TARTU ÜLIKOOL

Veesaaste varajase avastamise ja teavitamise automaatsondi väljatöötamine

Keskkonna Investeeringute Keskuse
keskkonnakorralduse programmi projekti nr 4352
aruanne

Tartu, 2014

Sisukord:

1. Töö eesmärk ... 2
2. Ettevalmistustöö ... 3
2.1 Luminestsentsi teoreetilised alused ... 3
2.2 Fluorestsentsi kaudu avastatavad ained ... 6
2.3 Lühike ülevaade polütsüklilistest aromaatsetest süsivesinikest (PAH) ... 7
2.3.1 Mis on polütsüklilised aromaatsed süsivesinikud? ... 7
2.3.2 PAH-ide omadused ... 7
2.3.3 PAH-ide teke ja keskkonda sattumine ... 7
2.3.4 PAH-id naftas ja selle produktides ... 8
2.3.5 PAH-de kasutamine naftareostuse indikaatorina ... 11
2.4 Heitveed ei ole lihtsad ohtlike ainete lahused ... 12
3. Uudne metoodika fluorestseeruvate kahjulike ainete selektiivseks detekteerimiseks ... 14
3.1 Meie poolt välja töötatud metoodika katseteline kontroll ... 19
3.2 Fluorestseeruvate saasteainete detekteerimise selektiivsuse tõstmise meetod. ... 23
3.2.1 Ergastuslainepikkuse sinusoidaalne moduleerimine ... 23
3.2.2 Ergastuse ja fluorestsentsi detekteerimise lainepikkuste topeltmoduleerimine. ... 24
3.3 Ergastava valguse lainepikkuse moduleerimise katseline kontroll. ... 27
4. Meie poolt välja töötatud metoodika katseline kontroll ... 31
4.1 Mudelkeskkondade laboratoorsed uuringud ... 31
4.1.1 Veekeskkonnale ohtlike lisandite neeldumisspektroskoopia ... 32
4.1.2 Veekeskkonnale ohtlike lisandite fluorimeetriline analüüs ... 36
4.1.3 Polütsükliliste aromaatsete süsivesinike (PAH) spektrofluorimeetrilised mõõtmised vesikeskkonnas ... 38
5. Fluorestseeruvate saasteainete detekteerimise selektiivsuse tõstmise meetod: ergastuse ja fluorestsentsi detekteerimise lainepikkuste topeltmoduleerimine ... 41
5.1 Modulatsioonspektroskoopial põhinev veesaaste automaatsond ... 41
5.2 Automaatsondi elektroonika plokskeem ... 42
6. Tulevikuplaanid ... 43
7. Kokkuvõte ... 44
8. Tänuavaldused ... 45
9. Kirjandus ... 46
Lisa 1. Ergastamise ja fluorestsentsi tuvastamise optilis-tehnilised eripärad ... 48
Valgusdioodi valgusallikana kasutamine ... 48
Valgusdioodi valgusvihu kollimeerimine ... 48
Valguse juhtimine ... 49
Valgusdioodist vajaliku lainepikkuse eraldamise võimalused ... 49
Pooljuhtlaseri kasutamine valgusallikana ... 51
Lisa 2. Polütsükliliste aromaatsete süsivesinike neeldumis-, ergastus- ja kiirgusspektrid ... 52

1. Töö eesmärk

"Veesaaste varajase avastamise ja teavitamise automaatsondi väljatöötamine" on kompleksne ülesanne, mis tuleneb reaalse elu vajadustest. Praegusel ajal toimub veekeskkonna seisundi seire peamiselt proovide kogumise ja sellele järgneva laboratoorse analüüsi teel, mis on kulukas, raskesti praktiliste vajadustega ühildatav aeganõudev tegevus. Teadmata on, milline on keskkonna seisund proovide võtmise vahelisel ajal. Tänapäevane ekspressanalüüs põhineb printsiipidel „in situ & on-line“ (lad., ingl.: pidev infovoog asukohast), millest kujuneb käesoleva aruande leitmotiiv.

Põhiküsimus on meetodi valik. Elektrilistest omadustest on näiteks vee elektrijuhtivus suurpärane meetod selliste ioonsete saastajate nagu põlluväetised ja jäätõrje soolad avastamiseks heitvees. Aine optilised karakteristikud hõlmavad valguse neeldumist, fluorestsentsi ja (Ramani) hajumist. Fluorestsents on valguse kiirgumine ainest pärast kõrgema energiaga kvandi neeldumist ning sellele järgnevat faasi- ja võnkerelaksatsiooni. Fluorestsents „ei mäleta“ neeldunud valguse sagedust ja polarisatsiooni, kuid see-eest kannab endas infot molekuli või kompleksiooni võnkeseisundite kohta (samuti nagu Ramani ja infrapuna e. IR spektroskoopiagi). Paraku kujutavad IR ja Ramani spektrid endast suurepärast võimalust gaaside analüüsil, kuid on vähesobivad veesaaste tuvastamisel. Raskemetallide aatomite ja ioonide korral on perspektiivne röntgenkiirte neeldumine ja luminestsents. Tundlikkuse ja selektiivsuse tõttu on fluorestsents nähtavas ja lähedases UV spektripiirkonnas väga sobiv meetod mitmete ohtlike ainete tuvastamiseks.

Looduslike vete ja reovete fluorestsentsi mõõtmistega on tegeldud aastakümneid. Selleks vajalik kommertsiaalne sisseseade on kallis ja kogukas. Probleemiks võib kujuneda mitmete reostusainete fluorestsentsi puudumine, samas kui vähemkahjulikud komponendid kiirgavad intensiivselt. Kuigi paljud ohtlikud reostajad signaali ei anna, saab kaasnevate ainete hulgast sageli leida hästi fluorestseeruvaid indikaatormolekule. Näiteks annab naftaproduktidest märku tugevalt siniselt (400 nm) kiirgav komplekt aromaatseid polütsüklilisi süsivesinikke. Olmepesuvete reostuskomponendid fosfaadid ja detergendid on „pimedad“, kuid alati kaasnevad pesuvalgendajad kiirgavad tugevalt. Põllumajanduslike insekto-fungitsiidide ja herbitsiidide hulgast on võimalik leida fluorofoore.

TÜ Füüsika Instituudis on korjunud oskusteave seostest molekulide struktuuri ja nende fluorestsentsomaduste vahel (valguse neeldumise ristlõige, luminestsentsi kvantsaagis, spektriribade lainepikkus ja laius). See võimaldab meil avastada vajalikud indikaatorained erinevate situatsioonide korral.

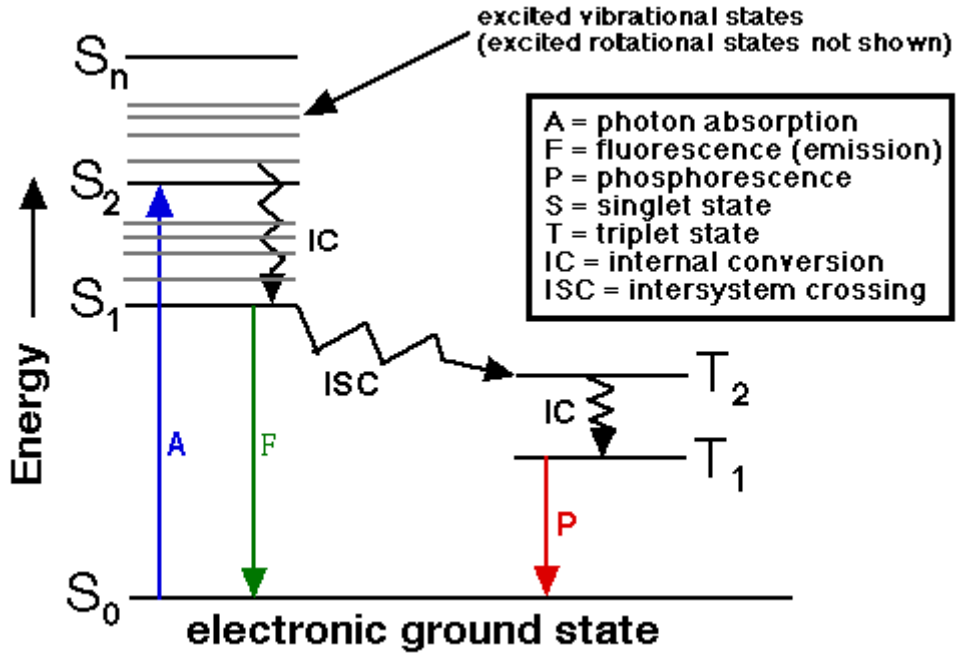
Fluorestsentsanalüüsi ülisuur tundlikkus võimaldab detekteerida väikeses ruumalas ühtainsat molekuli, mis on võimeline enne fotokeemilist lagunemist kiirgama 10^3 -10^6 valguskvanti. Samas on spekter toatemperatuuril nii lai, et ainet ei saa selle põhjal üheselt identifitseerida. Siin tuleb appi küllalt hästi tuntud nn. kahemõõtmeline spektroskoopia, mis põhineb ergastamisel ja kiirguse mõõtmisel paljudel erinevatel lainepikkustel. Meie poolt pakutud lahenduse uudsus seisneb viimastes aastatel kättesaadavate miniatuursete ergastavate valgusallikate (LED-id, dioodlaserid), dispergeerivate elementide ja detektorite kasutamises. Eesmärgiks on väikesemõõdulise, odava, vastupidava ja tühise energiatarbega aparaadi loomine, milles rakendatakse lisaks uusimaid infotöötluse ja andmeside võimalusi.

2. Ettevalmistustöö

2.1 Luminestsentsi teoreetilised alused

Valguse poolt ergastatud nn. fotoluminestsents kujutab endast Rayleigh ja Ramani hajumise kõrval ühte sekundaarkiirguse komponenti, olles väga sobiv pidevrežiimis töötavaks keemiliseks analüüsiks. Luminestsentsi meetodit iseloomustab kõrge tundlikkus (kuid ebapiisav selektiivsus), Ramani hajumist märkimisväärne selektiivsus, kuid kahjuks väga väike tundlikkus. Fluorestsentsi madala selektiivsuse põhjuseks on kiire faasirelaksatsioon, mis vastavuses Heisenbergi printsiibile kutsub esile spektrite (homogeense) laienemise. Luminestsents on kustumisaja põhiselt klassifitseeritav fluorestsentsiks või fosforestsentsiks. Kuna pika elueaga tripletse elektronseisundi poolt kiiratav fosforestsents kustutatakse lahustunud hapniku toimel, siis tuleb kõne alla üksnes fluorestsentsi kasutamine.

Paraku paljud molekulid ei fluorestseeru, sest neeldunud valguse energia muundub soojuseks (nn. sisekonversioon), siirdub tripletesse olekusse (interkonversioon) või hajub fotokeemiliste reaktsioonide käigus (joonis 1).



Joonis 1. Energianivoode lihtsustatud skeem täidetud elektronkatetega molekuli jaoks (Jablonski diagramm). A, neeldumine; F, fluorestsents; P, fosforestsents. S_0, põhiolek; S_1, ergastatud singletne olek; T_1, alumine tripletne olek. IC, sisekonversioon; ISC, interkonversioon.

Tripletses olekus lahknevad elektronide spinnide paarid, nii et summaarne spinn on 1, millele vastab kolmekordselt kidunud nivoo. T_1 energia on singletse ergastuse energiast madalam, sest sama spinniga elektronlained kattuvad vähem, mis kahandab kulonilist tõukumist (nn. Fermi auk).

Pärast valguskvandi neeldumist toimub mõnekümne ps vältel relaksatsioon kõrgemast elektron-võnkeseisundist olekusse S_1 (molekuli „jahtumine“). S_1 seisundi eluiga on nanosekundites. Selle aja jooksul kas kiiratakse fluorestsentsi kvant või spinn-orbitaalne vastasmõju viib süsteemi tripletsessse olekusse, mille eluiga küünib millisekunditesse. Sedavõrd pika aja jooksul naaseb molekul kiirgusvabalt põhiseisundisse (protsessi ISC+IC tulemusena) või kiirgab kvandi madalsageduslikku fosforestsentsi. Fotokeemilised protsessid toimuvad kas S_1 (millel on kõrgem energia) või T_1 seisundi (millel on pikem eluiga) osalusel.

Fluorestsentsi kvantsaagis Φ_{fl} on võrdne fluorestsentsi kiiruskonstandi k_{fl} suhtega summasse ($k_{fl} + k_{ISC} + k_{IC}$).

Luminestsentsi esmaseks aktiks on loomulikult neeldumine. Tahame teada neeldumise kiirust, s. t. mitu kvanti neelab molekul sekundis. Lähtume algandmetest, milleks on (monokromaatse) ergastuse intensiivsus (I_0, ühik W/m^2) ja aine ekstinktsioonikoeffitsient ε (ühik M^{-1}cm^{-1}) samal lainepikkusel (Tabelist 1). Neeldumise kiirust on lihtne arvutada neeldumise ristlõikest ε′ (ühikuks m^2), kuid keemilises praktikas on enim levinud ε Bougueri-Lamberti-Beeri seaduses optiline tiheduse D jaoks. Viimane kujutab endast kümnendlogaritm peale langeva ja läbinud valguse intensiivsuste suhtest ($D = \log (I_0/I) = -\varepsilon c x$, kontsentratsioon c on antud moolides liitri kohta (M) ja küveti paksus x sentimeetrites). Sama avaldise võime kirjutada naturaallogaritmi ln kaudu, võttes c' ühikuks m^{-3}, x' on meetrites. Näeme, et $\varepsilon' = 3.82\times10^{-25}\varepsilon$. Neeldumise kiirus k_{abs} on leitav lihtsa valemiga $1.92\lambda\varepsilon I_0$.

Näiteks ergastades üsna intensiivse laseriga 1 kW/cm^2 tugevalt neelavaid molekule $\varepsilon = 10^5$ M^{-1}cm^{-1} 532 nm juures saame neeldumise kiiruseks miljon kvanti sekundis (10^6 Hz). See on palju vähem kui fluorestsentsi kiirus k_{fl} (~10^8 Hz), mistõttu S_1 nivoo asustus on väike ja süsteem on kaugel küllastusest. Fluorestsentsi kiiruskonstant on kiirgusliku eluea τ_{rad} pöördväärtus (Tabel 1). Ergastava laseri intensiivsust tõstes suurendame neeldumise kiirust k_{abs}, kuid selle lähenemisel k_{fl} väärtusele fluorestsents küllastub. Ergastava valguse võimsuse edasine suurendamine ei oma mõtet.

Tartu Ülikooli Füüsika Instituudi laserspektroskoopia laboris, kus taotlejad on töötanud aastakümneid, tuvastasime seosed molekulide struktuuri ja nende neeldumisspektrite ning muude omaduste vahel. Veelgi enam, meie uurimused võimaldavad seostada molekuli struktuuri oluliste fluorestsentsomadustega, nagu kvantsaagis, eluiga ja Stokes'i nihe neeldumis- ja kiirgusspektrite vahel. Seaduspärasused on täpsemalt kirjeldatud empiiriliste korrelatsioonide abil, mida me interpreteerime teoreetilise orgaanilise fotokeemia raamides. Kasutame ulatuslikult ka arvutikeemilisi programme, kuid tuleb kohe tunnistada, et arvutuslikud tulemused jäävad oma usaldusväärsuselt alla meie poolt originaalsel viisil saavutatud empiirilistele üldistustele. Nagu öeldud, on osa potentsiaalsete saastainete fluorestsentsomadused nõrgalt väljendunud, mis võib kujuneda takistuseks nende avastamisel. Orgaaniliste molekulide neeldumise ja luminestsentsi käsitlemisel tuleb lähtuda kvantiseeritud energiatasemetest ja lainefunktsioonidest. Samas rõhutame, et etteantud molekuli struktuuri jaoks ei ole selle neeldumis- ja fluorestsentsomaduste piisavalt täpne kvantmehaaniline arvutus võimalik. Spektroskoopiliste, fotofüüsikaliste ja -keemiliste omaduste ennustamine eeldab spetsiifilist kompetentsi ja laialdast kogemust, mis on TÜ FIs olemas.

Molekulis seovad aatomeid üksik-(σ) ja kaksik-(π)sidemed. Sidemetes mitte osalevad „ülearused“ elektronid on heteroaatomitel (N, O, Cl) lokaliseeritud paaridena aatomi juures (n). Neeldunud kvant lõhub ühe sidemetest, nii et σ-side katkeb ja molekul laguneb. π-sideme ergastamisel katkeb üks sidemetest, järelikult saavad pooled teineteise suhtes pöörelda. Tõepoolest, alkeenide derivaatides on täheldatav cis-trans isomerisatsioon ergastatud seisundis. Mõlemal juhul läheb neeldunud kvandi

energia kaotsi, ega saa taaskiirguda fluorestsentsina. Seevastu jäika benseeniringi sisaldavad ühendid fluorestseerivad sageli. Mida suurem on alumise ja ülemise energiataseme vahekaugus, seda suuremad on võimalused kiirguslikuks üleminekuks, ja seda kahel põhjusel. Esiteks, (dipoolse) ostsillaatori kiirguse intensiivsus kasvab koos sagedusega neljandas astmes. Teiseks, suure energiaga kvandi hetkeline muundamine paljudeks võnkekvantideks („peenrahaks“) on vähetõenäoline sündmus. Kokkuvõttes on parimad võimalused võõrainete detekteerimiseks sinise ja eriti ultravioletse valguse kaudu. Ülalpool mainisime ainult üksikuid asjaolusid paljudest, mida spetsialist keemilise füüsika alal peab kasutama optiliste omaduste hindamiseks pelgalt struktuurvalemi põhjal.

Toatemperatuuril mõõdetud spektrid on laiad, ja seda kolmel põhjusel: 1) soojusvõnkumiste põhjustatud kiire faasirelaksatsioon (valguskvandi poolt tekitatud molekuli põhi- ja ergastatud olekute lainefunktsioonide summa e. superpositsioon on samuti lainefunktsioon, millel on oma faas); 2) mittehomogeenne laienemine vedelikes (ja klaasides), tingituna sellest, et iga molekuli ümbrus igal ajahetkel on erinev, 3) suur hulk molekuli omavõnkumisi ja ümbruse võnkumisi – foononeid, mis kõik ergastuvad, andes tulemuseks „kuuma“ molekuli vahetult pärast neeldumis- või kiirgumisakti toimumist.

Nende näiliselt keerukate protsesside olemus saab mõistetavaks, kui vaatleme ülimadalal temperatuuril registreeritud spektreid, mis on mõõdetud külmas molekulkimbus gaasis või kristalses maatriksis (nn. Shpol’skii efekt). Esiteks torkab silma kitsas, neeldumises ja kiirguses kokkulangev (resonantne) puhtelektroonne joon, millega kaasnevad veidi laiemad võnkejooned. On tähelepanuväärne, et toatemperatuurses lahuses, sealhulgas lahjendatud reovee keskkonnas, aromaatsete süsivesinike korral võnkestruktuur säilib ca 5-10 nm laiuste ribadena. Enamasti võib eristada 3-6 riba, mis paiknevad üksteisest 10-20 nm kaugusel, meenutades üldpildilt sõrmkinnast. „Sõrmede“ suhtelised pikkused on mõnevõrra erinevad neeldumises ja fluorestsentsis, ja mis veelgi olulisem, iseloomulikud erinevate ühendite korral.

Vajadus arvestada keskkonna mõjusid lahustunud aine optilistele omaduste komplitseerib meie ülesannet veelgi. Arvutikeemikute seisukohad molekulide vaheliste mõjude arvestamise kohta varieeruvad skaalal probleemi lootusetust keerukusest kuni põhjendamatu optimismini. Õnneks pakuvad kogemusel rajanevad poolempiirilised meetodid küllalt täpseid tulemusi, lisaks protsesside olemuse selgele mõistmisele.

2.2 Fluorestsentsi kaudu avastatavad ained

Igapäevaelust võib luminestsentsi näiteks tuua aatomite kiirgus gaasis reklaamtorudes (punane neooni ja sinine argooni korral), säästulampide või kineskoopide pinnal olevast tahkest fosfoorikihist lähtuv ioonsete lisandtsentrite kiirgus. Molekulaarse või eksitoniseloomuga on orgaanilistestvalgusdioodidest (OLED) ja „neoon"-pigmentidest kiiratud valgus. Enamike ühendite luminestsents on vähemärgatav.

Alljärgnevalt kirjeldame vees leiduvate ühendite kiirgusomadusi, lähtudes KM dokumendist: „Veekeskkonnale ohtlike ainete ja ainerühmade nimistud 1 ja 2 ning prioriteetsete ainete, prioriteetsete ohtlike ainete ja nende ainete rühmade nimekirjad" (https://www.riigiteataja.ee/akt/13345270).

§ 1. „Ohtlike ainete ja ainerühmade nimistus 1" loetletud 8 rühmast on probleemideta fluorestsentsi kaudu detekteeritavad:

- paljud ained, millel on veekeskkonnas või selle kaudu kantserogeensed omadused (punkt 4);
- püsivad mineraalõlid ja naftapäritoluga süsivesinikud (punkt 7).

Fluorestsentsi kaudu määratavaid ühendeid leidub rühmas:

- püsivaid sünteetilisi aineid, mis võivad ujuda veepinnal, jääda heljumisse või settida ning takistada vee kasutamist (punkt 8).

Ülejäänud rühmades esineb üksikuid nõrgalt fluorestseeruvaid aineid, mis vajavad täiendavat uurimist.

§ 2. „Ohtlike ainete ja ainerühmade nimistus" 2 loetletud 10 ainete rühmast on fluorestsentsi kaudu otseselt tuvastatava ka väga madalate kontsentratsioonide korral:

- ebapüsivad mineraalõlid ja naftapäritoluga süsivesinikud (alapunkt 7);
- omavad märgatavat rohelist kiirgust uraani ühendid (alapunkt 2);
- mitmed mainitud ühealuselised fenoolid fluorestseerivad ultravioletses spektripiirkonnas (alapunkt 10).

Pole huvituseta märkida, et luminestsentsanalüüs ei ole rakendatav kuuenda rühma korral (anorgaanilised fosforiühendid ja fosfor lihtainena).

§ 3. "Prioriteetsete ainete, prioriteetsete ohtlike ainete ja nende ainete rühmade nimekirjad" sisaldavad 33 ühendit või ühendite rühma, mis inimtegevuse tulemusena leiavad tee ümbritsevasse keskkonda kui herbitsiidid, mineraalõlide koostisosad, lahustid, leegisummutajad, raskemetallid, insektitsiidid või polümeersete materjalide plastifikaatorid ja stabilisaatorid.

Fluorestsentsanalüüsi teel on lihtsalt avastatavad nr. 28 all koondatud polüaromaatsed süsivesinikud: benso(a)püreen, benso(b)fluoranteen, benso(g,h,i)perüleen, benso(k)fluoranteen, indeno(1,2,3-cd)püreen.

Eraldi on välja toodud individuaalsed polütsüklilised aromaatsed süsivesinikud nr. 2 antratseen, nr. 4 benseen, nr. 15 fluoranteen ja nr. 22 naftaleen. Antratseen, fluoranteen ja naftaleen on loetelus esitatud teiste, ohtlikumate polüaromaatsete süsivesinike indikaatoritena kütustes, mineraalõlides ja eriti kivisöetõrvas. Benso(a)püreen, benso(b)fluoranteen ja benso(k)fluoranteen on tuntud ohtlike

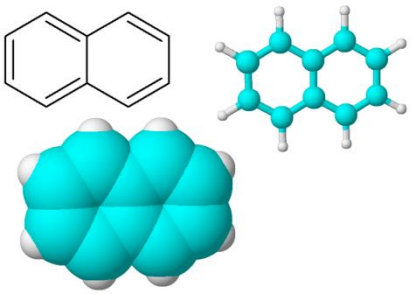
kantserogeeenidena. Et polüareenid on väga sobivad fluorestsentsi kaudu tuvastamiseks, oleme alustanud just nende ühendite testimist.

Nr. 12 di(2-etüül-heksüül)ftalaat, nr. 24 nonüülfenool, nr. 25 oktüülfenool fluorestseerivad ultravioletses piirkonnas (300 nm), neist fenoolid küllalt intensiivselt. Halogeenid kustutavad fluorestsentsi pea-aegu täielikult järgmistes benseeni derivaatides: nr. 5 bromodifenüüleeter, nr. 8 klorofenvinfoss (insektitsiid), nr. 16 heksaklorobenseen, nr. 26 pentaklorobenseen, nr. 27 pentaklorofenool, nr. 31 triklorobenseenid. Heteroaatom N benseeni tsükli sees või küljes kustutab fluorestsentsi kiirendades interkonversiooni tripletesse seisundisse (vt. joonis 1). Tripletsest olekust lähtuv fosforestsents on vedelikes omakorda kustutatud lahustunud hapniku poolt. Enamiku herbitsiidide avastamine fluorestsentsi kaudu ei ole eriti lootustandev, kuid vajab siiski täiendavat uurimist. Nimetame siinjuures fenüülatsetamiidi või -karbamiidi derivaate (nr. 1 alakloor, nr. 13 diuroon, nr. 19 isoproturoon), symm-triasiini klassi herbitsiide (nr. 3 atrasiin, nr. 29 simasiin) jat dinitroaniliini derivaati nr. 33 trifluraliini.

2.3 Lühike ülevaade polütsüklilistest aromaatsetest süsivesinikest (PAH)

2.3.1 Mis on polütsüklilised aromaatsed süsivesinikud?

Polütsüklilised aromaatsed süsivesinikud (PAH) on orgaanilised ühendid, mis sisaldavad üksteisega liitunud benseenituumi, kuid võivad sisaldada ka heteroaatomeid ja asendusrühmi. PAH-ide hulka kuulub rohkem kui 100 ühendit, mis kõik erinevad üksteisest oma benseenituumade arvu ja asetuse poolest molekulis. Kõige lihtsama ehitusega PAH koosneb ainult kahest omavahel ühendatud benseenituumast ja on tuntud kui naftaleen (joonis 2).



Joonis 2

2.3.2 PAH-ide omadused

PAH-ide füüsikalised ja keemilised omadused sõltuvad tugevasti molekulmassist: molekulmassi suurenedes väheneb PAH-ide vees lahustuvus, aururõhk ning PAH-ide vastupanuvõime redutseerumise ja oksüdeerumise suhtes, kuid suureneb sulamis- ja keemistemperatuur. Tänu sellele PAH-id, mis koosnevad suuremast benseenituumade arvust, on Maa keskkonnas stabiilsed, sest lagunevad hüdrolüüsi toimel väga vähesel määral ja oksüdeeruvad raskelt õhuhapniku toimel. PAH-id on elusorganismidele ohtlikud. Erinevate uuringute käigus on kindlaks tehtud, et madalamate molekulmassidega PAH -de ühendid on toksilised ning suuremate molekulmassidega ühendid võivad olla mutageensete ja kantserogeensete omadustega. PAH-id on ohtlikud, sest nad on võimelised seonduma rakumembraani ja membraanensüümidega ning PAH-id on suutelised tekitama muutusi pinnamamebraanides, suurendades seeläbi ka rakumembraani läbimisvõimet, mille tõttu tekivadki molekulaarsed muutused.

2.3.3 PAH-ide teke ja keskkonda sattumine

Polütsüklilised aromaatsed süsivesinikud tekivad peamiselt mittetäielikul põlemisel (oksüdeerumisel). Sellepärast on PAH-ide allikateks kütuse põletamisel töötavad tehnilised süsteemid ja tehased,

vulkaanid, metsatulekahjud. Kuid orgaaniliste ainete mittetäieliku oksüdeerimise protsessid esinevad mitte ainult põletamisel. Mittetäielik oksüdeerumine toimus fossiilsete kütuste tekkimise käigus. Sellepärast leiduvad PAH-id hulgaliselt fossiilses kütuses ja sellest valmistatud produktides, kivisöes, toornaftas, tõrvades, asfaldis, kütuses, õlis ja mujal.

2.3.4 PAH-id naftas ja selle produktides

Nafta on üks peamistest PAH-ide allikatest, mille kaudu nad jõuavad meid ümbritsevasse keskkonda. Vaatamata sellele on nafta ja naftaproduktid kaasaegses elus praktiliselt asendamatud. Erinevad tehased, tootmisprotsessid, transport, infrastruktuur - kõik kasutavad naftat ja selle produkte kütusena. Igal poool leidub esemeid plastikust, kummist või teisteks polümeeridest, mille lähteaineks on nafta ja sellega ka PAH-id. Seepärast väärib PAH-de sisaldus naftas ja naftaproduktides erilist tähelepanu.
Ülaltoodu ei tähenda seda, et PAH-ide sisaldust naftas ja naftaproduktides ei kontrollita. Vastupidi, nii Euroopas, kui ka Ameerikas on võetud ette palju meetmeid PAH-ide leviku peatamiseks. On loodud kõige ohtlikumate PAH-ide nimekirjad, määratud nende lubatud piirkontsentratsioonid jäätmetes ja heitvees, määratud PAH-ide normid tööstuses ja on kohustatud kõiki tööstusi neid norme jälgima [1-6]. Vaatamata sellele on erinevad keskonnauuringud maailmas näidanud, et PAS-ide kontsentratsioon kui just ei kasva, siis on veel päris suur ja võib osutuda inimestele ja keskkonnale ohtlikuks.
On tehtud erinevaid uuringuid, et määrata PAH-ide sisaldust naftas, ja kokku on leitud umbes 180 erinevaid PAH-e [1]. Kõige rohkem uuriti U.S. Environmental Agency poolt välja toodud ohtlikke PAH-e ja määrati nende kontsentratsioonid 48-s toornaftas (Tabel 1). Samad PAH-id on tunnistatud ohtlikuks ka Euroopa komisjoni poolt [3,4,5,7].

PAH ja selle sisaldus naftas	Miinimum (mg/kg)	Maksimum (mg/kg)	Keskmine (mg/kg)
Naphthalene	1.2	3700	427
Acenaphthene	0	58	11.1
Acenaphthylene	0	0	0
Fluorene	1.4	380	70.34
Anthracene	0	17	4.3
Phenanthrene	0	400	146
Fluoranthene	0	15	1.98
Pyrene	0	9.2	-
Benzo[a]anthracene	0	16	2.88
Chrysene	4	120	30.36
Benzo[b]fluoranthene	0	14	4.08
Benzo[k]fluoranthene	0	1.3	0.07
Benzo[a]pyrene	0	7.7	1.5
Dibenz[a,h]anthracene	0	7.7	1.25
Benzo[g,h,j]perylene	0	1.7	0.08
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	0	1.7	0.08

Tabel 1. Kirjeldab USA ja Euroopa komisjoni poolt ohtlikuteks tunnistatud PAH-ide sisaldust 48-s toornaftaallikas [8].

Mis puudutab naftaprodukte, siis PAH-e leidub ka bensiinis [12,13], diiselkütuses [7] ja teistes kütustes (Tabel 2 ja 3). Üldjuhul leidub PAH-e nendes vedelkütustes väikestes kontsentratsioonides, sest nende tootmisel kasutatakse kergemaid nafta komponente ja puhastatakse rasketest lisanditest. Seepärast ei avalda vedelkütused ise suurt ohtu keskkonnale. Aga PAH-d võivad tekkida nende

kütuste mittetäieliku põlemise käigus ja seetõttu panustada tugevalt ümbritseva keskkonna reostusse [14]. Suurem osa PAH-de õhureostusest tekibki erinevate kütuste põletamisel. Tekkivad PAH-id on toodud Tabelis 4. Vett ja mulda reostavad PAH-idega aga kummi ja rehvid, mille lähteaineks tootmisel on naftas sisalduvad raskemad süsivesinikud. Igal aastal teedel kuluvad autorehvid jätavad tonne oma koostisainet keskkonda. Kuna PAH-d kuuluvad ka raskemate naftakomponentide hulka, siis loomulikult satuvad nad koos rehviainega teedele, kust vihmavesi viib neid edasi mulda ja veekogudesse. Ohtlikud PAH-d, mida leidub rehvides, on toodud tabelis (Tabel 5) [2,9]. Samas kasutatakse teekatete ehitamiseks bituumenit, mis tegelikult on üks levinuim naftaprodukt meie elus. Seejuures bituumen koosneb just raskematest süsivesinikest, mille seas leidub ka ohtlikke PAH-e [11], (Tabel 6).

PAH
Naphtalene
Acentaphthylene
Acenapthene
Fluorene
Phenanthrene
Anthracene
Fluoranthene
Pyrene
Cyclopenta(c,d)pyrene
Benza(a)anthracene
Chrysene
Benzo(b)fluoranthene
Benzo(k)fluoranthene
Benzo(e)pyrene
Benzo(a)pyrene
Perylene
Indeno[1,2,3-c,d]pyrene
Dibenz(a,h)anthracene
Benzo(b)chrysene
Benzo(g,h,j)perylene
Coronene

←Tabel 2

Tabel annab ettekujutuse sellest, milliseid PAH-se leidub küttustes kontsentratsioonid varieeruvad sõltuvalt küttusest 0-st kuni 10 mg/L.

PAH
Chrysene+Triphenylene
Benzo[a]pyrene
Benzo[e]pyrene
Indeno[1,2,3-c,d]pyrene
Benzo[b+j+k]fluorantenes

Tabel 3
Tabel annab ettekujutuse sellest, milliseid PAHe leidub bensiinikütustes ja mootorõlides.

Tabel 4 ↓
Tabelis on toodud PAH-d, mis tekivad bensiini ja diiselkütuste mittetäielikul põlemisel.

PAH mis võivad tekkida kütuste mittetäieliku põlemise käigus (peamised)
Phenanthrene
Anthracene
Fluoranthene
Pyrene
Benz(a)anthracene
Chrysene/Triphenylene
Benzo(b)fluoranthene
Benzo(k)fluoranthene
Benzo(e)pyrene
Benzo(a)pyrene
Perylene
Indeno(1,2,3-cd)pyrene
Dibenz(a,h)anthracene/Dibenz(a,c)anthracene
Benzo(g,h,i)perylene

Substances	Products	Name
• Benzo(a)pyrene (BaP) • Benzo(e)pyrene (BeP) • Benzo(a)anthracene (BaA) • Chrysen (CHR) • Benzo(b)fluoranthene (BbFA) • Benzo(j)fluroanthene (BjFA) • Benzo(k)fluoranthene (BkFA) • Dibenzo(a,h)anthracene (DBAhA)	• Passenger car tyres • Light and heavy trucks tyres • Agricultural tyres • Motorcycle tyres	Benzo[a]pyrene Benzo[e]pyrene Benzo[a]anthracene Chrysene Benzo[b]fluoranthene Benzo[k]fluoranthene Benzo[j]fluorant Indeno[c,d]pyrene

Tabel 5. Tabelis on toodud PAH-d, mida võivad sisaldada autorehvid [2,9].

PAHs/SAMPLES	A	B	C	D	E
Naphthalene	nd	nd	nd	nd	nd
Acenaphthylene	nd	nd	nd	nd	nd
Acenaphthene	nd	nd	nd	10.15	nd
Fluorene	nd	nd	nd	nd	nd
Phenanthrene	7.79	1.07	nd	11.67	nd
Anthracene	9.54	nd	nd	3.98	nd
Fluoranthene	5.37	2.49	5.87	14.30	3.74
Pyrene	6.46	2.38	7.68	14.55	2.35
Benz[a]anthracene	5.31	27.41	53.36	58.26	40.30
Chrysene	12.20	10.43	15.01	19.57	10.56
Benzo[b]fluoranthene	12.66	23.39	2.99	12.87	13.55
Benzo[k]fluoranthene	1.56	4.57	nd	2.79	1.20
Benzo[a]pyrene	8.05	11.98	7.74	8.06	5.11
Benzo[g,h,i]perylene	nd	nd	nd	nd	nd
Dibenz[a,h]anthracene	25.75	24.11	4.45	10.72	5.06
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	75.98	56.74	22.21	24.01	21.92
∑16PAHs (mg kg^{-1})	**170.67**	**164.57**	**119.31**	**190.93**	**103.79**
Fluoranthene/pyrene	**0.83**	**1.05**	**0.76**	**0.98**	**1.59**
Benz[a]anthracene/chrysene	**0.44**	**2.63**	**3.55**	**2.98**	**4.61**
Benzo[k]fluoranthene/benzo[b]fluoranthene	**8.12**	**5.12**	-	**4.61**	**11.29**

Tabel 6. Tabelis on toodud PAH-d, mida sisaldavad erinevatest kohtadest võetud bituumeni proovid (ühikuks on mg/kg).

Muidugi, üle kogu maailma kehtivad erinevad piirangud, mis määravad PAH-de maksimaalse sisalduse erinevates toodetes ja ei luba kasutada tooteid, milles PAH-de kontsentratsioon ületab lubatut. Sellepärast on tehased kohustatud toodete valmistamisel jälgima nende koostist ja vajadusel PAH-e elimineerima. Ideaalsel juhul peaks viimane protsess võimaldama korjata kõik PAH-d tootmisainest ja viia need ümbertöötlemisele või lagundamisele. Reaalsuses aga satuvad naftast ja naftatoodetest eemaldatud PAH-d tehaste jäätmetesse ja heitvette, mis omakorda soodustab keskkonnasaastet.

2.3.5 PAH-de kasutamine naftareostuse indikaatorina

Peale PAH-de on naftas hulgaliselt ka teisi ohtlikke aineid, mis võivad sattuda keskkonda ja sellele pöördumatut kahju tekitada. Aga üldjuhul need ained ei ole stabiilsed, imbuvad kiiresti ümbritsevasse keskkonda ja elusorganismidesse või lagunevad. Seepärast on tihti väga raske hinnata naftareostusest tekitatud kahju ja efektiivselt sellele reageerida.

Selle probleemi üheks lahendiks oleks leida nafta koostises selliseid aineid, mis on übritsevas keskkonnas püsivad ja iseloomulikud ainult naftale, ning kasutada neid aineid naftareostuse tuvastamiseks. Selleks tuleb võtta eelpool toodud omadustega ainet, määrata selle keskmine sisaldust naftas ja otsida selle aine sisaldust potentsiaalses reostuskohas. Kuna valitud aine on naftale iseloomulik, siis sellise aine tuvastamine annaks kohe märku, et meil on suure tõenäosusega tegemist naftareostusega. Tuvastatud aine kontsentratsiooni määramine võimaldaks aga hinnata reostuse ulatust.

Sellisteks püsivateks aineteks sobivad hästi näiteks PAH-d. Tänu oma ehitusele on nad püsivad vee ja õhukeskonnas. Nende iseloomulikud omadused võimaldavad neid eristada teistest ainetest. Paljud nendest fluorestseerivad, mis võimaldab detekteerimiseks kasutada fluorestsentsspektroskoopia meetodeid. Teades valitud naftale iseloomulike PAH-de neeldumis- ja fluorestsentsspektreid, saab erinevate meetodite abil tuvastada neid ümbritsevas keskkonnas. Tavaliselt kasutatakse selleks erinevaid kromatograafilisi meetodeid. Aga meie poolt välja töötatav metoodika võimaldaks teha seda selektiivslt otse vees ja *on-line* režiimis.
Naftas sisalduvatest PAH-dest oleks mõistlik valida need, mille sisaldus naftas on kõige suurem. See tõstaks naftareostuse tuvastamise tõenäosust, kuna üldiselt on PAH-de sisaldus naftas suhteliselt väike. Tabelis 1 ja artklis „Profile of the Polycyclic Aromatic Compounds from Crude Oils“ [10] toodud andmete kohaselt sobiksid kõige paremini sel juhul järgmised PAH-d (Tabel 7):

PAH-de nimetused:	Sisaldus naftas (mg/kg):
Naphthalene	427
Fluorene	70.34
Chrysene	30.36
Dibenzo(b,d)thiophene	336.5
Penthathrene	128.7
Benzo(b)naphto(2,1-d)thiophene	102.0
Methyl-benzonaphthothiophene	59.9
3-methylchrysene (furan derivative)	43.9
Thiophene (derivative)	39.2
Benzo(e)pyrene	28.9

Tabel 7
Naftas kõige suurema sisaldusega PAH-d, mis võiksid kõige paremini sobida naftareostuse detekteerimiseks.

Nendest kõik on fluorestseeruvad ja seega sobivad naftareostuse indikaatoriteks.

2.4 Heitveed ei ole lihtsad ohtlike ainete lahused

Veekeskkond on heterogeenne, mitmefaasiline süsteem. Näiteks õlikile vee pinnal moodustab omaette faasi, milles kontsentreeruvad hüdrofoobsed saastained. Vees esinevad hõljumid jaotatakse emulsioonideks (vedelik vedelikus) ja suspensioonideks (tahkis vedelikus). Lisandosakeste suuruse edasisel vähenemisel räägime kolloidlahustest, mis on termodünaamiliselt ja kineetiliselt stabiilsed, kuna soojusliikumine ei võimalda osakestel settida või pinnale tõusta. Tänapäevases mõistes on kolloidosake nanofaas, mille erijuhuks on globulaarne valk vesilahuses. Eralduspiir kolloidlahuse ja lahustunud ioonse makromolekuli e. polüelektrolüüdi vahel ei ole terav. Polümeersed elektrolüüdid võivad olla orgaanilised (humiinhapped, mis värvivad Emajõe kevadel tumepruuniks) või anorgaaanilised (polüsilikaadid ja polüfosfaadid liimide ja pesemisvahendite jääkidena). Amfifiilsed detergendid (mida iseloomustab ioniseeritud või polaarne "pea" ja hüdrofoobne „saba", näiteks naatriumstearaat e. tavaline pesuseep) moodustavad mitsellaarseid lahuseid või bilipiidse membraaniga ümbritsetud vesikleid. Vees ülivähe lahustuvad mürgid nagu polüareenid ja DDT esinevad põhiliselt solubiliseeritud olekus, olles seotud õli mikrofaaside, mitsellide või polüelektrolüütidega.

Eelnevast selgub, et meie poolt otsitav aine võib reaalses olukorras, mis nominaalselt kujutab endast heitvett, olla seotud väga erinevate molekulidega. Spektrofluorimeetria aspektist on kesksel kohal küsimus, kuidas fluorestsentsi spekter ja kvantsaagis ümbrusest olenevad. Kuna üheks käesoleva projekti eesmärgiks on fluorestsentsanalüüsi selektiivsuse oluline suurendamine, siis tuleb selgusele jõuda ümbrusest sõltuvate spektrinihete suuruses ja suunas. Neeldumise või fluorestsentsi spektris toimuvad nihked on täpselt mõõdetavad, andes palju infot uuritava aine molekuli lähiümbruse kohta. Meie uusimad uurimused näitavad, et 70-90% nn. solvendinihkest on põhjustatud kromofoori („värvi kandjat") katva lahusti molekulide esimese, kõige lähema kihi poolt. Käsitleme kromofoori ja solvendi molekuli paari polariseeritavate dipoolidena. Kvantmehaanilisest häiritusteooriast johtub, kuid on ka elektrostaatika põhjal hästi arusaadav, et molekulide vaheline interaktsioon omab 4 komponenti: dipool-dipool, solvendi polarisatsioon värvaine poolt ning vastupidi ja viimaseks on universaalne dispersioonijõud.

Spektrinihe tekib, kui põhi- ja ergastatud oleku stabilisatsioonienergiad on erinevad. Nihke arvutamiseks on tarvis teada aine dipoolmomenti ja polariseeritavust alumisel ja ülemisel energiatasemel. Keskkonna polariseeritavust iseloomustab väga täpselt murdumisnäitaja avaldis, nn. Lorentzi-Lorenzi (L-L) funktsioon, polaarsust aga mõnevõrra halvemini dielektriline läbitavus. Vee murdumisnäitaja *n* toatemperatuuril on 1.333, selle ruut 1.78 annab dielektrilise läbitavuse valguse sagedusel. Vee dielektriline läbitavus *D* madalasageduslikus elektriväljas on väga kõrge - 80, mille põhjuseks on H_2O molekulide suur dipoolmoment, kõrge kontsentratsioon ning omavaheline seotus domeenideks vesiniksidemete abil. Meie teadustöödes sisalduvad andmebaasid mistahes molekulide spektrinihete leidmiseks kõikvõimalikus ümbruses, erinevatel temperatuuridel ja rõhkudel. Kuna polüareenide dipoolmomendid on väikesed, mängib olulist rolli dispersioonijõud . See oleneb ümbruse murdumisnäitajast, mis on vees 1.333 ja õlis 1.4, vastavad L-L funktsiooni väärtused on 0.2 ja 0.24. Solvendinihke dispersioonikoefitsiendid sõltuvad spektraalsiirde tüübist (α või p alternantsetes areenides), vastavalt -1500 (benso(a)püreen), -4000 (antratseen) ja omavad vahepealset väärtust mittealternantse benso(k)fluoranteeni jaoks (-2000 cm^{-1}).

Korrutades koefitsiendi L-L funktsiooni muuduga ja minnes üle lainepikkuste skaalale, saame nihkeks vee ja õli vahel ~400 nm juures nimetatud ainete jaoks 1, 2,6 ja 1,3 nm. Leitud nihke väärtus on väike, kuid oluline juhul, kui fluorestsentsanalüüs eeldab täpset spektri maksimumi ja miinimumi asukohta ning tuletise arvutamist vahepealses piirkonnas.

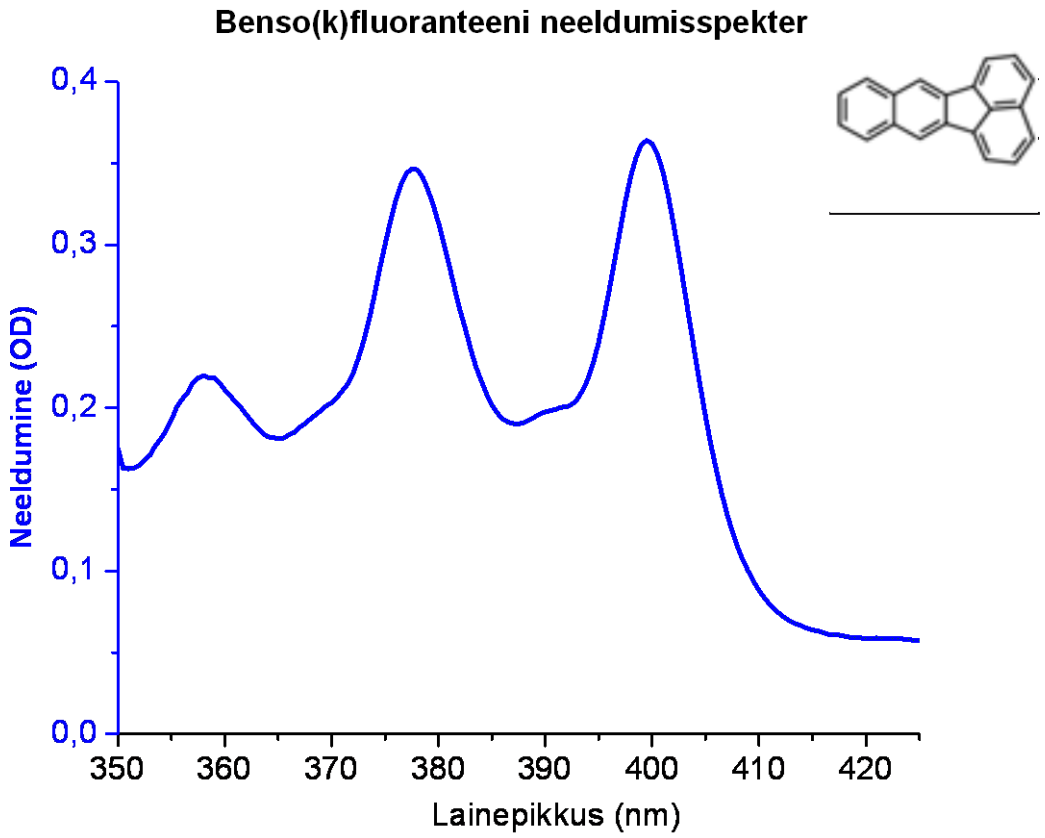
Kuna mõõtmiste temperatuurivahemik välitingimustes võib varieeruda 0 kuni 40 °C, siis kahaneb vee murdumisnäitaja soojuspaisumise tõttu1.334 kuni 1.331. Leiame eeltoodud viisil dispersioonilise sininihke väärtuseks benso(k)fluoranteeni jaoks tühise 3 cm^{-1}. Sellest suurem ja vastupidise märgiga on nn. puhas termiline nihe, ~-20 cm^{-1}, mida põhjustab teist järku anharmooniline elektron-foononinteraktsioon. Seega nihkub spekter summaarselt hoopis pikemate lainepikkuste suunas punasesse. Keeruline formuleering peidab meie võimetust nimetatud efekti suurust täpselt arvutada. Kui praktika vajadused seda eeldavad, tuleb vastavad teadusuuringud tulevikus läbi viia. Lisaks spektrite nihetele erinevas ümbruses tuleb arvesse võtta nende laienemist. Neeldumis- või fluorestsentsiriba laius on üsna heas korrelatsioonis ümbruse polaarsuse või dielektrilise läbitavusega, kasvades reas õli > etanool > metanool > vesi.

3. Uudne metoodika fluorestseeruvate kahjulike ainete selektiivseks detekteerimiseks

Kõige olulisem informatsioon, mis on vajalik ainete tuvastamiseks optilisel meetodil (neeldumis- ja fluorestsentsispektrite maksimumid) saadakse fotomeetri ja fluoromeetri abil neeldumis- ja fluorestsentsispektrite mõõtmistel. See protsess nõuab laboratoorseid tingimusi ega võimalda teha mõõtmisi reaalajas. Lähtudes ettevalmistustöös saadud andmetest, õnnestus meil välja pakkuda metoodika, mis võimaldab kiiresti ja selektiivselt tuvastada saasteainet ka ilma selle kogu spektri mõõtmiseta.

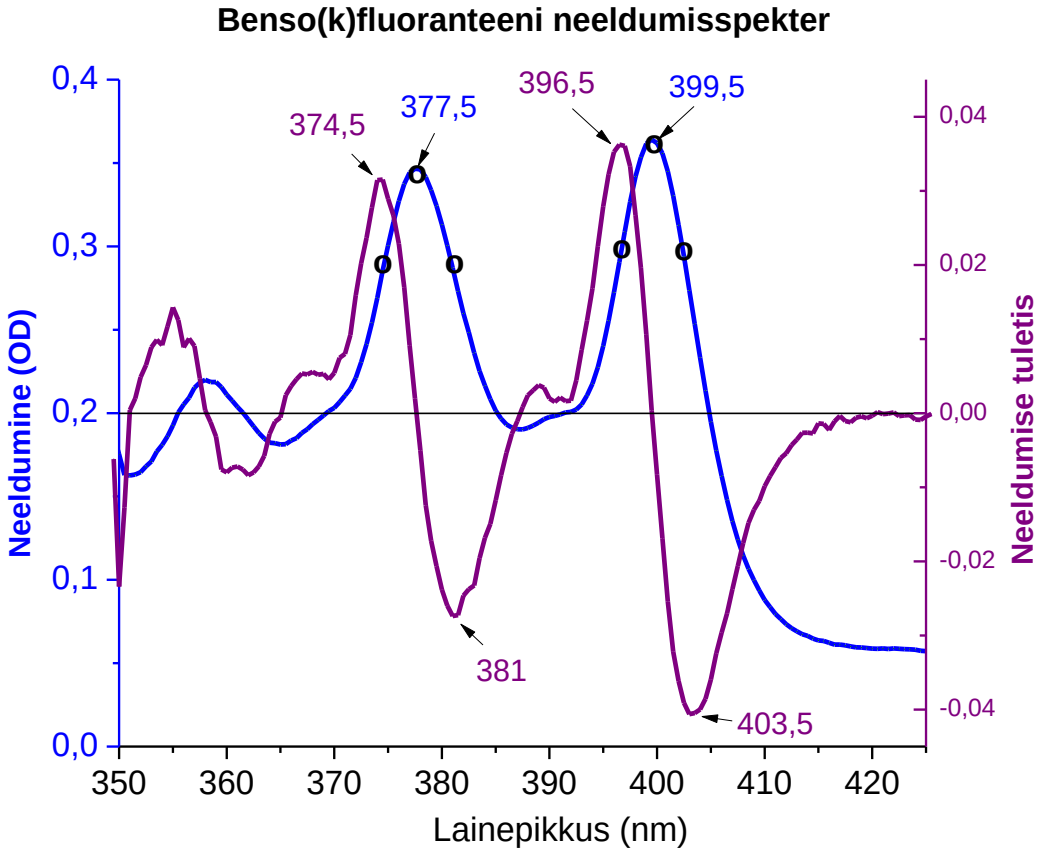
Metoodika põhineb sellele, et ükskord mõõdetud spektreid ei pea mitu korda üle mõõtma, vaid võib saadud andmeid kasutada, et ergastada ainet spetsiifilistel lainepikkustel ja mõõta fluorestsentsi signaali sobivalt valitud spektri piirkonnas. See võimaldab tundmatus ainete segus tuvastada otsitava aine, kasutades neeldumis- ja fluorestsentsispektrite maksimume. Metoodikat selgitame järgnevalt ühe konkreetse näite varal.

Võtame näiteks benso(k)fluoranteeni (joonis 3), millel on väga kõrge fluorestsentsi kvantsaagis (ca 100 %) ja seetõttu ta sobib meie metoodika jaoks ideaalselt.



Joonis 3. Benso(k)fluoranteeni neeldumisspekter.

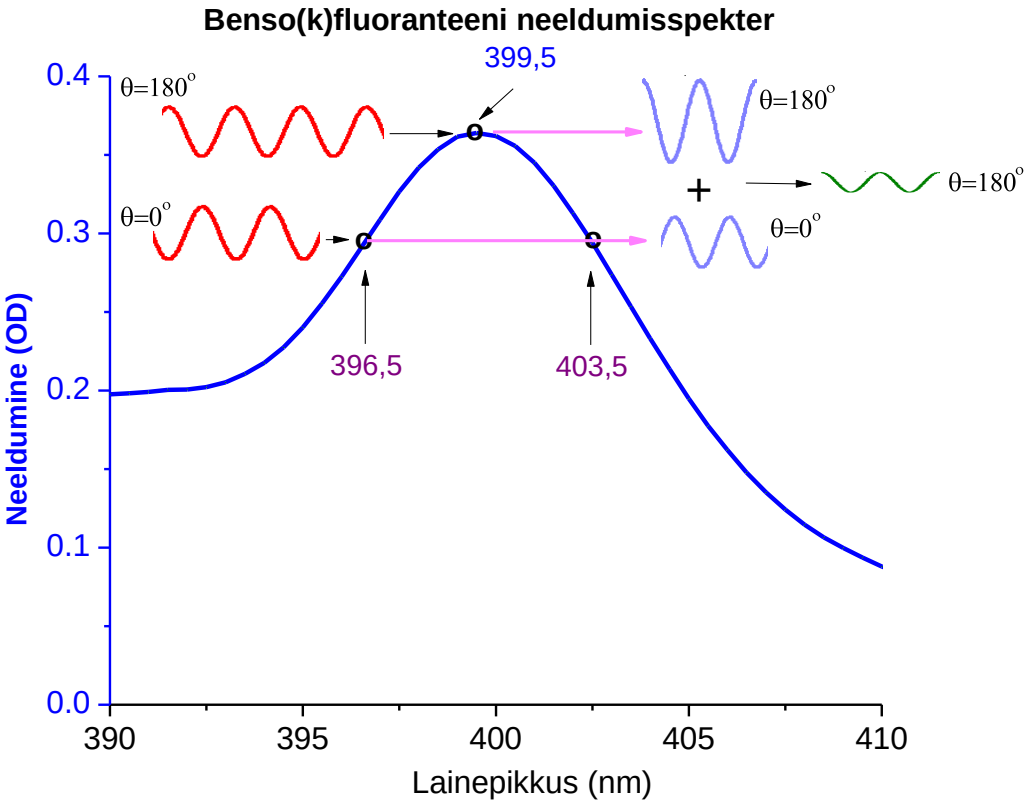
Nüüd võtame sellest neeldumisspektrist tuletise, kujutame samal graafikul (joonis 4) ja märgime mõned iseloomulikud punktid.

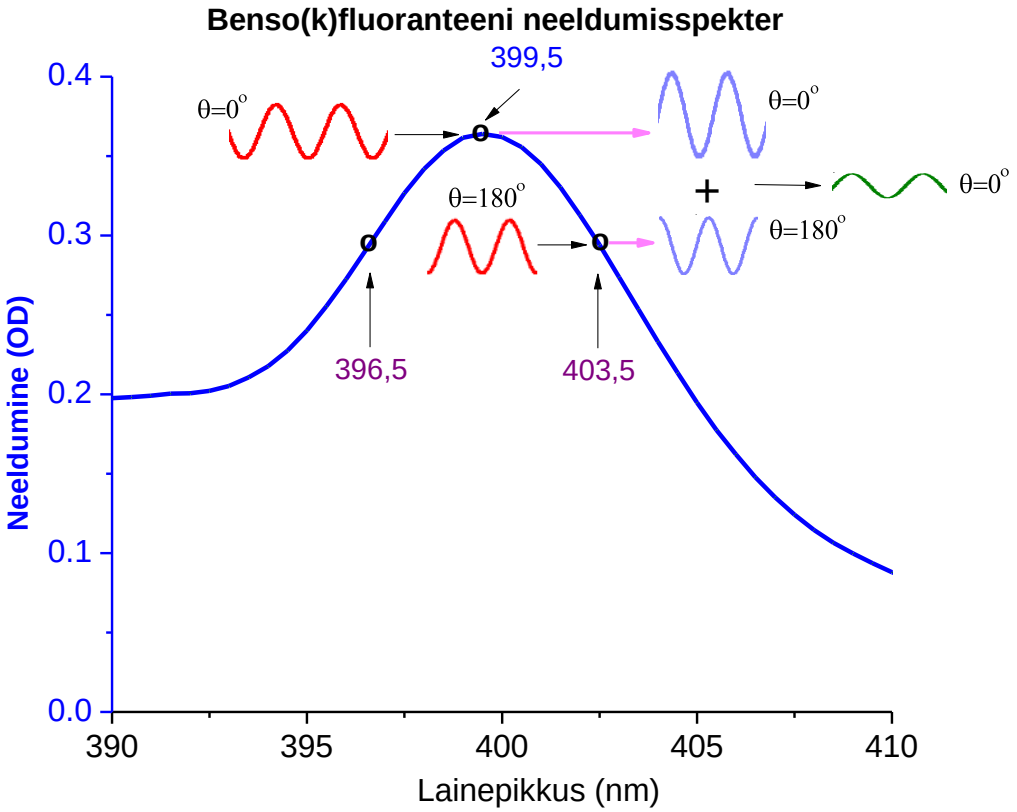


Joonis 4. Benso(k)fluoranteeni neeldumisspekter ja selle tuletis.

Sobivateks lainepikkusteks on neeldumisspektri tuletise maksimumid ja miinimumid, mis määravad vastavalt neeldumise kiireima kasvu ja languse punktid, ning ka neeldumisspektri maksimumid, mida me soovime tuvastada meie mõõtmiste käigus. Nende punktide valik on tingitud sellest, et esiteks, neeldumisspektri maksimumi lähedase joone sümmeetria tõttu on neeldumismaksimumi ja kiireima kasvu punktide vahe sama, mis neeldumismaksimumi ja kiireima kahanemise punktide vahe. Teiseks, neeldumisspektri tuletise miinimum ja maksimum asuvad neeldumismaksimumi suhtes kahel „poolel“ teineteise vastas, kusjuures tuletised nendes punktides on erimärgilised. (See võimaldab võtta neeldumisspektri maksimumi n.ö. „kahvlisse“).

Järgmine oluline etapp meie metoodikas on aineproovi ergastamine. Me teeme seda paarikaupa esialgu neeldumise kiireima kasvu ja maksimumi punktides ja seejärel maksimumi ja kiireima kahanemise punktides, kasutades nendele punktidele vastava lainepikkusega valgust (vt. joonis 5). Seejuures me moduleerime kahe erineva punkti ergastuse valgussignaalid nii, et nad oleksid vastasfaasis. (Üks lihtsamatest meetoditest seda teha on valgusallikate vaheldumisi sisse ja väljalülitamine)

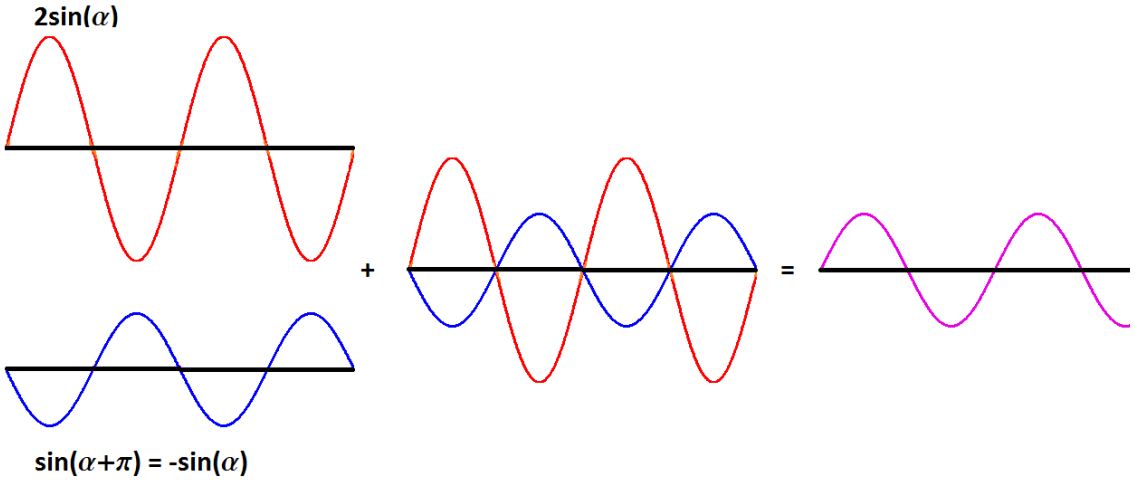




Joonis 5. Ülemisel pildil on kujutatud kaks ergastavat signaali, mis on vastasfaasis ja meie poolt mõõdetav fluorestsentsi signaal, mis on kahe fluorestsentsisignaali summa. Alumisel pildil on kujutatud sama joonis, aga nüüd teise punktidepaari jaoks.

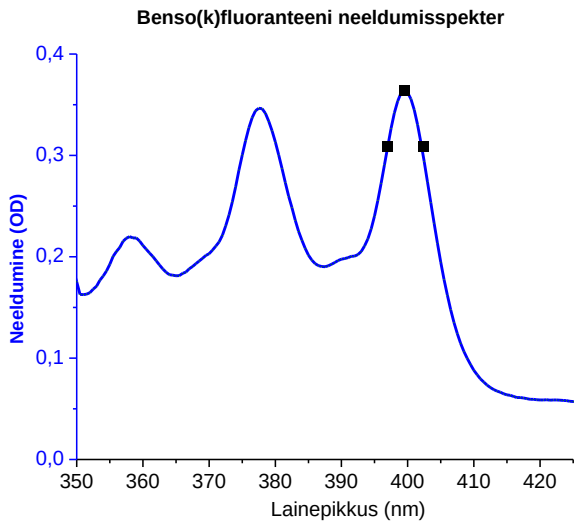
Pärast aine ergastamist me detekteerime selle fluorestsentsi fotodetektori ja *lock-in* võimendi abil. See võimendi lukustab ennast väga täpselt moduleeritud signaali sagedusele, võimaldades elimineerida suurema osa mürasignaale ja lubabades mõõta väga nõrku signaale (Näiteks ka fluorestsentsi signaali, mis ei pruugi olla suur fluorestseeruva aine väikese kontsentratsiooni tõttu). Seejuures *lock-in* võimendi abil saab mõõta signaali amplituudi ja faasi reaalajas. Kuigi metoodika on suhteliselt keeruline, saab kõiki mõõtmesi teha väga kiiresti.

Mõõtmistulemuste interpretatsioon on aga lihtsam. Kui me ergastame ainet kahel valitud lainepikkusel vastasfaasis moduleeritud valgussignaalidega, siis loomulikult on ka mõõdetavad fluorestsentsi signaalid vastasfaasis. Ja kui me mõõdame kahte fluorestsentsisignaali korraga, siis mõõtmistulemuseks on juba signaalide vahe (vt. joonis 6). Mõõtmissüsteem liidab kahte vastasfaasilist signaali ja järele jääb signaal, mille amplituud on võrdne kahe amplituudi vahega ja ta omab suurema amplituudiga signaal faasi.

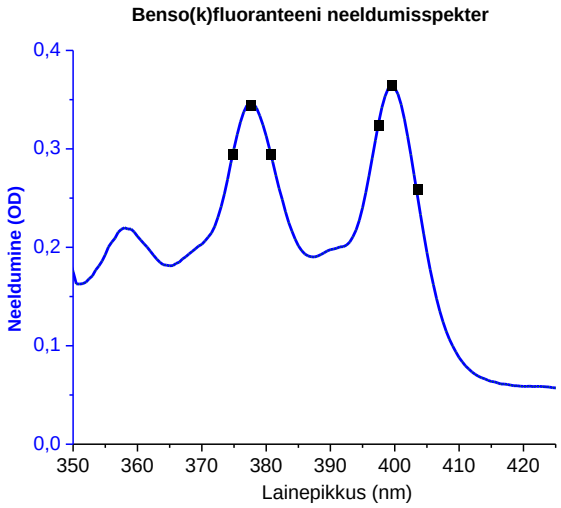


Joonis 6. Diagramm illustreerib, kuidas liituvad kaks erineva amplituudiga ja vastasfaasis signaali.

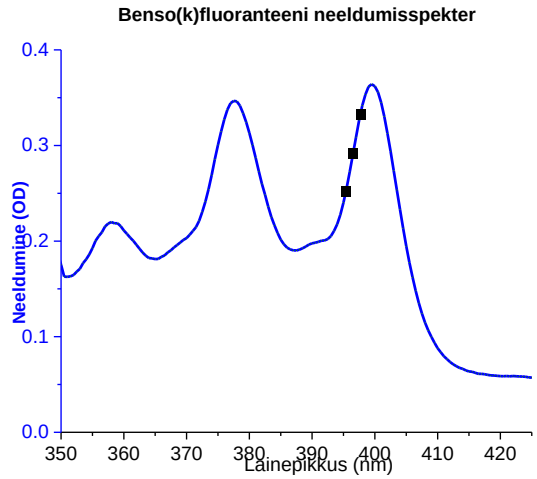
See, kui suur tuleb kahe fluorestsentsi signaali vahe, sõltub sellest, millise lainepikkusega me parajasti ainet ergastame ja kui tugev on aine neeldumine sellelel lainepikkuselel (kas meil on tegemist neeldumismaksimumiga või mingi muu alaga). Kuna me ergastame ainet juba valitud lainepikkustel, siis me ootame, et kahest fluorestsentsi signaalist hakkab domineerima see, mille faas on sama mis signaalil, mida kasutati aine ergastamiseks selle neeldumisspektri maksimumis. Kui me mõõdame sellist fluorestsentsi signaali kahe meie poolt juba valitud spetsiifilise lainepikkuste paari jaoks ja mõõtmistulemuseks saame umbes samasugused signaali amplituudväärtused, ja kui osutub, et need signaalid on vastasfaasis, siis me võime päris kindlalt öelda, et meil on tegemist neeldumisspektri maksimumiga, mis on otsitavale ainele iseloomulik. Kui meil fluorestsentsi signaalid on samas faasis, siis meil kindlasti ei ole tegemist neeldumismaksimumiga ja tõenäoliselt meil ei ole otsitavat ainet proovis, või on selle aine kontsentratsioon detekteerimiseks liiga väike. Kui meil on mõõtmistes kahtlusi, näiteks pärast mõõtmisi üks lainepikkuste paar annab palju suurema signaali kui teine paar, aga signaalid on vastasfaasis, siis me võime kontrollida mingi teise neeldumismaksimumi olemasolu, mis on sellele ainele omane (benso(k)fluoranteenil on neid kindlasti vähemalt kaks). Nii me tagame selektiivsuse meie mõõtmismetoodika kasutamisel (vt. joonis 7).



Kui me ergastamise käigus satume punktidesse, mis neeldumisspektri peal asuvad nii, nagu on näidatud kõrvaloleval joonisel, on meil tegemist neeldumisspektri maksimumiga. Signaalid on peaaegu võrdsed ja vastasfaasis. Selline olukord tõestab otsitava aine olemasolu.



Kui me ergastamise käigus satume punktidesse, mis neeldumisspektri esimese maksimumi juures asetsevad juba ebasümmeetriliselt, siis me saame juba ebavõrdsed vastasfaasis signaalid ja otsitava aine olemasolu on juba kahtluse all. Et lõplikult aine olemasolu tõestada, saab minna teise maksimumi juurde ja teha analoogilised mõõtmised. Kui me jalle ei saa oodatud tulemust, siis otsitavat ainet juba kindlasti ei ole.

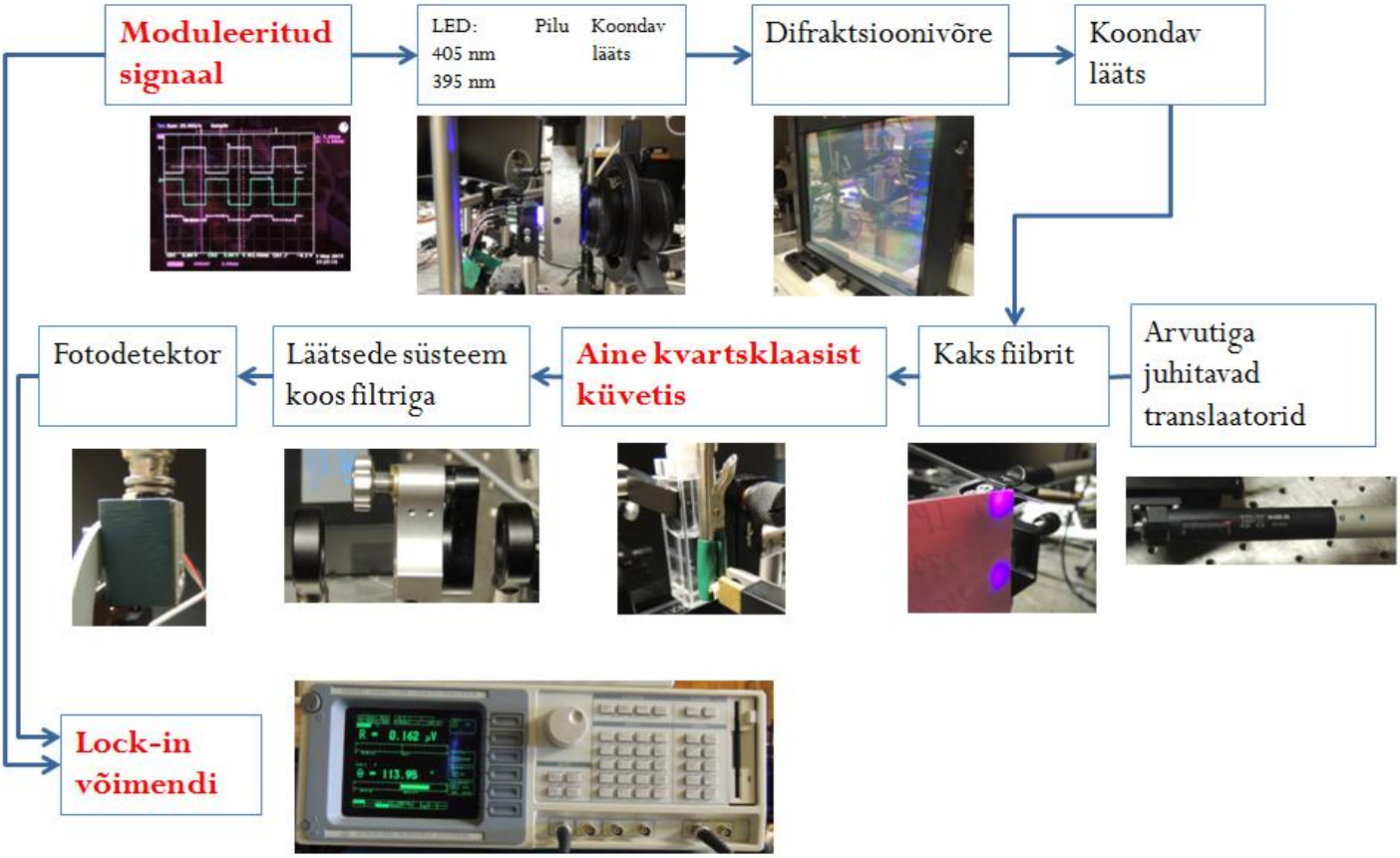


Olukorras, kui me ergastame ainet meie poolt valitud punktides aga tegelikult me ei ole neeldumisspektri maksimumi peal, siis mee mõõdame kahte signaali, mille vahe on küll ühesugune, kuid nad on samas faasis. Sellisel juhul võib kindlalt öelda, et tegemist ei ole otsitava ainega

Joonis 7. Lainepikkuste moduleerimismetoodikas esinevad juhud.

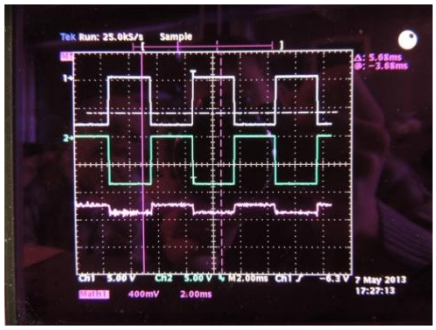
3.1 Meie poolt välja töötatud metoodika katseteline kontroll

Kontrollimaks ülalkirjeldatud ideed praktikas, ehitasime katseseadme, mille skeem on toodud joonisel 8.



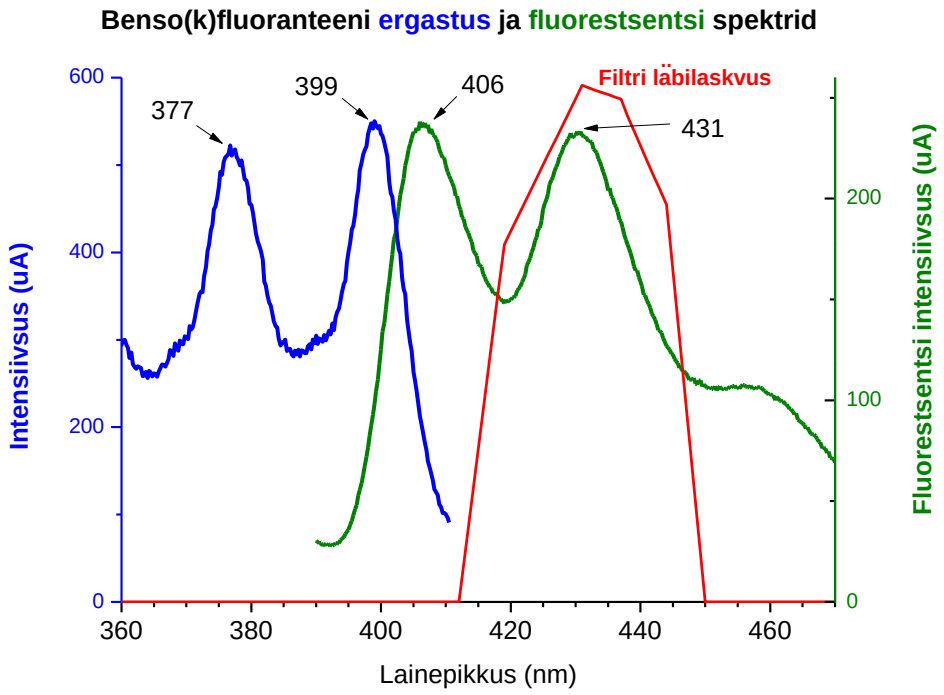
Joonis 8. Katse skeem.

Sobivate lainepikkustega pooljuhtlaserite puudumise tõttu otsustasime kasutada suhteliselt kitsa spektriga LED-e, mis kiirgavad meid huvitavas spektriosas. Meie metoodika kohaselt pidime ergastama ainet valitud lainepikkustel ja detekteerima signaali *lock-in* võimendi abil. Selleks me moduleerisime toitevoolu nii, et LED-d lülitusid vaheldumisi sisse ja välja (joonis 9).

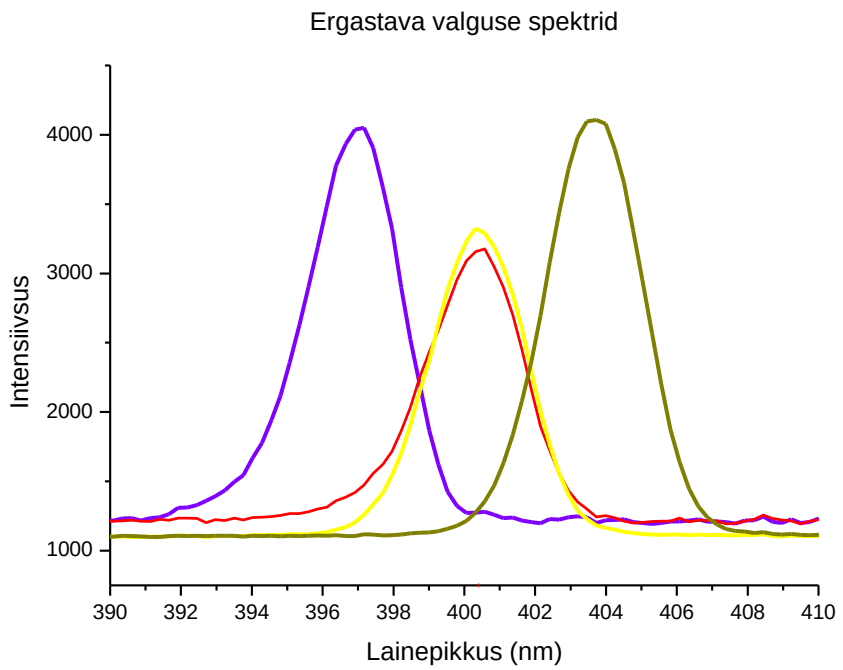


Joonis 9. LED-de toitevoolu modulatsioon.

Siis lahutasime LED-idest tuleva valguse spektriks difraktsioonivõre abil ja suunasime saadud valguse 1mm fiibritesse. Fiibrid olid kinnitatud translaatorite külge, mis liigutasid neid piki spektrit ja võimaldasid LED-ide spektritest välja selekteerida sobiva lainepikkusega ergastused. Selliselt spektraalselt selekteeritud valguse abil ergastasime kvartsküvetis olevat ainet ja mõõtsime fluorestsentsi läbi filtri (joonis 10) fotodioodiga ja *lock-in* võimendiga.

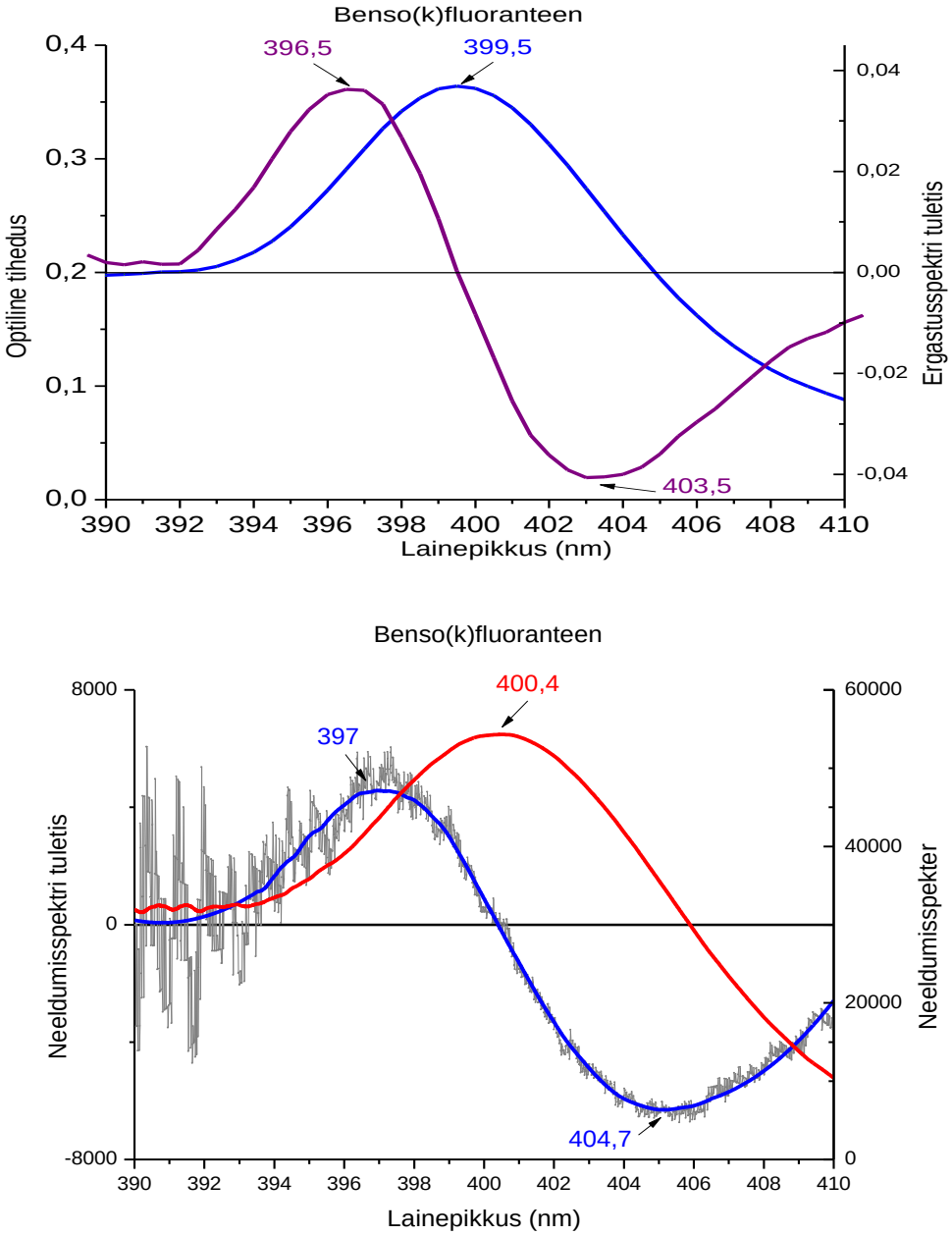


Joonis 10. Punasega on näidatud meie poolt kasutatud filtri läbilaskvus. Nagu näha, laseb see filter läbi ainult fluorestsentsi signaali, mida me fotodetektori abil mõõdame.



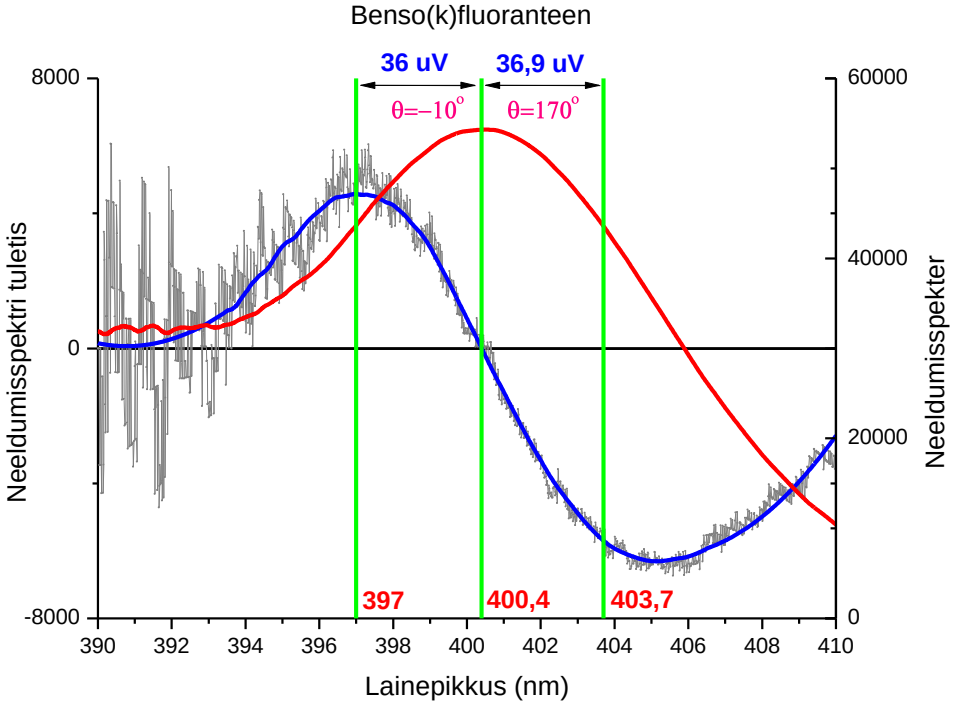
Joonis 11. Kasutatud ergastava valguse spektrid, kui nende maksimumid on seadistatud lainepikkustele 397, 400 ja 403,5 nm. Käesolev joonis illustreerib ka seda, et ergastav valgus oli võimeline mõjutama ainet põhimõtteliselt ainult meie poolt valitud lainepikkustel, kuna ergastava valguse spektrijooned olid suhteliselt kitsad, umbes 3 nm maksimumi poolel kõrgusel.

LED-ide kasutamine tegi süsteemi natuke keerukamaks, aga see ei takistanud meid saada oodatud tulemusi. Esiteks me mõõtsime uuritava aine ergastusspektri. Selleks mõõtsime fluorestsentsi intensiivsuse $I_{fl}(\lambda_{ex})$ sõltuvalt ergastava valguse lainepikkusest. Kuna ergastava valguse intensiivsus eri lainepikkustel ei olnud konstantne, siis pidime mõõtma ka ergastava valguse intensiivsuse lainepikkuse sõltuvuse $I_{ex}(\lambda_{ex})$. Jagades fluorestsentsi ergastusega $\frac{I_{fl}(\lambda_{ex})}{I_{ex}(\lambda_{ex})}$, saime ergastusspektri. Kui võrrelda seda fluoromeetriga mõõdetud ergastusspektriga, siis on näha, et saadud tulemused on väga sarnased, mis kinnitab, et meie süsteem annab õigeid tulemusi (joonis 12).



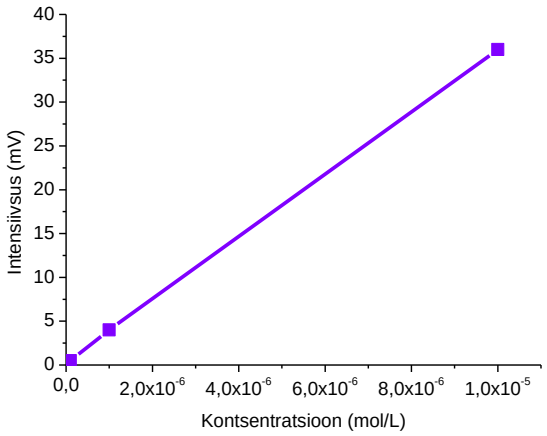
Joonis 12. LED-ga mõõdetud ergastusspekter (alumine graafik) ja fluoromeetriga mõõdetud ergastusspekter (ülemine graafik).

Teiseks, me kontrollisime ideed, et ergastades ainet talle iseloomulikel lainepikkustel, saab teda selektiivselt tuvastada Me tegime seda mõõtes fluorestsentsi intensiivsuste vahet ergastades kahel valitud lainepikkusel. Ja saime oodatud tulemuse – fluorestsentsi vahed olid sarnased ja signaalid olid vastasfaasis (joonis 13).



Joonis 13. Faaside erinevus 0-st ja 180-st tuleb sellest, et mõõtmistel kasutasime omavõimendusega fotodetektorit, mis natuke mõjutas mõõdetava fluorestsensisignaali faasi. Nagu näha, on signaalide faasivahe ikkagi 180 kraadi, st nad on vastasfaasis.

Tegime ka lahuste kontsentratsiooni rea ja leidsime fluorestsentsi intensiivsuse sõltuvuse kontsentratsioonist (joonis 14). Selgub, et mõõdetud kontsentratsioonide vahemikus on signaal proportsionaalne fluorestsentsi intensiivsusega.



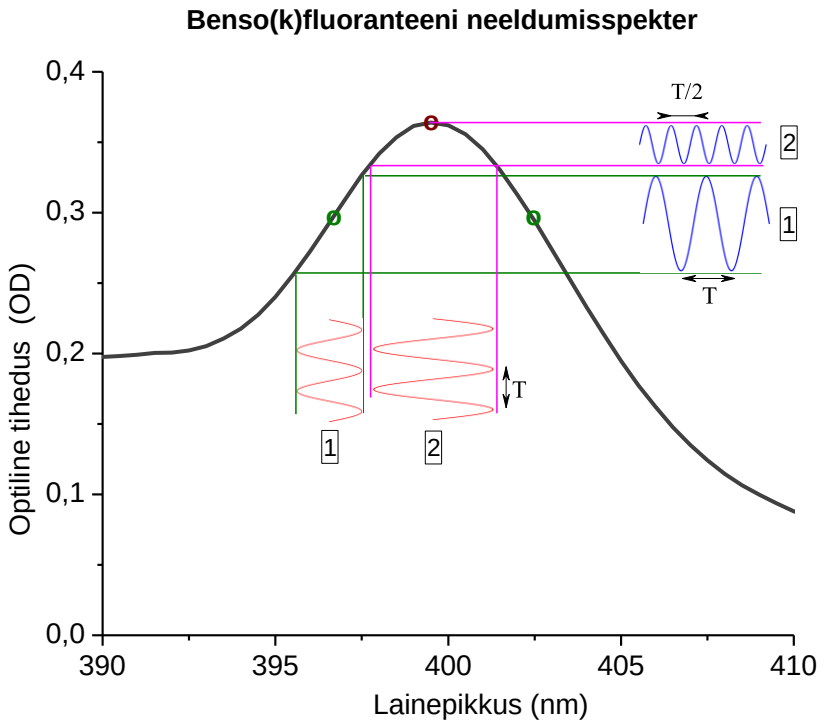
Joonis 14. Fluorestsentsi intensiivuse sõltuvus kontsentratsioonist

Kokkuvõttes võime tõdeda, et katsetes saadud tulemused tõestavad, et meie metoodika töötab ja töötab hästi, ning seda saab tõepoolest kasutada kahjulike ainete detekteerimisel ja tuvastamisel, kusjuures seda saab teha reaalajas!

3.2 Fluorestseeruvate saasteainete detekteerimise selektiivsuse tõstmise meetod.

3.2.1 Ergastuslainepikkuse sinusoidaalne moduleerimine.

Saasteainete fluorestsentsdetekteerimise selektiivsuse tõstmise üheks võimaluseks on fluorestsentsi ergastava valguse lainepikkuse sinusoidaalne moduleerimine. Meetodi eelduseks on, et taustafluorestsentsi ergastusspekter on suhteliselt struktuuritu, aeglaselt muutuv foon, mis vähe tunneb ergastava lainepikkuse väikesi muutusi. Samas detekteeritava aine ergastusspekter omab tihti kitsaid spektriribasid (näiteks PAH-de korral) ja seetõttu selle fluorestsentsi intensiivsus on tundlik ka väikestele ergastuse lainepikkuse muutustele. Nagu näha jooniselt 15, on võimalik valida, kas lainepikkust moduleerida spektririba kiire muutuse ümbruses (joonisel 15 tähistatud [1]) või maksimumi lähedal (joonisel 15 tähistatud[2]). Esimese valiku eeliseks on suur signaal juba väikese lainepikkuse muutuse korral. Maksimumi lähedal moduleerides on eeliseks see, et fluorestsentsi modulatsioon toimub kahekordsel ergastuse moduleerimise sagedusel, mis on iseloomulik ainult maksimumi ümbruses moduleerimisele. Samas piisava fluorestsentsi signaali amplituudi saavutamiseks on vaja ergastava valguse lainepikkust moduleerida suuremas ulatuses.



Joonis 15. Fluorestsentsi ergastava valguse lainepikkuse sinusoidaalse moduleerimise kaks võimalust: spektri kiire muutuse asukohas [1] ja maksimumi ümbruses [2].

Aruande kirjutamise hetkel olemasoleva informatsiooni alusel tundub perspektiivseim meetod parima selektiivsuse saamiseks ergastava valguse lainepikkuse sinusoidaalne moduleerimine

neeldumismaksimumi ümbruses ja fluorestsentsi detekteerimine teisel harmoonikul. Kui modulatsiooni lainepikkuse vahemikus neeldumisspekter on lainepikkuse lineaarne funktsioon, siis teisel harmoonikul signaal täielikult puudub. Seega heas lähenduses on otsitava aine puudumisel teisel harmoonikul detekteeritav signaal null. Samas, ka väikeste detekteeritava aine kontsentratsioonide korral, mil tekib lainepikkuse lineaarsele funktsioonile kõverus, on teisel harmoonikul detekteeritav signaal nullist erinev.

3.2.2 Ergastuse ja fluorestsentsi detekteerimise lainepikkuste topeltmoduleerimine.

Fluorestsentsi intensiivsus F avaldub neeldumis- ja kiirgusspektri kaudu:

$$\boldsymbol{F(\lambda_{ex}, \omega_{ex}, \lambda_{fl}, \omega_{fl}) = \eta \cdot \kappa\ \lambda_{ex}, \omega_{ex}\ \cdot \varphi\ \lambda_{fl}, \omega_{fl}}\ , \qquad (1)$$

kus

$\lambda_{ex}\ ja\ \lambda_{fl}$ on vastavalt ergastava valguse ja fluorestsentsi detekteerimise lainepikkused,

$\kappa\ \lambda_{ex}, \omega_{ex}$ on neeldumisspekter lainepikkusel λ_{ex},

$\varphi\ \lambda_{fl}, \omega_{fl}$ on fluorestsentsispektri intensiivsus lainepikkusel λ_{fl},

η on fluorestsentsi kvantsaagise ja ergastuse intensiivsuse korrutis.

Võrrandis (1) oleme teinud eelduse, et ergastava valguse lainepikkust moduleeritakse koosinusoidaalselt ringsagedusel ω_{ex} **:**

$$\boldsymbol{\lambda_{ex}\ t\ = \lambda_{ex}^{0}\ 1 + \alpha \cdot \cos\ \omega_{ex} t} \qquad (2)$$

ja fluorestsentsi registreerimise lainepikkust moduleeritakse ringsagedusel ω_{fl}:

$$\boldsymbol{\lambda_{fl}\ t\ = \lambda_{fl}^{0}\ 1 + \beta \cdot \cos\ \omega_{fl} t}\ . \qquad (3)$$

Eeldusel, et lainepikkuste modulatsioonide laiused on väikesed võrreldes lainepikkusega, st koefitsiendid α ja β on väikesed võrreldes 1-ga (joonis 16), võime neeldumise lainepikkuse λ_{ex}^{0} ümbruses arendada Taylori ritta ja selles reas alles jätta ainult kaks liiget, neeldumise väärtuse $\boldsymbol{\kappa\ \lambda_{ex}^{0}}$ lainepikkusel $\boldsymbol{\lambda_{ex}^{0}}$ ja neeldumisspektri esimese tuletisega liikme:

$$\boldsymbol{\kappa\ \lambda_{ex}, \omega_{ex}\ = \kappa\ \lambda_{ex}^{0}\ + \frac{d\kappa\ \lambda_{ex}^{0}}{d\lambda}\ \lambda_{ex} - \lambda_{ex}^{0}}\ . \qquad (4)$$

Asendades valemist (2)

$$\boldsymbol{\lambda_{ex} - \lambda_{ex}^{0} = \alpha \cdot \lambda_{ex}^{0} \cdot \cos\ \omega_{ex} t}$$

valemisse (4), saame neeldumise muutuseks

$$\boldsymbol{\kappa\ \lambda_{ex}, \omega_{ex}\ = \kappa\ \lambda_{ex}^{0}\ + \frac{d\kappa\ \lambda_{ex}^{0}}{d\lambda_{ex}} \alpha \cdot \lambda_{ex}^{0} \cdot \cos\ \omega_{ex} t}\ . \qquad (5)$$

Täiesti analoogselt saame esimese lähenduse fluorestsentsispektri ajaliseks muutumiseks

$$\boldsymbol{\varphi\ \lambda_{fl}, \omega_{fl}\ = \varphi\ \lambda_{fl}^{0}\ + \frac{d\varphi\ \lambda_{fl}^{0}}{d\lambda_{fl}} \beta \cdot \lambda_{fl}^{0} \cdot \cos\ \omega_{fl} t}\ . \qquad (6)$$

Asendades (5) ja (6) valemisse (1), saame

$$\boldsymbol{F\ \lambda_{ex}, \omega_{ex}, \lambda_{fl}, \omega_{fl}\ = \eta \cdot\ \kappa\ \lambda_{ex}^{0}\ + \frac{d\kappa\ \lambda_{ex}^{0}}{d\lambda_{ex}} \alpha \cdot \lambda_{ex}^{0} \cdot \cos\ \omega_{ex} t\ \cdot\ \varphi\ \lambda_{fl}^{0}\ + \frac{d\varphi\ \lambda_{fl}^{0}}{d\lambda_{fl}} \beta \cdot \lambda_{fl}^{0} \cdot \cos\ \omega_{fl} t}\ . \qquad (7)$$

Saadud valemist (7) on näha, et fluorestsentsi intensiivsuse ajas muutumatule osale $\boldsymbol{\eta \cdot \kappa\ \lambda_{ex}^{0}\ \cdot \varphi\ \lambda_{fl}^{0}}$ lisaks saame ostsilleeruvad liikmed. Ergastuse lainepikkuse moduleerimise sagedusel ω_{ex} ostsilleeruv liige on võrdeline neeldumisspektri tuletisega ergastuse lainepikkusel

$$\boldsymbol{\eta \cdot \varphi\ \lambda_{fl}^{0}\ \cdot \frac{d\kappa\ \lambda_{ex}^{0}}{d\lambda_{ex}} \alpha \cdot \lambda_{ex}^{0} \cdot \cos\ \omega_{ex} t}\ .$$

Fluorestsentsi registreerimise lainepikkuse moduleerimise sagedusel ω_{fl} ostsilleeruv liige on võrdeline kiirgusspektri tuletisega registreerimise lainepikkusel

$$\boldsymbol{\eta \cdot \kappa\ \lambda_{ex}^{0}\ \cdot \frac{d\varphi\ \lambda_{fl}^{0}}{d\lambda_{fl}} \beta \cdot \lambda_{fl}^{0} \cdot \cos\ \omega_{fl} t}\ .$$

Kolmas ajas muutuv fluorestsentsi komponent sisaldab koosinuste korrutist:

$$\boldsymbol{\eta \cdot \frac{d\kappa\ \lambda_{ex}^{0}}{d\lambda_{ex}} \alpha \cdot \lambda_{ex}^{0} \cdot \cos\ \omega_{ex} t\ \cdot \frac{d\varphi\ \lambda_{fl}^{0}}{d\lambda_{fl}} \beta \cdot \lambda_{fl}^{0} \cdot \cos\ \omega_{fl} t}$$

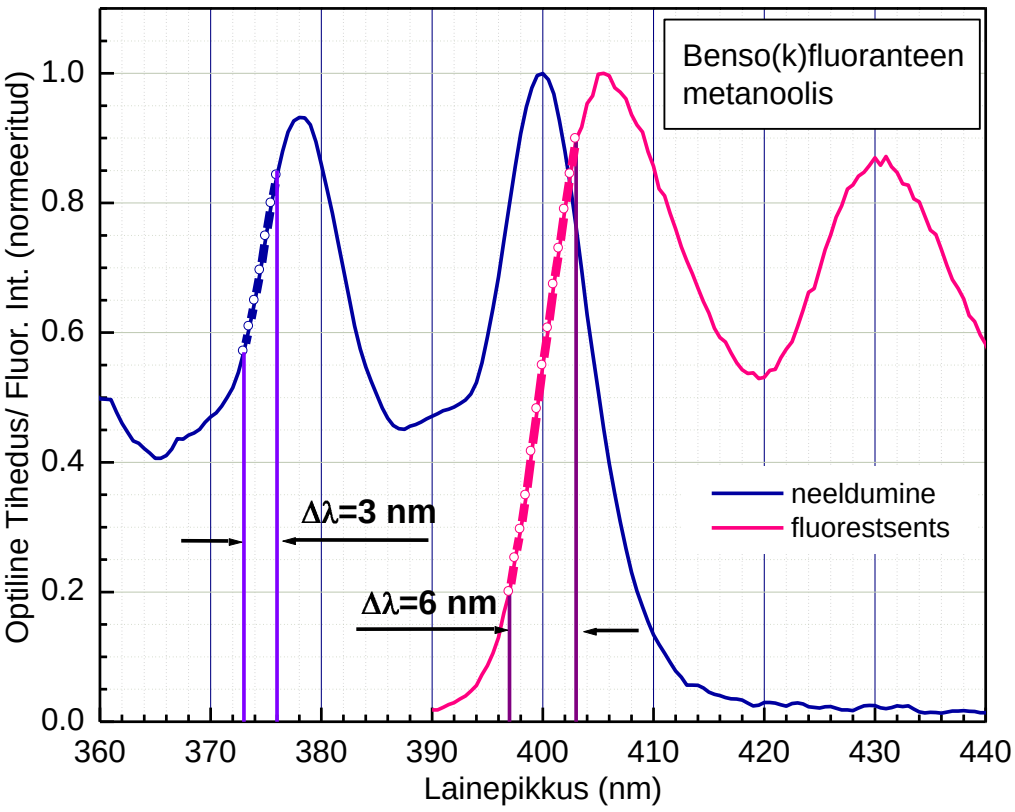
Kasutades koosinuste korrutise avaldamist koosinuste summana

$$\boldsymbol{\cos u \cdot \cos v = \frac{1}{2}\ \cos\ u - v\ + \cos\ u + v}\ ,$$

saame

$$\boxed{\boldsymbol{\frac{1}{2} \eta \cdot \alpha \cdot \beta \cdot \lambda_{ex}^{0} \cdot \lambda_{fl}^{0} \cdot \frac{d\kappa\ \lambda_{ex}^{0}}{d\lambda_{ex}} \cdot \frac{d\varphi\ \lambda_{fl}^{0}}{d\lambda_{fl}}\ \cos\ \omega_{ex} - \omega_{fl}\ t + \cos\ \omega_{ex} + \omega_{fl}\ t}\ .} \qquad (8)$$

Seega oleme näidanud, et fluorestsentsi intensiivsuse sagedusspektris leiduvad ergastuse ja kiirguse lainepikkuste modulatsioonisageduste kombinatsioonid (sageduste vahe $\boldsymbol{\omega_{ex} - \omega_{fl}}$ ja summa $\boldsymbol{\omega_{ex} + \omega_{fl}}$). Detekteerides fluorestsentsi ühel nendest kombinatsioonsagedustest kitsasriba-sünkroonvõimendiga (*lock-in amplifier*), <u>saame otsitava analüüdi välja valida topeltselektiivsusega</u>. Tõepoolest, valides nii ergastuse lainepikkuse λ_{ex}^{0} kui ka fluorestsentsi detekteerimise lainepikkuse λ_{fl}^{0} sobivalt, nii et nendes punktides on vastavalt neeldumis- ja kiirgusspektrite tuletised võimalikult suured, saame kombinatsioonsagedusel tugeva signaali. On üsna väike tõenäosus, et mitmel analüüdil on nii neeldumis- kui ka kiirgusspektris väljavalitud lainepikkustel korraga kiired muutused. Selektiivsus on seda suurem, mida suuremad on neeldumis- ja kiirgusspektri muutused lainepikkustel λ_{ex}^{0} ja λ_{fl}^{0}, st tuletised $\boldsymbol{\frac{d\kappa\ \lambda_{ex}^{0}}{d\lambda_{ex}}}$ ja $\boldsymbol{\frac{d\varphi\ \lambda_{fl}^{0}}{d\lambda_{fl}}}$. See meetod on hästi sobiv polütsükliliste aromaatsete süsivesinike detekteerimiseks, kuna nende neeldumis- ja kiirgusspektrid sisaldavad suhteliselt kitsaid ribasid, mille tõusudel või langustel ongi sobivaimad λ_{ex}^{0} ja λ_{fl}^{0} valikud. Kombinatsioonsageduse signaal on võrdeline modulatsiooni ulatustega $\boldsymbol{\alpha}$ ja $\boldsymbol{\beta}$. Mõistetavalt ei tohi modulatsiooni piirväärtused $\lambda_{ex}^{0} \pm \alpha \cdot \lambda_{ex}^{0}$ ja $\lambda_{fl}^{0} \pm \beta \cdot \lambda_{fl}^{0}$ olla ülearu suured, nii et ergastuse või fluorestsentsi registreerimise lainepikkused läheksid vastava spektririba kiire tõusu või languse piirkonnast välja (joonis 16).



Joonis 16. Benso(k)fluoranteeni neeldumis- ja kiirgusspekter. Paksu joonega on näidatud ergastuse ja kiirguse lainepikkuse sobivad moduleerimisulatused, millele vastab $\alpha = 0{,}004$ ja $\beta = 0{,}0075$.

Erijuhul võib võtta modulatsioonisagedused võrdseks: $\boldsymbol{\omega_{ex} = \omega_{fl} \equiv \omega_0}$, siis saame sünkroondetekteerimise sageduseks 2 $\boldsymbol{\omega_0}$. Sageduse kahekordistamine on kordades lihtsam kui laitmatu siinuselise signaali genereerimine sagedusel $\boldsymbol{\omega_{ex} + \omega_{fl}}$, siinjuures kaob ka vajadus kahe erineva sagedusega sinusoidaalse signaali genereerimiseks. Negatiivseks asjaoluks on siinjuures võimalus, et mõõtesüsteemi mittelineaarsuse korral tekib kahekordsel sagedusel 2 $\boldsymbol{\omega_0}$ signaal ka detekteeritava aine puudumisel, st tegemist ei ole enam nullväärtusega signaali nivooga.

Vaatleme veel topeltmoduleerimise juhtu, kus objekti ergastatakse korraga kahe erineva lainepikkusega valgusega $\boldsymbol{\lambda_{ex}^1}$ ja $\boldsymbol{\lambda_{ex}^2}$, kusjuures neid lainepikkusi moduleeritakse kosinusoidaalselt vastavalt sagedustel $\boldsymbol{\omega_{ex}^1}$ ja $\boldsymbol{\omega_{ex}^2}$. Fluorestsentsi registreeritakse läbi ribafiltri keskmisel lainepikkusel $\boldsymbol{\lambda_{fl}}$ ja see ajas ei muutu. Sellistel tingimustel avaldub fluorestsentsi intensiivsus järgmise võrrandiga:

$$\boldsymbol{F\ \lambda_{ex}^1, \omega_{ex}^1, \lambda_{ex}^2, \omega_{ex}^2, \lambda_{fl}\ = \vartheta \cdot\ I_{ex}^1 \cdot \kappa\ \lambda_{ex}^1, \omega_{ex}^1\ + I_{ex}^2 \cdot \kappa\ \lambda_{ex}^2, \omega_{ex}^2\ \cdot \varphi\ \lambda_{fl}\ .} \qquad (9)$$

Siin tähistab

$\boldsymbol{\vartheta}$ kvantsaagist,

$\boldsymbol{I_{ex}^1}$ ja $\boldsymbol{I_{ex}^2}$ ergastava valguse intensiivsusi vastavalt lainepikkustel $\boldsymbol{\lambda_{ex}^1}$ ja $\boldsymbol{\lambda_{ex}^2}$.

$\boldsymbol{\omega_{ex}^1}$ **ja** $\boldsymbol{\omega_{ex}^2}$ on ergastamise lainepikkuste $\boldsymbol{\lambda_{ex}^1}$ ja $\boldsymbol{\lambda_{ex}^2}$ moduleerimise ringsagedused.

Analoogselt võrrandiga (2) muutuvad ergastuse lainepikkused ajas koosinusoidaalselt:

$$\boldsymbol{\lambda_{ex}^{1}\ t\ = \lambda_{ex}^{01}\ 1 + \alpha^{1} \cdot \cos\ \omega_{ex}^{1} t} \quad (10)$$

ja

$$\boldsymbol{\lambda_{ex}^{2}\ t\ = \lambda_{ex}^{02}\ 1 + \alpha^{2} \cdot \cos\ \omega_{ex}^{2} t\ \ .} \quad (12)$$

Võrrandile (5) sarnaselt saame moduleerimisest tulenevad neeldumise muutused

$$\boldsymbol{\kappa\ \lambda_{ex}^{01}, \omega_{ex}^{1}\ = \kappa\ \lambda_{ex}^{01}\ + \frac{d\kappa\ \lambda_{ex}^{01}}{d\lambda_{ex}} \alpha^{1} \cdot \lambda_{ex}^{01} \cdot \cos\ \omega_{ex}^{1} t} \quad (13)$$

$$\boldsymbol{\kappa\ \lambda_{ex}^{02}, \omega_{ex}^{2}\ = \kappa\ \lambda_{ex}^{02}\ + \frac{d\kappa\ \lambda_{ex}^{02}}{d\lambda_{ex}} \alpha^{2} \cdot \lambda_{ex}^{02} \cdot \cos\ \omega_{ex}^{2} t\ .} \quad (14)$$

Asendades need võrrandisse (9), saame

$$\boldsymbol{F\ \lambda_{ex}^{1}, \omega_{ex}^{1}, \lambda_{ex}^{2}, \omega_{ex}^{2}, \lambda_{fl}\ = \vartheta \cdot \varphi\ \lambda_{fl}\ \cdot \begin{matrix} I_{ex}^{1} \cdot\ \kappa\ \lambda_{ex}^{01}\ + \frac{d\kappa\ \lambda_{ex}^{01}}{d\lambda_{ex}} \alpha^{1} \cdot \lambda_{ex}^{01} \cdot \cos\ \omega_{ex}^{1} t\ \ + \\ I_{ex}^{2} \cdot\ \kappa\ \lambda_{ex}^{02}\ + \frac{d\kappa\ \lambda_{ex}^{02}}{d\lambda_{ex}} \alpha^{2} \cdot \lambda_{ex}^{02} \cdot \cos\ \omega_{ex}^{2} t \end{matrix}}$$

(15)

Seega oleme saanud ajast sõltumatu liikme

$$\boldsymbol{\vartheta \cdot \varphi\ \lambda_{fl}\ \cdot\ I_{ex}^{1} \cdot \kappa\ \lambda_{ex}^{01}\ + I_{ex}^{2} \cdot \kappa\ \lambda_{ex}^{02}}$$

ja koosinusoidaalsete liikmete summa:

$$\boldsymbol{\vartheta \cdot \varphi\ \lambda_{fl}\ \ I_{ex}^{1} \cdot \alpha^{1} \cdot \lambda_{ex}^{01} \cdot \frac{d\kappa\ \lambda_{ex}^{01}}{d\lambda_{ex}} \cdot \cos\ \omega_{ex}^{1} t\ + I_{ex}^{2} \cdot \alpha^{2} \cdot \lambda_{ex}^{02} \cdot \frac{d\kappa\ \lambda_{ex}^{02}}{d\lambda_{ex}} \cdot \cos\ \omega_{ex}^{2} t}$$

Erijuhul, kui nurksulgudes olevate koosinuste kordajad on võrdsed

$$\boldsymbol{I_{ex}^{1} \cdot \alpha^{1} \cdot \lambda_{ex}^{01} \cdot \frac{d\kappa\ \lambda_{ex}^{01}}{d\lambda_{ex}} = I_{ex}^{2} \cdot \alpha^{2} \cdot \lambda_{ex}^{02} \cdot \frac{d\kappa\ \lambda_{ex}^{02}}{d\lambda_{ex}} \equiv \mathrm{K},}$$

ja tähistades need kordajad **K**, saame koosinuste summa valemit kasutades

$\cos u + \cos v = 2 \cdot \cos\frac{u+v}{2} \cdot \cos\frac{u-v}{2}$;

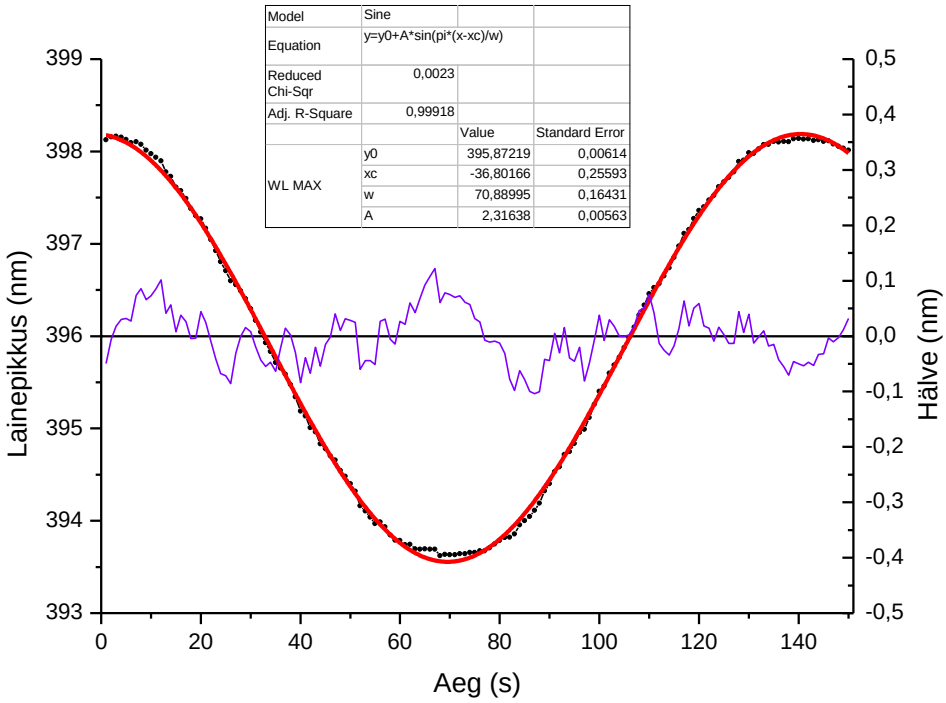
$$\boldsymbol{2 \cdot \mathrm{K} \cdot\ \vartheta \cdot\ \varphi\ \lambda_{fl}\ \cdot \cos\frac{\omega_{ex}^{1} + \omega_{ex}^{2}}{2} \cdot \cos\frac{\omega_{ex}^{1} - \omega_{ex}^{2}}{2}}$$

Seega on tulemuseks signaal sagedusega $\frac{\omega_{ex}^{1}+\omega_{ex}^{2}}{2}$, mis on läbi moduleeritud madalama sagedusega $\frac{\omega_{ex}^{1}-\omega_{ex}^{2}}{2}$.

3.3 Ergastava valguse lainepikkuse moduleerimise katseline kontroll.

Modulatsioonspektroskoopia rakendamisel tekkis vajadus moduleerida ergastava valgusallika lainepikkust sinusoidaalselt detekteeritava aine neeldumismaksimumi ümbruses. Näiteks, kui meil on tegemist Bennso(k)fluoranteeniga, mille neeldumismaksimum asub 400 nm juures, moduleerime ergastava valguallika valgust nii, et selle lainepikkus muutuks sinusoidaalselt 400 nm juures amplituudiga 5 nm. Valguse lainepikkuse muutmiseks on mitu võimalust: difraktsioonvõre pööramine (või valguse langemisnurga muutmine), akusto-optiliste modulaatorite kasutamine (elektroonselt reguleeritav), interferentsfiltrite pööramine või elektrooniliselt muudetavate parameetritega vedelkristalliliste filtrite kasutamine. Otsustasime kasutada kitsaribalise läbilaskvusspektriga interferentsfiltreid. Valik oli tingitud sellest, et difraktsioonvõre kasutamisel tekkisid suured valguskaod, meie poolt proovitud akusto-optiline modulatsioon ei tekitanud piisavat lainepikkuste lahutust ja vedelkristallilised filtrid on liiga kallid antud eesmärgi jaoks. Kitsaribaliste interferferentsfiltrite eeliseks on ka see, et nende läbilaskvusriba laius saab olla vaid 1 nm, mis võimaldab saavutada väga head

spektraalset lahutust lainepikkuse valimisel tõstes mõõtmiste täpsust. Puuduseks on aga asjaolu, et lainepikkuse muutmiseks tekib vajadus filtrit mehaaniliselt pöörata, mistõttu mõõtesüsteem muutub tundlikumaks raputustele ja löökidele. Samas, kui kasutada filtri pööramiseks samm-mootori ja viimase juhtimiseks kaasaegseid teholoogiaid, võib saavutada piisavat täpsust ergastusvalguse lainepikkuse moduleerimises. Nagu joonisel 17 näha, on maksimaalne kõrvalekalle sinusoidaalsusest 0.1 nm, mis moodustab 2.2% skaneerimisulatusest (4.6 nm).

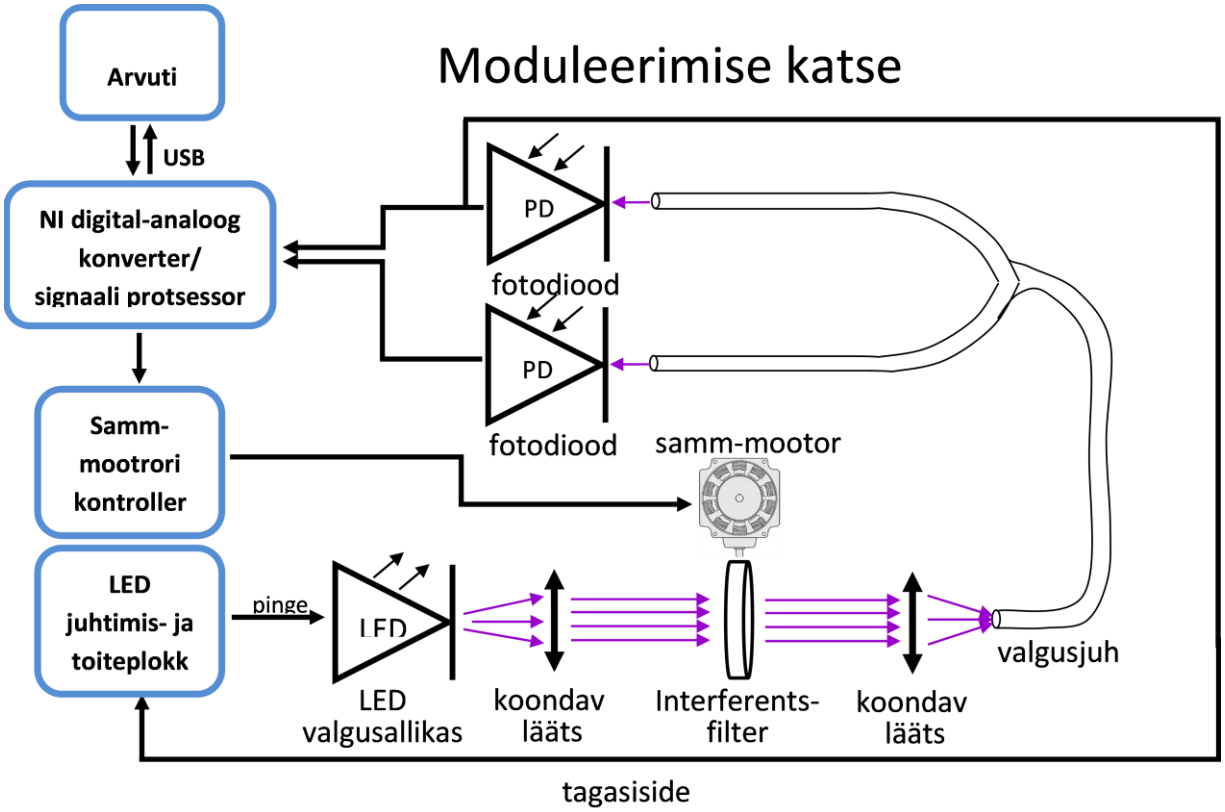


Joonis 17. Pööratavat interferentsfiltrit läbinud ergastusvalguse lainepikkuse ajast sõltuvuse graafik. Läbilaskvusspektrid mõõdeti minispektromeetriga FSD-9 ja aproksimeeriti Gaussi kõveratega.

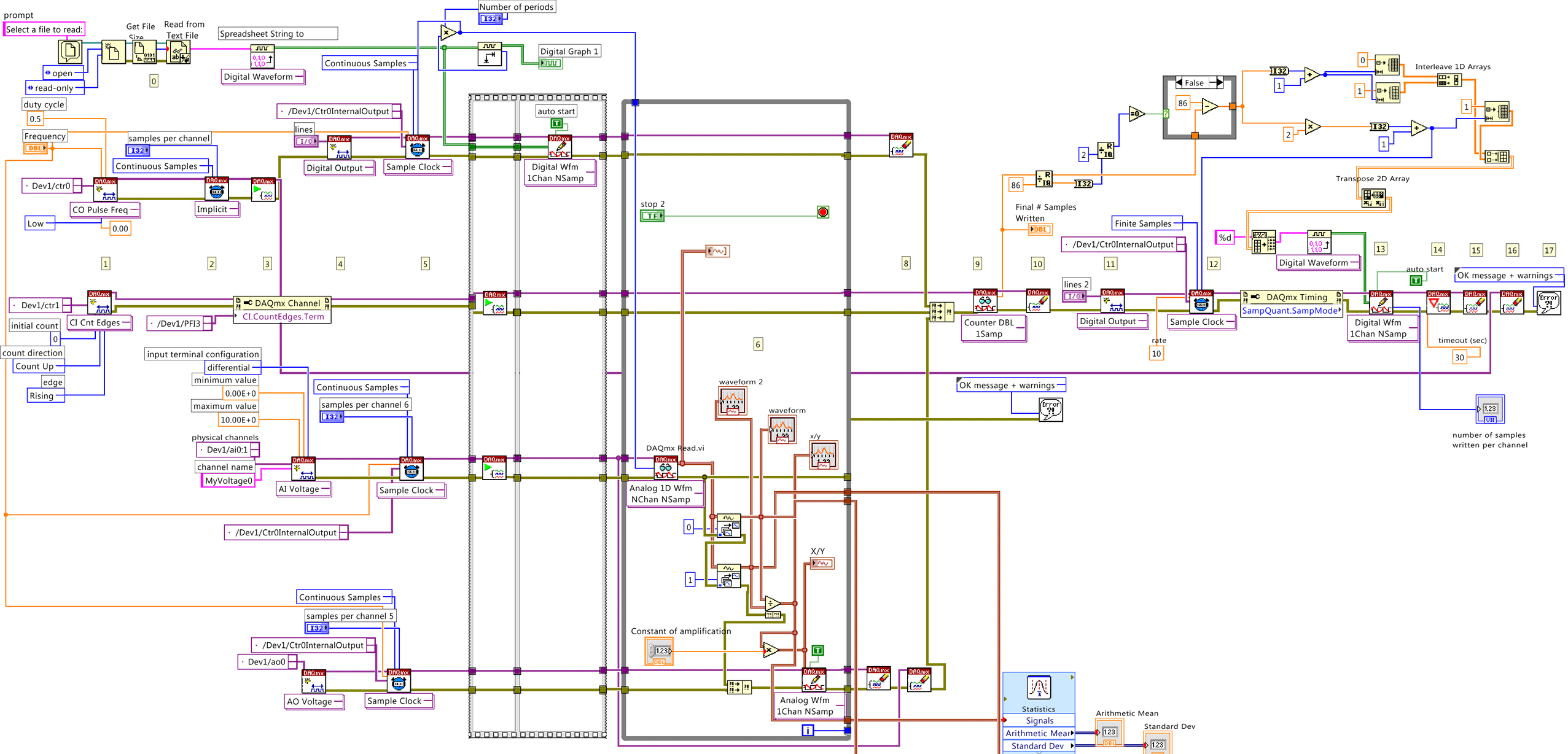
Seda meetodit otsustasimegi kasutada meie uuringute juures, kuigi see peitis endas mõningaid väljakutseid. Esimene probleem seisnes selles, et filtri pööramisel sõltub läbilaskva valguse lainepikkus mitte sinusoidaalselt, vaid omab keerulisemat sõltuvust. Seega, kui me muudaks filtri pöördenurka ajas lineaarselt, siis me kunagi ei saavutaks vajalikku tulemust. Probleemi lahendamiseks tuli leida selline pöördenurga ajafunktsioon, mille korral lainepikkuse muutus oleks sinusoidaalne. Osutus, et selline ülesanne ei lahendu analüütiliselt. Siiski, mõninga pingutusega, meil õnnestus leida probleemile numbriline lahend ja määrata sellised impulssidevahelised ajavahemikud, mis tagasid lainepikkuse sinusoidaalse muutumise ajas. Iseenesestmõistetavalt tuli võtta arvesse asjaolu, et samm-mootor pöördub iga juhtimpulsi saabumisel konstantse sammu võrra. Järgmisena tuli saadud ajavahemike jada konverteerida samm-mootori kontrolleri jaoks sobiva kujuga ajaliseks digitaalsignaaliks. Selleks sai kirjutatud üks väike vaheprogramm Python programmeerimiskeeles. Kolmandaks ja kõige suuremaks väljakutseks sai meie jaoks arvutiprogrammi kirjutamine, mis võimaldaks filtri pööramist arvuti abil reaalajas juhtida. Programmi loomiseks me valisime visuaalprogrameerimise keskkonna LabVIEW, kus hulgaliste katsete käigus ja paljude tehniliste parameetrite arvestamisel sai valmis programm, mille skeem on toodud lk. 30.

Programm võtab sisendiks ülalmainitud ajalise digitaalsignaali ja suunab selle lõpmatus tsüklis mootori kontrollerisse. Seejuures programm ütleb kontrollerile, mis suunas peab filter pöörduma, millal see peab pöörlemissuunda muutma ja suunab filtri algpositsiooni kui operaator otsustab filtri pööramise peatada. Programm võimaldab muuta filtri pööramise ja sellega lainepikkuse skaneerimise sagedust ja väljastab digitaalse laine graafikul selle kuju kontrollimiseks. Samuti on võimalik seda programmi kasutada ergastus- ja fluorestsentssignaalide jälgimiseks reaalajas. Vajaduse korral saab kahte mõõdetud signaali omavahel jagada, et vabaneda fluorestsentsi signaali mõõtmistulemuste sõltuvusest intensiivsusest, ja saada ainult lainepikkusest sõltuvust. Analoogse tulemuse võib saavutada ergastava valguse intensiivsuse stabiliseerimise teel, kui mõõdame fotodioodiga ergastava valguse intensiivsust ja kasutame seda signaali LED toiteploki tagasiside ahelas, nagu on näidatud katse skeemil (joonis 18).

Nende kahe võimaluse võrdlemine ja parima meetodi valimine on hetkel käsil ning töö jätkub projekti teises etapis.



Joonis 18. Ergastuse lainepikkuse sinusoidaalse moduleerimise katse skeem.



Steps:
0. Read columns of digital waveforms from file, create digital waveform.
1. Create an digital output of sample clock counter channel, and create counter input count edges channel.
2. Configure the timing for the counter.
3. Call the Start VI to start the counter output task and set the edge counting terminal.
4. Create digital output lines.
5. Configure the timing for the digital pulses..
6. Use the Write VI to generate the data values on the specified channel.
7. Poll the task to see if it is done and read the edge counter.
8. Clear the Digital Write Task.
9. After clearing the digital output task, perform one more read from the counter task to make sure you are displaying the total number of samples written. At low Sample Clock Rates, Samples Written and Final # Samples Written will be the same. At Sample Clock Rates near 1000 Hz and above, the Final # Samples Written will likely be larger than Samples Written because some samples will be written in between reading from the counter task and clearing the digital output task.
10.Clear the edge counting counter input task.
11. Create digital output lines for homing the filter.
12. Configure the timing for the digital pulses.
13. Use the Write VI to generate the data values on the specified channels.
14. Wait until done.
15. Clear the Digital Write Task.
16. Clear the sample clock counter out task.
17. Return any errors to the user in a dialog box.

4. Meie poolt välja töötatud metoodika katseline kontroll

4.1 Mudelkeskkondade laboratoorsed uuringud

Fotoluminestsentsil (kitsamas mõttes fluorestsentsil) põhineva ekspressanalüüsi meetodite väljatöötamine eeldab heit- ja looduslike vete spektraal-omaduste detailset tundmist. Sellel eesmärgil uurisime TÜ Füüsika Instituudi Laserspektroskoopia laboris erinevaid (s. h. puhastatud) heitvete proove spekrofotomeetriliste ja -fluorimeetriliste meetoditega. Analüüsid viidi läbi standardsetel, kuid heast klassist mõõteriistadel JASCO V-570 UV/VIS/NIR Spectrophotometer ja Horiba Scientific FluoroMax-4 Spectrofluorimeter.
Veeproovide valimis on esindatud ettevõtte Tallinna Vesi puhastatud heitvesi, Eesti Energia Narva Elektrijaamad AS jahutusvesi, Eesti Energia Kaevandused AS Kohtla-Järve põlevkivikaevandust välja pumbatud selitatud vesi, aga ka Molycorp Silmet AS tehnoloogiline tsentrifuugi jääklahus.

Käibetõde, et puhas vesi kujutab endast värvitut ja lõhnatud vedelikku pole päris täpne, sest juba mõne detsimeetri paksuses kihis (näit. valge põhjaga vannis) omandab vesi sinise tooni tänu punase kiirguse neeldumisele H_2O võnkumiste ülemtoonides. Samas puudub mistahes omaneeldumine ultravioletses valguses (isegi kuni 170 nm), nii et absorptsioon suurematel lainepikkustel kui 200 nm näitab lisandite olemasolu. Saavutamaks maksimaalset tundlikkust hankisime spetsiaalse 100 mm optilise teepikkusega küveti, mis mahub spektrofotomeetri objektiruumi.

Valgust neelavad lisandid võib jagada anorgaanilisteks (mineraalseteks) ja orgaanilisteks . Õnneks on enamik neist tervise seisukohast võttes kahjutud või isegi kasulikud. Demineraliseeritud vee pikemaajaline tarbimine pole ohutu. Suurimaks riskiks tervisele on bioloogiline (bakteriaalne, põhimõtteliselt ka viiruslik) ja keemiline reostus. Käesoleva projekti raames peame silmas lahustunud orgaanilist ainet (DOM, *dissolved organic matter*) ja eriti selle värvust omavat komponenti (CDOM, *coloured or chromophoric dissolved organic matter*).

Eesti üks hinnalisemaid loodusvarasid on põhjavesi, mis sisaldab väga vähe orgaanilisi ained. Teisest küljest annavad fulviin- ja humiinühendid pinnavetele kollaka või pruunika varjundi, mis viitab neeldumise olemasolule 400 nm piirkonnas. Fulviinühendeid (lad. k. *fulvus*, kollane) seostatakse bakterite elutegevusega. Nende ligikaudset koostist ja molekulmassi väljendab valem $C_{135}H_{182}O_{95}N_5S_2$. Teine ainete rühm, humiinhapped üldvalemiga $C_{187}H_{186}O_{89}N_9S_1$ ei lahustu happelises keskkonnas (pH < 2) ja omavad märgatavalt suuremat C/H aatomite suhet, mis viitab aromaatsete fragmentide olemasolule struktuuris. Nimetatud asjaolu tingib fluorestsentsi nähtavas ja lähiultravioletses spektripiirkonnas. Teiseks fotoluminestsentsi allikaks on otseselt valgulise päritoluga substantsid, mille koostisesse kuuluvad aromaatsed aminohapped trüptofaan, türosiin ja fenüülalaniin. Edasisest käsitlusest ilmneb, et looduslike ja enamike heitvete fluorestsents on spektraalselt lai (> 50 nm) ja

mittespetsiifiline. See võimaldab realiseerida projekti kandva idee, mis põhineb polütsükliliste aromaatsete süsivesinike (PAH) kitsaribalisel neeldumisel (> 10 nm).
Modulatsioonspektroskoopia printsiipe rakendades loodame tuvastada ohtlikke PAH lisandeid laiaribalise loomuliku luminestsentsi foonil, mille intensiivsus võib ületada miljon (10^6) või enamgi korda ohtlike lisandite oma.

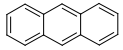
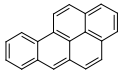
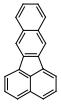
4.1.1 Veekeskkonnale ohtlike lisandite neeldumisspektroskoopia

Keskkonnaministri 9. septembri 2010. a määrus nr. 49. „Pinnavees ohtlike ainete, sealhulgas prioriteetsete ainete ja prioriteetsete ohtlike ainete ning teatavate muude saasteainete keskkonna kvaliteedi piirväärtused, pinnavees prioriteetsete ainete ja prioriteetsete ohtlike ainete keskkonna kvaliteedi piirväärtuste kohaldamise meetodid“ kehtestati «Veeseaduse» § 265 lõike 10 alusel. Tabelis 1 on ära toodud eelnimetatud määrusest võetud aromaatsete süsivesinike kontsentratsiooni lubatud piirväärtused pinnavees, mis muutuvad vahemikus 10 µg/l (benseen) kuni 0.002 µg/l benso(g,h,i)perüleeni korral. Pole huvituseta märkida, et raskemate polütsüklite lahustuvus vees on väga madal, kuid ületab siiski paari suurusjärgu võrra nende lubatud määra (0.26 µg/l B(ghi)Pe, 3.8 µg/l B(a)Py). Molaarse kontsentratsiooni, ekstinktsioonikoefitsiendi ε ja teepikkuse korrutisest leiame, et küllastatud vesilahuse optiline tihedus on isegi sptsiaalset 10 cm pikkust mõõteküvetti kasutades spektrofotomeetri tundlikkuse piiril (10^{-3} O. D. ühikut). Neeldumisspektri võimalused PAH detekteerimiseks humiin ja flaviinainete tugeval foonil on veelgi väiksemad. Seevastu Tabelist 2 nähtub, et PAH kontsentratsiooni määramine fluorestsentsi kaudu on paljulubav.

Kuna keemiliselt puhas vesi ei neela UV ja nähtavat valgust, siis erinevate veeproovide optiline tihedus annab hea ettekujutuse nendes leiduvatest lisanditest (joonis 19-22). Narva Elektrijaama jahutusvee neeldumine 1 cm kihis 200 nm juures jääb alla 0.5, mis on üllatavalt madal näitaja loodusest võetud vee kohta (joonis 19). Alles 10 cm teepikkusega küveti kasutamine tuvastab neeldumise pideva kasvu 500 nm väiksematel lainepikkustel tänu laviin- ja humiinühendite mõningale sisaldusele.

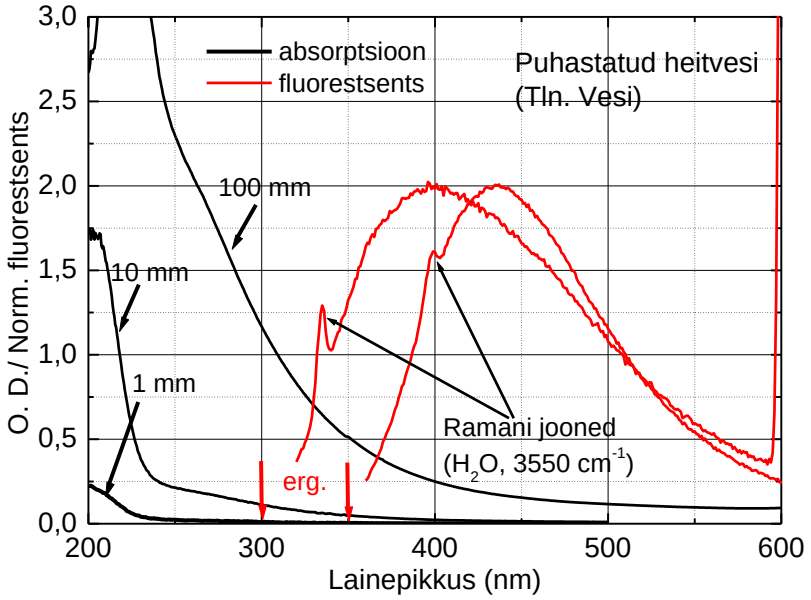
Erinevalt enamikust proovidest, mille spektrites puuduvad silmatorkavad iseärasused, omab Silmeti tehnoloogiline vesi teravalt väljendunud maksimumi 301 nm juures. Sümmeetriline riba omistatakse nitraat-anioonile. Kasutades ekstinktsioonikoefitsiendi ε väärtust 7.06 $M^{-1}cm^{-1}$, leiame NO_3^- kontsentratsiooniks 1.13 M e. ca 5%. Sellist lahust ei tohi muidugi loodusesse lasta. Kontsentreeritud kujul läheb lahus kaubaks väärtusliku lämmastikväetisena, mistõttu on haruldaste metallide tootmine Silmetis pea-aegu jäätmevaba. Tallinna Vee puhastatud heitvesi ja Kohtla-Järve põlevkivikaevanduse vesi omavad 220 nm juures optilist tihedust ~1, mis viitab orgaaniliste komponentide olemasolule, mis aga erilist ohtu keskkonnale ei kujuta. Neeldumisest oluliselt informatiivsemaid fluorestsentsi ja ergastusspektreid käsitleme järgmises peatükis.

All on toodud ülalolevas tekstis viidatud tabel ja joonised.

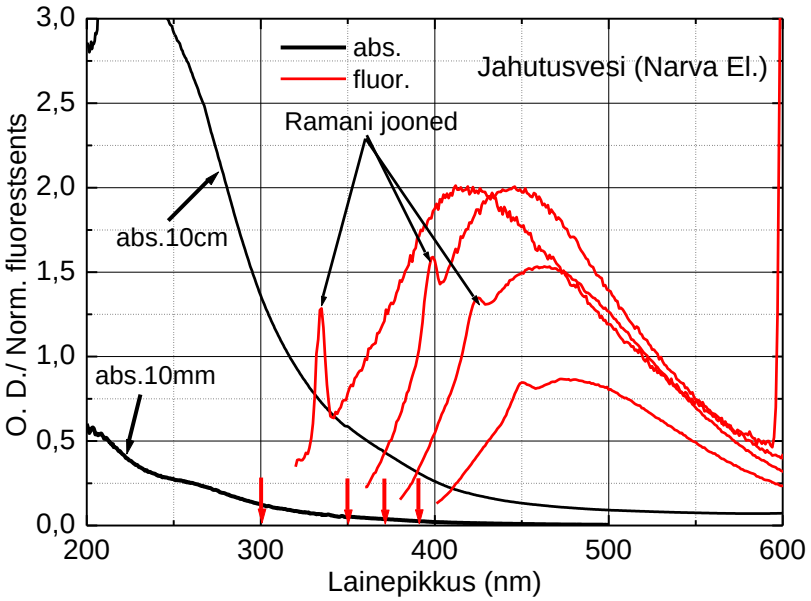
Nr.	Nimetus (sünonüüm)	Lühend	Valem	Molekul-mass (g/mol)	Piirväärtus pinnavees (µg/l)	Kontsent-ratsioon 10^{-10} (M)	ε ($M^{-1}cm^{-1}$) (λ_{max}, nm)[a]	Optiline tihedus 10^{-5} x=10 cm	Lahustuvus vees (µg/l)
2	antratseen	A		178	0.1	5.6	7400 (375)	4	73
4	benseen	B		78	10	1280	200 (260)	26	1.8×10^{6}
28a	benso(a)püreen (3,4- bensopüreen)	B(a)Py		252	0.05	2	4000(403) 27500(385)	0.8 5.5	3.8
28c	benso(g,h,i)perüleen (1,12- bensoperüleen)	B(ghi)Pe		276	0.002	0.07	500(408) 31600(388)	0.004 0.2	0.26
28d	benso(k)fluoranteen (11,12- bensofluoranteen)	B(k)Fl		252	0.03	1.2	14450(400) 56200(308)	1.7 6.7	~2(?)

Tabel 8. Veekeskkonnale ohtlike prioriteetsete ainete - benseeni ja polüaromaatsete süsivesinike - spektrofotomeetriline määramine

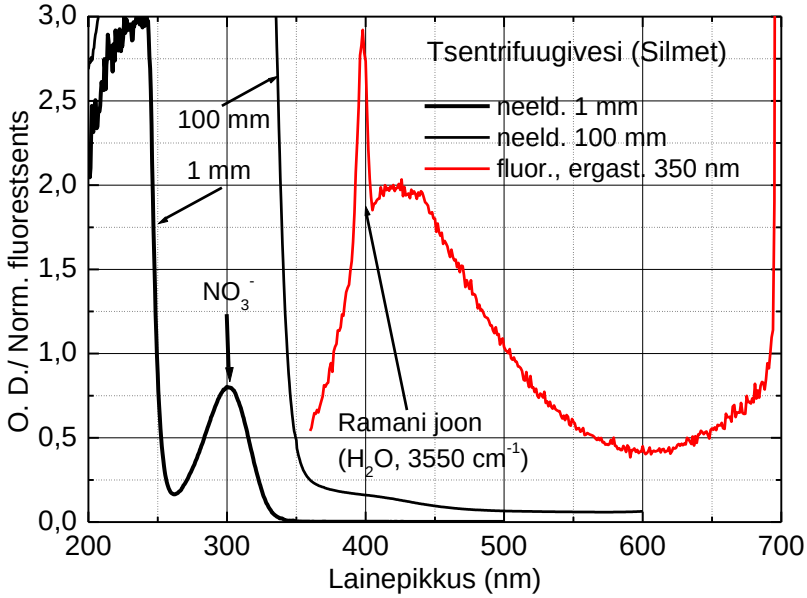
[a]ε, dekaadiline molaarne ekstinktsioonikoefitsient neeldumismaksimumis λ_{max} (etanoolis).



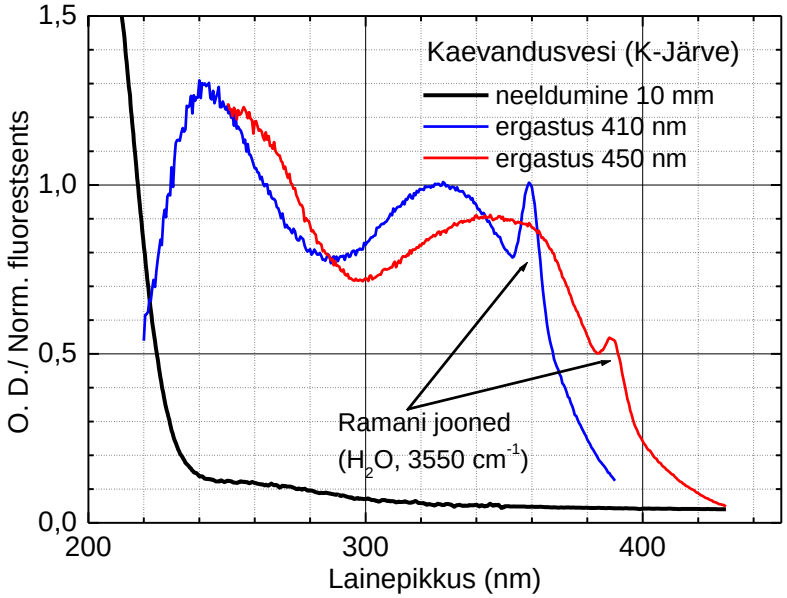
Joonis 19. Puhastatud heitvee neeldumis- ja fluorestsentsispektrid. Fluorestsentsi ergastuse lainepikkused on märgitud punaste nooltega. Neeldumine mõõdeti erinevate teepikkuste 1, 10 ja 100 mm jaoks.



Joonis 20. Narva Elektrijaama jahutusvee neeldumis- ja fluorestsentsispektrid. Fluorestsentsi ergastuse lainepikkused on märgitud punaste nooltega. Neeldumine mõõdeti teepikkuste 10 ja 100 mm korral.



Joonis 21. Haruldaste metallide sadestamise protsessis tekkiva tsentrifuugilahuse neeldumis- ja fluorestsentsispektrid. Neeldumine mõõdeti teepikkuste 10 ja 100 mm korral.



Joonis 22. Põlevkivikaevandusest väljapumbatava selitatud vee neeldumis- ja fluorestsentsi ergastusspektrid. Neeldumine mõõdeti teepikkuste 10 mm paksuses küvetis.

4.1.2 Veekeskkonnale ohtlike lisandite fluorimeetriline analüüs

Fotoluminestsentsi esmaseks aktiks on loomulikult kvandi neeldumine. Neeldumise kiiruse, s. t. molekuli poolt neelatud kvantide hulga sekundis arvutame ergastuse intensiivsuse (W/m^2) ja aine ekstinktsioonikoefitsiendist ε ($M^{-1}cm^{-1}$) põhjal (Tabel 8). Neeldumise kiirust on lihtne leida neeldumise ristlõikest ε′ (ühikuks m^2), mis on lineaarselt seotud ε Bougueri-Lamberti-Beeri seaduses optiline tiheduse D jaoks ($D = \log (I_0/I) = -\varepsilon c x$, kontsentratsioon c on antud moolides liitri kohta (M) ja küveti paksus x sentimeetrites). Sama avaldise võime kirjutada naturaallogaritmi ln kaudu, võttes c' ühikuks m^3, x' on meetrites. Näeme, et $\varepsilon' = 3.82\times10^{-25}\varepsilon$. Neeldumise kiirus k_{abs} on leitav lihtsa valemiga $1.92\lambda\varepsilon I_0$.

Näitlikustamise mõttes leiame, et B(ghi)Pe kontsentratsiooni üliväikesele piirväärtusele pinnavees 0.002 µg/l vastab 4000 molekuli 1 mm^3 ruumalas! Kuna kasutame monokromaatse valgusallikana valgusdioodi, mille intensiivsus on I_0 = 1 mW/mm^2 = 10^3 Wm^2, siis kiirgavad ruumalas 1 mm^3 asuvad 72000 meie võrdlusaine benso(k)fluoranteeni molekuli välja ca miljon kvanti sekundis (viimane tulp Tabelis 9). $^a k_{abs} = 1.92\lambda[m]\times\varepsilon[M^{-1}cm^{-1}]\times I_0[Wm^{-2}]$; I_0, ergastava valguse intensiivsus lainepikkusel λ; I_0=1 $mWmm^{-2}$=10^3 Wm^{-2}. $^b k_{fl} = k_{abs}\times\Phi_{fl}$.^{c} Fluorestsentsi kiirus ruumalast 1 mm^3 (kvantide arv, mis kiirgub sekundis lahuse 1 mm^3 ruumalast ruuminurka 4π sr).

Fluorestsentsi intensiivsuse edasiseks suurendamiseks tuleb kasutada laserergastust. Fokuseeritud laserivalguse (1 kW/cm^2) toimel tugevalt neelava molekuli korral (ε = 10^5 M^1cm^1 532 nm juures) on neeldumise kiiruseks miljon kvanti sekundis (10^6 Hz). Seejuures on süsteem ikkagi küllastusest kaugel, sest fluorestsentsi kiirus k_{fl} on suurem (~10^8 Hz) ja ülemise S_1 nivoo asustus on väike. Fluorestsentsi kiiruskonstant on kiirgusliku eluea τ_{rad} pöördväärtus. Laseri intensiivsuse tõstmisel suurendame neeldumise kiirust k_{abs}, kuid selle lähenemisel k_{fl} väärtusele fluorestsents küllastub. Ergastava valguse võimsuse edasine suurendamine ei oma mõtet.

Eelnevalt veendusime fluorestsentsanalüüsi ülisuures tundlikkuses, mis võimaldab detekteerida väikest hulka molekule, ideaaljuhul ühtainsat. Õhuhapniku manulusel on molekul enne fotokeemilist lagunemist võimeline emiteerima 10^3 -10^6 valguskvanti. Peale tundlikkusega seotud küsimuste lahendamist omandab aktuaalsuse selektiivsuse probleem. Spekter on toatemperatuuril sedavõrd lai, et mitme aine segu korral on komponentide identifitseerimine raskendatud. Joonistelt 19 ja 20 ilmneb, et fluorestsentsi maksimum sõltub ergastuse lainepikkusest. Joonisel 21 illustreeritud jahutusvee fluorestsentsiriba maksimum muutub järgnevalt (±1 nm): 440.5, 443.5, 412, 411, 424, 425 nm vastavalt ergastustel 260, 280, …, 360 nm jaoks. Selline mittehomogeensus vedelfaasis viitab kiirgurite erinevale keemilisele struktuurile. Kiirguse lainepikkuse järgi selekteeritud fluorofooride ergastusspektrid on toodud joonisel 21. Näidatud ergastusspektrid kujutavad endast 410 ja 450 nm juures kiirgavate ühendite neeldumisspektreid, mis omavad maksimume vastavalt 320 ja 350 nm juures. Seetõttu pakub nn. 2 mõõtmeline spektroskoopia, mis põhineb ergastuse ja kiirguse mõõtmisel paljudel erinevatel lainepikkustel suuri eeliseid võrreldes väheinformatiivse absorptsiooniga. Meetod on seotud suurte andmemahtude ja märkimisväärse ajakuluga, kuid on ennast õigustanud keeruliste ainesegude analüüsis, eriti keskkonnakeemias.

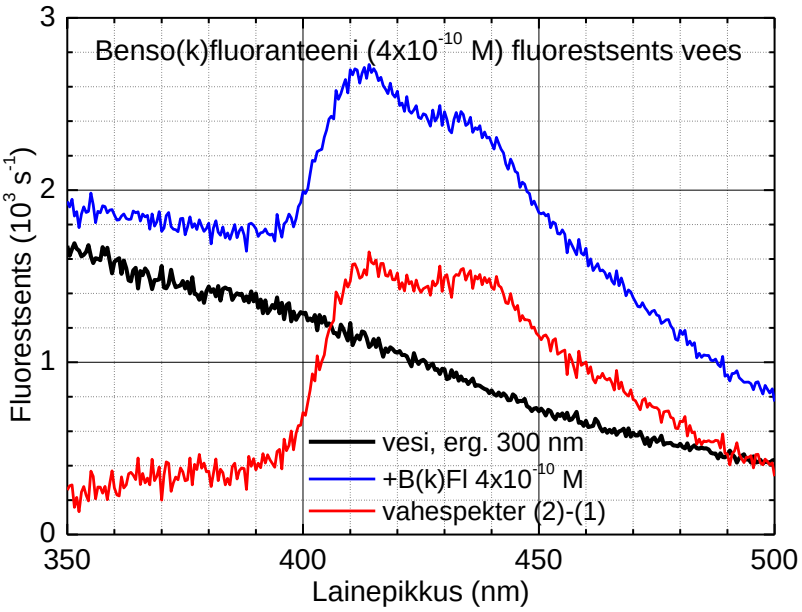
Nr.	Nimetus (lühend)	Piirväärtus pinnavees (µg/l)	Konts. 10^3 (mm^{-3})	Neeldumise kiirus k_{abs} (s^{-1})[a]	Fluorests. kvantsaagis Φ_{fl}	Fluorests. kiirus k_{fl} (s^{-1})[b]	Fluorests. kiirus 10^3 ($mm^{-3}s^{-1}$)[c]
2	antratseen (A)	0.1	336	5.3 (375 nm)	0.3	1.6	540
4	benseen (B)	10	76800	0.10 (260 nm)	0.06	0.006	460
28a	benso(a)püreen (B(A)Py)	0.05	120	3.1 (403 nm) 10 (385 nm)	0.42	1.3 4.2	160 500
28c	benso(g,h,i)perüleen (B(ghi)Pe)	0.002	4	0.4 (408 nm) 12 (388 nm)	0.38	0.15 4.6	0.6 50
28d	benso(k)fluoranteen (B(k)Fl)	0.03	72	11 (400 nm) 33 (308 nm)	1.0	11 33	790 2400

Tabel 9. Veekeskkonnale ohtlike prioriteetsete ainete - benseeni ja polüaromaatsete süsivesinike – spektrofluorimeetriline määramine

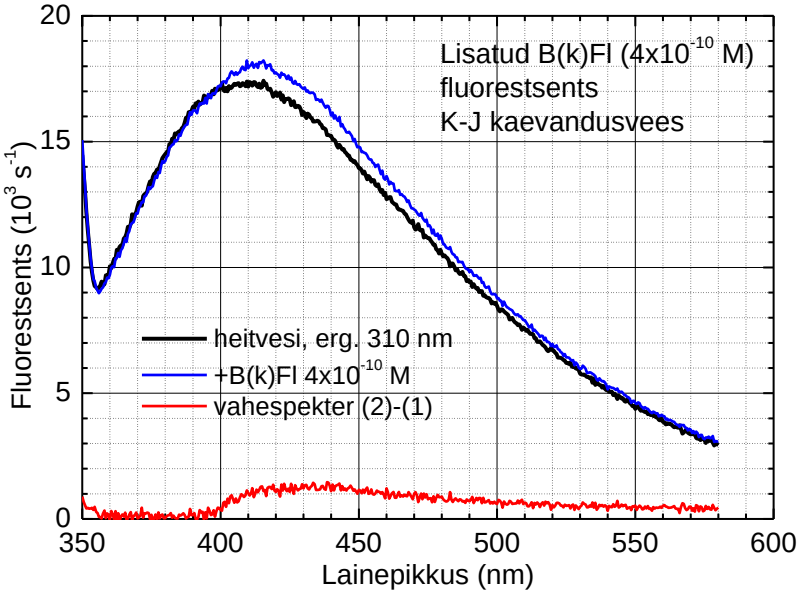
4.1.3 Polütsükliliste aromaatsete süsivesinike (PAH) spektrofluorimeetrilised mõõtmised vesikeskkonnas

Uuriti ohtlike PAH käitumist vees, lähtudes ühenditest, mida on nimetatud KM dokumendis: „Veekeskkonnale ohtlike ainete ja ainerühmade nimistud 1 ja 2 ning prioriteetsete ainete, prioriteetsete ohtlike ainete ja nende ainete rühmade nimekirjad“ (https://www.riigiteataja.ee/akt/13345270). Selle § 2 „Ohtlike ainete ja ainerühmade nimistus“ nr. 2 loetletud 10 ainete rühmast on fluorestsentsi kaudu otseselt tuvastatavad väga madalate kontsentratsioonide korral: nr. 28 all koondatud polüaromaatsed süsivesinikud: benso(a)püreen, benso(b)fluoranteen, benso(g,h,i)perüleen, benso(k)fluoranteen, indeno(1,2,3-cd)püreen. Eraldi on välja toodud individuaalsed polütsüklilised aromaatsed süsivesinikud nr. 2 antratseen, nr. 4 benseen, nr. 15 fluoranteen ja nr. 22 naftaleen. Antratseen, fluoranteen ja naftaleen on loetelus esitatud teiste, ohtlikumate polüaromaatsete süsivesinike indikaatoritena kütustes, mineraalõlides ja eriti kivisöetõrvas.

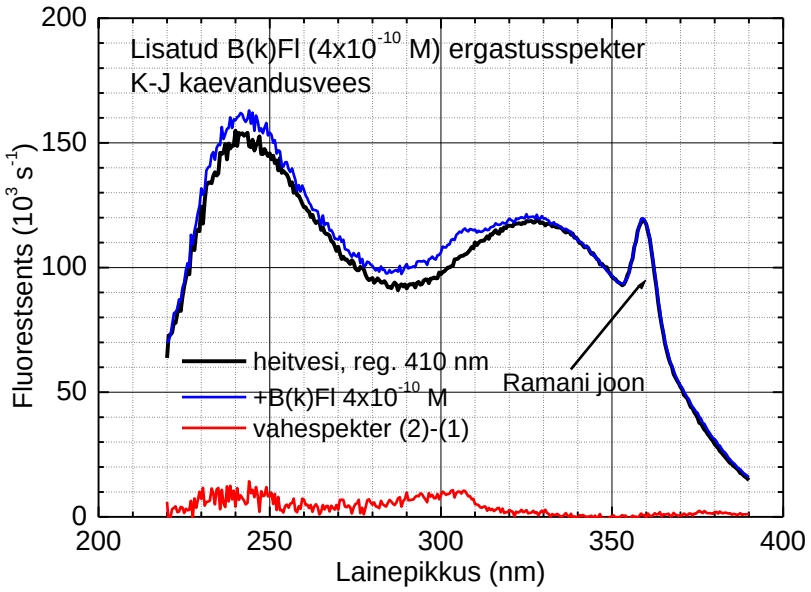
Joonisel 23 on toodud benso(k)fluoranteeni fluorestsentsi spekter destilleeritud vees kontsentratsioonil (4×10^{-10} M), mis ületab kõigest 3 korda selle ohtliku kantserogeeni lubatud piirväärtuse pinnavees. Korrigeeritud spekter saadakse pärast vee hajumisprotsessidest tingitud fooni mahalahutamisel. Vees on B(k)Fl fluorestsentsi 0-0 riba maksimum punanihkes 413 nm, võrreldes 406 nm metanoolis. Kuna H_2O ja CH_3OH murdumisnäitajad on samad, siis on nihke põhjuseks dielektrilise läbitavuse suurenemine 35 kuni väärtuseni 80. Teeme järelduse, et rolli mängib B(k)Fl dipool- ja kvadrupoolmomendi kasv ergastatud olekus.



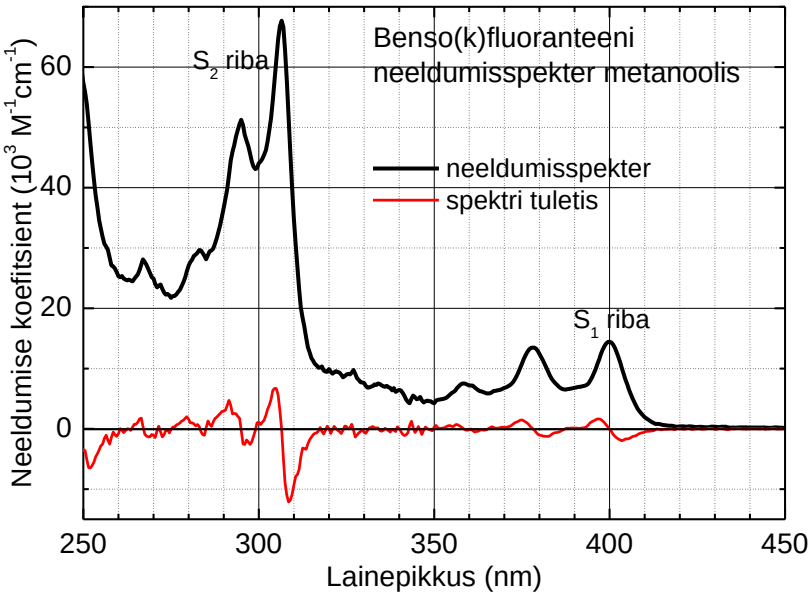
Joonis 23. Benso(k)fluoranteeni (4×10^{-10} M) fluorestsentsi spekter destilleeritud vees. Hajumisprotsessidest tingitud fooni (must joon) mahalahutamisel saadakse tõeline spekter.



Joonis 24. Põlevkivikaevandusest väljapumbatava selitatud veele on lisatud 4×10^{-10} M benso(k)fluoranteeni, mis ületab 3 korda pinnaveest lubatud piirväärtuse. Fluorestsentsi spektrid on mõõdetud ergastusel 310 nm.



Joonis 25. Põlevkivikaevandusest väljapumbatava selitatud veele on lisatud 4×10^{-10} M benso(k)fluoranteeni, mis ületab 3 korda pinnaveest lubatud piirväärtuse. Fluorestsentsi ergastusspektrid on mõõdetud registreerides 410 nm juures.



Joonis 26. Benso(k)fluoranteeni absoluutne neeldumisspekter metanoolis ja selle esimene tuletis. Neeldumiskõvera tõusu suurimate absoluutväärtuste läheduses ergastamisel on fluorestsentsi intensiivsuse modulatsioon maksimaalne.

Järgmise sammuna lisasime põlevkivikaevandusest väljapumbatavale selitatud veele 4×10^{-10} M B(k)Fl ja mõõtsime fluorestsentsi spektrid ergastusel 310 nm (joonis 24). Laiaribalise omakiirguse taustal on PAH kiirgus hästi tuvastatav. Spektri mõningane laienemine on tingitud kompleksi moodustamisest kaevandusvees sisalduvate flaviin- ja humiinühenditega. Tõestamaks, et joonisel 24 kujutatud spekter kuulub tõepoolest B(k)Fl-le, võrdleme ergastusspektreid, registreerides 0-0 fluorestsentsi 410 nm juures. Vahespektris (joonis 25) tuleb ilmsiks iseärasus, mis kuulub B(k)Fl intensiivsele teisele elektronsiirdele (võrdle joonis 26).

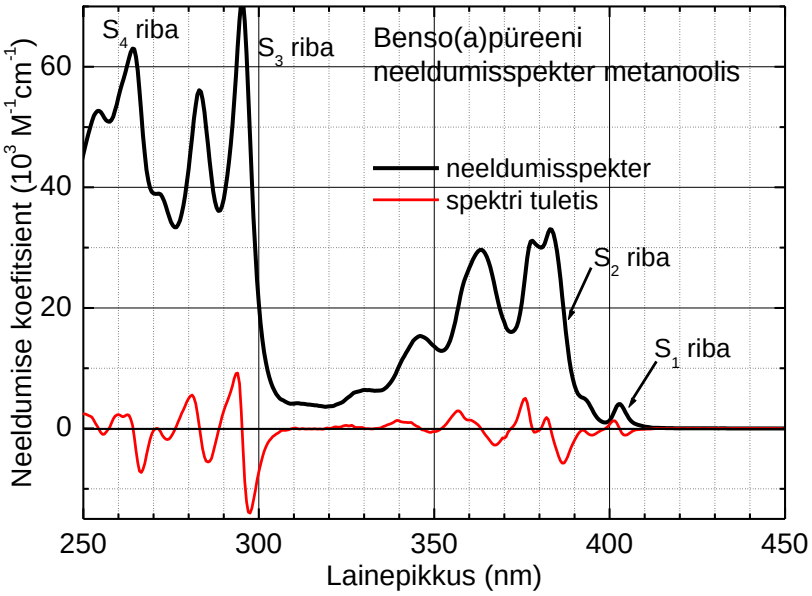
Alapunkti kokkuvõtteks võib öelda, et reas metanool – puhas vesi – looduslik vesi toimub märkimisväärne fluorestsentsspektri laienemine ja nihe. Vastav efekt on vähem märgatav neeldumisspektrite korral. Emissiooni suurem tundlikkus ümbritseva keskkonna suhtes viitab elektriliste momentide suurenemisele ergastud olekus. Emissiooni korral on lähteolekuks ergastatud seisund, mille tekitatud lokaalsed multipolaarsed reaktsiooniväljad põhjustavad spektri nihet ja laienemist. Kuna projekti kandvaks ideeks on ergastava valguse lainepikkuse moduleerimine, siis mängib fluorestsentsi tundlikkus solvendiümbruse suhtes õnneks teisejärgulist rolli.

5. Fluorestseeruvate saasteainete detekteerimise selektiivsuse tõstmise meetod: ergastuse ja fluorestsentsi detekteerimise lainepikkuste topeltmoduleerimine

5.1 Modulatsioonspektroskoopial põhinev veesaaste automaatsond

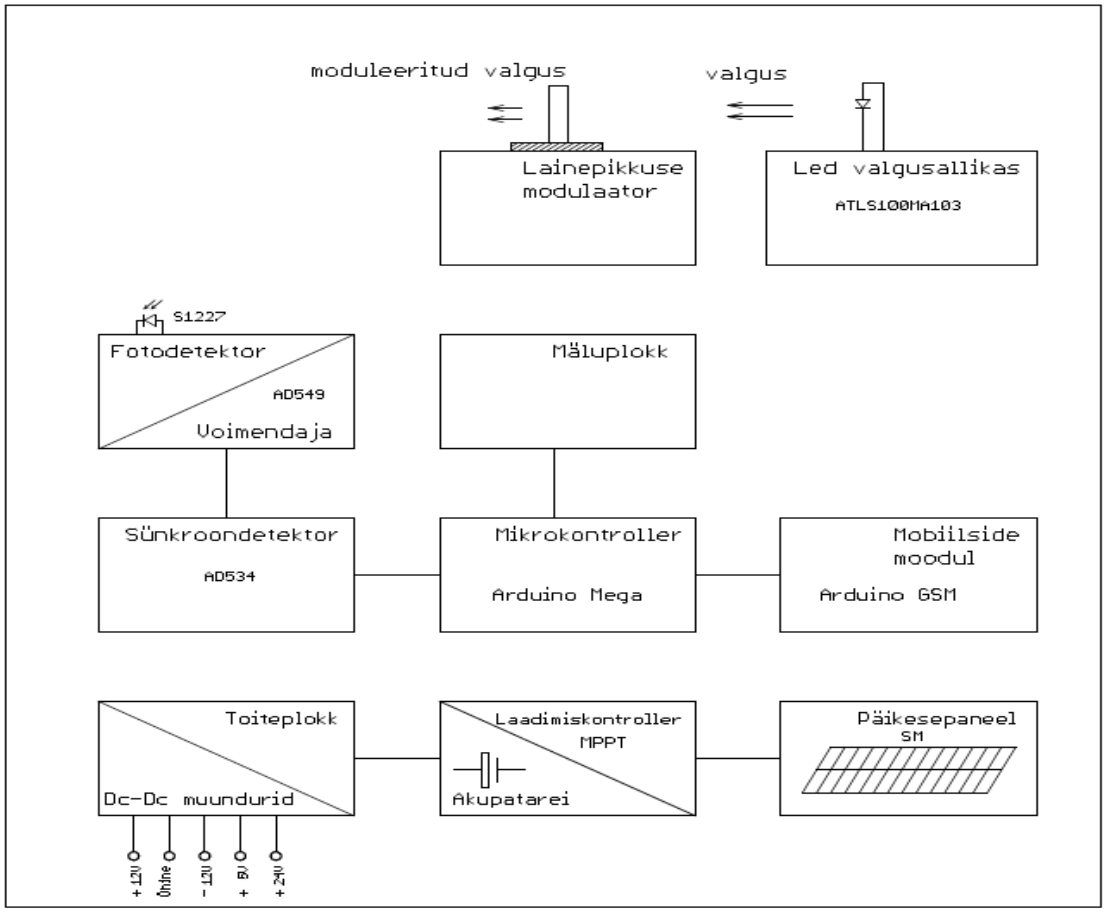
Eelnevast selgub, et kantserogeensete PAH fluorestsents on hõlpsasti mõõdetav nende veel lubatud madalate piirväärtuse korral pinnavetes. Reostusainete eristamiseks lähtume asjaolust, et PAH neeldumisribad on suurusjärgu võrra kitsamad kui enamiku teiste fluorestseeruvate komponentide siirded. Ergastame fluorestsentsi vaheldumisi kahe kiirega, mille lainepikkus on veidi (1 nm võrra) erinev. Sellega kaasnev fluorestsentsi intensiivsuse modulatsioon sõltub neeldumiskõvera tõusust. Neeldumise suurima muutumise kohad, kus esimene tuletis saavutab ekstremaalse väärtuse (miinimum või maksimum) on iseloomulikud neelajale (kromofoorile) ja seda sageli enamal määral, kui neeldumise maksimumid.

Joonistel 26 ja 27 on esitatud vastavalt benso(k)fluoranteeni ja benso(a)püreeni absoluutne neeldumisspekter metanoolis ja selle esimene tuletis. Neeldumiskõvera suurima tõusu kohtade läheduses ergastamisel saavutatakse fluorestsentsi intensiivsuse maksimaalne modulatsioon. B(k)Fl korral on parem kasutada S_1 riba pikalainelist serva 405 nm juures, kus tuletise väärtus on ~-2000, samas kui B(a)Py korral oleks tundlikkus veidi suurem "sinises" servas 402 nm juures - ~+1000. Ilmselt on kitsaste sümmeetriliste 0-0 ribade korral on nii tõusu kui languse piirkonnad sarnasel määral kasutatavad. Paljulubav on intensiivsete kõrgemate siirete ergastamine lähedases ultravioletis (300 nm), kus tuletise väärtus ületab $|10^4|$.



Joonis 27. Benso(a)püreeni absoluutne neeldumisspekter metanoolis ja selle esimene tuletis. Neeldumiskõvera tõusu suurimate absoluutväärtuste läheduses ergastamisel on fluorestsentsi intensiivsuse modulatsioon maksimaalne.

5.2 Automaatsondi elektroonika plokskeem



Joonis 28. Seadme elektrooniline skeem.

Seadme elektrooniline plokkskeem on kujutatud joonisel 28. Funktsionaalsuse seisukohast on seadme tähtsaimaks osaks on kitsaribaline interferentsfilter, mis valib LEDi spektrist vajaliku lainepikkusega kiirguse, mille poolt ergastatud saasteainete fluorestsentsi registreeritakse fotodioodiga sünkroonselt ergastuse modulatsiooniga (sünkroondetekteerimine).

LED saab toite madala müratasemega stabiilsest vooluallikast. Lainepikkuse modulatsiooni ja fluorestsentsi sünkroondetekteerimist juhib mikrokokontrolleri moodul ARDUINO Mega. Suhteliselt laiast (30 nm) LEDi valgusest selekteeritakse spektraalselt kitsas (poollaiusega 1 nm) ergastuskiir spetsiaalse interferentsfiltriga. Filtri läbilaskvuse lainepikkust on võimalik muuta filtri kallutamisega pealelangeva kiire suhtes. Filtri perioodilise kallutamise ülesannet täidab kontrolleri poolt juhitav samm-mootor, mille võllile filter on kinnitatud. Fluorestsentsi detektoriks kasutame räni fotodioodi koos võimendiga samas korpuses. Registreeritud signaal suunatakse sünkroondetektorisse (*lock-in detector*), mis on realiseeritud neli-kvadrant (*four-quadrant*) korrutaja baasil. Samasse suunatakse mikrokontrollerist valguse lainepikkuse muutumisega sünkroonis olev sinusoidaalne signaal. Korrutaja väljundis saadakse välisvalguse muutustele immuunne signaal, mille tugevus on võrdeline otsitava aine kontsentratsiooniga. Meie digitaalsel ajastul on võimalik sünkroondetekteerimist teostada otse mikrokontrolleris numbriliselt. Vastav ajas sinusoidaalselt muutusv numbrite jada on juba olemas lainepikkuse modulaatori juhtimiseks. Tulemused salvestatakse ja saadetakse pakettidena Arduino mobiilside mooduli ja GSM võrgu vahendusel keskserverisse. Seadme autonoomsuse tagab akutoide, mille laadimiseks kasutatakse päikesepaneele. Seadme tööks vajalikud toitepinged formeeritakse toiteplokis.

6. Tulevikuplaanid

Julgustavad tulemused, mis on saadud laboris, ei pruugi kindlasti olla nii ühetähenduslikud reaalses elus ja välitingimustes. Sellepärast on meil plaanis kindlasti viia läbi katseid ka reoveega, mille proovid me võtsime Eesti veesaasteriskiga ettevõttete väljavooludest (näiteks Eesti Energia Narva elektrijaamast, Estonia kaevandusest ja mujalt). Ja kuna praegusel hetkel ei ole meie mõõtmissüsteem nii kompaktne ja lihtne kui tahaks, siis me mõtleme ka selle peale, kuidas võiks seda kõige paremini täiustada. Näiteks statsionaarse *lock-in* võimendi asemel planeerime kasutada palju väiksemat seadet, mis baseerub neli-kvadratuursesel analoogkorrutil (mikroskeem MC1496) ja on funktsionaalselt peaaegu sama võimekas. Selle ülesandeks on väljundis tekitada moduleeritud sisendsignaali ja valgust moduleeriva signaali (ristkülik-funktsioon väärtustega +1 (samas faasis signaaliga) ja -1 (vastasfaasis signaaliga)) korrutis. Tulemusel saadakse fotodioodile langeva moduleeritud signaaliosaga võrdeline alalispinge. Nimetatud analoogkorruti paistab silma suure tundlikkuse ja laia dünaamilise diapasooni poolest. Tundlikkuseks on 3,0 μV ja dünaamiline diapasoon on 90 dB ehk enam kui 4 suurusjärku. Analoogkorruti väljundsignaal suunatakse instrumentaalvõimendisse, mille pingevõimendustegur on reguleeritav vahemikus 1 – 1000. Edasi järgneb *sample-and-hold* funktsiooni omav numbriline voltmeeter.

Lõpptulemuseks me soovime ehitada anduri prototüübi, mis oleks kompaktne, odav ja võimaldaks teha mõõtmisi välistingimustes ja reaalajas. Selleks oleks vaja projekti finantseerimist pikendada aasta võrra nii nagu see oli ette nähtud projekti esialgses taotluses.

7. Kokkuvõte

Käesolevas aruandes on kirjeldatud heitvete ja looduslike vete seisundi seire sensori väljatöötamiseks tehtud eeltöid. Detekteerimiseks otsustati kasutada fluorestsentsil põhinevat metoodikat, mis on eriti sobiv polütsükliliste aromaatsete süsivesinike ja õlireostuse avastamiseks. Tööde käigus ja varasemate kogemuste arvesse võtmisel selgus vajadus tunduvalt tõsta fluorentsentsmetoodika selektiivsust. Me pakkusime välja mitu erinevat selektiivsuse tõstmise versiooni, mis põhinevad otsitavate ainete neeldumis ja fluorestsentsi spektrite omaduste kasutamisel. Kuna fooni kiirgus on spektraalselt lai, saab kitsast vibroonset struktuuri omavaid polütsüklilisi süsivesinikke tuvastada juhul, kui nende kiirgus moodustab vaid murdosa registreeritud emissioonist. Metoodikate olemuseks on ergastava valguse lainepikkuse modulatsioon ja saadavate signaalide faas-lukustatud võimendiga detekteerimine.

8. Tänuavaldused

Projekti täitjad on tänulikud Keskkonnaministeeriumile projekti taotluse positiivse hindamise ja rahstamisettepaneku eest.

Projekti täitjad on tänulikud Keskkonnainvesteeringute Keskusele projekti rahastamise eest

9. Kirjandus

1. „PAH RICH OIL RESTRICTION“, European Tyre and Rubber manufacturers assotiation, http://www.etrma.org/activities/chemicals/reach/pah-rich-oil-restriction-2
2. EU Compilance for the Tyre Industry, CIRS, http://www.cirs-reach.com/tyre/tyre_reach_flyer.pdf
3. Corrigendum to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC (OJL 396, 30.12.2006), European Commission, http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006R1907:20130701:EN:PDF
4. Commission Regulation (EC) No 1881/2006, European Comission, http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006R1881:20100701:EN:PDF
5. Commission Regulation (EC) No 333/2007, European Comission, http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32007R0333:EN:NOT
6. Donata Lerda, „Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Factsheet“, JRC Technical Notes, (2010), http://irmm.jrc.ec.europa.eu/EURLs/EURL_PAHs/about_pahs/Documents/JRC%2060146_Factsheet%20PAH_3rd%20edition.pdf
7. Päivi Aakko, Tiina Harju, Markku Niemi, Leena Rantanen-Kolehmainen, „PAH CONTENT OF DIESEL FUEL AND AUTOMOTIVE EMISSIONS“, VIT Research report No. VTT-R-155-06, (2006), http://www.vtt.fi/inf/julkaisut/muut/2006/VTT-1155-06-AROM.pdf
8. Daniela M. Pampanin, Magne O. Sydnes, „Polycyclic Aromatic Hydrocarbons a Constituent of Petroleum: Presence and Influence in the Aquatic Environment”, http://www.intechopen.com/books/hydrocarbon/polycyclic-aromatic-hydrocarbons-a-constituent-of-petroleum-presence-and-influence-in-the-aquatic-en
9. „EU legislation: PAH in extender oils and tyres“, CBI Ministry of Foreign Affairs of the Netherlands, http://www.cbi.eu/system/files/marketintel/2012_eu_legislation_pah_in_extender_oils_and_tyres.pdf
10. G. Grimmer, J. Jacob, K.-W. Naujack, „Profile of the Polycyclic Aromatic Compounds from Crude Oils“, Fresenius Z. Anal Chem (1983), 314:29-36.
11. Ilechukwu Ifenna, Leo C. Psuji, „CHARACTERISATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHS) IN ROAD PAVING ASPHALT“, University of Port Harcourt, (Eur. Chem. Bull. 2013, 2(4),188-189), 196-701-1-PB.pdf
12. Jacques Denis, J. Briant, Jean-Claude Hipeaux, „Lubricant Properties Analysis and Testing“, http://books.google.ru/books?id=GpAO5dGXN60C&pg=PA48&lpg=PA48&dq=PAH+c

ontent+in+gasoline&source=bl&ots=maizOtFFhh&sig=JHB-oqS6JO7Ik1fR34yzZIvUmVs&hl=ru&sa=X&ei=kM-VUsTkCeq3yQOzp4GAAg&ved=0CCgQ6AEwADgU#v=onepage&q&f=false

13. Shui-Jen Chen, Wei-Jain Jian, Y-Chu Huang, Chu-Chin Hsieh, Meei-Fang Shue, Bai-Luh Wei, „PAHs and Aerosol Carbons in the Exhaust of a Gasoline Powered Engine“, Aerosol and Air Quality Research (Vol. 1, No.1, pp 57-67, 2001), http://aaqr.org/VOL1_No1_June2001/6_AAQR-01-06-OA-0006_57-67.pdf
14. Andres Christensen, „POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN EXHAUST EMISSIONS FROM MOBILE SOURCES“, Department of Analytical Chemistry Stockholm University, 2003, http://www.anchem.su.se/downloads/diss_pdf/a_christensen_diss2003.pdf
15. Looduslike ja heitvete omaduste ja analüüsi kohta on olemas ammendav andmebaas, mis põhineb Ameerika Keemiaühingu ajakirjades avaldatud kõrgetasemelistele teaduspublikatsioonidele.
    [1] WATER: More than 8,000 articles on the chemical and physical properties of natural waters and seawater; chemical analysis of natural waters, seawater, wastewater, and surface sediments.
    http://c.acs.org/ccnfv/542644/0/129101/24153/0/D/0/0/yers.html

Lisa 1. Ergastamise ja fluorestsentsi tuvastamise optilis-tehnilised eripärad

Eesmärk

Fluorestseeruvate saasteainete tuvastamiseks saastevees fluorestsentsi mõõtmise teel on vajalik konstrueerida optiline mehhanism, mis lubaks ergastamise läbi viia väga kitsas lainepikkuste vahemikus tolerantsiga kuni 0.5 nanomeetrit ja detekteerimise faasis koguda infot fluorestsentsimaksimumide ümbruses. Sealjuures ergastamise lainepikkust on vajalik ajas muuta ca 2 nanomeetri ulatuses.

Võimalused

Valgusdioodi valgusallikana kasutamine

Valgusdioode (edaspidi LED) on võimalik osta vajalike lainepikkuste ümbruses suhteliselt kitsa spektraallaiusega (ligikaudu 35nm). LED-i eelisteks on madal hind ja väikesed mõõtmed ning kättesaadavus. LED-i puuduseks antud spetsiifika jaoks võrreldes laseriga on suur spektraallaius ja mittekollimeeritud valgusvihk. Nendest puudustest ülesaamiseks on vajalik valgusvihk kollimeerida ning spektrist eraldada vajalik lainepikkuste vahemik.

Valgusdioodi valgusvihu kollimeerimine

LED-i valgusvihk hajub küllaltki suure nurga all. Selleks, et LED-i saaks kasutada difraktsioonivõre või interferentsfiltriga tuleb kiirte kimp kollimeerida. Kollimeerimiseks kasutasime komposiitläätse fotoaparaadi objektiivist fookuskaugusga 5.25 sentimeetrit. Katsed tavaliste läätsedega ei andnud häid tulemusi tänu suurtele optilistele ja geomeetrilistele aberratsioonidele.

Lisaks on LED-idel sageli valgusvihu kontsentreerimiseks läbipaistvast materjalist valatud kumer kuppel optilise telje sihis, mis negatiivse efektina lisab valgusele optilisi aberratsioone. Mitmed üritused kollimeerida LED-e originaalseades ebaõnnestusid. Selleks, et LED-i kasutada meid huvitavas optilises skeemis pidime kasutatavatelt LED-idelt eemaldama võimalikult suure osa neile kuuluvast optilisest keskkonnast. Lõikasime LED-idel maha kupli ja lihvisime saadud pinna siledaks. Lihvimiseks kasutasime optiliste kiudude lihvimiseks ette nähtud abrasiivpaberite komplekti. Kõige väiksem saavutatav karedusaste oli 0.3 mikromeetrit.

Tulemuseks saime LED-id, mis hajutavad valgust ühtlaselt. Sellist valgust on võimalik edukalt kollimeerida.Arvestades seadme väljatöötamise spetsiifikat ning juba kasutusele võetud fiibritega saadud kogemusi kaalusime ka võimalust valgust kollimeerida optiliste fiibrite otsa kinnitatavate gradientläätsedega. Selline optiline tee lihtsustaks seadme ehitust ja suurendaks töökindlust.

Valguse juhtimine

Seoses LED-ide kasutusvõtmisega osutub problemaatiliseks valguse efektiivne transport. Erinevalt laserist kiirgab LED valgust laia ruuminurka, millest tulenevalt pole valgus kollimeeritud ning valgustugevus märklaual väheneb märgatavalt LED-ist kaugenedes. Eelpool kirjeldatud kollimeerimistehnika komposiitläätsedega on üks võimalus valguse efektiivseks transpordiks. Alternatiivne võimalus on valgust transportida optiliste fiibritega. Fiibritel on mitmeid eeliseid läätsede ja/või peeglite ees:

- valguse teed saab lihtsalt ümber takistuste juhtida;
- fiiber võtab vähe ruumi;
- fiibrid on odavad

Valgusdioodist vajaliku lainepikkuse eraldamise võimalused

Interferentsfilter

Valmistatakse ribapääs-, ribatõkestus- kõrgpääs-, madalpääsfiltreid ja mitmeribalisi tõkestavaid või läbilaskvaid filtreid. Interferentsfiltri olulised eelised on järsk riba tõusu-ja langemisnurk ning suur optiline tihedus. Kuna interferentsfiltri kallutamisega valgusvihu suhtes on võimalik riba asukohta lainepikkuste skaalas muuta, siis on võimalik ka ergastatavat lainepikkust sellise filtriga moduleerida. Kasutades kahte ribaläbilaskvat interferentsfiltrit, millede ribad kattuvad, on võimalik kahe filtri samaaegse kallutamisega nihutada läbilaskvusriba mõne nanomeetri ulatuses. Vastavaid filtreid pakuvad mitmed firmad nagu ThorLabs, Chroma, Semrock jt.

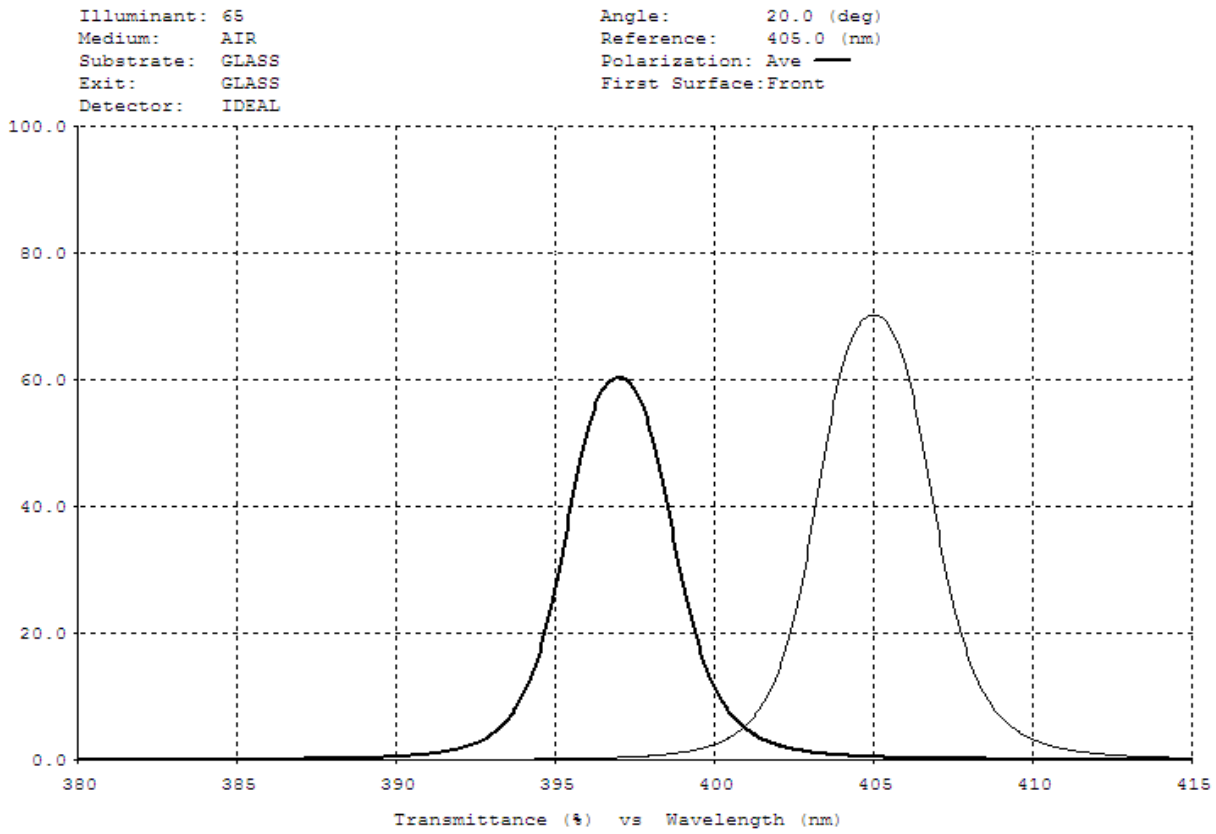
Tavalise interferentsfiltri üheks puuduseks on selle valguse läbilaskvuse sõltuvus kallutusnurgast. Me võime kaotada läbiaskvust peaaegu üldse, kui me soovime läbilaskvusmaksimumi suures ulatuses kallutamisega muuta. Kuid leidub ka filtreid, mis ongi ette nähtud riba asukoha muutmiseks kallutamise teel.

Firma Semrock valmistab spetsiaalseid filtreid seeriast VersaChrome, mille läbilaskvus sõltub vähe kallutusnurgast ja mis lubavad läbilaskvuse lainepikkust muuta suures vahemikus, kuni 60 nanomeetri ulatuses. Lainepikkuste muutus pööramisel 1 nm 1,5 kraadi on suur võrreldes tavaliste interferentsfiltritega. VersaChrome seeria filtrid on kallimad kui tavalised interferentsfiltrid. Hinnaklass on ligikaudu 500 eurot, ehk kaks korda rohkem kui tavalised interferentsfiltrid.

Seni käsitletud interferentsfiltrid on piisava selektiivsuse saavutamiseks kasutatavad paaris, kusjuures ribad kattuvad ligikaudu 10% ulatuses. Kallutamise teel on võimalik täpselt paika panna kahte filtrit läbiva valguse ribalaius. Sealjuures võivad filtrid olla nii ribatõkestavad filtrid või ribapääsfiltrid.

Vajalik ribalaius on võimalik saavutada ka ühe filtriga. Näiteks firma Omega Optical filtri XCC405-3 parameetrid on järgmised: FWHM = 3 nm, läbilaskvus maksimumis >65% ja optiline tihedus väljaspool läbilaskvusribaon > 5. Filtri läbilaskvusmaksimumi lainepikkust

saab nihutada lühemate lainepikkuste suunas kallutamisega (vt joonis 29), kusjuures läbilaskvus maksimumis mõnevõrra väheneb. Selle filtri hind on 200 eurot.



Joonis 29. Interferentsfiltri XCC405-3 (Omega Optical) läbilaskvusriba nihkumine 8 nm võrra 405 nm-lt 397 nm-ni filtri kallutamisel 20 kraadi võrra (tootja andmed).

Difraktsioonivõre

Valguse lainepikkuste selekteerimiseks saab kasutada difraktsioonivõret. Kuna difraktsiooninurk sõltub lainepikkusest, saab difraktsioonivõrele langeva valguse lahutada spektriks ja sealt välja valida sobiva ulatusega lainepikkuste vahemiku. Difraktsioonivõre puuduseks on suur valgusekadu ja piisava spektraalse lahutuse saamiseks vajalikud pikafookuselised läätsed või nõguspeeglid, mis kokkuvõttes suurendavad võimaliku seadme mõõtmeid. Suureks eeliseks on võimalus välja valida laiaribalise valgusallika spektrist kõik seadmes vajalikud spektraalribad. Lainepikkuse modulatsiooni saab siin teha nii difraktsioonivõre pööramisega kui ka valguse vastuvõtja nihutamisega piki spektrit.

Oma katsetes kasutasime reflektorvõret , mille võresamm oli 1200 joont millimeetri kohta. Kollimeeritud LED-ide valgus suunati difraktsioonivõrele. Kõige efektiivsem valguse difraktsioon oli jälgitav ühel pool difraktsioonitasandit esimeses difraktsioonijärgus. Difrageeritud valgust koondasime komposiitläätsega ja kogusime optiliste fiibritega läätse fookuses (f = 25 cm). Fiibri ava oli läbimõõduga 1mm ja asus võrest efektiivselt 46 cm kaugusel. Arvutuslik lahutusvõime tuli 1 nanomeeter.

Ruumiline difraktsioonivõre

Firma OptiGrate valmistab nn kolmemõõtmelisi Braggi võresid. Tootja andmetel on sellistel võredel väga hea valguse difraktsiooni efektiivsus, ületades 90% piiri. Spektraallahutus on sellistel võredel väga hea, ulatudes kuni 0.02 nm.

Akusto-optiline modulator

Akusto-optiline modulaator on seade, mis tekitab helilainete abil optilises keskkonnas tihedusjaotuse vastavalt seisulaine omadustele aines. Tiheduse muutusele optilises keskkonnas vastab tavaliselt murdumisnäitaja muutus. Tihedam ala on reeglina suurema murdumisnäitajaga. Akustiline seisulaine tekitab aines perioodilise murdumisnäitaja muutuse, mis toimib difraktsioonivõrena.

Akustiline vibratsioon kutsutakse esile piesoelektrilise efektiga kristallis või välise täituriga. Akusto-optiline modulaator võimaldab muuta valitud nurka difrageerunud valguse lainepikkust vastavalt seisulainet esile kutsuva elektrisignaali sagedusele. Selline põhimõtteskeem võimaldab elektrooniliselt ergastava valguse lainepikkust valida.

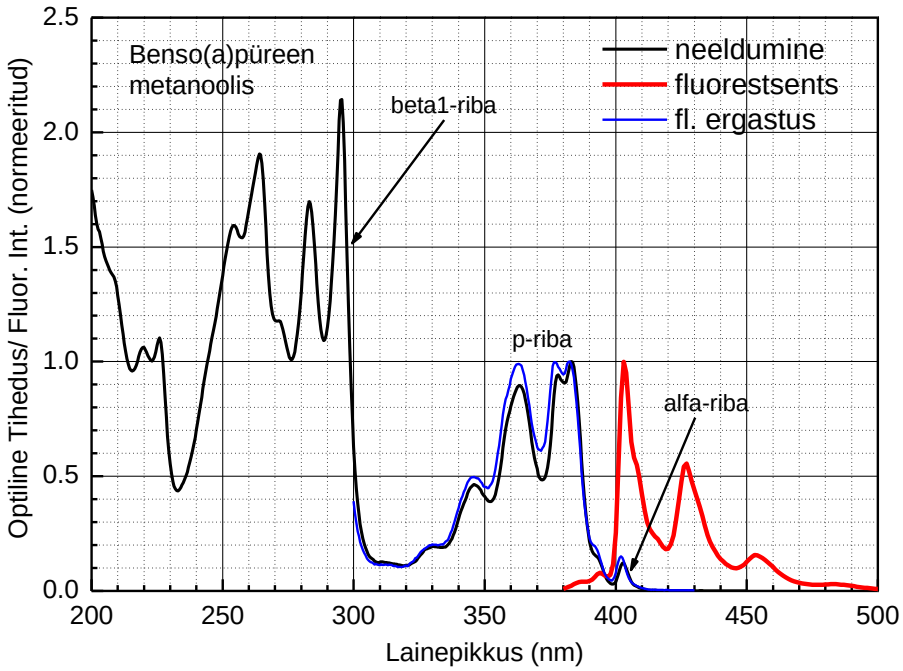
Katsetasime modulaatoriga, mille akustiline resonantssagedus oli 80 megahertsi ja optiliseks keskkonnaks oli flintklaas. Sellise modulaatori efektiivne võresamm on 20 joont millimeetri kohta 80 megahertsise sageduse juures, mis osutus ebapiisavaks vajaliku spektraallahutuse saamiseks.

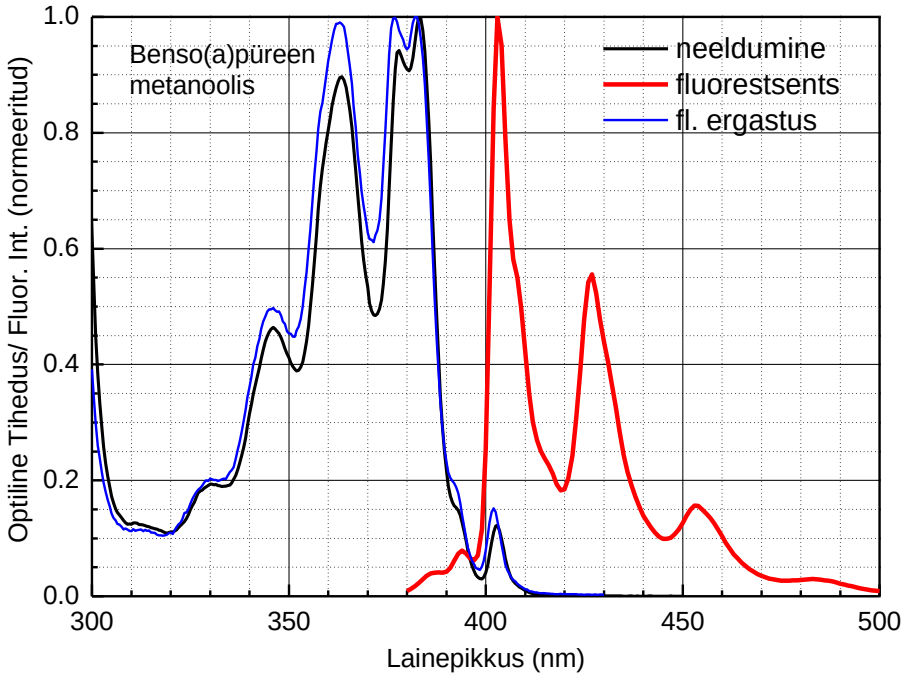
Paremaid tulemusi võiksid anda teistsugusest optilisest materjalist modulaatorid. Võimalikud variandid TeO2, räni jt kristallid. Võimalikud efektiivsed võresammud ulatuvad 100 jooneni millimeetri kohta.

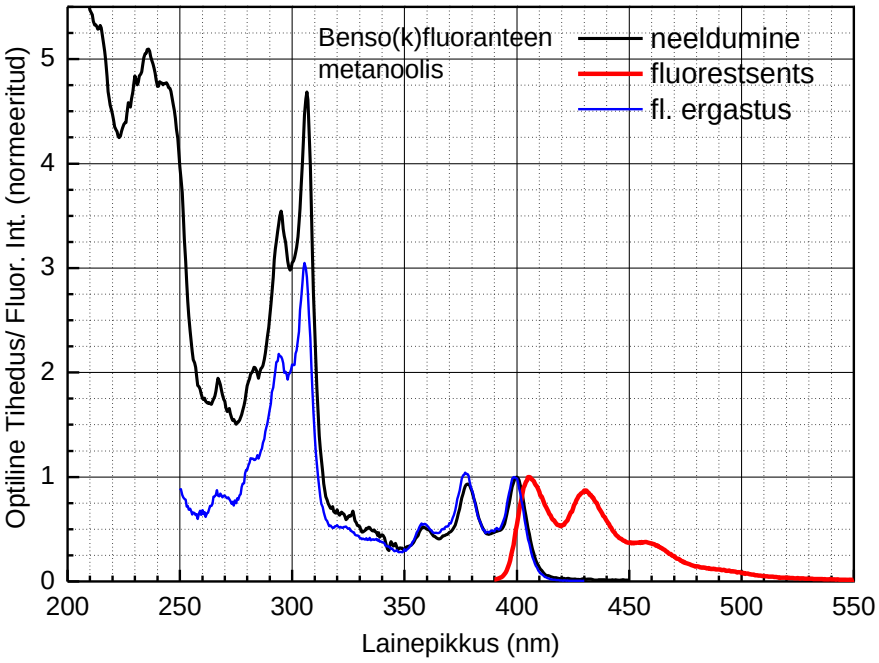
Pooljuhtlaseri kasutamine valgusallikana

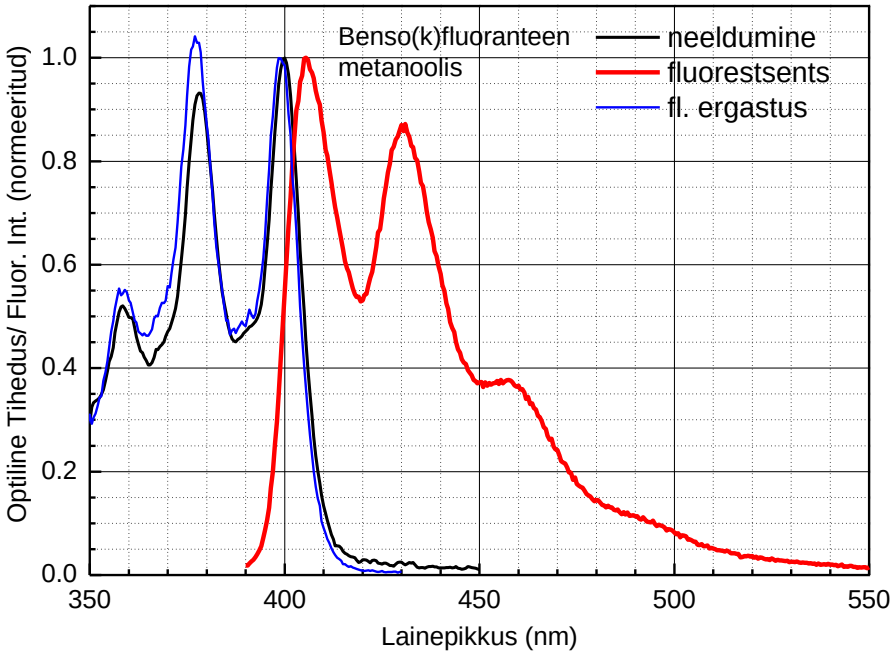
Kuna meil on vaja ergastada ainet kindlatel lainepikkustel, siis üheks võimaluseks on kasutada selleks pooljuhtlasereid. Nende suureks eeliseks on kitsaribaline ja kollimeeritud valgus, mis võimaldab meil vabaneda ergastuse spektraalse selektiivsuse süsteemidest ja lihtsustab seadet. Puuduseks on aga kõrge hind - sõltuvalt tootjast 2000 kuni 4000 eurot ühe laseri kohta, kuna peaaegu ei leidu seeriatootmises vajalike lainepikkustega lasereid. Teiseks puuduseks on asjaolu, et lainepikkuste moduleerimine on raskesti teostatav ja kitsas lainepikkuste vahemikus (umbes 5 nm).

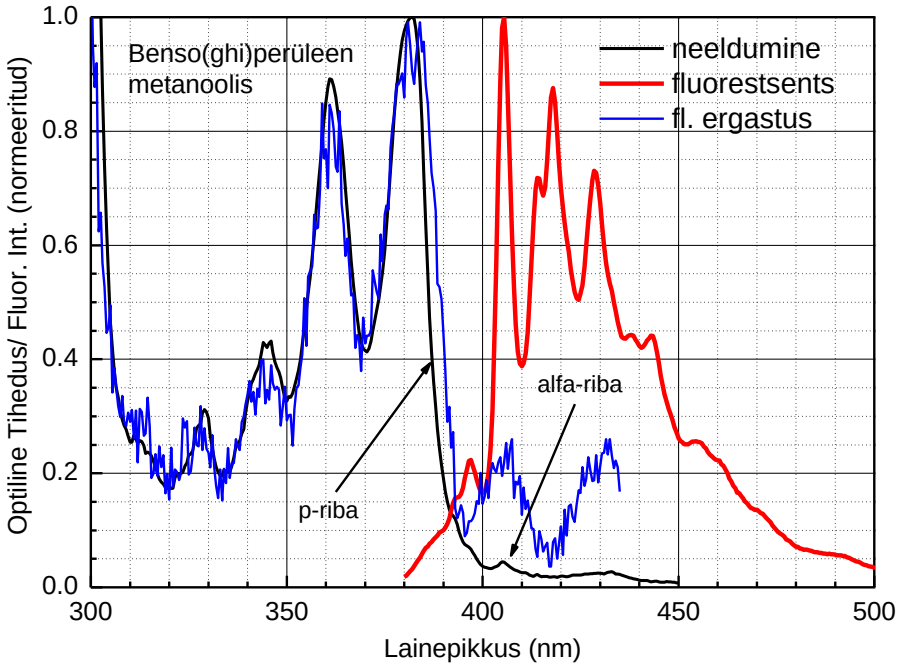
Lisa 2. Polütsükliliste aromaatsete süsivesinike neeldumis-, ergastus- ja kiirgusspektrid

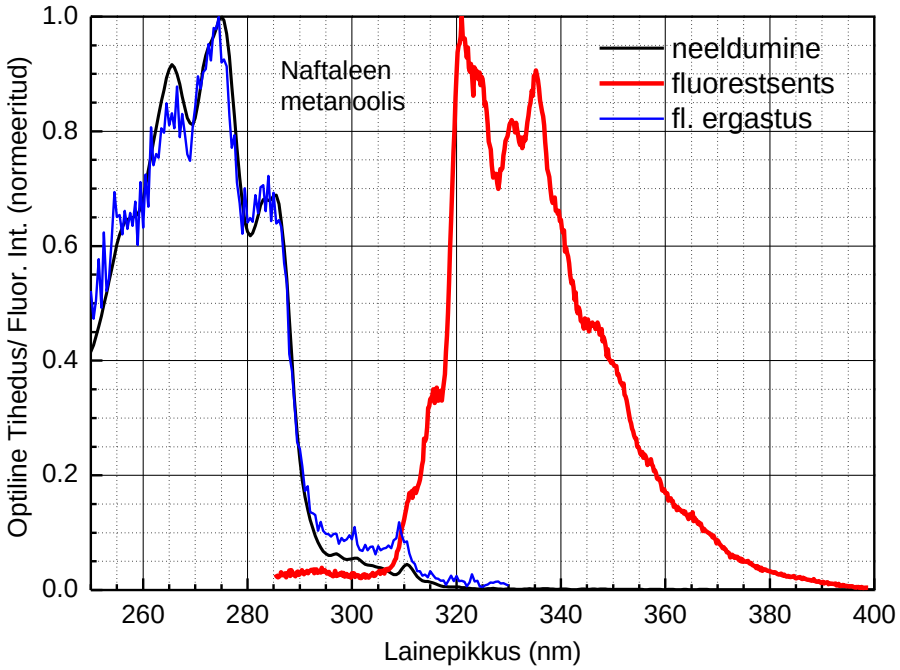


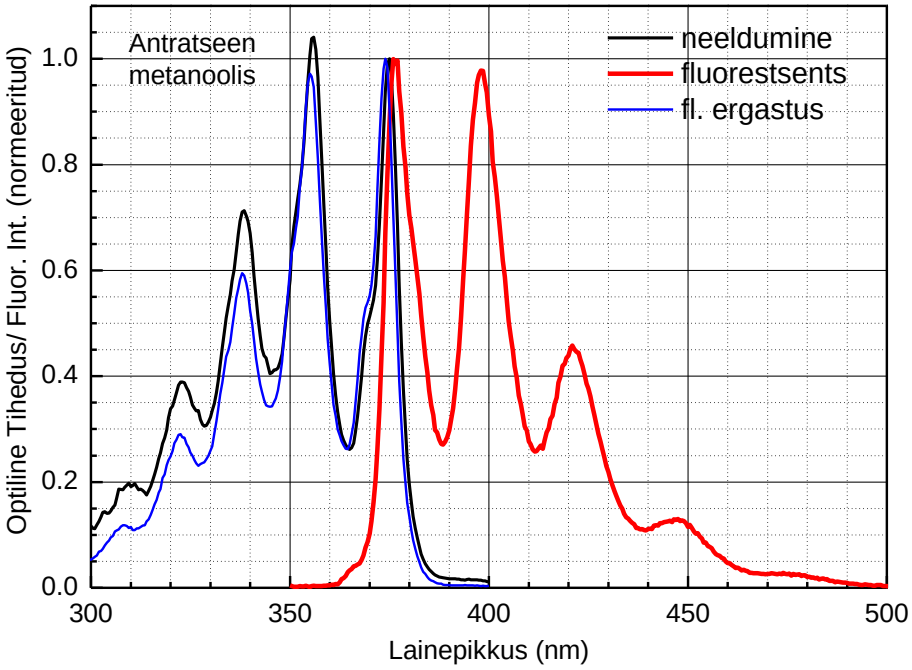



Benso(k)fluoranteen
metanoolis
neeldumine
fluorestsents
fl. ergastus
Optiline Tihedus/ Fluor. Int. (normeeritud)
Lainepikkus (nm)
0
1
2
3
4
5
200
250
300
350
400
450
500
550


Benso(k)fluoranteen
metanoolis
neeldumine
fluorestsents
fl. ergastus
Optiline Tihedus/ Fluor. Int. (normeeritud)
Lainepikkus (nm)
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
350
400
450
500
550


Benso(ghi)perüleen
metanoolis
neeldumine
fluorestsents
fl. ergastus
alfa-riba
p-riba
Optiline Tihedus/ Fluor. Int. (normeeritud)
Lainepikkus (nm)
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
300
350
400
450
500


Naftaleen
metanoolis
neeldumine
fluorestsents
fl. ergastus
Optiline Tihedus/ Fluor. Int. (normeeritud)
Lainepikkus (nm)
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
260
280
300
320
340
360
380
400


Antratseen
metanoolis
neeldumine
fluorestsents
fl. ergastus
Optiline Tihedus/ Fluor. Int. (normeeritud)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
300
350
400
450
500
Lainepikkus (nm)