a$ ; il contributo dei quattro subimpulsi sarà, in base alla (1):

$$(3) \quad I(a) = k [F(t_1) D(a-t_1) + F(t_2) D(a-t_2) + \\ + F(t_3) D(a-t_3) + F(t_4) D(a-t_4)] dt.$$

Se si considerano tutti i subimpulsi costituenti il flash, si avrà che l'intensità totale di fluorescenza al tempo  $a$  sarà data da

$$(4) \quad I(a) = k \int_{t=0}^{t=a} F(t) D(a-t) dt.$$

L'equazione (4) permette di ricavare  $D(t)$  conoscendo la curva di decadimento sperimentale  $I(t)$  e la curva del flash  $F(t)$ . Questo procedimento è chiamato deconvoluzione. Il metodo più affidabile tuttavia è quello della simulazione della curva o della convoluzione [2]. Ammesso che il decadimento sia di tipo esponenziale, con un determinato tempo di vita  $\tau$ , la  $D(a-t)$  può essere sostituita dalla funzione  $\exp(t-a/\tau)$ . La (4) diventa perciò:

$$(5) \quad I(a) = ke^{-a/\tau} \int_{t=0}^{t=a} F(t) e^{t/\tau} dt.$$

Il metodo della simulazione della curva consiste nell'attribuire a  $\tau$  un determinato valore e nell'ottenere i corrispondenti valori di  $I(t)$ ; la curva teorica così ottenuta viene poi confrontata con quella sperimentale. Per poter giudicare di quanto la curva teorica si avvicina a quella sperimentale, bisogna misurare, per ogni  $\tau$ , la quantità  $G$  definita come

$$(6) \quad G = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N [I_{\text{calc.}}(t_i) - I_{\text{sper.}}(t_i)]^2.$$

Il tempo di vita che deve essere scelto è quello che rende minima la  $G(\tau)$ .

Per generare le curve di decadimento calcolate, la (5) è stata trasformata nella seguente formula, che si presta ad essere usata da un calcolatore [3]

$$(7) \quad I_{\text{calc.}}(t_n) = \tau \{ M_n(t_n - \tau) + B_n + e^{-\Delta t/\tau} [M_n(\tau - t_{n-1}) - B_n] \} + \\ + I_{\text{calc.}}(t_{n-1}) e^{-\Delta t/\tau}$$

dove

$$M_n = \frac{F(t_n) - F(t_{n-1})}{t_n - t_{n-1}}, \quad B_n = F(t_n) - M_n t_n \\ \Delta t = t_n - t_{n-1}, \quad F(t_1) = I(t_1) = 0.$$

La scelta del tempo di vita da cui iniziare per il calcolo della  $G(\tau)$  non può essere lasciata al caso. Il procedimento migliore consiste nel ricavare un  $\tau$  approssimato con un metodo più semplice (quello dei momenti [3], per esempio) e poi calcolare le curve di decadimento per valori di tempi di vita compresi tra  $0.5 \tau_{\text{appross.}}$  e  $1.5 \tau_{\text{appross.}}$ . Se per esempio il tempo di vita approssimato è di 6 nsec, bisogna calcolare le curve di decadimento per valori di  $\tau$  compresi tra 3 e 9 nsec, con incrementi di 0.2 nsec.

## PARTE SPERIMENTALE

Le curve di fig. 2 sono curve calcolate per tempi di vita di 4 nsec e 1 nsec rispettivamente, ottenute con l'ausilio di un calcolatore H.P. 30; per generare le curve teoriche è stata usata la curva sperimentale di un flash di luce Cerenkov, ottenuta bombardando una lastra di quarzo con elettroni da 600 kev e misurando la luce emessa nelle stesse condizioni sperimentali in cui sono state eseguite le misure di fluorescenza; nella stessa figura è rappresentata

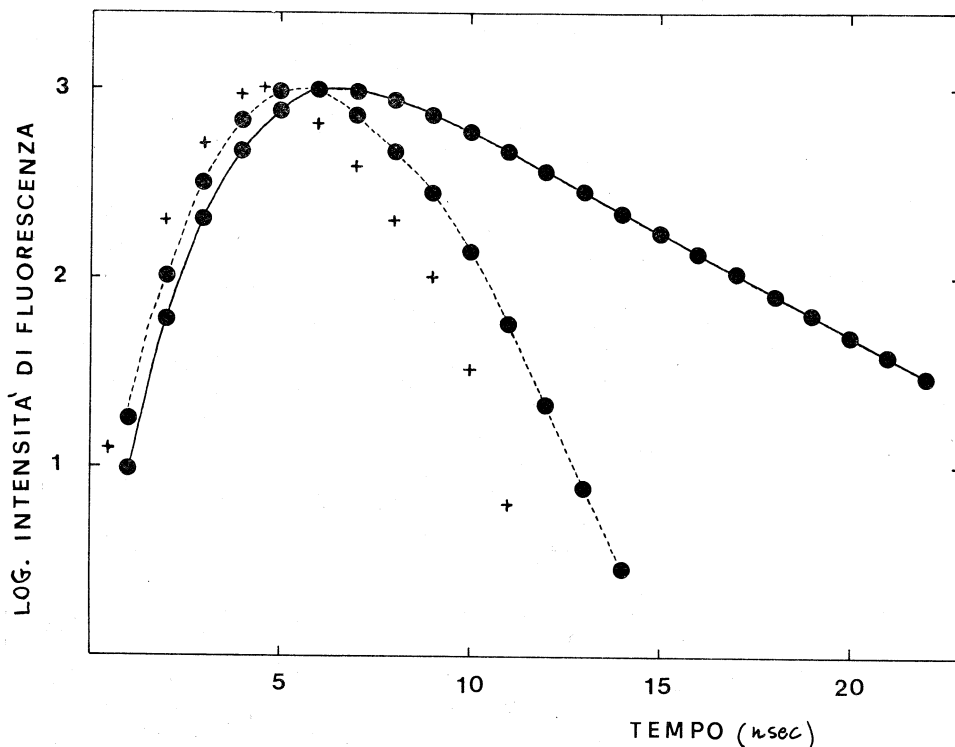


Fig. 2. - Curve di decadimento calcolate per  $\tau = 1$  (---) e  $\tau = 4$  nsec. (—) e curve del flash (+ + +).

anche la curva del flash. La fig. 2 mostra chiaramente come sia impossibile ricavare il tempo di decadimento dalla pendenza della curva, nell'intervallo di emissione compreso tra il 100 % e il 10 % del massimo di emissione, per tempi dell'ordine del nanosecondo. La curva calcolata per un tempo di 4 nsec mostra come già per questo valore il tempo di vita si può ricavare dalla pendenza della curva senza commettere grossi errori; dalla pendenza infatti si ricava un  $\tau$  di 4.1 nsec.

Le misure di tempi di decadimento sono state eseguite su soluzioni disaerate di antracene in cicloesano ( $10^{-4}$  M) e di 5-5'-F-oxacarboianina in alcool etilico assoluto ( $10^{-5}$  M). In questo ultimo caso come sorgente eccitatrice è stata adoperata l'emissione stimolata a 480 m $\mu$  ottenuta da una targhetta di ZnSe bombardata con elettroni. Le curve sperimentali ottenute sono mo-

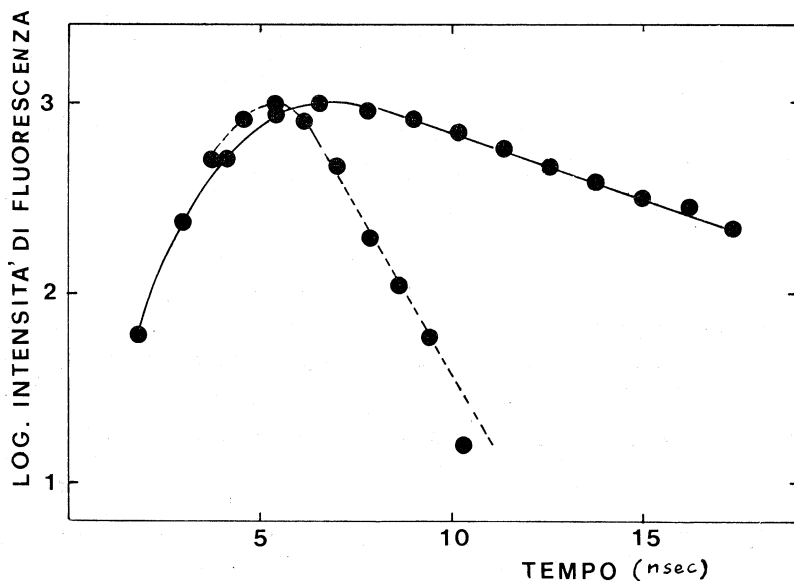


Fig. 3. - Curve di decadimento sperimentali dell'antracene (—) e della cianina (---).

strate in fig. 3. Ricavando il tempo di vita dalla pendenza delle due rette si ha un  $\tau$  di 6.2 nsec per l'antracene e di 1.2 nsec per la cianina; questo valore corrisponde in realtà al tempo di decadimento del flash. Sono state quindi calcolate le curve di decadimento per diversi valori del tempo di vita ed è stata successivamente ricavata la  $G(\tau)$ ; la fig. 4, relativa all'antracene, indica come suo tempo di vita il valore di 5.8 nsec, che è quello che minimizza  $G(\tau)$ ,

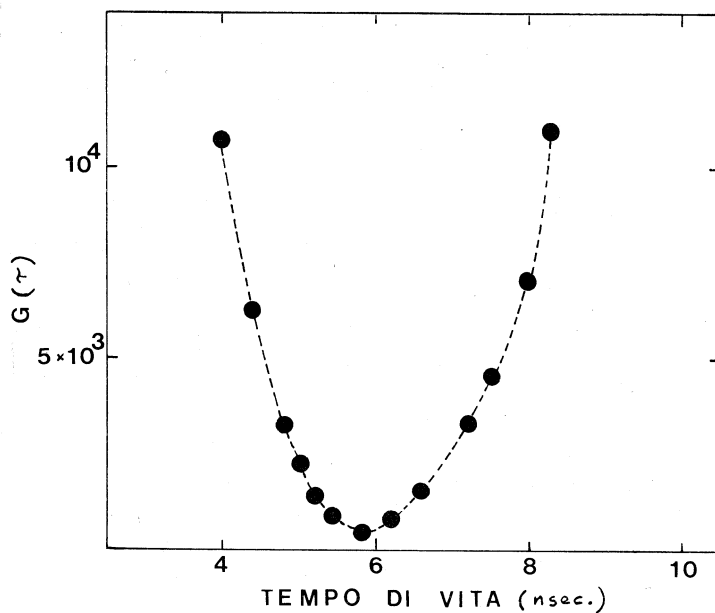


Fig. 4. - Grafico della funzione  $G(\tau)$  in funzione del tempo di vita.

in accordo con altri valori della letteratura [4] ed inferiore del 7 % circa al valore calcolato dalla pendenza della curva. In Tabella I sono invece riportati i G della cianina per una serie di tempi di vita. Ne risulta un tempo di vita di 0.3 nsec, che è in buon accordo con un analogo risultato sperimentale [5]. Per tempi al disotto del nanosecondo, tuttavia, migliori risultati sperimentali si potranno ottenere usando la tecnica del fotone singolo.

TABELLA I.

$\tau$ (n sec)	0.20	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50
G ( $\tau$ )	10032	8356	6255	7104	8115	9732	11452

Gli Autori ringraziano il prof. Giovanni Semerano per l'incoraggiamento e le utili discussioni durante lo svolgimento del lavoro.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] C. LEWIS, W. R. WARE, L. J. DOEMENY e T. L. NOEMZEK (1973) - « Rev. Sci. Instr. », 44, 107.
- [2] A. E. W. KNIGHT e B. K. SELINGER (1971) - « Spectrochim. Acta », 28 A, 1223.
- [3] J. N. DEMAS e G. A. CROSBY, « Anal. Chem. », 42, 1010.
- [4] J. B. BIRKS (1970) - *Photophysics of Aromatic Molecules*, Wiley ed.
- [5] T. M. KELLY e D. F. O'BRIEN (1974) - « Phot. Sci. Eng. », 18, 68.