

KOMITET METROLOGII I APARATURY NAUKOWEJ
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

PROBLEMY METROLOGII ELEKTRONICZNEJ I FOTONICZNEJ 3

Praca zbiorowa
pod redakcją Janusza Mroczy



Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej

PROBLEMY METROLOGII
ELEKTRONICZNEJ I FOTONICZNEJ

KOMITET METROLOGII I APARATURY NAUKOWEJ
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

PROBLEMY METROLOGII ELEKTRONICZNEJ I FOTONICZNEJ

3

*Praca zbiorowa
pod redakcją Janusza Mroczki*



Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej
Wrocław 2010

Opracowanie redakcyjne i korekta

Hanna JUREK

Projekt okładki

Janusz MROCZKA

Wszelkie prawa zastrzeżone. Żadna część niniejszej książki, zarówno w całości, jak i we fragmentach, nie może być reprodukowana w sposób elektroniczny, fotograficzny i inny bez zgody wydawcy i właścicieli praw autorskich.

© Copyright by Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2010

OFICyna WYDAWNICZA POLITECHNIKI WROCLAWSKIEJ

Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław

<http://www.oficyna.pwr.wroc.pl>

e-mail: oficwyd@pwr.wroc.pl

zamawianie.ksiazek@pwr.wroc.pl

ISBN 978-83-7493-517-3

Drukarnia Oficyny Wydawniczej Politechniki Wrocławskiej. Zam. nr 374/2010.

SPIS RZECZY

Przedmowa	7
Grzegorz ŚWIRNIAK, Janusz MROCZKA, Dyfraktometria wysokiej rozdzielczości i interferometria w obszarze tęczy w pomiarze średnicy włókna szklanego	11
Cezary NIEDZIŃSKI, Roman Z. MORAWSKI, Bayesowska metoda estymacji stężeń na podstawie danych spektrofotometrycznych	55
Jacek J. FISZ, Mikro/nanospektroskopia i obrazowanie fluorescencyjne w prawidłowym ujęciu: nanometrologia	107
Kamil BARCZAK, Tadeusz PUSTELNY, Badanie właściwości magnetoptycznych światłowodów specjalnych typu D	193

Wiara w świat zewnętrzny, niezależny od postrzegającego podmiotu leży u podstaw wszystkich nauk przyrodniczych. Ponieważ jednak postrzeżenia zmysłowe tylko pośrednio dają wiedzę o tym świecie zewnętrznym względnie o „rzeczywistości fizycznej”, możemy ją zdobyć tylko na drodze spekulatywnej. Wynika stąd, iż nasze ujęcia rzeczywistości fizycznej nigdy nie mogą być ostateczne. Zawsze musimy być gotowi do zmian tych ujęć, tzn. aksjomatycznego fundamentu fizyki, aby być w zgodności z faktami postrzeżeń w sposób możliwie najdoskonalszy pod względem logicznym.

James Clerk Maxwell: *A Commemoration Volume*,
Cambridge University Press, Cambridge 1931

PRZEDMOWA

W swoim procesie poznawczym metrologia posługuje się analizą i syntezą w dziedzinie abstrakcji na obrazach rzeczywistości wyrażonych przez modele fizyczny i matematyczny. To właśnie na tych modelach zauważamy przykłady analogii „formalnych” między różnymi od strony zjawiskowej zagadnieniami a podobnymi od strony pojęciowej. Taki sposób myślenia leży u podstaw działalności metrologii, w której zagadnienia modelowania fizycznego rzeczywistych zjawisk dają się opisać za pomocą materii, energii (entropii), czasu i informacji (negentropii). Głównym celem metrologii jest przekształcenie modeli fizycznych zbudowanych z pojęć materii, energii, czasu, w modele metrologiczne i doświadczalna weryfikacja ich poprawności, w których to modele fizyczne uzupełniane są pojęciami informacji, tak aby dostarczały wiadomości jakościowych (obserwacja) i ilościowych (pomiar). Podstawowy schemat działania metrologii odpowiada schematowi procesu poznawczego, stanowiącego połączenia badanego obiektu, będącego celem poznania z jego modelem fizycznym i modelami matematycznymi i metrologicznymi, między którymi występują sprzężenia zwrotne stanowiące odzwierciedlenie procesów weryfikacyjnych poszczególnych modeli.

Droga powstania modelu fizycznego i matematycznego badanego zjawiska może mieć charakter:

- dedukcyjny, umożliwiający poznanie logicznych związków przyczynowo-skutkowych właściwości danego obiektu;
- indukcyjny, gdzie eksperyment może być podstawą uogólnionej hipotezy o cechach analogicznych do wnioskowania dedukcyjnego wyróżniającego dane zjawisko.

Weryfikacja modeli ma w fizyce zawsze charakter doświadczalny, z tym jednak że sprawdzenie doświadczalne w określonym przypadku nie jest jeszcze dowodem prawdziwości, a ujemny wynik weryfikacji doświadczalnej, nawet w pojedynczym przypadku, falsyfikuje hipotezę.

Metrologia jak każda samodzielna dyscyplina nauki ma swoje problemy podstawowe, tj. takie zagadnienia, bez których rozwiązywania nie mogłaby być nauką i rozwijać się. Do problemów tych należy przede wszystkim tworzenie schematów zastępczych rzeczywistości, jej modeli formalnych, odtwarzających rzeczywistość ze znanym i wystarczającym przybliżeniem. Modele te powinny charakteryzować jasność i przystępność umożliwiającą doświadczalne sprawdzenie zarówno poprawności odtworzenia przez nie rzeczywistości, jak i pomiarowe ustalenia konkretnych wartości tych elementów.

Metrologia to rezultat przekształceń łączących w sobie zarówno wątki naukowe wielu istniejących dyscyplin teoretycznych, jak i nauk inżynierskich.

Dowodem odrębności dziedziny, jaką jest metrologia, są:

- instytucje programowo nastawione na uprawianie tej dyscypliny,
- nowo powstające czasopisma, wydawnictwa, towarzystwa naukowe związane z pomiarami,
- zawiązana wspólnota ludzi nauki uprawiających tę dyscyplinę,
- określona problematyka zbudowana na bazie teorii poznania z wynikającymi dla niej metodami i technikami badawczymi,
- fascynacja dziedziną i napływ tak nowych adeptów, jak i specjalistów z innych dziedzin.

Warunki określające status metrologii jako dziedziny nauki nie mogą być spełnione od razu, nie stanowią więc one obecnie zamkniętego zbioru. Warunki te kształtują się w czasie trwania rozwoju dyscypliny, ulegają one modyfikacji bądź to na skutek nowo powstałych teorii, bądź też przeniesienia i wykorzystania schematów myślowych z innych dziedzin.

Interdyscyplinarny charakter metrologii wymaga czynnika integrującego zagadnienia wywodzące się z odrębnych dziedzin. Czynnikiem tym jest język opisu podający związki jednoznacznie definiowane za pomocą prostych formuł.

To kolejny tom publikowanych corocznie osiągnięć naukowych metrologów pod auspicjami Komitetu Metrologii i Aparatury Naukowej Polskiej Akademii Nauk, a tym samym droga wypracowywania paradygmatu metrologii, będąca tym społem wszystkich nauk empirycznych, która swoimi pracami pragnie wnieść swój intelektualny wkład w odkrywanie jedności nauk przyrodniczych.

Dziedzina wiedzy zawarta w niniejszym opracowaniu odpowiada w pojęciu zjawiskowym oddziaływaniu materii z promieniowaniem, pozornie wydawać by się mogło

stosunkowo wąską dziedziną nauki. Mimo to opracowanie, które otrzymuje czytelnik nie jest w stanie w pełni odzwierciedlić bogactwa przedstawionej dyscypliny naukowej, ani ukazać dynamikę jej rozwoju. Być może czytelnik po zapoznaniu się z przytoczonymi tu faktami sięgnie do zacytowanej literatury ujmującej przedstawione zagadnienia w sposób bardziej szczegółowy.

Jak w wielu zjawiskach optycznych, tak i tu pierwotny obraz treści niniejszego tomu nie był ostro zarysowany. Klarowność uzyskał dopiero z chwilą zauważenia, że zjawiska wzajemnego oddziaływania promieniowania z materią mogą ujawnić bogactwo zjawisk otaczającej nas rzeczywistości.

Janusz Mroczka

Grzegorz ŚWIRNIAK*
Janusz MROCZKA*

DYFRAKTOMETRIA WYSOKIEJ ROZDZIELCZOŚCI I INTERFEROMETRIA W OBSZARZE TĘCZY W POMIARZE ŚREDNICY WŁÓKNA SZKLANEGO

W pracy przedstawiono dwie techniki pomiarowe – dyfraktometrię wysokiej rozdzielczości oraz interferometrię w obszarze tęczy, umożliwiające nieinwazyjny pomiar średnicy homogenicznego włókna szklanego. Obie techniki wykorzystują quasi-monochromatyczne, niekoherentne, rozproszone promieniowanie optyczne jako narzędzie poznawcze. Pokazano, że zastosowanie tego rodzaju promieniowania do wytworzenia pola zjawisk fizycznych, będącego efektem rozproszenia na badanym włóknie, prowadzi do eliminacji części obserwowanych zjawisk, a w konsekwencji do uproszczenia tego pola zarówno w interpretacji fizycznej, jak i modelowaniu matematycznym. Przedyskutowano również wpływ warunków eksperymentu na wynik pomiaru i jego niepewność.

1. WPROWADZENIE

1.1. ROZPROSZENIE ŚWIATŁA JAKO NIEINWAZYJNE NARZĘDZIE POZNANIA W POMIARZE ŚREDNICY WŁÓKNA SZKLANEGO

W ostatnich latach obserwuje się szczególnie intensywny rozwój przemysłu włókien szklanych. Homogeniczne nitki szklane o średnicy $< 25 \mu\text{m}$ są podstawowym budulcem materiałów kompozytowych [22]. Szkło jest surowcem, z którego wytwarza się światłowody włókniste, powszechnie wykorzystywane w telekomunikacji i metrologii.

Końcowy etap produkcji włókna polega najczęściej na wyciąganiu nitki z roztopionej w tyglu masy szkła lub z lokalnie podgrzewanej do wysokiej temperatury szklanej preformy [19, 22]. Na tym etapie zachodzi potrzeba monitorowania parametrów wyciąganego włókna. Podstawowym parametrem jest średnica, ale nierzadko zachodzi potrzeba monitorowania obecności zaburzeń strukturalnych (pęcherze powietrza, zanie-

* Katedra Metrologii Elektronicznej i Fotonicznej, Politechnika Wrocławska.

czyszczenia), wibracji, siły wyciągania itp. Istnieje także wiele pomiarów wykonywanych na etapie bądź laboratoryjnym (kontrola jakości), bądź eksploatacyjnym. Pomiary eksploatacyjne mają szczególnie znaczenie w użytkowaniu światłowodów [66].

Pomiar średnicy dokonywany na etapie produkcji umożliwia kontrolowanie parametrów procesu technologicznego na zasadzie pętli sprzężenia zwrotnego. Jest to złożone zagadnienie metrologiczne, ponieważ potencjalna technika pomiarowa powinna spełniać następujące wymagania:

- nieinwazyjność, czyli pomiar bez ingerencji mechanicznych elementów,
- niewrażliwość na zakłócenia (głównie wibracje włókna) i czynniki, które trudno jest ustalić (izotropowe i anizotropowe zmiany współczynnika załamania szkła) lub nie są znane (geometria i profil temperaturowy włókna),
- działanie w czasie rzeczywistym,
- dokładność pomiaru spełniająca wymagania obowiązujących norm dla danego typu włókna.

W świetle podanych kryteriów szczególnego znaczenia nabierają techniki pomiarowe wykorzystujące promieniowanie optyczne jako narzędzie poznawcze. Są to metody z istoty nieinwazyjne, o potencjalnie dużej czułości i selektywności, dające możliwość pomiaru *in situ* w czasie rzeczywistym [53].

Powszechnymi metodami nieinwazyjnego pomiaru średnicy w przemyśle są: dyfraktometria laserowa w pomiarze średnicy włókien kompozytowych [40, 60] oraz technika laserowej wiązki skanującej LBS (ang. *Laser Beam Scanning*) [10, 28, 29, 47], przydatna w pomiarze średnicy światłowodów. Obie metody wykorzystują promieniowanie laserowe jako narzędzie poznawcze.

Popularność techniki dyfraktometrycznej wynika z jej niezaprzeczalnych zalet: stosunkowo nieskomplikowanego układu pomiarowego i prostoty modelu matematycznego zjawiska rozpraszania światła, opartego na zasadzie Huygensa–Fresnela. Rozwój metod obliczeniowych prowadzący do weryfikacji istniejących modeli rozproszenia dowiódł jednak, że prosty model dyfrakcyjny jest nieadekwatny w opisie rozpraszania światła na włóknie szklanym, charakteryzującym się małą tłumiennością i wysokim stopniem symetrii osiowej [60].

Metoda LBS w pomiarze średnicy włókien szklanych wymaga zastosowania odpowiednich algorytmów analizy sygnału z detektora, w celu kompensacji wpływu promieniowania propagującego się przez włókno [15]. Kompensacja taka realizowana może być przez dodatkową kalibrację urządzenia z wykorzystaniem wzorcowego włókna (np. skaner firmy Beta LaserMike, model 200). Osobnym zagadnieniem jest sposób interpretacji wyniku otrzymywanego w metodzie LBS w pomiarze średnicy światłowodu, który jest wyciągany z pewną prędkością. Wynik uzyskany na zasadzie przemiatania włókna wiązką laserową jest uśrednioną wartością średnicy włókna po pewnej jego długości i zależy od prędkości wyciągania i przemiatania. Fakt ten staje się znaczącym problemem w obliczu postępu technologicznego wyrażającego się m.in. coraz większą prędkością wyciągania światłowodów [8].

W dyskusji na temat metod nieinwazyjnej charakterystyki cech fizycznych obiektów rozpraszających światło nie sposób pominąć laserowej interferometrii Dopplerowskiej SDI (ang. *Shadow Doppler Interferometry*) [26] oraz PDI (ang. *Phase Doppler Interferometry*) [4, 70], a także spektralnej optycznej tomografii koherencyjnej FDOCT (ang. *Fourier Domain Optical Coherence Tomography*) [30–32]. Ze względu na dużą wrażliwość na zakłócenia i znaczną złożoność układów pomiarowych, metody te nie znajdują praktycznego zastosowania w pomiarze średnicy włókna w warunkach przemysłowych.

Droga poznania metrologicznego – podjęta przez autorów niniejszej pracy – zmierza do uzyskania pola zjawisk fizycznych, które będzie nieskomplikowane zarówno w interpretacji fizycznej, jak i w modelowaniu matematycznym. Jako narzędzie poznawcze zaproponowano quasi-monochromatyczne, niekoherentne promieniowanie z zakresu optycznego. Celem autorów nie jest dążenie do minimalizacji błędu pomiaru średnicy w odniesieniu do wykorzystywanych powszechnie metod pomiarowych, ale wskazanie potencjalnych możliwości nieinwazyjnej diagnostyki z wykorzystaniem tego rodzaju promieniowania.

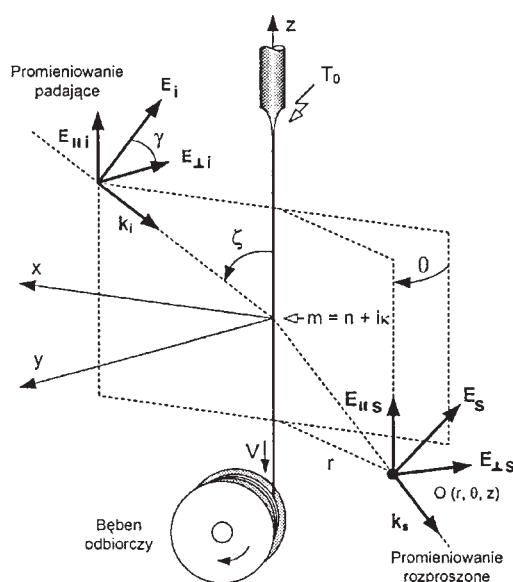
Sporo prac zostało ujętych w ramach dwóch, roboczo nazwanych technik pomiarowych: **dyfraktometrii wysokiej rozdzielczości**, zaprojektowanej z myślą o pomiarze średnicy włókna kompozytowego, oraz **interferometrii w obszarze tęczy**, ukierunkowanej na charakterystykę włókna o średnicy $> 100 \mu\text{m}$. Ze względu na fakt, że niniejsze studium ma charakter wstępny i raczej opisowy niż systematyczny, analizę badawczą ograniczono do włókna osiowo-symetrycznego o budowie homogenicznej. Wiele eksperymentów numerycznych, ujętych w pracy [74], wskazuje jednak na możliwość rozwijania obu metod w kierunku charakterystyki struktury refrakcyjnej.

Potencjał dyfraktometrii wysokiej rozdzielczości oraz interferometrii w obszarze tęczy ukazano drogą procesów symulacyjnych. Obowiązującym modelem rzeczywistego zjawiska jest w większości opisywanych zagadnień ścisły model Lorenza–Mie, który umożliwia wyznaczenie rozkładu natężenia pola elektromagnetycznego fali przechodzącej przez obszar niejednorodności w postaci nieskończonego długiego cylindra. Odpowiednio zaaranżowane eksperymenty symulacyjne należy oczywiście traktować jako wstęp do praktycznego wykorzystania proponowanych metod pomiarowych w ramach procesu weryfikacyjno-doświadczalnego.

1.2. MODELOWANIE POLA ROZPROSZONEGO NA WŁÓKNIE SZKLANYM

Na rysunku 1 przedstawiono szkic procesu wyciągania szklanego włókna wraz z geometrią modelu rozpraszania światła w eksperymencie pomiaru średnicy. Wyciąganie włókna odbywa się bądź przez lokalne podgrzewanie szklanej preformy, bądź roztopianie szkła w specjalnych tyglach, a powstała struga szklana nawijana jest na zespół bębnow [19, 22]. Geometrię eksperymentu zdefiniowano, posługując się kartezjańskim układem współrzędnych x, y, z . Oś symetrii włókna pokrywa się z osią z

układu współrzędnych. Przyjęto, że włókno oświetlone jest skolimowaną wiązką promieniowania, padającą na włókno pod kątem ζ i charakteryzującą się płaskim frontem falowym w objętości pomiarowej. Zarówno wektor natężenia pola padającego ($\mathbf{E}_i$), jak i rozproszonego ($\mathbf{E}_s$), są wektorową sumą dwóch składowych: równoległej względem osi symetrii włókna ($\mathbf{E}_{\parallel}$) i prostopadłej względem tej osi ($\mathbf{E}_{\perp}$). Stan polaryzacyjny, w którym wektor elektryczny skierowany jest równoległe względem osi włókna, określany jest jako magnetyczna konfiguracja polaryzacyjna TM (ang. *Transverse-Magnetic*), natomiast stan przeciwny to konfiguracja elektryczna TE (ang. *Transverse-Electric*). Punktowy detektor natężenia promieniowania umieszczony jest w polu dalekim ($r \gg \lambda$), a jego położenie definiują współrzędne cylindryczne (r, θ, z).



Rys. 1. Schemat procesu wyciągania włókna i geometria modelu rozpraszania promieniowania
Fig. 1. Fibreglass drawing process and the geometry of the scattering model

Cechy geometryczne włókna aproksymowano modelem nieskończenie długiego, osiowo-symetrycznego cylindra.

Szczegółowa analiza właściwości optycznych szklanego włókna i ich zmian podczas procesu technologicznego wskazuje, że włókno można traktować jako ośrodek [74]:

- **Liniowy.** Postulat ten wynika z tego, że propagacja fali w szklanym włóknie podczas rozpraszania odbywa się na niewielkich dystansach, a natężenie fali jest pomijalnie małe w porównaniu z natężeniem pól wewnętrznych w szkło.

- **Anizotropowy.** Szkło jest materiałem amorficznym wykazującym izotropię właściwości fizycznych i ich addytywność, jednak w procesie technologicznym dochodzi

do utrwalenia w szkłe naprężeń o różnym pochodzeniu, wywołujących anizotropię współczynnika załamania n (**dwójłomność**). Anizotropię współczynnika ekstynkcji κ (**dichroizm**) można pominąć ze względu na niewielkie tłumienie szkła w paśmie optycznym. Wpływ naprężeń na współczynnik załamania jest tym większy im mniejsza jest średnica włókna.

- **Dyspersyjny.** W obszarze dyspersji normalnej w zakresie częstotliwości optycznych wartość współczynnika załamania maleje wraz ze zwiększaniem długości fali (**dyspersja chromatyczna**).

- **Lokalnie niehomogeniczny** pod względem przestrzennym. Niehomogeniczności, rozumiane jako obszary o odmiennym współczynniku załamania, wynikają z obecności różnorodnych zaburzeń struktury szkła (wad optycznych) w postaci pęcherzy powietrza, zanieczyszczeń etc.

Parametry optyczne włókna podlegają również wpływowi temperatury. W typowych rozwiązaniach wień wyciągowych pomiar średnicy odbywa się w miejscu, w którym powierzchnia szklanego włókna osiąga temperaturę otoczenia. Nie poznano jednak dotychczas radialnego profilu temperaturowego włókna w miejscu kontroli średnicy. Wpływ temperatury powoduje także trwałe zaindukowanie naprężeń w szkłe i jest przyczyną izotropowych zmian współczynnika załamania [74].

Uzyskanie wiernego obrazu rzeczywistych procesów zachodzących podczas rozpraszania fali na włóknie szklanym możliwe jest przez modelowanie matematyczne z wykorzystaniem teorii ścisłych. Teoria Lorenza–Mie podaje szczegółowy opis zmian fali elektromagnetycznej o płaskim czole, rozpraszanej na homogenicznym, nieskończenie długim cylindrze [6, 12, 35, 81]. Uogólnienie teorii Lorenza–Mie dla cylindra niehomogenicznego, składającego się z osiowo-symetrycznych warstw o różnych współczynnikach załamania, zostało opracowane przez Kerkera i Matijevića [36], a następnie rozwinięte przez Kaia i D’Allesio [34] i Onofriego [59]. Matematyczny opis rozproszenia fali o niejednorodnym rozkładzie amplitudy możliwy jest z kolei w ramach uogólnionej teorii Lorenza–Mie dla cylindra GLMT (ang. *Generalized Lorenz–Mie Theory*) [21, 64] i teorii rozproszenia sformułowanej przez Locka [45].

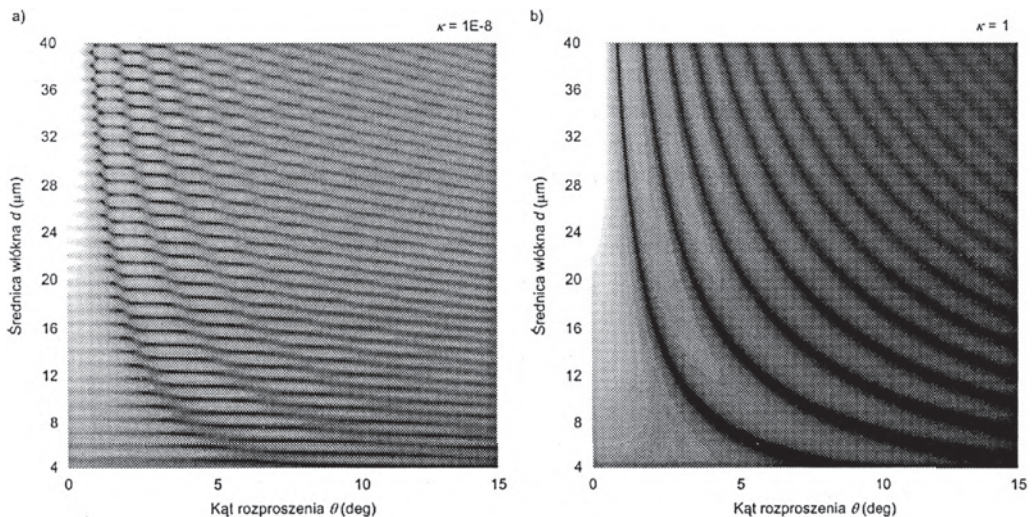
2. DYFRAKTOMETRIA WYSOKIEJ ROZDZIELCZOŚCI

2.1. ZARYS PROBLEMATYKI WYKORZYSTANIA DYFRAKCJI PROMIENIOWANIA LASEROWEGO W POMIARACH WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNYCH WŁÓKNA SZKLANEGO

Dyfraktometria laserowa jest narzędziem poznawczym, które zostało szczególnie dobrze rozwinięte na potrzeby badań właściwości fizycznych ośrodków wielofazowych [83], a także w pomiarach cech pojedynczych obiektów silnie tłumiących falę elektromagnetyczną takich, jak metalowy drut [8, 9, 20]. W wymienionych przypad-

kach natura badanego obiektu decyduje o tym, że możliwy jest pełny opis fizyczny i matematyczny zjawiska rozproszenia fali na gruncie uproszczonych praw, na przykład dyfrakcji Fraunhofera.

Wykorzystanie zjawiska dyfrakcji promieniowania laserowego w badaniach cech fizycznych (średnicy, współczynnika załamania etc.) włókna szklanego, charakteryzującego się niewielką tłumiennością, wysokim stopniem symetrii osiowej i gładką powierzchnią, napotyka trudności. Obserwacja pola rozproszonego na takim włóknie pod niewielkim kątem wskazuje, że położenia kątowe poszczególnych prążków, zarówno jasnych jak i ciemnych, nie są monotoniczną funkcją średnicy włókna (rys. 2a). Widoczny jest udział licznych „zakłóceń”, nie są przewidywalne przez teorię dyfrakcji Fraunhofera, które modulują położenia kątowe prążków dyfrakcyjnych. Wpływ tych zakłóceń jest szczególnie znaczący, gdy średnica włókna jest niewielka w odniesieniu do długości fali promieniowania oświetlającego.



Rys. 2. Wykres poziomicowy logarytmu natężenia fali rozproszonej (jednostki dowolne) w funkcji kąta rozproszenia i średnicy włókna (teoria Mie): a) dla włókna szklanego, b) dla włókna metalicznego ($\lambda = 0,6328 \mu\text{m}$, TM-TM, $m = 1,5505 + \kappa$, $\zeta = 90^\circ$)

Fig. 2. Logarithm of the scattered intensity (in arbitrary units) vs. scattering angle and fibre diameter (Mie theory): a) glass fibre, b) metallic fibre

Pole rozproszone ma inną postać, gdy włókno rozpraszające falę charakteryzuje się znaczną absorpcją, porównywalną do obiektów metalicznych. Położenia kątowe prążków dyfrakcyjnych są w takim przypadku monotoniczną funkcją jego średnicy (rys. 2b). Można więc przypuszczać, że liczne zakłócenia, które modulują położenia prążków dyfrakcyjnych w polu rozproszonym na włóknie o niedużej tłumienności, wynikają z morfologii włókna.

Jedyną jak dotychczas metodą inwersji danych dyfrakcyjnych (ang. *Joint Probability Method*), optymalizowaną pod kątem pomiaru średnicy włókien stosowanych w materiałach kompozytowych (homogeniczne nitki szklane o średnicy $\sim 4\text{--}25\ \mu\text{m}$ [22, 33]), została opracowana przez Onofriego i in. [11, 15, 16]. Metoda ta bazuje na wiedzy apriorycznej o badanym włóknie, zgromadzonej przez symulację numeryczną według teorii Lorenza–Mie, porównywanej za pomocą estymatora korelacyjnego z obrazem rzeczywistym. Wymagana jest przy tym dokładna znajomość współczynnika załamania włókna oraz jego zmian w procesie kształtowania technologicznego.

2.2. NATURA POLA ROZPROSZONEGO NA WŁÓKNIE SZKLANYM POD NIEWIELKIM KĄTEM

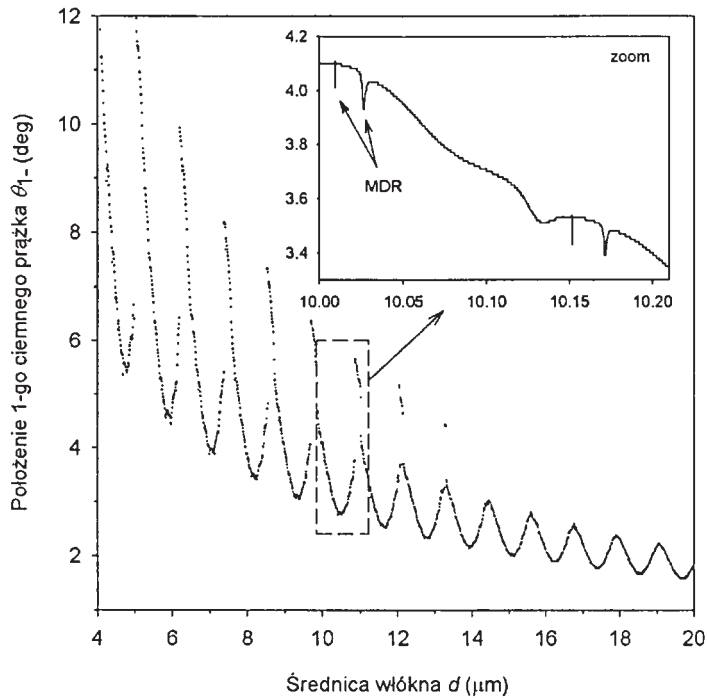
W charakterystyce położenia kąowego pierwszego ciemnego prążka w polu rozproszonym (θ_{-}) w funkcji średnicy włókna szklanego (d) (rys. 3), wykonanej z dużą rozdzielczością, można wyróżnić następujące elementy:

- **strukturę interferencyjną** – jako szereg równomiernie rozłożonych maksimów i minimów o charakterze interferencyjnym,
- **strukturę rezonansową** – w postaci mikrostrukturalnych, wąskich elementów mających formę rezonansowych pików (zob. powiększenie na rys. 3),
- **monotoniczny trend** zmian położenia prążka w funkcji średnicy.

2.2.1. STRUKTURA REZONANSOWA

Mikrostrukturalne piki rezonansowe MDR (ang. *Morphology-Dependent Resonances*), podobne do tych oznaczonych na wykresie położenia kąowego pierwszego ciemnego prążka (powiększenie na rys. 3), zostały zaobserwowane m.in. w widmie emisyjnym i absorpcyjnym cząstki sferycznej [6, 14], a także cząstki cylindrycznej [7, 61] w widmie promieniowania o charakterze fluorescencyjnym, rozproszonym na mikrosferze [11], a także w widmie ramanowskim [77]. Podobne obserwacje dotyczą widma ciśnienia radiacyjnego cząstki sferycznej poddanej lewitacji optycznej [5].

Obiekt fizyczny charakteryzujący się wysokim stopniem symetrii osiowej i małym tłumieniem, w szczególności włókno szklane, może być traktowany jako mikrorezonator optyczny. Część energii optycznej oświetlonego obiektu jest rozpraszana pod różnymi kątami do otoczenia, a część zostaje w nim „uwięziona”, rozchodząc się na zasadzie kolejnych odbić od granicy obiekt–otoczenie w warunkach bliskich całkowitemu wewnętrznemu odbiciu, tworząc w ten sposób złożoną, falową strukturę przestrzenną. Pik o charakterze rezonansowym powstaje w wyniku konstruktywnej interferencji w miejscach, w których fala zatacza pełny okrąg [57].

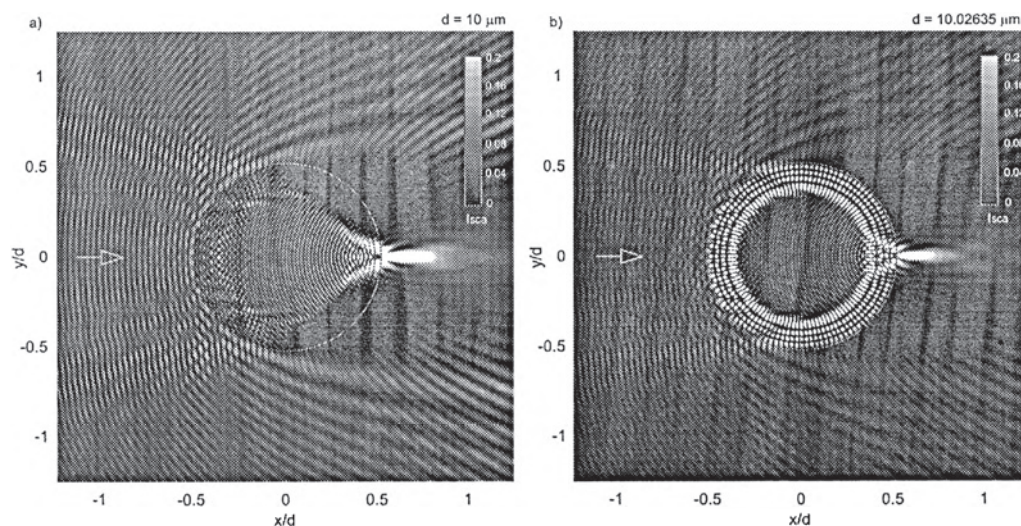


Rys. 3. Położenie pierwszego, ciemnego prążka z rys. 2a obliczone z dużą rozdzielczością ($\Delta d = 0,00001 \mu\text{m}$, $\Delta \theta_{1-} = 0,01^\circ$). Zoom: mikrostrukturalne piki rezonansowe (MDR)
 Fig. 3. High-resolution ($\Delta d = 0,00001 \mu\text{m}$, $\Delta \theta_{1-} = 0,01^\circ$) angular location of the 1st dark fringe corresponding to Fig. 2a. Zoom: morphology-dependent resonances (MDRs)

Wizualizację pola rozproszonego na włóknie szklanym przy braku rezonansu i w rezonansie przedstawiono na rysunku 4. Płaska fala elektromagnetyczna rozchodzi się w kierunku $+x$. W stanie rezonansowym dochodzi do znacznej koncentracji energii wewnątrz włókna tuż przy powierzchni stycznej. W miejscach występowania rezonansu wzrasta natężenie fali, ponadośmiokrotnie dla przyjętych warunków symulacji.

W matematycznym ujęciu rezonans występuje wówczas, gdy funkcja amplitudowa w równaniach wyrażających natężenie pola rozproszonego według teorii Lorenza–Mie ma swój biegun [6, 7, 12]. W rezultacie rezonansu, natężenie pola rozproszonego dąży teoretycznie do nieskończoności.

Wystąpienie rezonansu zależy ściśle od właściwości fizycznych obiektu rozpraszającego, a metody pomiarowe wykorzystujące rezonansowe rozpraszanie promieniowania są jednymi z najbardziej precyzyjnych technik umożliwiających pomiar nieinwazyjny. O potencjalnej precyzji pomiaru stanowi fakt, że szerokość szpilki rezonansowej występującej dla średnicy $10,02635 \mu\text{m}$ na rysunku 3, wynikająca z przyjętej rozdzielczości pomiaru (10^{-11} m), jest rzędu rozmiarów atomu.



Rys. 4. Rozkład unormowanego natężenia promieniowania wewnątrz włókna szklanego i w polu bliskim w płaszczyźnie rozpraszania: a) przy braku rezonansu, b) w warunkach rezonansu ($\lambda = 0,6328 \mu\text{m}$, TM-TM, $m = 1,5505 + 1\text{E-}8$, $\zeta = 90^\circ$)

Fig. 4. Normalized internal and near-field external intensity distributions for a fiberglass over a scattering plane: a) off-resonance case, b) on-resonance case

Szczegółowa analiza właściwości MDR, wykonana pod kątem minimalizacji ich wpływu na pole rozproszone, prowadzi do następujących wniosków [74]:

- Rezonans wpływa na amplitudę i położenie wszystkich prążków w polu rozproszonym, niezależnie od kąta obserwacji (rozpraszania). Wystąpienie rezonansu warunkują: morfologia włókna (średnica, kształt, współczynnik załamania) oraz parametry fali padającej (długość, polaryzacja, kąt padania).

- Tłumienie włókna wpływa degenerująco na amplitudę MDR. Fakt ten sugeruje, że zmniejszanie ich wpływu możliwe jest przez wykonywanie pomiarów w dalekiej podczerwieni lub nadfiolecie, gdzie tłumienie szkła jest duże.

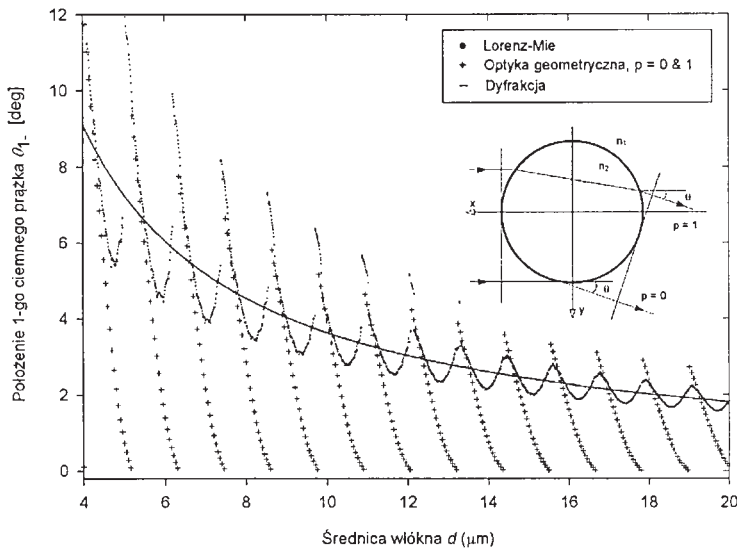
- Zmniejszanie amplitudy MDR następuje wraz z pochylaniem włókna względem kierunku propagacji fali padającej. Interpretację fizyczną tego efektu podają Lock [44, 45] oraz Poon i in. [63]: pochylenie włókna zmienia rozkład przestrzenny energii we włóknie – rezonatorze optycznym. Fale poruszające się spiralnie po powierzchni włókna interferują wzajemnie w innych miejscach niż w przypadku oświetlenia normalnego. Efekt interferencyjny – mierzony amplitudą pików rezonansowych – zmienia się, ale będzie występował niezależnie od kąta nachylenia.

- Barber i Hill [6] wykazali, że zastosowanie detektora promieniowania o szerokim kącie akceptacji zmniejsza nieco, na zasadzie całkowania pola, amplitudę pików obecnych w widmie radiacyjnym obiektu cylindrycznego.

Warto zaznaczyć, że nie jest możliwa zupełna eliminacja MDR z pola rozproszonego na obiekcie o niewielkim tłumieniu, w warunkach rozpraszania monochromatycznego wysokospójnego promieniowania. Piki rezonansowe nie są obserwowane jedynie w przypadku obiektów metalicznych, cechujących się znacznym współczynnikiem ekstynkcji.

2.2.2. STRUKTURA INTERFERENCYJNA

Przyczyny powstawania struktury interferencyjnej, mającej postać stromych maksimów i minimów widocznych na wykresie położenia kąтового pierwszego ciemnego prążka (θ_{1-}) w funkcji średnicy włókna (d) (rys. 3), można zrozumieć, posługując się teorią **dyfrakcji anomalnej**, sformułowanej przez van de Hulsta [81]. Według tej teorii, pole rozproszone pod niewielkim kątem na cząstce o niskiej tłumienności jest kombinacją części pola ulegającej dyfrakcji oraz części pola odbitego i załamanego.



Rys. 5. Wpływ zjawiska dyfrakcji fali oraz koherentnej superpozycji promienia odbitego ($p = 0$) i jednokrotnie załamanego ($p = 1$) na położenie pierwszego, ciemnego prążka w polu rozproszonym w funkcji średnicy włókna ($\lambda = 0,6328 \mu\text{m}$, TM-TM, $m = 1,5505 + 1\text{E-}8$, $\zeta = 90^\circ$)

Fig. 5. Influence of diffraction and coherent sum of $p = 0.1$ rays on angular location of the 1st dark fringe in the scattered field vs. fibreglass diameter

Udział trzech uwzględnianych przez dyfrakcję anomalną składowych pola rozproszonego został zilustrowany na wykresie $\theta_{1-}(d)$ (rys. 5). Do obliczenia kombinacji składowej odbitej pola i składowej załamanego, a także pola ulegającego dyfrakcji, wykorzystano model aproksymacyjny rozproszenia według optyki geometrycznej [75]. Jako dane odniesienia posłużyły punkty z rysunku 3, obliczone według teorii Lorenza-Mie. Zgodnie z rysunkiem 5, dominujący wpływ na położenie maksimów i minimów zależności $\theta_{1-}(d)$ ma

koherentna superpozycja promienia odbitego i załamanego. W sytuacji, gdy obiekt rozpraszający falę charakteryzuje się znacznym tłumieniem, efekt interferencyjny tych promieni jest słaby lub nie występuje, a pole rozproszone pod małym kątem zdominowane jest przez dyfrakcję. Podane wnioski są słuszne zarówno dla polaryzacji TM-TM, jak i TE-TE [74].

Szczegółowa analiza cech struktury interferencyjnej prowadzi do następujących wniosków [74]:

- Odległość między maksimami i minimami struktury interferencyjnej zmniejsza się w wyniku pochylania włókna względem kierunku propagacji fali padającej oraz w wyniku przesuwania długości tej fali w kierunku fal krótkich.
- Pochylanie włókna oraz zwiększanie długości fali przyczynia się do zmniejszania liczby prążków w danym przedziale kątów obserwacji, a w konsekwencji powoduje zwiększanie amplitudy struktury interferencyjnej.
- Struktura interferencyjna, podobnie jak mikrostrukturalne piki rezonansowe (MDR), jest czuła na tłumienie włókna – osłabienie natężenia promienia załamanego ($p = 1$) wywołuje słabszy efekt interferencyjny. Świadczy o tym wykres poziomicowy fali rozproszonej, wykonany dla włókna o znacznym tłumieniu (rys. 2b), na którym nie zaznacza się udziału maksimów i minimów interferencyjnych.

2.3. ANALIZA POLA ROZPROSZONEGO NA WŁÓKNIE SZKLANYM, OŚWIETLONYM QUASI-MONOCROMATYCZNYM, NIEKOHERENTNYM PROMIENIOWANIEM POD KĄTEM POMIARU ŚREDNICY WŁÓKNA

2.3.1. ASPEKTY SYMULACJI POLA ROZPROSZONEGO

Teoria Lorenza–Mie dla cylindra [6, 12, 35, 81] podaje rozwiązanie równań Maxwella dla odpowiednio sformułowanych warunków brzegowych dla monochromatycznej fali padającej. W sytuacji gdy rozpraszane jest quasi-monochromatyczne, czasowo niekoherentne promieniowanie w pewnym uproszczeniu można przyjąć, że włókno szklane rozprasza każdą z fal cząstkowych niezależnie, a wypadkowe zaburzenie falowe w określonym punkcie przestrzeni rozumiane jest jako superpozycja wzajemnie niekoherentnych, rozproszonych fal cząstkowych o różnych długościach. Wobec tego natężenie fali wypadkowej, będącej wynikiem superpozycji N fal cząstkowych, można formalnie wyrazić następująco:

$$I_{\text{sca}}(\theta, x, m) = \sum_{i=1}^N I_{\text{sca}}(\theta, x_i, m_i) \quad (1)$$

gdzie $x_i = \pi d / \lambda_i$ jest parametrem rozmiarowym włókna o średnicy d , λ_i – długością fali cząstkowej, m_i – zespolonym współczynnikiem załamania włókna dla fali cząstkowej λ_i . Podobną metodę obliczeń pola rozproszonego dla niekoherentnej wiązki oświetlającej przyjęto m.in. w symulacjach tęczy powstającej na kropki wody [39].

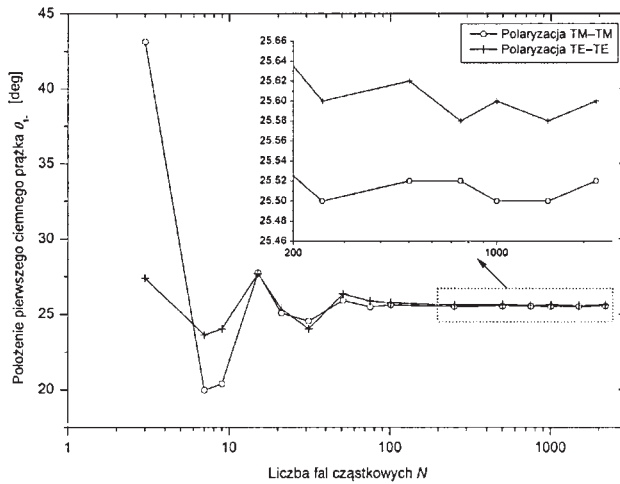
W warunkach rozpraszania promieniowania quasi-monochromatycznego należy rozważyć wpływ dyspersji chromatycznej szkła na pole rozproszone. W zakresie dłu-

gości fal, z pasma optycznego odpowiadającemu dyspersji normalnej szkła, istotne zmiany wykazuje współczynnik załamania (n), natomiast dyspersyjne zmiany współczynnika ekstynkcji (κ) można zaniedbać [74]. Dyspersyjne zmiany n określa producent szkła, zazwyczaj z wykorzystaniem tzw. równania Sellmeiera o stałych dyspersyjnych charakterystycznych dla typu szkła [71, 73].

Przyjęcie aproksymacyjnego, dyskretnego modelu widmowego źródła wiąże się z koniecznością ustalenia liczby rozpraszanych fal cząstkowych. Uwzględnienie zbyt małej liczby fal prowadzi do niedokładnego odzwierciedlenia pola rozproszonego, natomiast liczba nadmierna przyczynia się do wydłużenia czasu obliczeń. Aby zilustrować ten problem, na rysunku 6 przedstawiono zależność położenia pierwszego ciemnego prążka (θ_1) w polu rozproszonym na włóknie według teorii Lorenza–Mie, od liczby fal cząstkowych (N), równomiernie rozłożonych w zakresie widmowym $0,32\text{--}0,54\text{ }\mu\text{m}$ ($\Delta\lambda$). Widmo źródła promieniowania aproksymowano krzywą Gaussa według wzoru:

$$I(\lambda) = I_0 \exp\left(4 \log(0,5) \left(\frac{\lambda - \lambda_0}{fwhm}\right)^2\right) \quad (2)$$

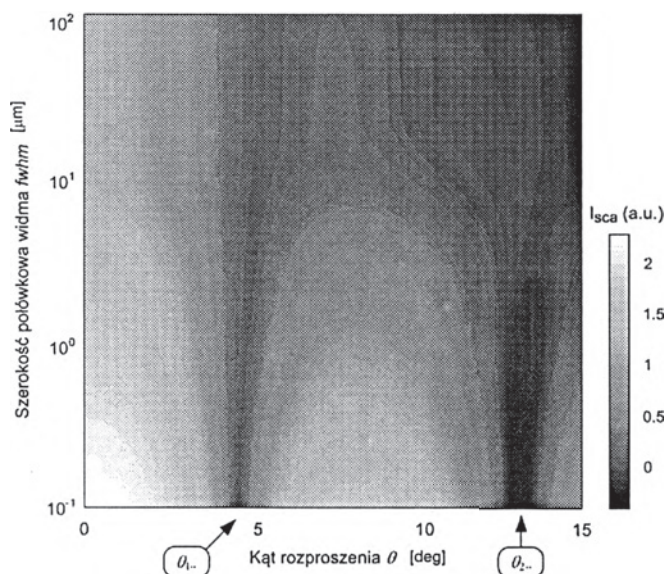
gdzie I – natężenie spektralne, I_0 – maksimum emisyjne. Maksimum widmowe (λ_0) przypada na $0,43\text{ }\mu\text{m}$, a szerokość połówkowa ($fwhm$) jest równa 80 nm . Gaussowski kształt widma jest odpowiedni dla jednobarwnych diod elektroluminescencyjnych (LED) [72].



Rys. 6. Wpływ liczby fal cząstkowych z zakresu widmowego źródła promieniowania na położenie katowe pierwszego ciemnego prążka. ($\lambda_0 = 0,43\text{ }\mu\text{m}$, $\Delta\lambda = 0,32\text{--}0,54\text{ }\mu\text{m}$, $fwhm = 80\text{ nm}$, $d = 5\text{ }\mu\text{m}$, szkło Schott N-PSK3, $\kappa = 1\text{E-}8$, $\zeta = 10^\circ$, $\Delta\theta = 0,02^\circ$)

Fig. 6. Angular location of the 1st dark fringe in the scattered field vs. number of equally spaced wavelengths from the spectrum of light source

Według rysunku 6 graniczną liczbą fal cząstkowych, dla której oscylacje θ_{1-} są na poziomie rozdzielczości symulacji ($0,02^\circ$), jest $N \approx 750$. W obliczeniach pola rozproszonego należałoby zatem przyjąć $N \gg 750$. Zmiana warunków eksperymentu wymaga oczywiście ponownego ustalenia wartości N .



Rys. 7. Wpływ szerokości widmowej źródła promieniowania na wykres logarytmu natężenia pola rozproszonego w funkcji kąta rozproszenia. Oznaczono położenia 1. i 2. ciemnego prążka (θ_{1-} , θ_{2-}) ($\lambda_0 = 0,43 \mu\text{m}$, $\Delta\lambda = 0,29\text{--}0,57 \mu\text{m}$, $N = 2801$, TM-TM, $d = 7 \mu\text{m}$, szkło Schott N-PSK3, $\kappa = 1\text{E-}8$, $\zeta = 10^\circ$)

Fig. 7. Influence of source spectral line half-width on logarithm of the scattered intensity (in arbitrary units) vs. scattering angle. θ_{1-} , θ_{2-} : location of the 1st and 2nd dark fringe, respectively

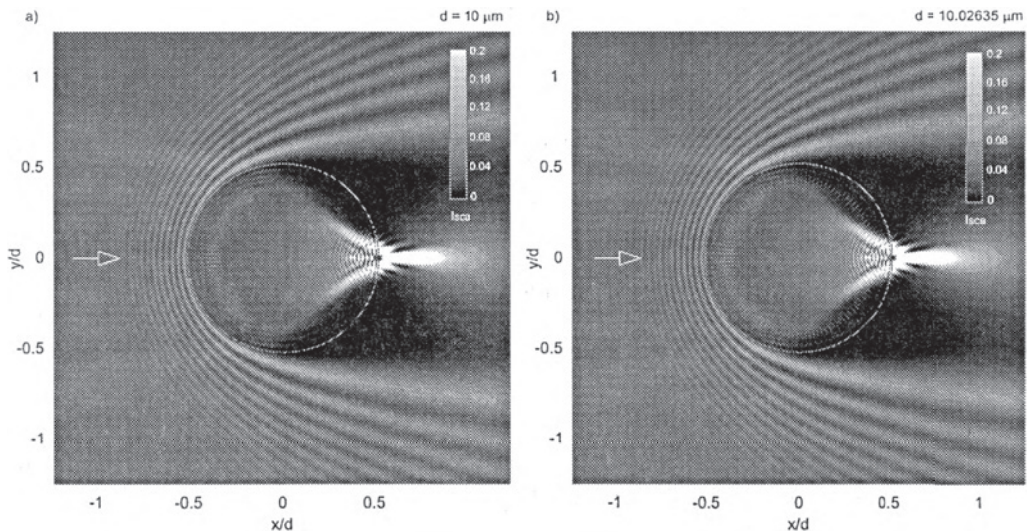
Analizę obrazów prążkowych utrudnia znacząco tzw. rozmycie chromatyczne. Powstaje ono w efekcie niekoherentnej superpozycji fal o różnych długościach. Rozmycie chromatyczne zostało zilustrowane na rysunku 7, przedstawiającym logarytm natężenia składowej magnetycznej pola rozproszonego w funkcji kąta rozproszenia i szerokości widmowej promieniowania oświetlającego. Widoczna jest niewielka dynamika natężenia dla największych wartości $fwhm$, a obszary, w których mogą znajdować się minima są szersze niż dla wąskopasmowej wiązki.

Rozmycie chromatyczne może prowadzić do problemów w śledzeniu położień prążków w pasywnej, intensywnościowej analizie pola rozproszonego. Jeśli do rejestracji pola będzie zastosowana kamera o niewystarczającej dynamice, to w wyniku rozmycia kamera może zarejestrować jednakowe natężenie w pewnym zakresie kątów rozproszenia. Problem ten można rozwiązać, stosując dobrze poznane metody pocieniania i śledzenia prążków, wywodzące się z algorytmów przetwarzania obrazów [65].

2.3.3. WPŁYW QUASI-MONOCROMATYCZNEGO, NIEKOHERENTNEGO PROMIENIOWANIA NA POLE ROZPROSZONE POD NIEWIELKIM KĄTEM

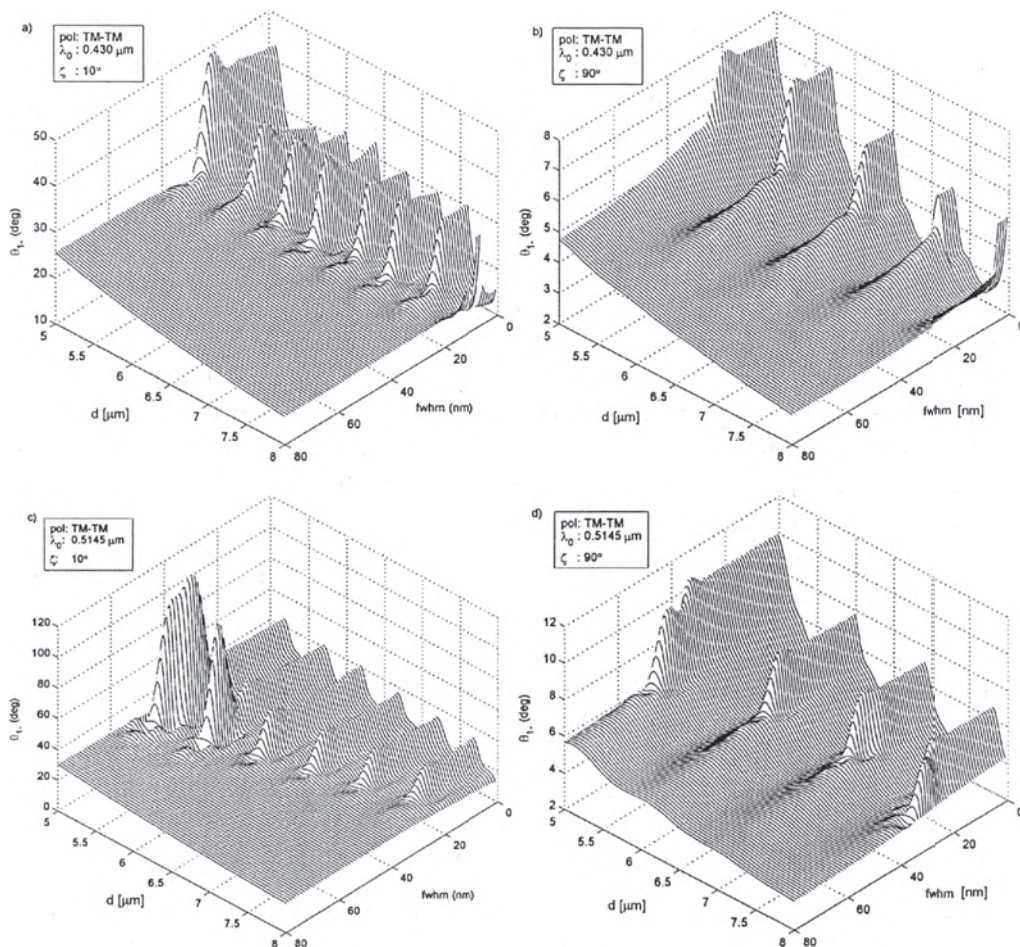
W warunkach rozpraszania quasi-monochromatycznego, czasowo-niekoherentnego promieniowania, pole rozproszone może być rozpatrywane jako niekoherentna superpozycja pól powstałych w wyniku rozpraszania fal elementarnych z zakresu widmowego źródła (rozdz. 2.3.1). Ze względu na analizę sygnałów, taka superpozycja pól odpowiada operacji niekoherentnego uśredniania w dziedzinie przestrzeni, co w dziedzinie częstotliwości można utożsamiać z filtracją dolnoprzepustową.

Na rysunku 8a i b przedstawiono wizualizację pola wewnątrz szklanego włókna i pola bliskiego, powstających w wyniku rozpraszania promieniowania niekoherentnego o gaussowskim kształcie widma o szerokości połówkowej wynoszącej 40 nm. Podobne symulacje, lecz z wykorzystaniem fali monochromatycznej, zobrazowano na rysunku 4a i b. W polu rozproszonym (rys. 8a i b) widoczne jest przede wszystkim znaczące wytłumienie składowych modulujących obraz prążkowy pola ugiętego. Takie wytłumienie dokonało się na zasadzie niekoherentnego uśredniania obrazu prążkowego, powstałego w wyniku interferencji części promieniowania, ulegającej załamaniu pod niewielkim kątem i pola odbitego od powierzchni włókna. Dochodzi również do wygaszenia fal stojących tuż przy powierzchni stycznej włókna, powstających w warunkach rezonansowego rozpraszania fali (por. rys. 8b i 4b).



Rys. 8. Podobnie jak rys. 4a i b, ale w warunkach zastosowania quasi-monochromatycznego, niekoherentnego promieniowania ($\lambda_0 = 0,6328 \mu\text{m}$, $\Delta\lambda = 0,5748\text{--}0,6908 \mu\text{m}$, $N = 1161$, $fwhm = 40 \text{ nm}$, TM-TM, szkło Schott N-PSK3, $\kappa = 1\text{E-}8$, $\zeta = 90^\circ$)

Fig. 8. Same as fig. 4a and b, but for quasi-monochromatic, non-coherent incident field



Rys. 9. Położenie katowe pierwszego, ciemnego prążka (θ_{1-}) w funkcji średnicy włókna (d) i szerokości połówkowej widma promieniowania ($fwhm$) dla wybranych kątów padania fali (ζ) i długości fal maksimum widmowego (λ_0):

($\Delta\lambda = 0,32\text{--}0,54 \mu\text{m}$ (a i b), $0,4045\text{--}0,6245 \mu\text{m}$ (c i d), szkło Schott N-PSK3, $\kappa = 1\text{E-}8$)

Fig. 9. Angular location of the 1st dark fringe in the scattered field (θ_{1-}) vs. fiberglass diameter (d) and source spectral line half-width ($fwhm$) for different angles of the incident light (ζ) and different dominant wavelengths (λ_0)

Na rysunku 9a–d zobrazowano wpływ quasi-monochromatycznego, niekoherentnego promieniowania na wykres położenia pierwszego ciemnego prążka w polu rozproszonym (θ_{1-}) w funkcji zmian średnicy (d) szklanego włókna. Wykresy pseudo-trójwymiarowe powstały przez wykreślenie zależności $\theta_{1-}(d)$ dla wybranych wartości szerokości połówkowych widma promieniowania rozpraszanego ($fwhm$). Eksperyment numeryczny przeprowadzono dla dwóch długości fali maksimum widmowego ($\lambda_0 =$

0,43 i 0,5145 μm) oraz dla dwóch kątów padania wiązki promieniowania ($\zeta = 10$ i 90°). Widoczne ekstrema na rysunku 9a–d tworzą tzw. strukturę interferencyjną, której właściwości opisano w rozdziale 2.2. Wraz ze wzrostem zakresu spektralnego źródła promieniowania, dochodzi do wytłumienia amplitudy ekstremów struktury interferencyjnej, a wykres $\theta_1(d)$ staje się monotoniczny, co sugeruje, że dominującym zjawiskiem w polu rozproszonym pod niewielkim kątem jest dyfrakcja, tak jak wówczas, gdy promieniowanie ulega rozproszeniu na obiekcie o znacznej tłumienności.

Porównując rysunek 9a–d kolumnowo, można zaobserwować wpływ λ_0 , a wierszowo – wpływ ζ . Zaostrzanie kąta padania promieniowania i przesuwanie długości fali w stronę ultrafioletu przyczynia się do wzrostu amplitudy struktury interferencyjnej, ale także do zmniejszenia odstepu pomiędzy jej ekstremami. Jeśli przyjąć, że eksperyment optymalizowany jest pod kątem wykorzystania źródła o ustalonej wartości $fwhm$, to dla zapewnienia monotoniczności wykresu $\theta_1(d)$ istotne jest dążenie do minimalizacji odstepu między ekstremami struktury interferencyjnej.

Zmiana konfiguracji polaryzacyjnej na elektryczną (TE-TE) przynosi podobne wyniki do tych, zilustrowanych na rysunku 9a–d [74].

Interesujące wyniki uzyskano w pracy [74], zastępując niebieską diodę LED charakteryzującą się pojedynczą linią w widmie emisyjnym promieniowania, diodą emitującą światło białe, wykonaną w różnych odmianach technologicznych (niebieska LED + żółty fosfor, niebieska LED + dwubarwny fosfor, struktura RGB). Dla kąta padania równego 10° i polaryzacji TM-TM nie uzyskano monotonicznego wykresu $\theta_1(d)$ w zakresie średnic 5–8 μm , co świadczy o tym, że linie widmowe w widmach emisyjnych białych LED są zbyt monochromatyczne.

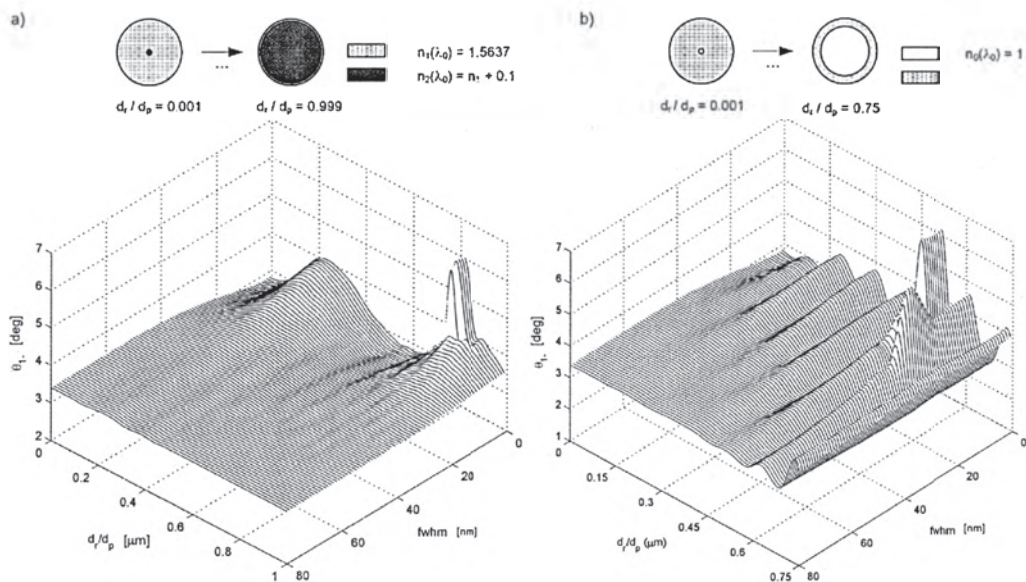
2.3.3. WŁÓKNO SZKLANE JAKO OBIEKT QUASI-DYFRAKCYJNY

Eksperymenty numeryczne przedstawione w rozdziale 3 sugerują, że dyfrakcja jest dominującym zjawiskiem w polu rozproszonym pod niewielkim kątem na włóknie szklanym, oświetlonym quasi-monochromatycznym, niekoherentnym promieniowaniem. Inne komponenty pola rozproszonego, wynikające z propagacji promieniowania przez włókno, zostały stłumione na zasadzie przestrzennego uśrednienia pola rozproszonego. Znikomy wpływ światła przechodzącego przez włókno i morfologię włókna na pole rozproszone (w przyjętej dokładności obserwacji i skali rozważanych zjawisk) prowadzi do przypuszczenia, że włókno można utożsamiać z obiektem quasi-dyfrakcyjnym. Aby potwierdzić tę hipotezę, wykonano serię eksperymentów numerycznych, polegających na zbadaniu wpływu jego struktury refrakcyjnej na położenie pierwszego ciemnego prążka (θ_1).

W pierwszym eksperymencie zbadano wpływ niejednorodności współczynnika załamania na θ_1 . Niejednorodność ma postać rdzenia o średnicy d_r , osadzonego osiowo-symetrycznie w strukturze włókna. Współczynnik załamania rdzenia jest większy o 0,1 względem szklanego włókna. Powstała konstrukcja tworzy światłowód. Na ry-

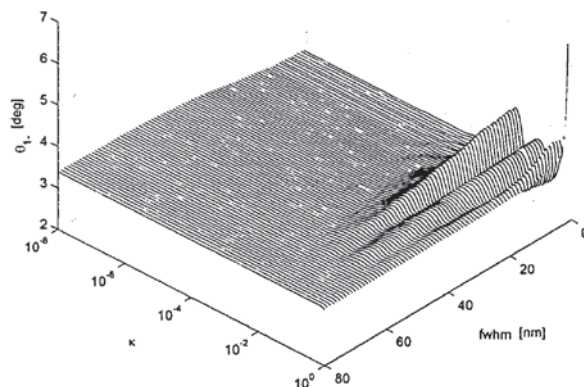
sunku 10a przedstawiono pseudotrójwymiarowy wykres θ_{1-} w funkcji d_r , wykonany dla wybranych szerokości połówkowych widma promieniowania ($fwhm$). Położenie wyróżnionego prążka znacząco zależy od d_r dla najmniejszych $fwhm$ eksperymentu. Wzrost szerokości widmowej powoduje jednak stabilizację położenia prążka i stopniowe *uniewrażliwienie* od zmian średnicy niejednorodności. Dla granicznej wartości $fwhm$, wynoszącej 50 nm, wahania θ_{1-} są równe rozdzielczości symulacji kąta rozproszenia ($0,02^\circ$) w całym przedziale zmian d_r .

W analogicznym eksperymencie homogeniczny rdzeń zastąpiono luką powietrzną, symulując w ten sposób wpływ nieciągłości współczynnika załamania na θ_{1-} . Wyniki doświadczenia przedstawiono na rysunku 10b. Widoczne są obszary na wykresie, które świadczą o uniewrażliwieniu θ_{1-} od średnicy powietrznego rdzenia. Jeśli przyjąć, że szerokość widmowa promieniowania wynosi 50 nm, to zmiany θ_{1-} na poziomie rozdzielczości symulacji kąta rozproszenia występują tylko wtedy, gdy luka powietrzna ma średnicę mniejszą niż 1 μm .



Rys. 10. Wpływ niejednorodności (homogeniczny rdzeń) a) i nieciągłości (luka powietrzna) b) współczynnika załamania we włóknie szklanym na położenie pierwszego, ciemnego prążka w polu rozproszonym (θ_{1-}), w warunkach zastosowania quasi-monochromatycznego, niekoherentnego promieniowania ($\lambda_0 = 0,43 \mu\text{m}$, $\Delta\lambda = 0,32\text{--}0,54 \mu\text{m}$, $N = 2201$, TM-TM, $d_p = 7 \mu\text{m}$, szkło Schott N-PSK3, $\kappa = 1\text{E-}8$, $\zeta = 90^\circ$, $\Delta\theta = 0,02^\circ$)

Fig. 10. Influence of a fibreglass refractive-index inhomogeneity (solid core) a) and discontinuity (air core) b) on the angular location of the 1st dark fringe (θ_{1-}) in the scattered field. The fibre is illuminated by a quasi-monochromatic, non-coherent beam



Rys. 11. Wpływ współczynnika ekstynkcji (κ) szklanego włókna na położenie pierwszego, ciemnego prążka w polu rozproszonym (θ_{1-}), w warunkach zastosowania quasi-monochromatycznego, niekoherentnego promieniowania ($\lambda_0 = 0,43 \mu\text{m}$, $\Delta\lambda = 0,32\text{--}0,54 \mu\text{m}$, $N = 2201$, TM-TM, $d = 7 \mu\text{m}$, szkło Schott N-PSK3, $\zeta = 90^\circ$, $\Delta\theta = 0,02^\circ$)

Fig. 11. Influence of a fibreglass extinction coefficient (κ) on the angular location of the 1st dark fringe (θ_{1-}) in the scattered field. The fibre is illuminated by a quasi-monochromatic, non-coherent beam

Dyskusję na temat wpływu właściwości refrakcyjnych włókna na pole rozproszone pod niewielkim kątem uzupełniają symulacje θ_{1-} w funkcji tłumienia szkła wyrażonego przez współczynnik ekstynkcji (κ). Wyniki przedstawiono na rysunku 11. W warunkach zastosowania promieniowania o odpowiednio szerokim widmie dochodzi do uniezależnienia położenia obserwowanego prążka od tłumienia.

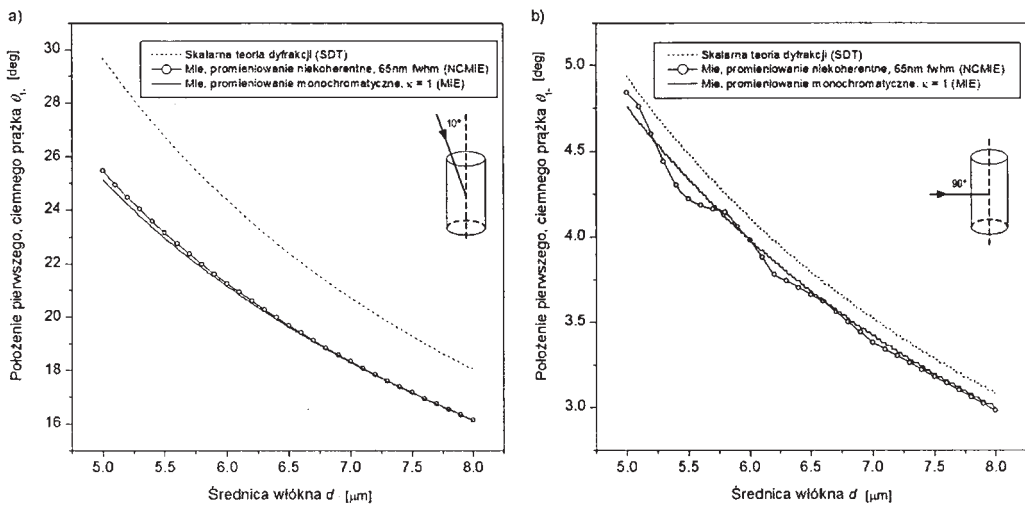
Uniewrażliwienie pola rozproszonego na szklanym włóknie od jego parametrów morfologicznych jest istotną cechą dyfraktometrii wysokiej rozdzielczości. Liczne obserwacje i doświadczenia wskazują bowiem, że współczynniki załamania i ekstynkcji szkła ulegają w procesie produkcji włókna izotropowym i anizotropowym zmianom, często o niepoznanej dotychczas skali i naturze [74]. Strukturę refrakcyjną włókna zaburzają również wady optyczne szkła, takie jak lokalne i rozciągle niejednorodności współczynnika załamania oraz pęcherze powietrza.

Porównanie szklanego włókna rozpraszającego quasi-monochromatyczne, niekoherentne promieniowanie do obiektu quasi-dyfrakcyjnego nasuwa pytanie, czy włókno takie może być utożsamiane z: 1) nieprzezroczystą przeszkodą rozpraszającą falę monochromatyczną w rozumieniu dyfrakcji Fraunhofera, 2) włóknem metalicznym rozpraszającym falę monochromatyczną w opisie teorii Lorenza-Mie.

Próbie odpowiedzi na podane pytania stanowią wyniki symulacji θ_{1-} w funkcji średnicy włókna (d), uzyskane w trzech eksperymentach numerycznych:

- rozpraszanie niekoherentnego promieniowania o szerokości widmowej 65 nm na włóknie szklanym,
- rozpraszanie fali monochromatycznej na włóknie – przeszkodzie cylindrycznej według skalarnej teorii dyfrakcji [76],
- rozpraszanie fali monochromatycznej na włóknie metalicznym ($\kappa = 1$) według teorii Lorenza–Mie [6, 12, 35, 81].

Wyniki dla diagonalnego i normalnego padania fali przedstawiono odpowiednio na rysunku 12a i b.



Rys. 12. Położenie katowe pierwszego, ciemnego prążka w funkcji średnicy włókna według różnych modeli zjawiska rozproszenia (opis – legenda): a) $\zeta = 10^\circ$, b) $\zeta = 90^\circ$

(STD: $\lambda = 0,43 \mu\text{m}$, $n(\lambda) = 1,5505$; NCMIE: $\lambda_0 = 0,43 \mu\text{m}$, $\Delta\lambda = 0,32\text{--}0,54 \mu\text{m}$, $N = 2201$, TM-TM, szkło Schott N-PSK3, $\kappa = 1\text{E-}8$; MIE: $\lambda = 0,43 \mu\text{m}$, TM-TM, szkło Schott N-PSK3, $\kappa = 1$; $\Delta\theta = 0,02^\circ$)

Fig. 12. Angular location of the 1st dark fringe in the scattered field vs. fibre diameter according to: scalar diffraction theory (SDT), Lorenz–Mie scattering for quasi-monochromatic, non-coherent radiation (NCMIE), and Lorenz–Mie scattering for monochromatic wave (MIE): a) $\zeta = 10^\circ$, b) $\zeta = 90^\circ$

Widoczne istotne rozbieżności między modelem dyfrakcyjnym a pozostałymi modelami nie kwestionują słuszności analogii 1). Wskazują one jedynie na aproksymacyjny charakter modelu dyfrakcyjnego, opartego na zasadzie Huygensa–Fresnela [20]. Dokładność aproksymacji danych przez ten model jest tym lepsza, im rozmiary przeszkody cylindrycznej są większe w odniesieniu do długości fali.

Rysunek 12a i b potwierdza również słuszność analogii 2). Wykładniczy trend wykresu $\theta_{1-}(d)$ jest wynikiem dyfrakcyjnych zmian pola rozproszonego. θ_{1-} podlega również wpływowi składowych pola rozproszonego, które propagują się przez strukturę włókna i w polu rozproszonym modyfikują położenie prążków dyfrakcyjnych. W wyniku tego wpływu, wyróżniony prążek dyfrakcyjny oscyluje wokół położenia

wynikającego ze zjawiska dyfrakcji (rys. 12b). Amplituda oscylacji θ_{1-} zależy od kąta pochylenia włókna względem kierunku propagacji fali padającej, a także szerokości widmowej promieniowania i szczytowej długości fali [74].

2.3.4. WYBRANE ZAGADNIENIA PROCESU ESTYMACJI ŚREDNICY WŁÓKNA

Kluczowym zagadnieniem estymacji średnicy włókna szklanego jest utworzenie nieskomplikowanego modelu przyczynowo-skutkowego (modelu „wprost”) pomiędzy średnicą włókna (d) a wybraną cechą pola rozproszonego, tj. położeniem pierwszego ciemnego prążka (θ_{1-}). Model przyczynowy jest punktem wyjścia do opracowania modelu „odwrotnego”, który umożliwi estymację średnicy włókna.

Adekwatne modelowanie pola rozproszonego na włóknie szklanym, w warunkach zastosowania quasi-monochromatycznego, niekoherentnego promieniowania, możliwe jest, gdy wykorzystamy ścisłą teorię dyfrakcji światła – teorii Lorenza–Mie. Rozwiązanie zagadnienia odwrotnego na gruncie tej teorii jest jednak zagadnieniem trudnym, możliwym do realizacji tylko w szczególnych przypadkach. Jest tak dlatego, że zagadnienie odwrotne jest niejednoznaczne, a ponadto pole rozproszone zależy nieliniowo od właściwości obiektu rozpraszającego falę [16, 17]. Z kolei możliwości stosowania aproksymacyjnego modelu dyfrakcyjnego ograniczone są do przypadków, gdy rozmiary obiektu rozpraszającego falę są dużo większe od długości fali (rozd. 2.3.3). W tej sytuacji zdecydowano się na stworzenie empirycznego modelu przyczynowo-skutkowego, którego struktura abstrahuje od rzeczywistych zjawisk fizycznych wpływających na pole rozproszone pod niewielkim kątem.

Struktura matematyczna modelu empirycznego jest rezultatem dopasowania do danych eksperymentalnych (odniesienia). Źródłem takich danych w eksperymencie z rozpraszaniem quasi-monochromatycznego, niekoherentnego promieniowania jest model Lorenza–Mie (rozd. 2.3.1). Na rysunku 13a przedstawiono wykres $\theta_{1-}(d)$ uzyskany przez symulację pola rozproszonego z wykorzystaniem modelu odniesienia. Warunki eksperymentu (parametry widmowe promieniowania, kąt pochylenia włókna względem kierunku padania fali) zostały dobrane w taki sposób, aby zapewnić monotoniczność wykresu $\theta_{1-}(d)$ w przedziale średnic 5–8 μm . Do aproksymacji danych z rysunku 13a proponuje się wykorzystanie szeregu potęgowego stopnia N :

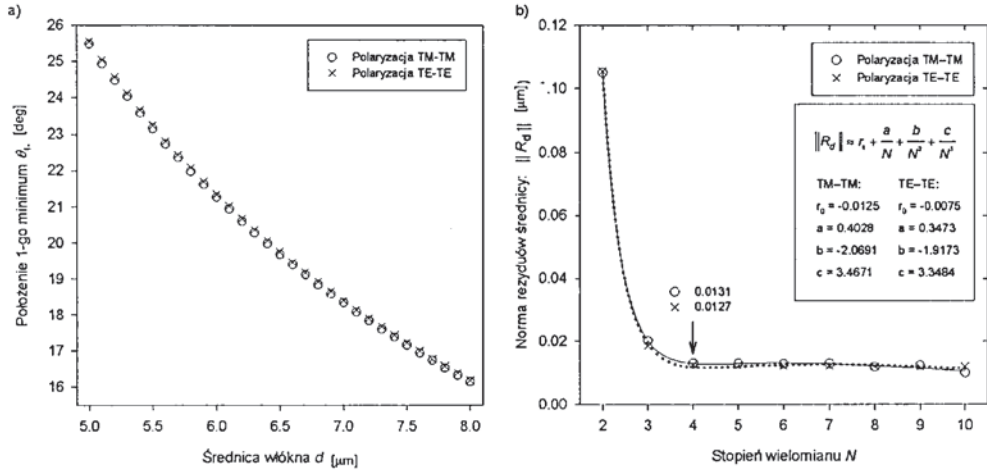
$$\hat{\theta}_{1-}(d) = p_N d^N + \dots + p_2 d^2 + p_1 d + p_0 \quad (3)$$

gdzie $p_0, p_1, \dots, p_N$ są parametrami szeregu potęgowego, obliczanymi metodą najmniejszych kwadratów.

Wnioskowanie odwrotne w procesie estymacji średnicy włókna sprowadza się do poszukiwania pierwiastków równania (3). Problemem jest dobór stopnia modelu, który zapewni kompromis między dokładnością opisu danych i rozsądną liczbą parametrów. Rozwiązanie może polegać na sformułowaniu funkcji kryterialnej, będącej miarą dopasowania modelu odwrotnego do danych pomiarowych. Taką funkcją jest norma rezyduów:

$$\|R_d\| = \|d - \hat{d}\| \quad (4)$$

gdzie $\mathbf{d}$ jest wektorem rzeczywistych średnic, a $\hat{\mathbf{d}}$ jest wektorem estymat średnicy. Na rysunku 13b przedstawiono wykres $\|R_d\|$ w funkcji stopnia N wielomianu aproksymującego. Stopniowa redukcja liczby parametrów pokazuje, że zmiany $\|R_d\|$ są niewielkie aż do $N = 4$. Wedle kryterium (4), wielomian stopnia czwartego można uznać za optymalny.



Rys. 13. a) Wykres danych eksperymentalnych, uzyskanych w drodze symulacji pola rozproszonego na włóknie szklanym za pomocą modelu Lorenza–Mie, b) norma rezyduów średnicy jako funkcja stopnia wielomianu aproksymującego dane z wykresu a) ($\lambda_0 = 0,43 \mu\text{m}$, $\Delta\lambda = 0,32\text{--}0,54 \mu\text{m}$, $N = 2201$, szkło Schott N-PSK3, $\zeta = 10^\circ$, $\Delta\theta = 0,02^\circ$)

Fig. 13. a) Angular location of the 1st dark fringe in the scattered field vs. fibre diameter according to Lorenz–Mie theory (reference data), b) norm of diameter residuals vs. degree of polynomial fitting data points from fig. a)

Kolejnym zagadnieniem procesu estymacji jest ocena dokładności estymacji średnicy włókna. Ocena taka powinna obejmować zbadanie wpływu błędów systematycznych, błędów losowych, a także niedokładności aproksymacji danych eksperymentalnych (niedokładności modelu odwrotnego) [62]. Wyniki takiej oceny dla wybranych warunków eksperymentu zebrano w tabeli 1, przy czym z analizy wyłączono wpływ błędu przypadkowego na wynik, ze względu na czasochłonny charakter obliczeń pola rozproszonego. Przyjęto, że błąd systematyczny jest konsekwencją różnicy między aktualnymi warunkami pomiaru i warunkami odniesienia, dla których eksperyment pomiarowy jest optymalizowany. Poddano ocenie wpływ zmienności takich parametrów, jak: parametry promieniowania oświetlającego (szczytowa długość fali, λ_0 , szerokość połówkowa widma, $fwhm$), kąt padania wiązki oświetlającej na włókno (ζ), kąt polaryzacji (γ), parametry morfologiczne włókna (współczynnik załamania n , współczynnik ekstynkcji, κ). Założono, że przemieszczenie włókna w obrębie objętości

pomiarowej nie wpływa na pole rozproszone w zakresie niewielkich kątów rozproszenia. Takie założenie jest uzasadnione pod warunkiem zastosowania skolimowanej wiązki promieniowania i optyki Fouriera [18, 60]. Niepewność określenia współczynnika załamania szkła przyjęto jako wypadkową jego anizotropowych i izotropowych zmian w procesie produkcji [74]. Średnica nominalna włókna wynosi $7\ \mu\text{m}$.

Maksymalna niepewność estymacji średnicy wynosi 1,6%, przy czym niedokładność modelu odwrotnego dla warunków odniesienia jest równa 0,016% (tab. 1). Najbardziej znaczący wpływ na niepewność estymacji średnicy ma błąd systematyczny wynikający ze zmienności ζ oraz λ_0 . Wpływ ζ powinien być starannie zbadany w ramach praktycznej implementacji dyfraktometrii wysokiej rozdzielczości. Jeśli zmiany tego kąta przyczyniają się do powstawania niedopuszczalnie dużego błędu pomiaru, należy rozważyć możliwość przeprowadzenia eksperymentu pod większym kątem nachylenia, co jednak wiąże się ze zmianą parametrów promieniowania ($fwhm$, λ_0) w celu uzyskania monotonicznych zmian położenia pierwszego ciemnego prążka w funkcji zmian średnicy badanego włókna (rozdz. 2.3.2).

Porównywalne wyniki estymacji średnicy włókna uzyskano dla konfiguracji elektrycznej (TE-TE) układu pomiarowego oraz dla innych wartości średnic z przedziału 5–8 μm [74].

Tabela 1. Wyniki estymacji średnicy włókna dla wybranych parametrów eksperymentu
($d = 7\ \mu\text{m}$, TM-TM, $\Delta\theta = 0,001^\circ$)

Table 1. Fibreglass diameter estimation for the experiment parameters assumed

Parametry eksperymentu			Odpowiedź modelu odwrotnego	
Parametr*	Warunki odniesienia	Przedział zmienności	$\hat{d}\ (\mu\text{m})$	$\delta\hat{d}\ (\%)$
$\lambda_0\ (\mu\text{m})$	0,43	$\pm 0,001$	7,00	0,24
$fwhm\ (\text{nm})$	65	± 1		– ⁽¹⁾
$\zeta\ (\text{deg})$	10,00	$\pm 0,1$		1
$\gamma\ (\text{deg})$	90	$\pm 0,1$		0,006
$n\ (\lambda_0)$	1,5637	$\pm 0,025$		0,023
κ	1E-8	1E-8–1E-7		– ⁽¹⁾

* Nie stwierdzono wpływu parametru na $\hat{d}$ w przyjętej rozdzielczości symulacji kąta rozproszenia.

3. INTERFEROMETRIA W OBSZARZE TĘCZY

3.1. NATURA TĘCZY MONOCHROMATYCZNEJ POWSTAJĄCEJ NA WŁÓKNIE SZKLANYM

Rozpraszanie fali na cząstce charakteryzującej się niską tłumiennością, wysokim stopniem symetrii osiowej i średnicą znacznie większą od długości fali promieniowa-

nia prowadzi do wielu obserwowalnych w polu rozproszonym zjawisk optycznych, w tym zjawiska tęczy. W warunkach naturalnych obserwuje się najczęściej tzw. tęczę pierwszego rzędu. Rzadziej można zaobserwować tęczę drugiego rzędu, która charakteryzuje się nieco mniejszym natężeniem i inwersją barw¹. Obszar między tęczą pierwszego i drugiego rzędu nosi nazwę pasma Aleksandra².

W wyniku rozproszenia elementarnej fali elektromagnetycznej o długości λ powstaje tęcza monochromatyczna. Szczegółowe studia nad mechanizmem powstawania tęczy monochromatycznej zebrane są m.in. w pracy Adama [2] oraz Lee i Fräsera [41]. Tęcza wielobarwna może być uważana jako niekoherentna superpozycja rozproszonych fal elementarnych z zakresu widmowego światła rozpraszanego [39, 42].

Na wykresie natężenia promieniowania rozproszonego na homogenicznym włóknie szklanym w funkcji kąta rozproszenia, obliczonym według teorii Lorenza–Mie, widoczne są dwa obszary o podwyższonym natężeniu (rys. 14a). Struktura prążkowa umiejscowiona w obszarze kątów powyżej 155° to tęcza pierwszego rzędu, natomiast struktura widoczna w kącie rozproszenia 94° i mniejszych to tęcza drugiego rzędu. Szczytowe natężenie tęczy pierwszego rzędu jest prawie pięciokrotnie większe dla wybranych warunków symulacji.

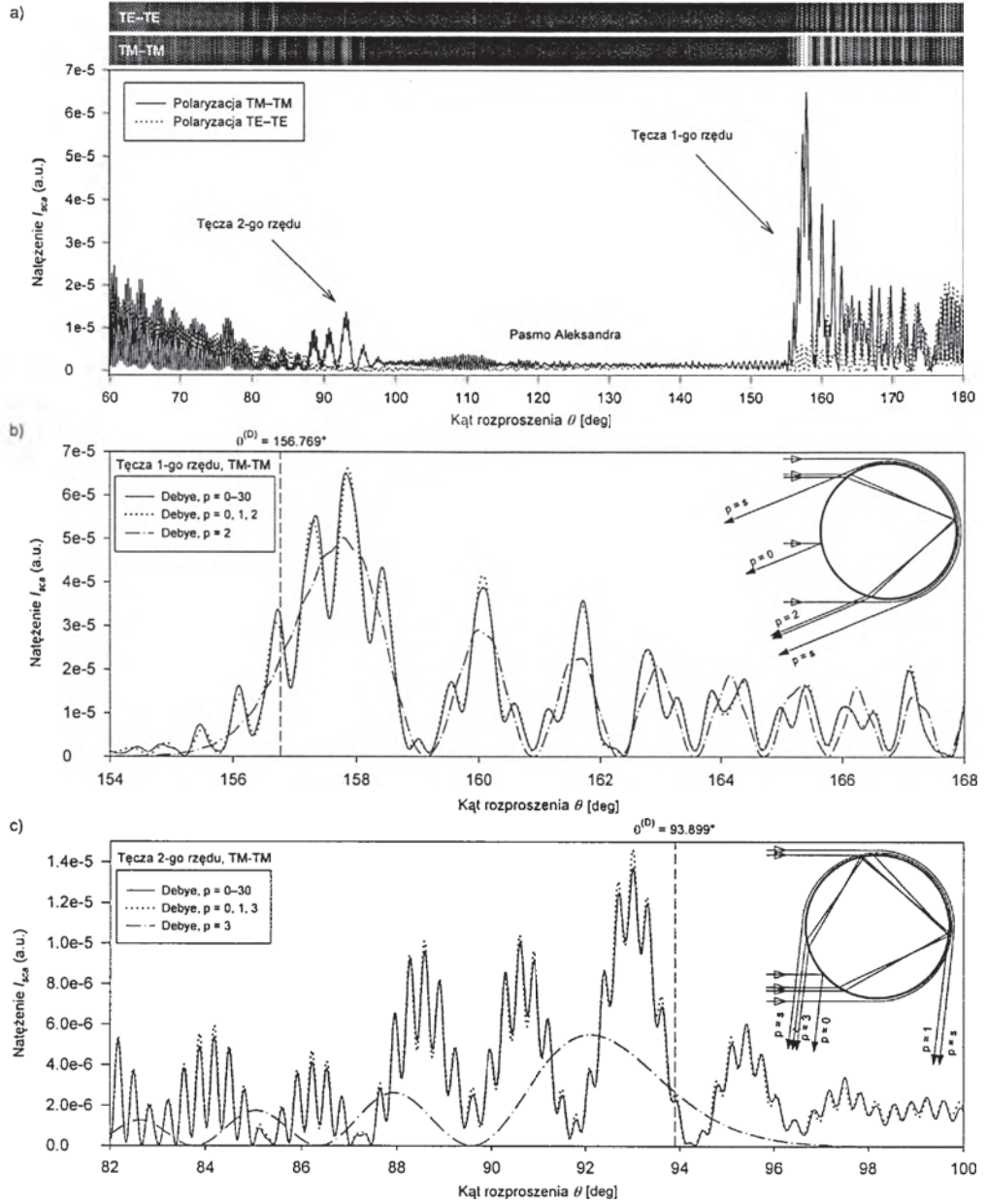
Zrozumienie natury tęczy umożliwia metoda rozwinięcia rozproszonego pola elektromagnetycznego w szeregi Deby’ego [43]. Poszczególne składniki tego szeregu interpretowane są jako indywidualne komponenty rozproszone w rozumieniu optyki geometrycznej, co umożliwia obserwację udziału komponentów ugiętych, odbitych, wielokrotnie rozproszonych i fal powierzchniowych w tworzeniu pola wypadkowego. Pełny obraz pola rozproszonego uzyskuje się po uwzględnieniu nieskończonej liczby komponentów rozproszonych.

Na rysunku 14b przedstawiono wyniki dekompozycji pola rozproszonego w obszarze tęczy pierwszego rzędu, wykonanej metodą szeregów Deby’ego. Wyróżniono jeden promień odbity od powierzchni włókna (rzędu $p = 0$) i dwa promienie załamane po jednym wewnętrznym odbiciu ($p = 2$). Promienie rzędu drugiego cechują się zbliżonymi drogami optycznymi, porównywalnymi amplitudami, opuszczają włókno pod tym samym kątem, ale mają odmienne kąty padania. Ich interferencja w polu dalekim jest powodem powstania wyraźnego, regularnego obrazu prążkowego, nazywanego tęczą Airy. Z kolei wpływ promienia $p = 0$ ujawnia się w postaci wysokoczęstotliwościowej struktury (ang. *ripple structure*) modulującej tęczę Airy. Wektorowa suma pól reprezentowanych przez promienie $p = 0$ i 2 daje w wyniku pole zbliżone do rzeczywistego, aproksymowanego dużą liczbą komponentów w rozwinięciu Deby’ego ($p = 0\text{--}30$).

Pole rozproszone w obszarze tęczy drugiego rzędu ma bardziej skomplikowaną naturę. W obszarze tym dominują promienie: $p = 0$ (promień odbity), $p = 3$ (dwa pro-

¹ W literaturze tęcza pierwszego/drugiego rzędu nazywana jest czasami tęczą pierwotną/wtórą.

² Grecki filozof, który studiował naturę tęczy i jako pierwszy opisał ciemny obszar pomiędzy tęczą pierwszego i drugiego rzędu.



Rys. 14. Natężenie pola rozproszonego (jednostki dowolne) na włóknie o średnicy $125\ \mu\text{m}$ w funkcji kąta rozproszenia w obszarze tęczy 1. i 2. rzędu, według teorii Lorenza-Mie (a) oraz szeregów Debye'ego (b, c) ($\lambda = 0,6328\ \mu\text{m}$, $m = 1,4957 + 0$, $\zeta = 90^\circ$)

Fig. 14. Lorenz-Mie (a) and Debye series (b, c) calculations of scattered intensity (in arbitrary units) vs. scattering angle for the primary and secondary rainbow and a fibre of $125\ \mu\text{m}$ diameter

mienie załamane po dwóch wewnętrznych odbiciach) i $p = 1$ (promień załamany bez wewnętrznych odbić) (rys. 14c). Wektorowe dodanie pól reprezentowanych przez te promienie daje w wyniku wykres natężenia zbliżony kształtem do wykresu odniesienia, uwzględniającego komponenty 0–30. Przez interferencję promieni $p = 3$ powstaje tęcza Airy, lecz położenie i amplituda jej prążków znacznie odbiega od tych obserwowanych na wykresie odniesienia. Podobnie jak w przypadku tęczy pierwszego rzędu, wysokoczęstotliwościowa struktura modulująca tęczę Airy jest wynikiem wpływu promienia odbitego.

W celu uzupełnienia opisu rozproszenia fali w obszarze tęczy na rysunku 14b i c schematycznie zaznaczono udział fal powierzchniowych propagujących się we włóknie, będącym *de facto* mikrorezonatorem optycznym [24, 27, 80]. Fale te przyczyniają się do powstawania mikrostrukturalnych pików rezonansowych (MDR) na wykresach natężenia fali rozproszonej w funkcji zmian średnicy włókna (rozdz. 2.2).

Według klasycznych praw opartych na optyce geometrycznej, sformułowanych przez Descartesa w XVII wieku [41, 52], wśród promieni co najmniej drugiego rzędu istnieje taki promień, który opuszcza cząstkę pod najmniejszym możliwym kątem dewiacji od kierunku pierwotnego (padania). Promień taki nazywany jest promieniem Descartesa, a odpowiadający mu kąt rozproszenia – kątem Descartesa

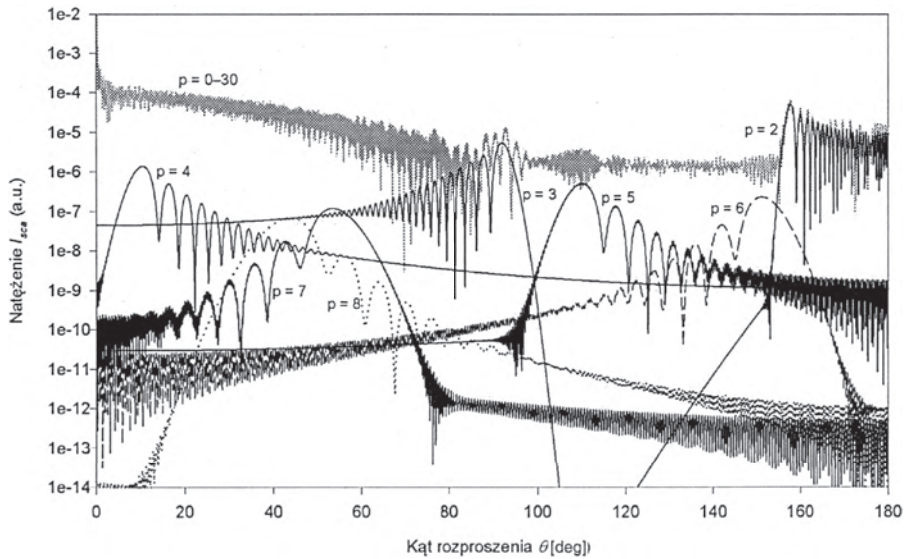
$$\theta_p^D = (p-1)\pi + 2\theta_i^D - 2p\theta_t^D \quad (5)$$

gdzie $p = 2$ dla tęczy pierwszego rzędu, $p = 3$ dla tęczy drugiego rzędu itd., θ_i^D , θ_t^D – kąty padania i załamania promienia Descartesa, które zdefiniowane są względem normalnej do powierzchni cylindra i wynikają z prawa Snella. Kąty Descartesa tęczy pierwszego i drugiego rzędu zostały zaznaczone odpowiednio na rysunku 14b i c.

Warto zauważyć, że kąt Descartesa według (5) jest funkcją współczynnika załamania cząstki, ale nie zależy od jej średnicy. Fakt ten słuszny jest w dziedzinie praw optyki geometrycznej, opisującej z dobrą dokładnością zjawisko rozproszenia fali wówczas, gdy rozmiar cząstki jest dużo większy od długości fali.

Tęcze wyższych rzędów niż drugi są trudne do zaobserwowania ze względu na niewielką amplitudę komponentów pola warunkujących ich powstanie. Obrazuje to rysunek 15, na którym przedstawiono tęcze o rzędach 1–7. W specyficznych eksperymentach laboratoryjnych, w polu rozproszonym na cząstce sferycznej oświetlonej silnie skupioną wiązką laserową, udało się jak dotąd zaobserwować tęczę nawet 200. rzędu [54].

Obserwację wpływu średnicy włókna na tęczę pierwszego i drugiego rzędu umożliwia rysunek 16. Tęcza Airy powstająca na włóknie o niewielkim parametrze rozmiarowym x ($x = \pi d/\lambda$, gdzie d jest średnicą włókna, λ – długością fali) jest silnie zniekształcona przez komponenty pola ulegające dyfrakcji na włóknie i odbiciu od jego powierzchni. Wraz ze zwiększaniem średnicy, obserwuje się wzrost energii pola rozproszonego w obszarze obu tęczy i wyraźne zarysowanie pasma Aleksandra, w którym komponenty rozproszone drugiego rzędu i trzeciego nie mogą istnieć według praw wyrażonych przez Descartesa.

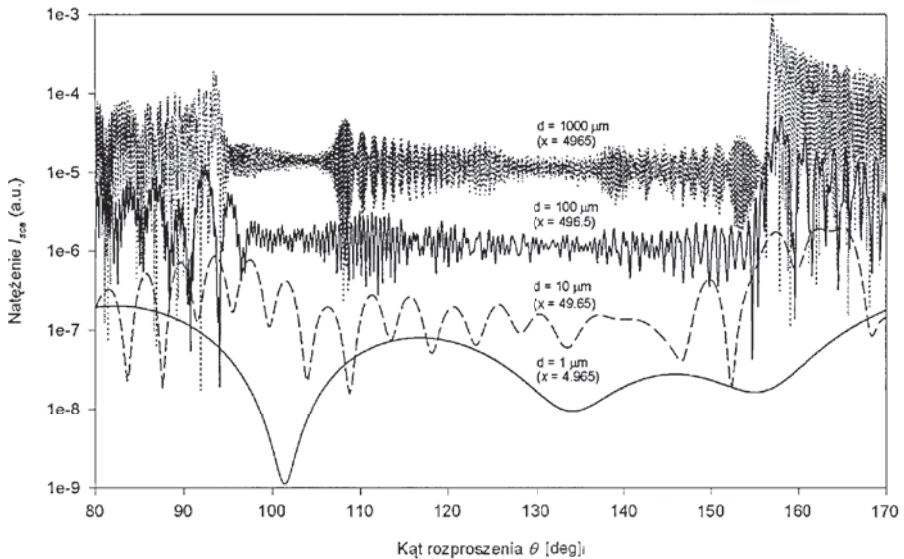


Rys. 15. Dekompozycja pola rozproszonego na włóknie na składowe rzędu p metodą szeregów Deby'ego.

Widoczne są tęcze rzędu 1–7 ($\lambda = 0,6328 \mu\text{m}$, TM-TM, $m = 1,4957 + 0$, $\zeta = 90^\circ$)

Fig. 15. Debye series decomposition of scattered intensity (in arbitrary units) vs. scattering angle.

The rainbows of order 1–7 manifest themselves in different angular regions



Rys. 16. Wpływ średnicy włókna na pole rozproszone w obszarze tęczy pierwszego i drugiego rzędu

($\lambda = 0,6328 \mu\text{m}$, TM-TM, $m = 1,4957 + 0$, $\zeta = 90^\circ$)

Fig. 16. Scattered intensity (in arbitrary units) vs. scattering angle for different fibre diameters

Struktura tęczy jest odmienna dla dwóch ortogonalnych stanów polaryzacyjnych – magnetycznego (TM-TM) i elektrycznego (TE-TE). Wyraźny obraz prążkowy powstaje tylko dla polaryzacji magnetycznej (rys. 14a). Rozróżnienie polaryzacyjne wynika z tego, że znaczna część energii pola świetlnego spolaryzowanego elektrycznie ulega załamaniu na granicy włókno–otoczenie pod kątem równym lub zbliżonym do kąta Brewstera, a tylko nieznaczna część rozpraszana jest do obszaru tęczy [38].

Mechanizmy fizyczne powstawania tęczy monochromatycznej, w zakresie pojęć i praw formułowanych przez optykę geometryczną, są podobne do homogenicznego cylindra i homogenicznej sfery. Dlatego też droga modelowania matematycznego tęczy – prowadząca do uproszczonych modeli zjawiska, na przykład z wykorzystaniem całki Airy i zasad Huygensa–Fresnela i Pottera [2] – jest jednakowa dla obu typów cząstek [3, 46]. Symulacje tęczy z zastosowaniem ścisłej teorii Lorenza–Mie wskazują jednak na istnienie pewnych różnic między tęczą powstającą na cylindrze i sferze. W przypadku tęczy pierwszego rzędu różnice te mają postać wzajemnego przesunięcia kąтового prążków [23].

3.2. ZARYS PROBLEMATYKI WYKORZYSTANIA TĘCZY MONOCHROMATYCZNEJ W POMIARZE CECH FIZYCZNYCH SZKLANEGO WŁÓKNA

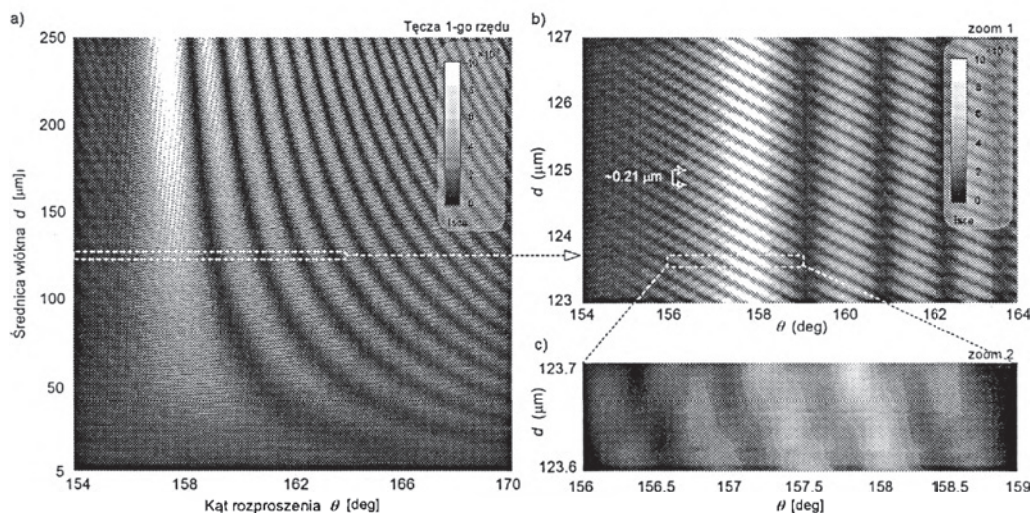
Złożona natura pola rozproszonego w obszarze tęczy jest przyczyną trudności w jednoznacznym ustaleniu związków przyczynowo-skutkowych między cechą obserwowanego pola a właściwością fizyczną badanego włókna, ustalaną w procesie estymacji. Problem ten ilustrują wykresy poziomocowe natężenia fali monochromatycznej, rozproszonej na homogenicznym włóknie szklanym, w funkcji kąta rozproszenia (θ) i średnicy włókna (d) (rys. 17). Wykresy obrazują, że położenie kątowe ciemnych i jasnych prążków tęczy nie jest monotoniczną funkcją średnicy włókna. Widoczne na rysunku 17b zakłócenia o charakterze periodycznym ($\sim 0,21 \mu\text{m}$), nałożone na wykres prążków Airy, wynikają w głównej mierze z wpływu promieniowania odbitego od powierzchni włókna. Na wykresach natężenia pola w funkcji kąta rozproszenia (rys. 14b i c) wpływ promieniowania odbitego ujawnia się w postaci wysokoczęstotliwościowego sygnału modulującego tęczę Airy, którego częstotliwość i faza są czułe na zmiany średnicy włókna. Na położenie i kształt prążków tęczy ma również wpływ promieniowanie wielokrotnie rozproszone we włóknie, ujawniające się w postaci mikrostrukturalnych pików rezonansowych (MDR), widocznych na rysunku 17c.

Wykorzystywane obecnie metody analizy tęczy monochromatycznej pod kątem estymacji cech fizycznych obiektu rozpraszającego falę ukierunkowane są trójwątowo.

3.2.1. MODYFIKACJA CECH ZAREJESTROWANEGO SYGNAŁU TĘCZY

Do tej grupy metod analizy tęczy zaliczono te, które modyfikują oryginalny, zarejestrowany sygnał tęczy monochromatycznej w celu uproszczenia jego analizy i bu-

dowy nieskomplikowanych modeli fizycznych i matematycznych tęczy. Wykorzystywane metody analizy operują zarówno w dziedzinie przestrzeni, jak i w dziedzinie częstotliwości. Matematyczna obróbka sygnału tęczy napotyka jednak liczne trudności, jest to bowiem sygnał nieperiodyczny o złożonym widmie [74, 78].



Rys. 17. Wykresy poziomicowe natężenia pola rozproszonego w funkcji kąta rozproszenia i średnicy szklanego włókna wg teorii Lorenza–Mie (obszar tęczy 1. rzędu) ($\lambda = 0,6328 \mu\text{m}$, TM-TM, $m = 1,4957 + 1\text{E}-8$, $\zeta = 90^\circ$, (a, b): $\Delta d = 0,01 \mu\text{m}$, $\Delta\theta = 0,01^\circ$, (c): $\Delta d = 0,001 \mu\text{m}$, $\Delta\theta = 0,001^\circ$)

Fig. 17. Mie simulations of scattered intensity vs. scattering angle and fibreglass diameter (primary rainbow)

Powszechnie wykorzystywaną techniką analizy jest filtracja dolnoprzepustowa sygnału tęczy, która umożliwia wytlumienie składowej wysokoczęstotliwościowej [58, 67, 80]. Prosta filtracja dolnoprzepustowa z jednej strony redukuje niepożądane składowe tęczy, z drugiej zaś strony wprowadza przesunięcie fazy do zarejestrowanego, oryginalnego sygnału tęczy, co oznacza zmianę położenia kąтового jej prążków. W konsekwencji położenie prążków tęczy zależy od parametrów filtru. Problem zmiany fazy może być teoretycznie rozwiązany przez zastosowanie filtracji równoległej [60] – zmierzony sygnał tęczy i sygnał odniesienia, uzyskany przez symulację z wykorzystaniem teorii Lorenza–Mie, filtrowane są tym samym filtrem, przez co niepożądane przesunięcie fazy jest jednakowe dla obu sygnałów. Metoda filtracji równoległej wymaga jednak apriorycznej wiedzy o badanym obiekcie i fizyce procesu rozpraszania dla wygenerowania danych porównawczych.

Kolejne ograniczenie prostych metod filtracyjnych w analizie tęczy wynika z tego, że składowa wysokoczęstotliwościowa tęczy jest czuła na zmiany właściwości fizycznych cząstki. Utrudnia to znacząco estymację średnicy czy współczynnika załamania

w szerokim zakresie ich zmian. Problem ten może zostać rozwiązany przez wstępną, zgrubną estymację danego parametru cząstki, umożliwiającą dobranie parametrów filtru, a następnie wykonanie ponownego pomiaru z filtracją.

Do metod analizy, które modyfikują zmierzony sygnał tęczy, należy zaliczyć metody analizy widmowej. Bardzo ilustratywny sposób interpretacji widma tęczy, wykorzystujący reguły optyki geometrycznej dla eksperymentu Younga z podwójną szczeliną, podają van Beeck i Riethmuller [80]. Autorzy dowodzą, że poszczególne maksima widma tęczy można interpretować jako rezultat wzajemnych interferencji komponentów geometrycznych tworzących tęczę (promieni rzędu $p = 0, 1, 2, \dots$). Niektóre maksima widmowe są przy tym trudno wyróżnialne, a nawet niemożliwe do zaobserwowania, sygnał tęczy bowiem jest nieperiodyczny w dziedzinie przestrzeni. Trudności w estymacji parametrów widmowych (np. położenia prążków charakterystycznych) są szczególnie duże, gdy cząstka rozpraszająca falę charakteryzuje się **niewielkim** parametrem rozmiarowym ($x \ll 500$). Dla takiej cząstki reprezentacje widmowe tęczy Airy i wysokoczęstotliwościowej składowej modulującej tęczę Airy leżą blisko siebie [82]. Kluczową rolę w procesie estymacji parametrów widmowych odgrywają: kąt początkowy i zakres kątowy pola rozproszonego poddanego transformacji, rodzaj zastosowanego okna DFT, a także metoda estymacji.

Trudności w interpretacji widma tęczy sprawiają, że postępowanie odwrotne w procesie estymacji cech fizycznych cząstki przyjmuje często formę dopasowywania się do danych eksperymentalnych, abstrahując tym samym od rzeczywistych zjawisk fizycznych zachodzących podczas rozpraszania fali [23, 25, 69].

3.2.2. MODYFIKACJA TĘCZY PRZEZ ZMIANĘ PARAMETRÓW POLA

Opisane metody analizy tęczy, ukierunkowane na wyodrębnienie informacji istotnych ze względu na przyjęcie zwykle uproszczonego modelu matematycznego zjawiska rozpraszania fali, w mniejszym lub większym stopniu modyfikują tęczę. Na pewnym etapie analizy dokonywana jest filtracja sygnału zarejestrowanego przez detektor, nie jest możliwa bowiem przestrzenna separacja komponentów pola rozproszonego, tj. dyfrakcji od składników załamanych i odbitych, jedno- i wielokrotnie. W ramach teorii Lorenza–Mie takie oddzielenie możliwe jest przez modyfikację parametrów przestrzennych i widmowych pola padającego.

Kształtowanie tęczy za pomocą modyfikacji pola padającego jest podstawą działania metody, w której dokonywana jest czasowa separacja komponentów pola rozproszonego [9, 48–50]. W tym celu wykorzystywany jest laser femtosekundowy, oświetlający badaną cząstkę ultrakrótkimi impulsami promieniowania. Dzięki różnym czasom propagacji przez cząstkę komponentów, tworzących pole rozproszone, otrzymuje się ich czasową separację na detektorze. Taka separacja w przypadku komponentów warunkujących powstanie tęczy Airy jest bardzo efektywna, ponieważ drogi propagacji składowych tworzących tęczę Airy są zbliżone, ale różnią się znacznie od drogi propagacji komponentu odbitego ($p = 0$), odpowiedzialnego za powstawanie składowej wysokoczęstotliwościowej.

W metodzie opisanej przez Mèesa i in. [51] modyfikuje się z kolei parametry przestrzenne wiązki oświetlającej. Badaną cząstkę umieszcza się w polu silnie skupionej wiązki lasera o średnicy przewężenia znacznie mniejszej od średnicy cząstki. Przemieszczając precyzyjnie wiązkę lasera po powierzchni cząstki, można wytworzyć tęczę, która jest wynikiem interferencji tylko komponentów warunkujących powstanie tęczy Airy. Metoda ta jest jednak niepraktyczna w większości zastosowań ze względu na trudności w precyzyjnym ogniskowaniu wiązki promieniowania [4].

W rozdziale 3.3 niniejszej pracy opisano, opracowaną przez autorów, metodę wytworzenia tęczy, która polega na modyfikacji właściwości widmowych wiązki oświetlającej.

3.2.3. ANALIZA NIEZMIENIONEGO SYGNAŁU TĘCZY

Jak wynika z rysunku 17b, położenie prążków tęczy Airy nie jest monotoniczną funkcją średnicy włókna, lecz składowa wysokoczęstotliwościowa, w okresie zmian średnicy $\sim 0,21 \mu\text{m}$ dla przyjętych warunków symulacji, przesuwana jest w kącie rozpraszania o jeden okres. Możliwe jest zatem śledzenie zmian średnicy badanej cząstki w przedziale znacznie mniejszym niż długość fali promieniowania oświetlającego przez obserwację zmiany położenia prążków struktury wysokoczęstotliwościowej [23]. Problemem tego typu analizy jest obecność mikrostrukturalnych pików rezonansowych (MDR), widocznych na rysunku 17c, wpływających na położenie prążków tęczy.

3.3. ANALIZA TĘCZY PIERWSZEGO RZĘDU POWSTAJĄCEJ W WYNIKU ROZPROSZENIA QUASI-MONOCROMATYCZNEGO, NIEKOHERENTNEGO PROMIENIOWANIA NA SZKLANYM WŁÓKNIE POD KĄTEM POMIARU ŚREDNICY WŁÓKNA

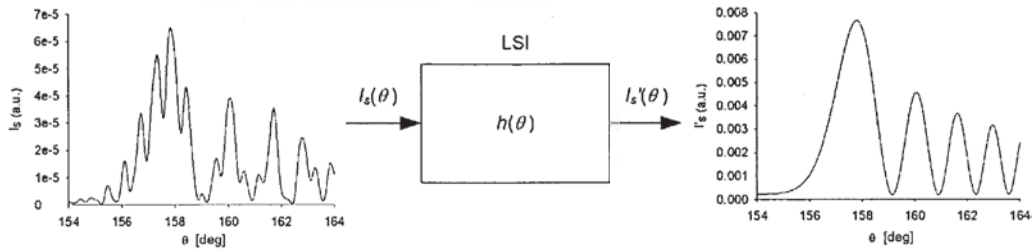
3.3.1. WPLYW QUASI-MONOCROMATYCZNEGO, NIEKOHERENTNEGO PROMIENIOWANIA NA TĘCZĘ

Stworzenie szczegółowego opisu rozproszenia quasi-monochromatycznego, czasowo niekoherentnego promieniowania optycznego na cząstce, wymaga zastosowania metod optyki statystycznej. Uproszczona metoda symulacji natężenia rozproszonego polega na niekoherentnym sumowaniu udziału każdej z niezależnie rozproszonych fal cząstkowych z widma promieniowania. Aspekty symulacji przedyskutowano w rozdziale 2.3.1.

Rozproszenie quasi-monochromatycznego, niekoherentnego promieniowania na cząstce można porównać do działania systemu liniowego, niezmiennego w przestrzeni, LSI (ang. *Linear Shift-Invariant*; rys. 18). Sygnałem wejściowym tego systemu jest funkcja natężenia pola rozproszonego od kąta rozproszenia, $I_s(\theta)$, zmierzona w warunkach oświetlenia promieniowaniem monochromatycznym, natomiast sygnałem wyjściowym jest analogiczna funkcja $I'_s(\theta)$, ale zmierzona w warunkach oświetlenia pro-

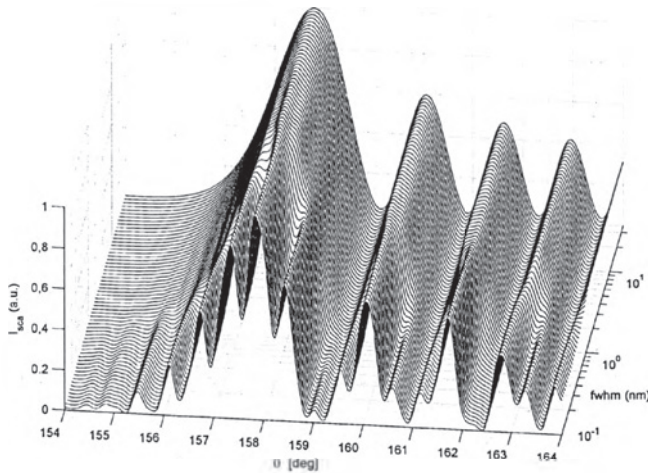
mieniowaniu quasi-monochromatycznym i niekoherentnym. System LSI przetwarza sygnał wejściowy na wyjściowy z wykorzystaniem odpowiedzi impulsowej $h(\theta)$.

Liniowość opisywanego systemu wynika z tego, że natężenie fali rozproszonej wynika z niekoherentnej superpozycji fal cząstkowych z widma promieniowania oświetlającego. Z kolei niezmiennosc w przestrzeni wynika z faktu, że jeśli $I_s(\theta) \rightarrow I'_s(\theta)$, to $I_s(\theta - \theta_0) \rightarrow I'_s(\theta - \theta_0)$.



Rys. 18. Działanie quasi-monochromatycznego, niekoherentnego promieniowania optycznego jako układu liniowego, niezmiennego w przestrzeni (LSI)

Fig. 18. Analogy between scattering of quasi-monochromatic, non-coherent radiation and a linear, shift-invariant system (LSI)



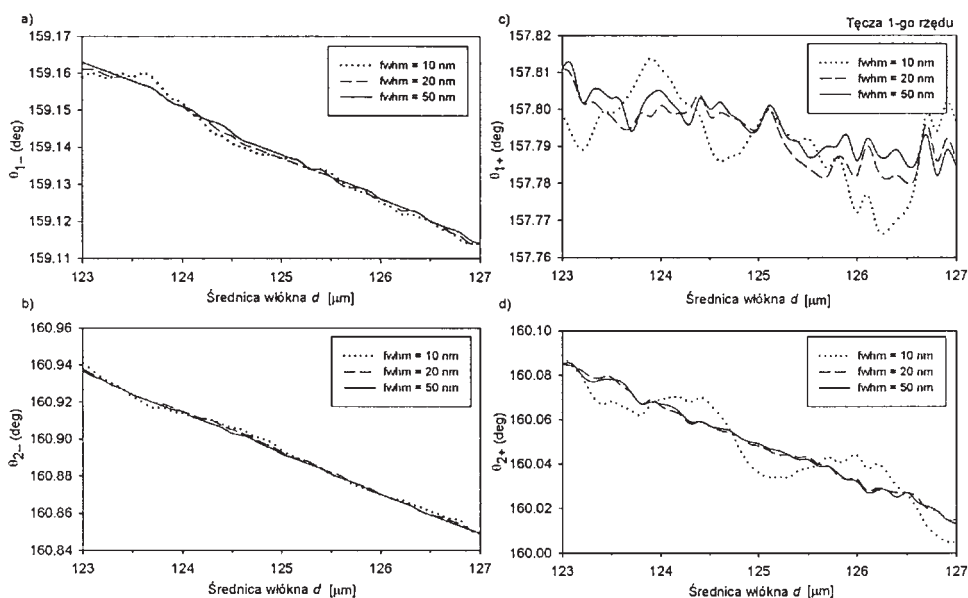
Rys. 19. Wpływ szerokości widmowej ($fwhm$) promieniowania na tęczę pierwszego rzędu, powstającą na włóknie szklanym ($\lambda_0 = 0,6328 \mu\text{m}$, $\Delta\lambda = 0,5228\text{--}0,7428 \mu\text{m}$, $N = 2201$, TM-TM, $d = 125 \mu\text{m}$, szkło Schott NPK52A, $\kappa = 1\text{E-}8$, $\zeta = 90^\circ$, $\Delta\theta = 0,01^\circ$)

Fig. 19. Influence of source spectral line half-width ($fwhm$) on primary rainbow scattered by a fiberglass

Przetwarzanie sygnału wejściowego przez system można utożsamiać z filtracją dolnoprzepustową. Fakt ten ilustruje wykres natężenia pola rozproszonego w obszarze

tęczy pierwszego rzędu, wykonany dla różnych szerokości połówkowych widma promieniowania ($fwhm$; rys. 19). Dla coraz większych $fwhm$ widoczna jest stopniowa redukcja wysokoczęstotliwościowych sygnałów modulujących tęczę Airy. Redukcja ta dokonuje się na zasadzie niekoherentnego uśredniania tęczy w dziedzinie przestrzeni.

Rysunek 20a–d umożliwia dokładną obserwację zmian położenia kąowego wybranych prążków tęczy pierwszego rzędu w funkcji średnicy włókna. Oscylacje położenia prążków, wynikające z obecności wysokoczęstotliwościowych sygnałów zakłócających, zmniejszają się w wyniku poszerzania $fwhm$. Zakłócenia mają przy tym większy wpływ na położenie prążków jasnych niż prążków ciemnych (por. prawa i lewa kolumna; rys. 20). Ponadto wpływ zakłóceń na położenie prążka jest tym bardziej widoczny, im bliżej kąta Descartesa znajduje się prążek (por. wiersze; rys. 20).

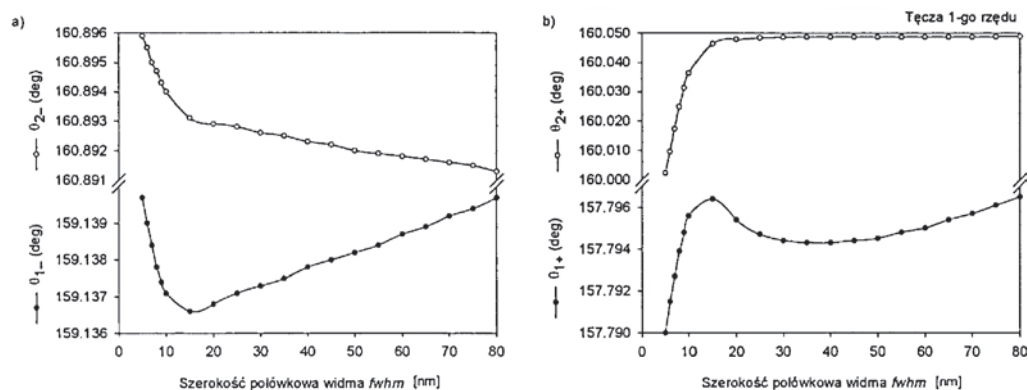


Rys. 20. Położenie kątowe wybranych prążków tęczy z rysunku 19 w funkcji średnicy włókna (d): (a, b): odpowiednio pierwszy i drugi ciemny prążek, (c, d): odpowiednio pierwszy i drugi jasny prążek ($\Delta\theta = 0,001^\circ$, $\Delta d = 0,1 \mu\text{m}$, pozostałe parametry jak dla rys. 19)

Fig. 20. Angular location of rainbow fringes from fig. 19 vs. fiberglass diameter and source spectral line half-width: (a, b): 1st and 2nd dark fringe respectively (c, d): 1st and 2nd bright fringe respectively

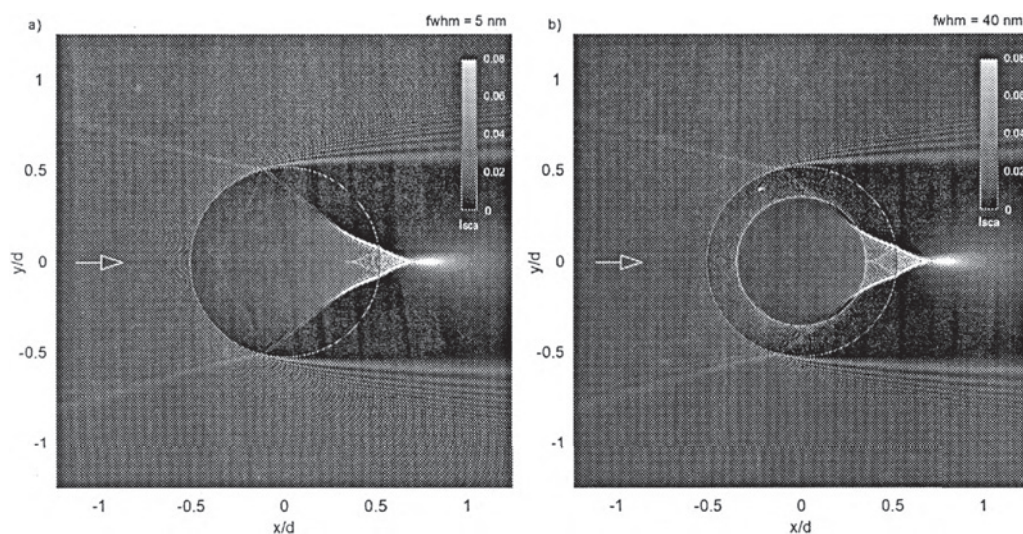
Istotną kwestią jest zbadanie relacji fazowych pomiędzy sygnałem wejściowym i wyjściowym omawianego systemu LSI. Innymi słowy, poszukiwana jest odpowiedź na pytanie, czy zmiana parametrów promieniowania oświetlającego wpływa na przesunięcie tęczy w kącie rozproszenia. Symulacje położenia kąowego dwóch pierwszych jasnych i ciemnych prążków (począwszy od kąta Descartesa), przeprowadzone z wysoką rozdzielczością ($0,0001^\circ$), wskazują, że $fwhm$ wpływa na położenie kąowe

prążków, a w konsekwencji także na zmiany położenia tęczy w polu rozproszonym (rys. 21). Nie jest to jednak wpływ **znaczący**.



Rys. 21. Wpływ szerokości widmowej ($fwhm$) na położenie kątowe: a) pierwszego (θ_{1-}) i drugiego (θ_{2-}) ciemnego prążka, b) pierwszego (θ_{1+}) i drugiego (θ_{2+}) jasnego prążka tęczy pierwszego rzędu powstającej na włóknie szklanym ($\Delta\theta = 0,0001^\circ$, pozostałe parametry jak dla rys. 19)

Fig. 21. Influence of source spectral line half-width ($fwhm$) on angular location of the a) 1st (θ_{1-}) and 2nd (θ_{2-}) dark fringe, b) 1st (θ_{1+}) and 2nd (θ_{2+}) bright fringe



Rys. 22. Rozkład unormowanego natężenia promieniowania wewnątrz włókna szklanego i w polu bliskim w płaszczyźnie rozpraszania: a) $fwhm = 5$ nm, b) rezonansowe rozpraszanie promieniowania wewnątrz włókna przy $fwhm = 40$ nm ($\lambda_0 = 0,6328$ μm , $\Delta\lambda = 0,5748$ – $0,6908$ μm , $N = 465$, TM-TM, $d = 100$ μm , szkło Schott N-PSK3, $\kappa = 1\text{E-}8$, $\zeta = 90^\circ$)

Fig. 17. Normalized internal and near-field external intensity distributions for a fibreglass over a scattering plane: a) $fwhm = 5$ nm, b) resonant scattering of internal field at $fwhm = 40$ nm

Rozpraszanie quasi-monochromatycznego, niekoherentnego promieniowania nie wyklucza zaistnienia rezonansowego rozpraszania fali, ujawniającego się w polu bliskim lub wewnątrz włókna. Taką sytuację obrazuje rysunek 22a i b – rezonans wewnętrzny jest niewidoczny dla promieniowania o 5 nm *fwhm*, lecz powstaje przy zwiększeniu *fwhm* do 40 nm. Nie zaobserwowano jednak wpływu takiego rezonansu na położenie prążków tęczy w polu **dalekim** w przyjętej rozdzielczości symulacji kąta rozproszenia równej $0,01^\circ$.

3.3.2. MODELOWANIE TĘCZY

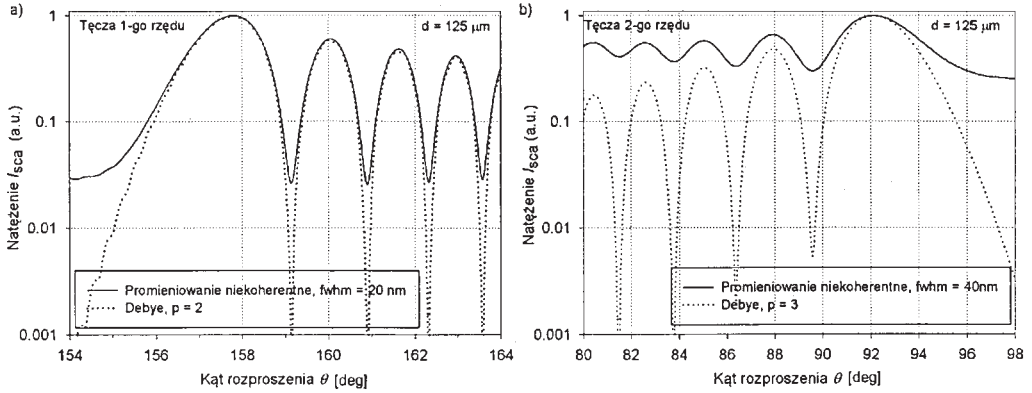
Tęcza według szeregów Deby’ego

Jak zauważono w rozdziale 3.3.1, stworzenie ścisłego opisu zjawisk towarzyszących rozpraszaniu quasi-monochromatycznego, niekoherentnego promieniowania wymaga wykorzystania metod optyki statystycznej. Jeśli idzie o makroskopowe **rezultaty rozproszenia**, proces poznawczy można jednak ograniczyć do fundamentalnych zjawisk, które determinują postać pola rozproszonego. Taką analizę umożliwia metoda rozwinięcia pola rozproszonego pola elektromagnetycznego w szeregi Deby’ego, w których poszczególne składniki mogą być interpretowane jako indywidualne komponenty rozproszone w rozumieniu optyki geometrycznej [43].

Na rysunku 23a przedstawiono porównanie dwóch wykresów natężenia pola rozproszonego w obszarze tęczy pierwszego rzędu na szklanym włóknie o średnicy 125 μm . Wykres pierwszy przedstawia pole rozproszone będące wynikiem rozpraszania quasi-monochromatycznego, niekoherentnego promieniowania, natomiast wykres drugi – pole rozproszone wektorowej sumy komponentów rzędu $p = 2$ (promienie załamane po jednym wewnętrznym odbiciu, por. rys. 14b) według rozwinięcia Deby’ego. Z rysunku widać, że położenia jasnych i ciemnych prążków obu tęcz pokrywają się. Prowadzi to do wniosku, że pole rozproszone w obszarze tęczy, powstającej w wyniku rozproszenia quasi-monochromatycznego, niekoherentnego promieniowania, może być uważane jako rezultat interferencji promieni rzędu $p = 2$, dzięki którym powstaje tęcza Airy. Wierność reprezentacji Airy zależy oczywiście od warunków, wpływających na redukcję wpływu składowych odbitych i wielokrotnie rozproszonych na dalekie pole rozproszone, m.in. od szerokości widmowej promieniowania.

Podobne wyniki interpretacji pola rozproszonego według szeregów Deby’ego dla obszaru tęczy drugiego rzędu przedstawiono na rysunku 23b. W rozwinięciu Deby’ego uwzględniono promienie rzędu $p = 3$ (promienie załamane po dwóch wewnętrznych odbiciach por. rys. 14c).

Konkluzja płynąca z podanych obserwacji jest taka, że złożone zjawisko rozpraszania quasi-monochromatycznego, niekoherentnego promieniowania może być rozpatrywane jako wynik wektorowej superpozycji komponentów odpowiedzialnych za powstanie tęczy Airy, będących rezultatem rozpraszania **fali monochromatycznej**. Konkluzja ta ma duże znaczenie praktyczne ze względu na budowę aproksymacyjnych modeli tęczy.



Rys. 23. Porównanie tęczy pierwszego (a) i drugiego (b) rzędu, powstającej w wyniku rozproszenia promieniowania niekoherentnego o szerokości widmowej $fwhm$ z rozwinięciem Debye'ego tęczy monochromatycznej względem komponentów rzędu $p = 2$ (a) i $p = 3$ (b) ($\kappa = 0$, pozostałe parametry jak dla rys. 19)

Fig. 23. Primary (a) and secondary (b) rainbow according to Mie scattering of quasi-monochromatic, non-coherent radiation and Debye series calculation for the rays of order $p = 2$ (a) and $p = 3$ (b)

Aproksymacyjny model matematyczny tęczy według skorygowanej teorii Airy

Klasycznym modelem aproksymacyjnym zjawiska tęczy, wykorzystywanym w pomiarach cech obiektów rozpraszających falę monochromatyczną, jest model Airy [13, 68, 78, 79]. Wierność symulowanego pola przez model Airy jest akceptowalna wówczas, gdy cząstka rozpraszająca falę charakteryzuje się znacznym parametrem rozmiarowym, $x > 5000$ [81] (dla porównania $x \approx 620$ w przypadku włókna o średnicy $125 \mu\text{m}$, oświetlonego falą o długości $0,6328 \mu\text{m}$). Według teorii Airy, natężenie fali rozproszonej w polu dalekim w sąsiedztwie tęczy pierwszego rzędu, w warunkach gdy fala padająca spolaryzowana jest magnetycznie (TM), opisuje wzór [46]

$$I(\theta, x, n) = \frac{\pi I_0 F}{r} \cdot \frac{dx^{1/3}}{h_2^{2/3}} Ai^2 \left(\frac{-x^{2/3} \Delta}{h_2^{1/3}} \right) \quad (6)$$

gdzie: Ai jest funkcją Airy [1], I_0 – natężeniem padającej fali płaskiej, θ – kątem rozproszenia, $x = kd/2$ jest parametrem rozmiarowym włókna o średnicy d , n – współczynnikiem załamania włókna, r – odległością punktu obserwacyjnego (punktowego detektora) od osi cylindra w płaszczyźnie rozpraszania

$$\Delta \equiv \theta - \theta_2^D \quad (7)$$

gdzie θ_2^D jest kątem Descartesa tęczy pierwszego rzędu według (5), natomiast czynnik F wynika z równań Fresnela i reprezentuje zamianę amplitudy promienia Descartesa w wyniku kolejnych odbić i załamania przez propagację [74]. Parametr h_2 we wzorze (6) wyraża odstęp pomiędzy prążkami tęczy i zdefiniowany jest następująco:

$$h_2 = \frac{9(4-n^2)^{1/2}}{4(n^2-1)^{3/2}} \quad (8)$$

Dokładność aproksymacji tęczy w ramach teorii Airy można poprawić przez korekcję jądra funkcji Airy we wzorze (6) na podstawie porównania rozwiązań teorii Airy i teorii CAM (ang. *Complex Angular Momentum*). Ideą CAM, zaproponowanej przez Nussenzveiga [37, 55–57], jest transformacja funkcji amplitudowej cząstki rozpraszającej monochromatyczną falę elektromagnetyczną, przedstawionej w postaci Poissona, do postaci całkowej z zastosowaniem zmodyfikowanej transformaty Watsona. Tak sformułowane zagadnienie, rozwiązywane jest następnie przez zastosowanie metod aproksymacyjnych, a rozwiązanie ma postać sumy dominujących, asymptotycznych i szybkozbieżnych rozwinięć. Korekcja wzoru Airy polega na uwzględnieniu czynnika $u(\Delta)$, poprawiającego położenie prążków tęczy, ograniczonego do dwóch pierwszych wyrazów rozwinięcia podanego przez Nussenzveiga [55]

$$u(\Delta) = 1 + B\Delta \quad (9)$$

gdzie

$$B = \frac{875c^6 - 1257c^4 + 675c^2 + 45}{8640(sc)^3} \quad (10)$$

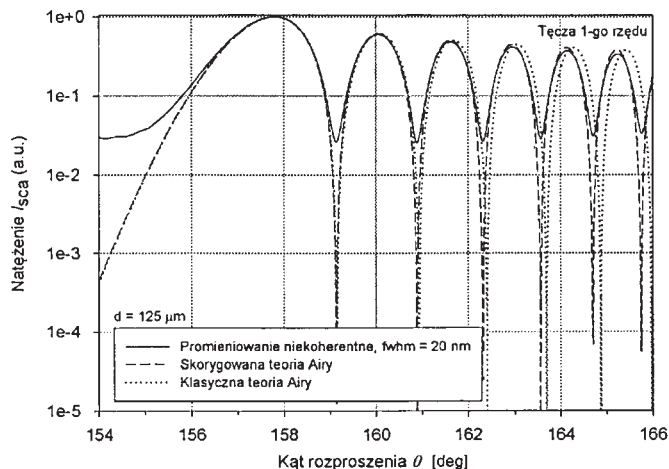
$$s \equiv \left(\frac{4-n^2}{3} \right)^{1/2} \quad (11)$$

$$c \equiv \left(\frac{n^2-1}{3} \right)^{1/2} \quad (12)$$

Skorygowany wzór Airy (6) ma postać

$$I(\theta, x, n) \propto Ai^2 \left[\frac{-x^{2/3}\Delta}{h_2^{1/3}} (1 + B\Delta) \right] \quad (13)$$

Na rysunku 24 przedstawiono porównanie trzech wykresów natężenia promieniowania rozproszonego w obszarze tęczy pierwszego rzędu na włóknie o średnicy 125 μm . Tęcza powstająca na włóknie w warunkach rozpraszania quasi-monochromatycznego, niekoherentnego promieniowania jest dokładniej aproksymowana przez skorygowaną teorię Airy niż przez teorię klasyczną. Klasyczny model Airy wiernie aproksymuje jedynie położenie pierwszego jasnego i pierwszego ciemnego prążka. Cechą wspólną obu modeli aproksymacyjnych jest większa dokładność aproksymacji położenia kąтового prążków usytuowanych bliżej kąta Descartesa.



Rys. 24. Porównanie tęczy pierwszego rzędu, powstającej w wyniku rozproszenia promieniowania niekoherentnego o szerokości widmowej $fwhm$ z tęczą według klasycznej i skorygowanej teorii Airy ($\kappa = 0$, pozostałe parametry jak dla rys. 19)

Fig. 24. Primary rainbow according to Mie scattering of quasi-monochromatic, non-coherent radiation and its approximations – classical and modified Airy theory

Według wielu doświadczeń numerycznych, ujętych w [74], jakość aproksymacji tęczy według klasycznego modelu Airy poprawia się wraz ze wzrostem średnicy włókna, podczas gdy dokładność aproksymacji położenia ciemnych prążków tęczy przez skorygowany model Airy nie zmienia się znacząco w przedziale średnic 50–100 μm .

Reasumując, model rozproszenia fali monochromatycznej według skorygowanej teorii Airy jest adekwatnym modelem w aproksymacji tęczy powstającej przez rozproszenie niekoherentnego promieniowania optycznego o rozkładzie widmowym w kształcie gaussoidy. Warto zauważyć, że opis matematyczny tęczy z użyciem modelu aproksymacyjnego nie wymaga znajomości dyspersyjnych zmian współczynnika załamania szklanego włókna. Niezbędna jest jedynie informacja o współczynniku załamania odpowiadającemu szczytowej długości fali widma promieniowania.

3.3.3. SKORYGOWANA TEORIA AIRY W PROCESIE WNIOŚKOWANIA ODWROTNEGO

Przyjęta taktyka modelowania odwrotnego zakłada wykorzystanie informacji o wzajemnym położeniu dwóch pierwszych (licząc począwszy od kąta Descartesa) ciemnych prążków tęczy oraz sformułowanie matematycznej struktury modelu odwrotnego na podstawie skorygowanego wzoru Airy (13). Odległość międzyprążkowa wykazuje mniejszą podatność na zmiany współczynnika załamania włókna niż bezwzględna pozycja prążka [74].

Różnicę argumentów funkcji Airy we wzorze (13), którym odpowiadają położenia katowe θ_i , θ_j dwóch wybranych prążków, można zapisać następująco:

$$z_i - z_j = (x^{2/3} / h_2^{1/3}) [\Delta_i(1 + B\Delta_i) - \Delta_j(1 + B\Delta_j)] \quad (14)$$

gdzie $x = kd/2$ jest parametrem rozmiarowym włókna o średnicy d , parametry h_2 i B definiują równania odpowiednio (8) i (10)

$$\Delta_i \equiv \theta_i - \theta_2^D \quad (15)$$

$$\Delta_j \equiv \theta_j - \theta_2^D \quad (16)$$

gdzie θ_2^D jest kątem Descartesa tęczy pierwszego rzędu według (5). Na mocy równania (14) estymator średnicy włókna przyjmuje postać

$$\hat{d} = \frac{\lambda}{\pi} h_2^{1/2} [(z_i - z_j) / (\Delta_i(1 + B\Delta_i) - \Delta_j(1 + B\Delta_j))]^{3/2} \quad (17)$$

Położenie ciemnych prążków tęczy determinują zera funkcji Airy, natomiast położenia jasnych prążków – zera pochodnej tej funkcji. Stabelaryzowane wartości argumentów, dla których funkcja Airy osiąga minimum lub maksimum, podają Abramowitz i Stegun [1].

Weryfikacja działania modelu odwrotnego została przeprowadzona pod kątem zbadania wpływu błędu systematycznego oraz niedokładności modelu odwrotnego na wynik estymacji średnicy włókna. Źródłem błędu systematycznego jest różnica pomiędzy aktualnymi warunkami pomiaru i warunkami odniesienia, dla których eksperyment pomiarowy jest optymalizowany. Z analizy wyłączono wpływ błędu przypadkowego na wynik, ze względu na bardzo długi czas obliczeń pola rozproszonego w warunkach rozpraszania quasi-monochromatycznego, niekoherentnego promieniowania.

Tabela 2. Wyniki estymacji średnicy włókna dla wybranych parametrów eksperymentu
($d = 125 \mu\text{m}$, TM-TM, $\Delta\theta = 0,00001^\circ$)

Table 2. Fibreglass diameter estimation for the experiment parameters assumed

Parametry eksperymentu			Odpowiedź modelu odwrotnego	
Parametr	Warunki odniesienia	Przedział zmienności	$\hat{d} (\mu\text{m})$	$\delta\hat{d} (\%)$
$\lambda_0 (\mu\text{m})$	0,6328	$\pm 0,001$	124,81	0,17
$fwhm (\text{nm})$	40	± 2		0,015
$\zeta (\text{deg})$	90,0	$\pm 0,1$		0,012
$\gamma (\text{deg})$	90,0	$\pm 0,1$		– ⁽¹⁾
$n (\lambda_0)$	1,4957	$\pm 0,0005$		0,08
κ	1E-8	1E-8–1E-7		0,0009

* Nie stwierdzono wpływu parametru na $\hat{d}$ w przyjętej rozdzielczości symulacji kąta rozproszenia.

W tabeli 2 zestawiono przyjęte na potrzeby analizy warunki eksperymentu wraz z przedziałami ich zmienności. Założono, że badane włókno – osiowo-symetryczny, homogeniczny cylinder o nominalnej średnicy 125 μm , wykonane jest ze szkła typu NPK52A (Schott), a jego właściwości chromatyczne opisuje równanie Sellmeiera wraz ze stałymi dyspersyjnymi podanymi przez producenta [71]. Niepewność wartości współczynnika załamania odpowiada anizotropowym zmianom współczynnika załamania włókna jednomodowego, zachodzącym w procesie produkcyjnym [74].

Największy wpływ na niepewność estymacji średnicy ma zmienność szczytowej długości fali (λ_0) oraz współczynnika załamania (n) (tab. 2). Marginalny wpływ ma kąt polaryzacji (η) i współczynnik ekstynkcji (κ). Sumaryczna niepewność estymacji średnicy w odpowiedzi na zmienności parametrów eksperymentu wynosi 0,28%, przy czym niedokładność modelu odwrotnego dla warunków odniesienia jest równa 0,16%. Maksymalna niedokładność modelu odwrotnego w przedziale średnic włókna 120–130 μm , dla warunków eksperymentu z tabeli 2, wynosi 0,36% [74].

4. PODSUMOWANIE

Złożona natura pola rozproszonego na włóknie szklanym ukazuje mnogość procesów fizycznych zachodzących podczas rozpraszania. Powoduje to trudności w adekwatnej analizie pola rozproszonego z użyciem uproszczonych narzędzi modelowania matematycznego, na przykład modelu według dyfrakcji Fraunhofera czy modelu tęczy Airy. Dzięki wykorzystaniu quasi-monochromatycznego, czasowo niekoherentnego promieniowania jako narzędzia badawczego, uzyskano pole rozproszone, które ma prostszą interpretację fizyczną i reprezentację matematyczną, choć fizyka procesu rozpraszania jest znacznie bardziej złożona niż w przypadku rozpraszania promieniowania laserowego.

Część prezentowanych zagadnień, ze względu na ich obszerność i wielowątkowość, ma niewątpliwie charakter wstępu do dalszej dyskusji na ich temat i jest podstawą do dalszego rozwijania wątków badawczych. Szczególnie uzyskanie tęczy Airy na homogenicznym włóknie szklanym motywuje do zbadania możliwości wykorzystania tęczy i jej obrazu widmowego w pomiarze cech geometrycznych światłowodu.

LITERATURA

- [1] ABRAMOWITZ M., STEGUN I.A., *Handbook of Mathematical Functions*, 9th ed. Washington DC, National Bureau of Standards, 1970.
- [2] ADAM J.A., *The mathematical physics of rainbows and glories*, Physics Reports, 2002, 356, 229–365.
- [3] ADLER C., LOCK J.A., NASH J.K., SAUNDERS K.W., *Experimental observation of rainbow scattering by a coated cylinder: twin primary rainbows and thin-film interference*, Applied Optics, 2001, 40, 1548–1558.

- [4] ALBRECHT H.-E., BORYS M., DAMASCHKE N., TROPEA C., *Laser Doppler and Phase Doppler Measurement Techniques*, Berlin, Springer-Verlag, 2005.
- [5] ASHKIN A., DZIEDZIC J.M., *Observation of optical resonances of dielectric spheres by light scattering*, Applied Optics, 1981, 20, 1803–1814.
- [6] BARBER P.W., HILL S.C., *Light Scattering by Particles: Computational Methods*, Singapore, World Scientific Publishing, 1990.
- [7] BARBER P.W., OWEN J.F., CHANG R.K., *Resonant scattering for characterization of axisymmetric objects*, IEEE Transactions on Antennas and Propagation, 1982, 30, 168–172.
- [8] BARTON G.W., LAW S.H., PHAN T.N., *Limitations to the Manufacture of Specialty Optical Fiber*, Journal of Manufacturing Science and Engineering, 2005, 127, 663–669.
- [9] BECH H., LEDER A., *Particle sizing by time-resolved Mie calculations – A numerical study*, Optik, 2006, 117, 40–47.
- [10] BEISER L., *Unified optical scanning technology*, Hoboken, New Jersey, Wiley Interscience, 2003.
- [11] BENNER R.E., BARBER P.W., OWEN J.F., CHANG R.K., *Observation of Structure Resonances in the Fluorescence Spectra from Microspheres*, Physical Review Letters, 1980, 44, 475–478.
- [12] BOHREN C.F., HUFFMAN D.R., *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*, New York, John Wiley & Sons, 1983.
- [13] CHU P.L., *Determination of the Diameter of Unclad Optical Fibre*, Electronics Letters, 1976, 12, 14–16.
- [14] CHÝLEK P., KIEHL J.T., KO M.K.W., *Narrow resonance structure in the Mie scattering characteristics*, Applied Optics, 1978, 17, 3019–3021.
- [15] COHEN L.G., GLYNN P., *Dynamic measurement of optical fiber diameter*, Review of Scientific Instruments, 1973, 44, 1749–1752.
- [16] DEVANEY A.J., *Nonuniqueness in the inverse scattering problem*, Journal of Mathematical Physics, 1978, 19, 1526–1535.
- [17] DEVANEY A.J., SHERMAN G.C., *Nonuniqueness in Inverse Source and Scattering Problems*, IEEE Transactions on Antennas and Propagation, 1982, AP-30, 1034–1037.
- [18] DICKEY F.M., HOLSWADE S.C., *Laser beam shaping. Theory and techniques*, New York, Marcel Dekker, 2000.
- [19] DOROSZ J., *Technologia światłowodów włóknistych*, Kraków, Polskie Towarzystwo Ceramiczne PAN, 2005.
- [20] GOODMAN J.W., *Introduction to Fourier Optics*, 2nd ed. New-York, McGraw-Hill, 1996.
- [21] GOUESBET G., *Interaction between an infinite cylinder and an arbitrary-shaped beam*, Applied Optics, 1997, 36, 4292–4304.
- [22] GUPTA P.K., *Glass Fibers for Composite Materials*, [w:] *Fiber Reinforcements for Composite Materials*, Vol. II, A.D. Bunsell (red.), The Netherlands, Elsevier Science Publishers B.V., 1988, 19–71.
- [23] HAN X.E., *Study of refractometry of rainbow and applications to the measurement of instability and temperature gradient of a liquid jet*, Vol. PhD. Rouen, University of Rouen, 2000.
- [24] HAN X.E., REN K.F., MĚÉS L., GOUESBET G., GRÉHAN G., *Surface waves/geometrical rays interferences: numerical and experimental behaviour at rainbow angles*, Optics Communications, 2001, 195, 49–54.
- [25] HAN X.E., REN K.F., WU Z., CORBIN F., GOUESBET G., GRÉHAN G., *Characterization of initial disturbances in a liquid jet by rainbow sizing*, Applied Optics, 1998, 37, 8498–8503.
- [26] HARDALUPAS Y., HISHIDA K., MAEDA M., MORIKITA H., TAYLOR A.M.K.P., WHITELAW J.H., *Shadow Doppler technique for sizing particles of arbitrary shape*, Applied Optics, 1994, 33, 8417–8426.
- [27] HOVENAC E.A., LOCK J.A., *Assessing the contributions of surface waves and complex rays to far-field Mie scattering by use of the Debye series*, Journal of Optical Society of America A, 1992, 9, 781–795.

- [28] JABLOŃSKI R., *Laser measuring scanners and their accuracy limits*, [w:] *Measurement Technology and Intelligent Instruments*, Wuhan, China, SPIE, 1993, 741–749.
- [29] JABLOŃSKI R., FOTOWICZ P., *New generation of lasermike*, [w:] *Laser Metrology for Precision Measurement and Inspection in Industry*, Florianopolis, Brazil, SPIE, 2001, 91–98.
- [30] JASAPARA J.C., *Non-invasive characterization of microstructured optical fibers using Fourier domain optical coherence tomography*, *Optics Express*, 2005, 13, 1228–1233.
- [31] JASAPARA J.C., MONBERG E., DIMARCELLO F., NICHOLSON J.W., *Accurate noncontact optical fiber diameter measurement with spectral interferometry*, *Optics Letters*, 2003, 28, 601–603.
- [32] JASAPARA J.C., WIELANDY S., *Characterization of coated optical fibers by Fourier-domain optical coherence tomography*, *Optics Letters*, 2005, 30, 1018–1020.
- [33] JONES F.R., *Glass fibres*, w: *High-performance fibres*, 1st ed., J.W.S. Hearle (red.), Boca Raton, CRC Press, 2001, 191–238.
- [34] KAI L., D'ALESSIO A., *Finely stratified cylinder model for radially inhomogeneous cylinders normally irradiated by electromagnetic plane waves*, *Applied Optics*, 1995, 34, 5520–5530.
- [35] KERKER M., *The scattering of light and other electromagnetic radiation*, New York, Academic Press, 1969.
- [36] KERKER M., MATIJEVIĆ E., *Scattering of Electromagnetic Waves from Concentric Infinite Cylinders*, *Journal of Optical Society of America*, 1961, 51, 506–508.
- [37] KHARE V., NUSSENZVEIG H.M., *Theory of the Rainbow*, *Physical Review Letters*, 1974, 33, 976–980.
- [38] KÖNNEN G.P., DE BOER J.H., *Polarized rainbow*, *Applied Optics*, 1979, 18, 1961–1965.
- [39] LAVEN P., *Simulation of rainbows, coronas, and glories by use of Mie Theory*, *Applied Optics*, 2003, 42, 436–444.
- [40] LEBRUN D., BELAID S., ÖZKUL C., REN K.F., GRÉHAN G., *Enhancement of wire diameter measurements: comparison between Fraunhofer diffraction and Lorenz-Mie theory*, *Optical Engineering*, 1996, 4, 946–950.
- [41] LEE R.L., FRASER A.B., *The Rainbow Bridge: Rainbows in Art, Myth and Science*, Pennsylvania State University Press, 2001.
- [42] LEE R.L.J., *Mie theory, Airy theory, and the natural rainbow*, *Applied Optics*, 1998, 37, 1506–1519.
- [43] LI R., HAN H., JIANG H., REN K.F., *Debye series of normally incident plane-wave scattering by an infinite multilayered cylinder*, *Applied Optics*, 2006, 45, 6255–6262.
- [44] LOCK J.A., *Morphology-dependent resonances of an infinitely long circular cylinder illuminated by a diagonally incident plane wave or a focused Gaussian beam*, *Journal of Optical Society of America A*, 1997, 14, 653–661.
- [45] LOCK J.A., *Scattering of a diagonally incident focused Gaussian beam by an infinitely long homogeneous circular cylinder*, *Journal of Optical Society of America A*, 1997, 14, 640–652.
- [46] LOCK J.A., *Supernumerary spacing of rainbows produced by an elliptical-cross-section cylinder. I. Theory*, *Applied Optics*, 2000, 39, 5040–5051.
- [47] MARSHALL G.F., *Handbook of Optical and Laser Scanning*, New York, Marcel Dekker, 2004.
- [48] MÈES L., GOUESBET G., GRÉHAN G., *Interaction between femtosecond pulses and a spherical microcavity: internal fields*, *Optics Communications*, 2001, 199, 33–38.
- [49] MÈES L., GOUESBET G., GRÉHAN G., *Scattering of laser pulses (plane wave and focused gaussian beam) by spheres*, *Applied Optics*, 2001, 40, 2546–2550.
- [50] MÈES L., GRÉHAN G., GOUESBET G., *Time-resolved scattering diagrams for a sphere illuminated by plane wave and focused short pulses*, *Optics Communications*, 2001, 194, 59–65.
- [51] MÈES L., REN K.F., GRÉHAN G., GOUESBET G., *Scattering of a Gaussian beam by an infinite cylinder with arbitrary location and arbitrary orientation: numerical results*, *Applied Optics*, 1999, 38, 1867–1876.

- [52] MINNAERT M., *The nature of light & colour in the open air*, Dover Publications Inc., 1954.
- [53] MROCZKA J., *Metrologiczne problemy wykorzystywania światła rozproszonego do badań rozkładu wielkości cząstek w roztworach dyspersyjnych*, Warszawa 1990.
- [54] NG P.H., TSE M.Y., LEE W.K., *Observation of high-order rainbows formed by a pendant drop*, Journal of Optical Society of America B, 1998, 15, 2782–2787.
- [55] NUSSENZVEIG H.M., *High-Frequency Scattering by a Transparent Sphere. II. Theory of the Rainbow and the Glory*, Journal of Mathematical Physics, 1969, 10, 125–176.
- [56] NUSSENZVEIG H.M., *Complex angular momentum of the rainbow and the glory*, Journal of Optical Society of America, 1979, 69, 1068–1079.
- [57] NUSSENZVEIG H.M., *Diffraction Effects in Semiclassical Scattering*, Cambridge, Cambridge University Press, 1992.
- [58] ONOFRI F., *On the optical sizing and refractive index measurements of spherical particles using the critical scattering angle*, in 5th International Congress on Optial Particle Sizing OPS'98 Minneapolis, USA, 1998, 73–76.
- [59] ONOFRI F., *Diagnostics Optiques des Milieux Multiphasiques*, Vol. HDR, Université de Provence, 2005.
- [60] ONOFRI F., LENOBLE A., BULTYNCK H., GUÉRING P.-H., *High-resolution laser diffractometry for the on-line sizing of small transparent fibres*, Optics Communications, 2004, 234, 183–191.
- [61] OWEN J.F., BARBER P.W., MESSINGER B.J., CHANG R.K., *Determination of optical-fiber diameter from resonances in the elastic scattering spectrum*, Optics Letters, 1981, 6, 272–274.
- [62] POLAK A., MROCZKA J., *Pośrednie pomiary właściwości obiektów złożonych*, [w:] *Problemy metrologii elektronicznej i fotonicznej*, J. Mroczka (red.), Wrocław, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 2008, 15–78.
- [63] POON A.W., CHANG R.K., LOCK J.A., *Spiral morphology-dependent resonances in an optical fiber: effects of fiber tilt and focused Gaussian beam illumination*, Optics Letters, 1998, 23, 1105–1107.
- [64] REN K.F., GRÉHAN G., GOUESBET G., *Scattering of a Gaussian beam by an infinite cylinder in the framework of Generalized Lorenz-Mie Theory: formulation and numerical results*, Journal of Optical Society of America A, 1997, 14, 3014–3025.
- [65] ROBINSON D.W., REID G.T., *Interferogram Analysis: Digital Fringe Pattern Measurement Techniques*, 1 ed., Taylor & Francis, 1993.
- [66] ROMANIUK R.S., *Miernictwo światłowodowe*, Warszawa, Polska Akademia Nauk, 2001.
- [67] ROTH N., ANDERS K., FROHN A., *Refractive-index measurements for the correction of particle sizing methods*, Applied Optics, 1991, 30, 4960–4965.
- [68] SAEKEANG C., CHU P.L., *Diameter determination of graded-index optical fibers from backward-scattered pattern*, Applied Optics, 1979, 18, 3276–3281.
- [69] SAENGKAEW S., CHARINPANITKUL T., VANISRI H., TANTHAPANICHAKOON W., BISCOS Y., GARCIA N., LAVERGNE G., MÈES L., GOUESBET G., GREHAN G., *Rainbow refractometry on particles with radial refractive index gradients*, Experiments in Fluids, 2007, 43, 595–601.
- [70] SCHAUB S.A., NAQWI A.A., HARDING F.L., *Design of a phase/Doppler light-scattering system for measurement of small-diameter glass fibers during fiberglass manufacturing*, 1988, 37, 573–585.
- [71] SCHOTT, *Optical Glass. Data Sheets*, 2007.
- [72] SCHUBERT E.F., *Light-Emitting Diodes*, 2nd ed. New York, Cambridge University Press, 2006.
- [73] SZWEDOWSKI A., *Materiałoznawstwo optyczne i optoelektroniczne*, Warszawa, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, 1996.
- [74] ŚWIRNIAK G., *Pomiar średnicy włókna optycznego z wykorzystaniem światła rozproszonego*, Vol. PhD. Wrocław, Politechnika Wroclawska, 2009.

- [75] ŚWIRNIAK G., WYSOCZAŃSKI D., MROCZKA J., *Rozproszenie światła na włóknie cylindrycznym w ujęciu optyki geometrycznej*, *Pomiary, Automatyka, Kontrola*, 2007, 53 bis, 305–308.
- [76] TAKANO Y., TANAKA M., *Phase matrix and cross sections for single scattering by circular cylinders: a comparison of ray optics and wave theory*, *Applied Optics*, 1980, 19, 2781–2793.
- [77] THURN R., KIEFER W., *Structural resonances observed in the Raman spectra of optically levitated liquid droplets*, *Applied Optics*, 1985, 24, 1515–1519.
- [78] VAN BEECK J.P.A.J., *Rainbow Phenomena: Development of a Laser-Based, Non-Intrusive Technique for Measuring Droplet Size, Temperature, and Velocity*, Vol. PhD, Universiteit Eindhoven, Holland, 1997.
- [79] VAN BEECK J.P.A.J., RIETHMULLER M.L., *Nonintrusive measurements of temperature and size of single falling raindrops*, *Applied Optics*, 1995, 34, 1633–1639.
- [80] VAN BEECK J.P.A.J., RIETHMULLER M.L., *Rainbow phenomena applied to the measurement of droplet size and velocity and to the detection of nonsphericity*, *Applied Optics*, 1996, 35, 2259–2266.
- [81] VAN DE HULST H.C., *Light scattering by small particles*, New York, Dover Publications, 1981.
- [82] VERTRANO M.R., VAN BEECK J.P.A.J., RIETHMULLER M.L., *Global rainbow thermometry: improvements in the data inversion algorithm and validation technique in liquid-liquid suspension*, *Applied Optics*, 2004, 43, 3600–3607.
- [83] XU R., *Particle Characterization: Light Scattering Methods*, Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 2000.

HIGH-RESOLUTION DIFFRACTOMETRY AND RAINBOW INTERFEROMETRY FOR FIBREGLASS DIAMETER MEASUREMENT

The aim of this work is to provide a review of two measurement techniques – *high resolution diffractometry* and *rainbow interferometry*, both for a fibreglass diameter measurement during its production. The techniques involve scattering of quasi-monochromatic, non-coherent light. It has been shown, that for such kind of radiation, the scattered field may be of a straightforward interpretation, from physical as well as mathematical point of view.

Cezary NIEDZIŃSKI*
Roman Z. MORAWSKI*

BAYESOWSKA METODA ESTYMACJI STĘŻEŃ NA PODSTAWIE DANYCH SPEKTROFOTOMETRYCZNYCH**

Przedmiotem artykułu jest nowa metoda przetwarzania danych spektrofotometrycznych, przeznaczona do rozwiązywania zadań monitoringu przemysłowego i monitoringu środowiska naturalnego. W zadaniach tego typu przyrząd pomiarowy realizuje w sposób powtarzalny tę samą funkcję (np. pomiar widma tej samej mieszaniny, a na tej podstawie – stężeń jej składników; w tym samym zakresie, z jednakową niepewnością), zakres zaś zmienności mierzonych wartości jest stosunkowo niewielki i znany *a priori*. Zaproponowana Bayesowska metoda estymacji stężeń składników substancji biochemicznych opiera się na następujących założeniach:

(1) estymata wektora stężeń składników analizowanej mieszaniny wyznaczana jest na podstawie danych spektrofotometrycznych reprezentujących widmo absorpcyjne tej substancji;

(2) adekwatnym modelem zależności tych danych od widma w dziedzinie transmitancji jest liniowy operator całkowy;

(3) adekwatnym modelem zależności tego widma w dziedzinie absorbancji od wektora stężeń są prawa absorpcji Lamberta–Beera;

(4) dostępne są wzorcowe widma dominujących składników analizowanej mieszaniny;

(5) dostępna jest odpowiednia informacja statystyczna na temat stężeń podlegających estymacji oraz zaburzeń danych spektrofotometrycznych używanych do tego celu.

Właściwości metrologiczne zaproponowanej metody zostały zbadane z użyciem danych półsyntetycznych i rzeczywistych. Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono, że zaproponowana metoda zapewnia znacznie większą dokładność niż powszechnie stosowana metoda najmniejszych kwadratów z ograniczeniami, jeśli odchylenia wartości stężeń od wartości typowych nie przekraczają $\pm 20\%$.

* Politechnika Warszawska, Wydział Elektroniki i Technik Informacyjnych, Instytut Radioelektroniki.

** Źródło finansowania badań: grant MNiSW nr N505 011 31/1428.

1. WPROWADZENIE

Metody spektrofotometrycznej analizy mieszanin substancji chemicznych i biochemicznych znajdują ostatnio coraz szersze zastosowanie nie tylko w specjalistycznych laboratoriach analitycznych, ale także w warunkach polowych i przemysłowych. Z jednej strony wynika to z potrzeby sprostania coraz większym standardom ustanawianym przez odpowiednie instytucje krajowe i międzynarodowe, z drugiej zaś – jest spowodowane dostępnością na rynku coraz większej liczby różnych mini- i mikrospektrofotometrów, których atrakcyjność wynika nie tylko ze stosunkowo niskiej ceny, a także z niewielkich rozmiarów. Te dwie cechy sprawiają, że przyrządy tego typu są coraz częściej wykorzystywane na szeroką skalę w kontroli żywności [7], [27], [41], [58], [59]; w monitoringu biomedycznym [4], [6], [40], [64], [65]; w monitoringu przemysłowym [11], [16] oraz w monitoringu środowiska naturalnego [35], [62].

Zagadnienie monitoringu z reguły charakteryzuje się dwiema cechami, których uwzględnienie w procedurze pomiarowej umożliwia zwiększenie dokładności pomiarów realizowanych z użyciem tanich mini- i mikrospektrofotometrów:

- przyrząd pomiarowy realizuje w sposób ciągły tę samą funkcję, np. pomiar widma tej samej substancji i/lub stężeń jej składników, w tym samym zakresie, z jednakową niepewnością;
- zakres zmienności mierzonych wartości jest stosunkowo niewielki i znany *a priori*.

Właśnie tej klasie zastosowań spektrofotometrów poświęcony jest niniejszy artykuł, w którym zaproponowano nową metodę estymacji stężeń składników substancji chemicznych, opartą na regule Bayesa. Założenia i wyniki badań tej metody stanowią treść rozprawy doktorskiej [54] i zostały już częściowo opublikowane w czterech artykułach [49], [55], [56]. Najogólniej rzecz ujmując, proponowana metoda odznacza się większą dokładnością niż istniejące metody klasyczne, takie jak np. metoda najmniejszych kwadratów z ograniczeniami – zwłaszcza jeśli zastosowana zostanie do analizy mieszanin znacznej (większej niż cztery) liczby składników, znamiennych dużym zróżnicowaniem wartości stężeń. Dodatkową zaletą tej metody jest jej odporność na obecność tzw. widma śladowego reprezentującego składniki resztkowe badanej mieszaniny, których stężenia nie podlegają estymacji.

Artykuł składa się z dziewięciu rozdziałów, bibliografii oraz spisu oznaczeń i podstawowych pojęć spektrofotometrii. Rozdział 1 ma charakter wstępny; rozdział 2 zawiera wprowadzenie do problematyki analiz spektrofotometrycznych, a szczególnie – charakterystykę najistotniejszych problemów metrologicznych, związanych z pomiarami widma; rozdział 3 – sformułowanie przedmiotu i celów badań zreferowanych w artykule; rozdział 4 – podstawowe informacje na temat Bayesowskich metod przetwarzania danych pomiarowych; rozdział 5 – opis nowej metody Bay-

esowskiej, przeznaczonej do estymacji stężeń składników substancji chemicznych; rozdziały 6, 7 i 8 – wyniki badania jej właściwości metrologicznych z użyciem danych półsyntetycznych i rzeczywistych. Rozdział 9 – podsumowanie tych wyników oraz wnioski dotyczące ich teoretycznego i praktycznego znaczenia dla metrologii.

2. ISTOTA ANALIZ SPEKTROFOTOMETRYCZNYCH

2.1. SPEKTROFOTOMETRIA

Spektrofotometria, jedna z najstarszych metod instrumentalnych stosowanych w analizie chemicznej, wykorzystuje wpływ ośrodka na natężenie wiązki promieniowania elektromagnetycznego – w zakresie nadfioletu (UV), światła widzialnego (Vis) lub podczerwieni (IR) – przechodzącej przez ten ośrodek. W wyniku absorpcji kwantów promieniowania przez cząsteczki ośrodka następuje wzbudzenie odpowiednich poziomów energetycznych, a efektem podlegającym analizie jest charakterystyczne dla zakresu promieniowania widmo absorpcyjne, na podstawie którego można wykrywać, identyfikować i oznaczać pierwiastki, związki chemiczne i ich elementy strukturalne (grupy funkcyjne lub charakterystyczne wiązania).

2.1.1. PRAWA ABSORPCJI

Natężenie promieniowania monochromatycznego, opuszczającego warstwę o grubości b jednorodnego ośrodka pochłaniającego, I_{out} , zmniejsza się zgodnie z pierwszym prawem absorpcji Lamberta–Beera [63, s. 71]

$$I_{\text{out}} = I_{\text{in}} \exp(-kb) \quad (1)$$

gdzie I_{in} jest natężeniem promieniowania wchodzącego w warstwę, natomiast k – współczynnikiem absorpcji. Transmitancja wynosi w tym przypadku

$$T = \frac{I_{\text{out}}}{I_{\text{in}}} = \exp(-kb) \quad (2)$$

natomiast absorbancja

$$A = -\log_{10}(T) = \log_{10}(e)kb = 0,4343kb \quad (3)$$

Drugie prawo absorpcji Lamberta–Beera dotyczy pochłaniania promieniowania przez roztwory i określa sposób osłabiania wiązki przez roztwór o stężeniu c [63, s. 72]

$$I_{\text{out}} = I_{\text{in}} \exp(-kbc) \quad (4)$$

Absorbancja jest w tym przypadku proporcjonalna do stężenia i grubości warstwy pochłaniającej

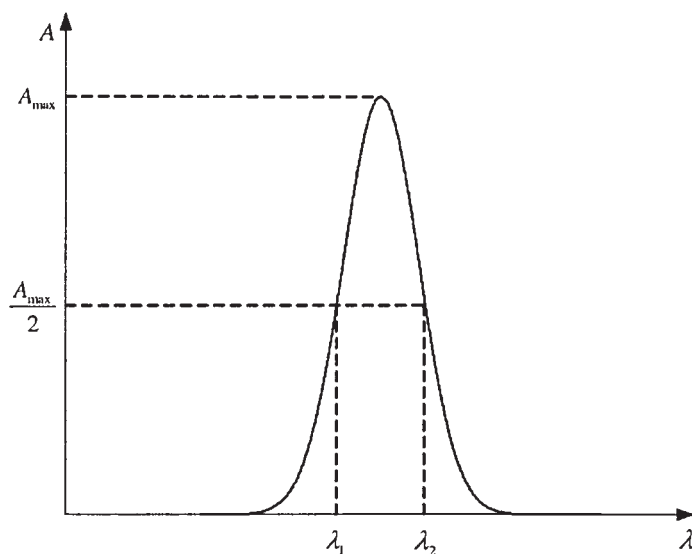
$$A = \log_{10}(e)kbc = 0,4343kbc \quad (5)$$

Trzecie prawo absorpcji Lamberta–Beera mówi o addytywności absorbancji roztworu wieloskładnikowego [63, s. 72]:

$$A = A_1 + A_2 + \dots + A_J \quad (6)$$

gdzie A_J jest absorbancją J -tego składnika roztworu J -składnikowego.

Funkcja $A(\lambda)$, modelująca zależność absorbancji A od długości fali λ , nazywa się widmem absorpcyjnym. Linia widmowa, charakterystyczny morfem tego widma, powstaje w wyniku przejść między określonymi poziomami energetycznymi układów kwantowych o dyskretnym układzie poziomów energetycznych, tzn. mogących wykazywać energię o ściśle określonych, skokowo zmieniających się wartościach. Wydawać by się mogło więc, że linia widmowa powinna mieć kształt zbliżony do dystrybucji Diraca. Wiele czynników fizycznych powoduje jednak, że rzeczywisty kształt linii widmowej, zwanej dalej pikiem spektrometrycznym, jest inny i przypomina bardziej funkcję Gaussa niż dystrybucję Diraca (rys. 1).



Rys. 1. Rzeczywisty kształt linii widmowej

Fig. 1. Real shape of a spectral line

Nie do końca ściśle jest także założenie, że jedynym skutkiem oddziaływania promieniowania elektromagnetycznego z analizowaną substancją jest absorpcja promie-

niowania, podczas której powrót cząsteczki wzbudzonej do stanu podstawowego odbywa się przez wydzielanie ciepła. Możliwa jest również fluorescencja, czyli emisja kwantu. Zwiększa to pozornie transmitancję analizowanej substancji, co oznacza, że zmierzona absorbancja próbki będzie niższa niż w rzeczywistości.

Biorąc pod uwagę model matematyczny widma oraz drugie i trzecie prawo Lamberta–Beera, absorbancję roztworu analizowanej substancji wyrazić można wzorem:

$$A(\lambda) = c_1 A_1(\lambda) + \dots + c_J A_J(\lambda) \quad (7)$$

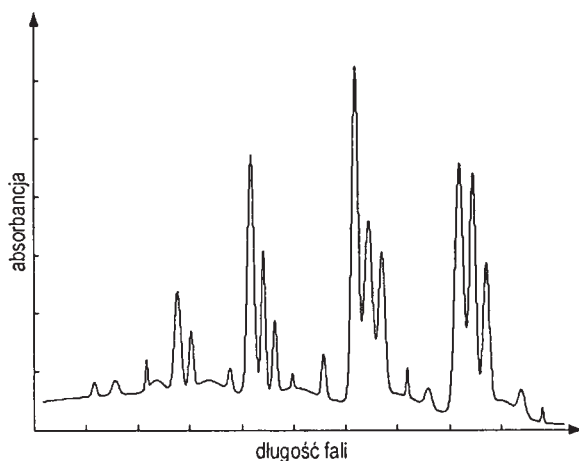
gdzie $A_1(\lambda), \dots, A_J(\lambda)$ to znormalizowane widma absorpcyjne jej składników, a współczynniki $c_1, \dots, c_J$ są ich stężeniami. Modelem matematycznym widma absorpcyjnego, szczególnie użytecznym w analizie ilościowej, jest funkcja postaci:

$$x^{Ab}(\lambda) = b(\lambda) + \sum_{k=1}^K a_k v_x(\lambda - l_k) \quad (8)$$

gdzie $b(\lambda)$ – jest „wolnozmienną” funkcją modelującą tzw. linię bazy, $v_x(\lambda)$ – modelem pojedynczej linii spektralnej, spełniającym warunek:

$$\int_{-\infty}^{+\infty} v_x(\lambda - l_k) d\lambda = 1 \quad (9)$$

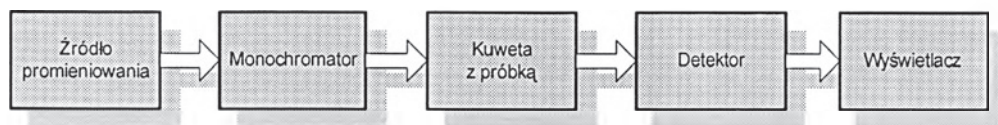
natomiast a_k i l_k ($k = 1, \dots, K$) są parametrami widma. Parametr a_k , zwany magnitudą linii, charakteryzuje poziom absorpcji, a parametr l_k określa położenie linii na osi długości fali λ . Przykład widma absorpcyjnego przedstawiono na rysunku 2.



Rys. 2. Przykładowe widmo absorpcyjne
Fig. 2. Exemplary absorption spectrum

2.1.2. SPEKTROFOTOMETR

Podstawowymi elementami, z których zbudowany jest klasyczny spektrofotometr przeznaczony do pracy w zakresie UV-Vis są: źródło promieniowania, monochromator, kuweta pomiarowa, detektor promieniowania oraz wyświetlacz wyniku (rys. 3).



Rys. 3. Schemat blokowy klasycznego spektrofotometru UV-Vis
Fig. 3. Block diagram of a classic UV-Vis spectrophotometer

Źródło promieniowania – to zwykle bardzo wydajne źródło światła widzialnego (lampa wolframowo-halogenowa) i/lub źródło ultrafioletu (lampa wodorowa lub deuterowa). Maksimum emisji lampy wolframowo-halogenowej przypada na część zieloną widma. Maksimum emisji lampy deuterowej przypada dla $\lambda \approx 200$ nm, lampy wodorowej – dla fali nieco dłuższej. W zakresie długości fali powyżej 400 nm intensywność światła obu tych lamp jest znacznie mniejsza, a w widmie pojawia się para linii Fraunhofera, używanych do wzorcowania spektrofotometru ze względu na długości fali.

Monochromator, element decydujący o rozdzielczości spektrofotometru, składa się ze szczeliny wejściowej, kolimatora, elementu dyspersyjnego i szczeliny wyjściowej. Jeżeli na szczelinę wejściową monochromatora pada światło polichromatyczne, to w płaszczyźnie ogniskowej kolimatora wyjściowego powstaje zbiór jej monochromatycznych obrazów odpowiadających wszystkim długościom fali promieniowania emitowanego przez źródło. Ponieważ obrazy te są przesunięte względem siebie na skutek dyspersji, szczelina wyjściowa wydziela z całego widma tylko niewielki jego wycinek. W przypadku dostatecznie szerokich szczelin można pominąć rozszerzenie obrazu szczeliny wejściowej spowodowane dyfrakcją i aberracją w kolimatorze. Najważniejszą charakterystyką zewnętrzną monochromatora jest funkcja aparaturowa opisująca rozkład natężenia promieniowania opuszczającego szczelinę wyjściową monochromatora; jej szerokość w połowie wysokości określa parametr zwany spektralną szerokością wiązki [63, s. 84]. Jeżeli szerokość szczeliny wejściowej i wyjściowej jest taka sama, funkcja aparaturowa ma kształt trójkąta, którego wierzchołek odpowiada wybranej, nominalnej długości fali; jeżeli szerokości szczelin są różne, funkcja aparaturowa ma kształt trapezu. Najczęściej pracuje się przy równych szczelinach, co zapewnia optymalne warunki pomiarów [63, s. 78]. W przypadku wąskich szczelin, gdy nie można pominąć dyfrakcji i aberracji, funkcja szczelinowa monochromatora ma kształt zbliżony do krzywej Gaussa [5, t. 3, s. 350].

Zadaniem kolimatora jest przetworzenie wiązki promieniowania emitowanego przez źródło w wiązkę równoległą. Funkcję tę pełnią zwierciadła; to samo zwierciadło pełni zwykle rolę zarówno kolimatora wejściowego, jak i wyjściowego.

Elementem rozszczepiającym monochromatora może być pryzmat lub siatka dyfrakcyjna. Uzyskanie pryzmatu najwyższej jakości optycznej w warunkach produkcji seryjnej jest trudne, co powoduje, że jest on względnie drogi. Ponieważ dyspersja pryzmatu zmienia się z długością fali, uzyskanie liniowej zmiany długości fali w funkcji kąta obrotu pryzmatu wymaga użycia specjalnych mechanicznych krzywek, co dodatkowo komplikuje konstrukcję monochromatora, a przez to podnosi jego koszt. Dawniej pryzmaty były powszechnie stosowane w całym zakresie UV-Vis; obecnie są używane raczej jako monochromatory wstępne, przy czym korzysta się z tego, iż załamanie światła białego w pryzmacie – w odróżnieniu do siatki dyfrakcyjnej – daje widmo tylko jednego rzędu.

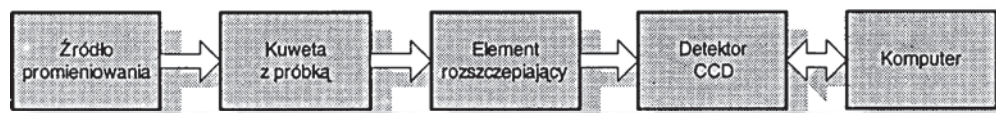
Kuweta pomiarowa powinna zapewnić jak najlepsze warunki pomiaru absorpcji: maksymalną przezroczystość, odporność na działanie analizowanej substancji, jednoznacznie określoną grubość warstwy absorbującej. W zależności od zakresu widma musi być wybrany odpowiedni materiał, gdyż np. kuwety szklane czy polimerowe nie są przezroczyste dla promieniowania UV. Światło z monochromatora jest zwykle zbieżne i ogniskowane do wiązki o minimalnej szerokości w miejscu, w którym znajduje się kuweta. Dla kuwet dłuższych (10 cm) mniejsza zbieżność wiązki umożliwia dokładniejsze pomiary bez strat światła na ściankach kuwety. Aby zapobiec tym stratom, kuweta powinna być bardzo dokładnie pozycjonowana i usytuowana prostopadle do wiązki promieniowania.

Detektory, używane w spektrofotometrach klasycznych, funkcjonują na zasadzie wykorzystania zewnętrznego (fotopowielacze) albo wewnętrznego (fotodiody) efektu fotoelektrycznego [63, s. 80]. W przypadku fotopowielacza fotony padające na fotokatodę, o energii większej od pracy wyjścia charakterystycznej dla materiału katody, wybijają z niej elektrony, które są przyciągane przez anodę o potencjale dodatnim w stosunku do katody. Prąd wybitych elektronów jest proporcjonalny do intensywności światła i może być zmierzony. Pomiędzy fotokatodą i anodą umieszczane są często elektrody pośrednie, tzw. dynody; fotopowielacze wysokiej klasy mają 9–14 dynod wzmacniających powstający fotoprąd [25, s. 141]. Fotodiody, zgrupowane zwykle w jednym szeregu, tworzą tzw. matrycę diodową umożliwiającą detekcję równoległą. Z konstrukcji mechanicznej matryc diodowych wynika ograniczona rozdzielczość tego typu detektorów [25, s. 162].

W końcu lat osiemdziesiątych XX w. pojawiły się spektrofotometry z detektorami w postaci linijki CCD (rys. 4), które z czasem zastąpiły wychodzące z użycia detektory oparte na fotopowielaczach. Pierwszy miniaturowy spektrofotometr światłowodowy z linijką CCD, opracowany przez firmę *Ocean Optics, Inc.*, był dostępny na rynku już w 1992 r. W spektrofotometrze tego typu światło ze źródła przesyłane jest za pomocą światłowodu do kuwety z próbką, a następnie – także przez światłowód – do

elementu rozszczepiającego. Rozszczepiona wiązka światła pada na detektor w postaci linii CCD. Wszystkie punkty widma są rejestrowane jednocześnie, przy czym regulowany jest zarówno czas integracji ładunku detektora, jak i liczba pomiarów, z których średnia przyjmowana jest jako ostateczny wynik pomiaru.

Zastosowanie detektorów CCD umożliwiło istotną miniaturyzację spektrofotometrów z jednoczesnym wzrostem ich szybkości, rozdzielczości i czułości. Detektor CCD ma postać matrycy składającej się ze stu, kilkuset lub nawet kilku tysięcy pojedynczych elementów światłoczułych. Niewątpliwą przewagą spektrofotometrów z takim detektorem nad spektrometrami klasycznymi jest możliwość jednoczesnego dostępu do wszystkich linii spektralnych w całym zakresie długości fali. W drugiej połowie lat dziewięćdziesiątych XX w. zakres działania spektrofotometrów z detektorem w postaci linii CCD rozszerzony został na zakres bliskiej podczerwieni (NIR).



Rys. 4. Schemat blokowy spektrofotometru z detektorem w postaci linii CCD

Fig. 4. Block diagram of a spectrophotometer with a CCD line detector

2.2. KOMPUTEROWE WSPOMAGANIE ANALIZ SPEKTROFOTOMETRYCZNYCH

Komputerowe wspomaganie aparatury spektrofotometrycznej przynosi znaczne przyspieszenie pomiarów i ułatwienie obsługi przyrządów, umożliwia eliminację pomyłek operatora oraz realizację zadań wcześniej niewykonalnych bądź takich, których realizacja wymagała specjalnego oprzyrządowania i znacznego nakładu pracy.

Najważniejsze typowe warianty komputerowego wspomagania pomiarów spektrofotometrycznych są następujące:

- spektrofotometr z wbudowanym specjalizowanym systemem komputerowym, którego zadaniem jest zarówno sterowanie działaniem spektrofotometru, jak i obróbka danych spektrofotometrycznych;
- spektrofotometr sterowany za pomocą zewnętrznego komputera wyposażonego w specjalizowane oprogramowanie umożliwiające istotne rozszerzenie funkcji zbierania, przetwarzania i przechowywania danych;
- spektrofotometr podłączony do centralnego systemu sterowania i przetwarzania danych z różnych urządzeń laboratoryjnych, działającego na zasadzie „systemu eksperckiego”.

Komputer wbudowany w spektrofotometr, lub z nim sprzężony, może pełnić różnorodne funkcje związane z: diagnostyką przyrządu, autokorekcją parametrów pomiarowych, sterowaniem pomiarami, wyznaczaniem ostatecznego wyniku pomiaru, statystyczną ana-

lizą wyników pomiaru, porównywaniem wyników pomiaru z danymi odniesienia przechowywanymi w pamięci oraz magazynowaniem wyników pomiaru [63, s. 82].

2.2.1. ZBIERANIE DANYCH SPEKTROFOTOMETRYCZNYCH

Sprzężenie spektrofotometru z komputerem umożliwia programowanie zakresu długości fali i ustalanie warunków pomiarów, powtarzanie zapisu widm, korekcję błędów długości fali oraz błędów absorbancji (transmitancji) spowodowanych światłem rozproszonym, a także automatyczną korekcję zmieniającej się objętości próbek, stężenia roztworu, wpływu temperatury i innych czynników zewnętrznych; daje możliwość automatycznego doboru źródła światła (w zależności od długości fali) i szerokości szczeliny monochromatora.

Do bardziej zaawansowanych technik można zaliczyć bieżące korygowanie wyników pomiarów i doskonalenie warunków ich zapisu, m.in. przez rozszerzanie zakresów pomiarowych oraz polepszanie stosunku sygnału użytecznego do szumu (np. przez optymalizację czasu integracji, w przypadku detektorów mających postać matryc diodowych, oraz optymalizację liczby powtórzeń pomiarów).

2.2.2. OBRÓBKA DANYCH SPEKTROFOTOMETRYCZNYCH

Proces przetwarzania surowych danych pomiarowych, uzyskanych za pomocą spektrofotometru, obejmuje ich przetwarzanie wstępne i obróbkę mającą na celu eliminację wpływu niedoskonałości przyrządu oraz ich interpretację. Systematyczny przegląd metod i algorytmów stosowanych do tego celu znaleźć można w artykule [48]. Tutaj zarysowana zostanie jedynie ich ogólna jakościowa charakterystyka.

Do przetwarzania wstępnego danych spektrometrycznych służą procedury filtracji, eliminacji linii bazy i uśredniania zmierzonych widm. Wszystkie te działania mają na celu uzyskanie możliwie wiarygodnych wyników pomiaru odznaczających się możliwie wysokim stosunkiem sygnału do szumu.

Eliminacja wpływu niedoskonałości przyrządu jest jednym z głównych powodów użycia komputera do obróbki danych spektrometrycznych. Ze względu na dość powszechne stosowanie modelu tych danych w postaci całki splotu, narzędziem służącym do rozwiązania problemu odtwarzania widm są algorytmy dekonwolucji (rozplotu), często stosowane także w innych niż spektrometria dziedzinach metrologii.

Celem interpretacji danych spektrometrycznych jest zwykle określenie składu chemicznego analizowanej substancji, tzn. identyfikacja jej składników oraz estymacja ich stężeń. Komputerowa identyfikacja analizowanych substancji coraz częściej wypiera tradycyjne procedury oparte na użyciu wydawnictw atlasowych lub tablicowych.

2.3. ŹRÓDŁA NIEPEWNOŚCI ANALIZ SPEKTROFOTOMETRYCZNYCH

Wynik pomiaru stężeń składników analizowanej substancji obarczony jest błędami spowodowanymi niepewnością surowych danych pomiarowych oraz niedoskonałością

procedury estymacji stężeń na podstawie tych danych. Z kolei źródłem niepewności surowych danych są niedoskonałości spektrofotometru, zmiany zachodzące w próbce oraz oddziaływania zewnętrzne wpływające na próbkę i spektrofotometr.

2.3.1. NIEDOSKONAŁOŚCI SPEKTROFOTOMETRU

Najistotniejsze przyczyny niepewności pomiaru widma za pomocą spektrofotometru to:

- niedoskonała monochromatyczność światła pobudzającego próbkę analizowanej substancji (w spektrofotometrze tradycyjnym);
- skończona rozdzielczość detektora typu CCD (w spektrofotometrach z takim detektorem);
- występowanie promieniowania rozproszonego w torze pomiarowym spektrofotometru.

Źródło promieniowania powinno charakteryzować się stabilnością jego intensywności w czasie tak, aby pomiary próbki odbywały się w tych samych warunkach. W rzeczywistości intensywność promieniowania ulega zmianom, spowodowanym przede wszystkim przypadkowymi wahaniami napięcia zasilania, a w przypadku zasilania napięciem zmiennym – także jego okresową zmiennością. Spadek intensywności promieniowania następuje również z upływem czasu w wyniku „starzenia się” źródła promieniowania.

Jakość monochromatora decyduje o szerokości wiązki promieniowania. Wpływ funkcji aparaturowej na zmierzone widmo daje się łatwo zaobserwować, jeżeli szerokość szczelin jest duża, większa od naturalnej szerokości linii widmowej. Wówczas, w przypadku lampy rtęciowej, linia widmowa nie ma kształtu funkcji Gaussa, lecz przybiera kształt trójkątny (dla szczelin równej szerokości).

Źródłem niepewności pomiaru widma może być także kuweta z próbką analizowanej substancji, gdy jej wewnętrzne powierzchnie nie są równoległe. Kuwety plastikowe, często używane w analizie rutynowej, mogą się różnić właściwościami optycznymi, nawet jeżeli pochodzą z tej samej partii produkcyjnej.

Jeszcze jednym źródłem niepewności pomiaru widma jest światło rozproszone pochodzące z monochromatora. Światło docierające do detektora podlega dodatkowemu zniekształceniu przez promieniowanie rozproszone na niedoskonałościach i zanieczyszczeniach elementów optycznych, przy czym jest to promieniowanie o długościach fali różnych od jej wartości nominalnej. Nawet bardzo mały poziom rozproszonego światła może spowodować zniekształcenie zmierzonego widma, jeżeli promieniowanie jest bardzo mocno pochłaniane przez analizowaną próbkę; wówczas bowiem światło to w szerokim zakresie długości fali prawie nie jest pochłaniane przez próbkę, a detektor reaguje na nie jak na światło o nominalnej długości fali. Transmisja światła przez próbkę pozornie wzrasta, i jeżeli następuje to w obszarze dużej absorpcji próbki, to mogą pojawić się nawet fałszywe maksima absorpcji.

2.3.2. ZMIANY CHEMICZNE W PRÓBCE

Reakcje chemiczne, zachodzące w analizowanych roztworach (np. dysocjacja, asocjacja, polimeryzacja, solwatacja), zmieniają ich właściwości optyczne, co w zależności od rodzaju roztworu i długości fali może powodować zarówno dodatnie, jak i ujemne błędy pomiaru absorbancji. Na przykład zmiana absorbancji wraz ze wzrostem stężenia monomeru może być dla pewnej długości fali mniejsza niż liniowa, podczas gdy wzrost stężenia polimeru dla innej długości fali może mieć charakter nadliniowy. Parametry pików widma absorpcji związku chemicznego zależą niekiedy od wartości pH. Aby uniknąć związanych z tym błędów analiz, należy pomiary prowadzić w roztworach o stałym pH. Jeszcze trudniejsze do spełnienia wymagania powstają w związku z analizą próbek rozpraszających czy fluoryzujących, próbek fotoaktywnych, które ulegają przemianom chemicznym w trakcie naświetlania.

Ponadto, o ile dla małych stężeń analizowanych roztworów zależność absorbancji od stężenia jest liniowa, to wraz ze wzrostem stężenia powyżej wartości $c > 10^{-2}$ mol dm^{-3} , ujawnia się nieliniowy wpływ współczynnika załamania światła na wartość molowego współczynnika absorpcji.

2.3.3. WPLYWY ZEWNĘTRZNE

Wśród zewnętrznych źródeł niepewności pomiaru za najważniejsze należy uznać zmiany napięcia zasilania, zmiany temperatury i błędy operatora.

Przypadkowe fluktuacje napięcia zasilania powodują zmianę warunków pracy każdego urządzenia. W spektrofotometrze powodują one niestabilność pracy źródła światła, mogą wpływać na czułość detektora i dokładność układów rejestrujących.

Również zmiany temperatury wpływają na pracę wszystkich części spektrofotometru, w tym także na elementy optyczne; dlatego też istotne jest odseparowanie termiczne źródła światła od monochromatora. W spektrofotometrach bardzo dokładnych stosuje się konstrukcje w rodzaju „komina” nad lampą, stanowiącego efektywny kanał odprowadzania ciepła [69]. Próbki analizowanej substancji o wysokiej temperaturze także powodują zmiany warunków pracy tak części optycznej, jak części elektronicznej spektrofotometru.

Jakość analiz spektrofotometrycznych zależy od wybranych parametrów pracy przyrządu. Często parametry te są współzależne (intensywność promieniowania i funkcja aparaturowa); dlatego też dobór ich wartości – w zależności od zakresu i rodzaju mierzonego widma czy typu analizy – jest bardzo istotny. Nie można zapomnieć też o tak podstawowych warunkach prawidłowych pomiarów jak wstępne wygrzanie przyrządu i czyszczenie kuwet pomiarowych, zwłaszcza usuwanie odcisków palców.

3. CHARAKTERYSTYKA PROBLEMU BADAWCZEGO

3.1. OGÓLNA METODYKA ESTYMACJI STĘŻEŃ NA PODSTAWIE DANYCH SPEKTROFOTOMETRYCZNYCH

Zadanie estymacji stężeń na podstawie danych spektrofotometrycznych jest szczególnym przypadkiem problemu odtwarzania mezurandów. Ogólna metodyka rozwiązywania tego problemu – opisana w artykułach [45–47] – odwołuje się do matematycznego modelu obiektu pomiaru i połączonego z nim systemu pomiarowego, który to model ma postać dwóch operatorów: operatora konwersji sygnałów niosących informację o mezurandzie na tzw. surowe dane pomiarowe (G) oraz operatora odtwarzania mezurandu na podstawie tych danych (R). W przypadku zadania estymacji wektora stężeń $\hat{c}$ wynikiem działania pierwszego z nich są dane $\tilde{y}$ reprezentujące widmo absorpcyjne analizowanej substancji w dziedzinie transmitancji (wówczas $\tilde{y} \equiv \tilde{y}^{Tr}$) lub w dziedzinie absorbancji (wówczas $\tilde{y} \equiv \tilde{y}^{Ab}$); wynikiem działania drugiego z nich – estymata wektora stężeń $\hat{c}$:

$$\hat{c} = R[\tilde{y}, \hat{v}, \tilde{u}(\lambda)] \quad (10)$$

gdzie $\hat{v}$ jest estymatą wektora wielkości wpływających $\dot{v}$, natomiast $\tilde{u}(\lambda)$ – widmem promieniowania wnikającego w próbkę analizowanej substancji. Operator R (lub jemu równoważny) musi zostać wyznaczony w procedurze tzw. wzorcowania toru pomiarowego na podstawie wyników specjalnie wykonanych w tym celu pomiarów odniesienia. Tradycyjna metoda jego identyfikacji polega na wyznaczaniu odwrotności, przybliżonej odwrotności lub pseudoodwrotności operatora G :

$$\dot{y} = G[\dot{c}; \dot{v}, \dot{u}(\lambda)] \quad (11)$$

gdzie $\dot{y}$ jest „dokładnym” surowym wynikiem pomiaru, jaki mógłby być uzyskany w przypadku braku czynników zakłócających. Bardziej efektywne podejście do wzorcowania oparte jest na bezpośredniej identyfikacji operatora R – [44], [50–52].

3.2. STRUKTURA ROZWIĄZANIA ZADANIA ESTYMACJI STĘŻEŃ

Estymata $\hat{c}$ wektora stężeń $\dot{c}$ może być wyznaczona bezpośrednio z danych pomiarowych $\dot{y}$ albo na podstawie estymaty widma uzyskanej w wyniku obróbki tych danych. W obydwu przypadkach ogólna struktura rozwiązania zadania estymacji stężeń pozostaje taka sama i obejmuje matematyczne modelowanie danych pomiarowych, wzorcowanie spektrofotometru oraz właściwą estymację stężeń. Dla uproszczenia notacji w dalszym ciągu tego artykułu pomijane będą argumenty operatorów R i G , pojawiające się po średniku w ich definicjach, tzn. we wzorach (10) i (11).

3.2.1. BEZPOŚREDNIA ESTYMACJA STĘŻEŃ

Jak pokazano w podrozdziale 2.3, praktycznie każdy element spektrofotometru może wносить pewną składową błąd o charakterze przypadkowym lub systematycznym. Najczęściej łączne działanie tych wszystkich składowych uwzględnia się w modelu matematycznym danych pomiarowych w sposób następujący:

$$\tilde{\mathbf{y}} = \mathbf{y} + \boldsymbol{\eta} \quad (12)$$

gdzie $\boldsymbol{\eta} \equiv [\eta_1 \dots \eta_N]^T$ jest wypadkowym (zastępczym) zaburzeniem danych pomiarowych.

Wzorcowanie spektrofotometru polega na identyfikacji operatora $\mathbf{G}$, występującego we wzorze (11), lub operatora $\mathbf{R}$, zdefiniowanego wzorem (10), na podstawie następujących danych pomiarowych:

$$\mathbf{D}^{cal} = \{\mathbf{c}^{cal}, \mathbf{y}^{cal}\} \quad (13)$$

gdzie wektor danych $\mathbf{y}^{cal}$ jest wynikiem pomiaru uzyskanym za pomocą wzorcowanego spektrofotometru, reprezentującym wzorcową mieszaninę składników o stężeniach, których wartości tworzą wektor $\mathbf{c}^{cal}$. Zwykle zakłada się przy tym, że elementy tego wektora znane są dokładnie (tzn. błędy stężeń można zaniedbać).

Wynik wzorcowania, wraz z pewną informacją aprioryczną (wstępną) o odtwarzanych stężeniach $\mathbf{c}$ i zaburzeniach danych $\boldsymbol{\eta}$, służy do wyznaczania estymaty $\hat{\mathbf{c}}$ wektora stężeń $\mathbf{c}$ składników badanej mieszaniny na podstawie danych pomiarowych $\tilde{\mathbf{y}}$ uzyskanych za pomocą spektrofotometru. Tak sformułowane zadanie odtwarzania mierzand, zakładając model danych dokładnych postaci (11), jest z reguły zadaniem źle uwarunkowanym numerycznie [66, s. 7]. Oznacza to, że nawet bardzo małe zmiany danych mogą prowadzić do bardzo dużych zmian rozwiązania. W konsekwencji nawet rozwiązanie uzyskiwane dla danych obarczonych jedynie szumem kwantyzacji może być zupełnie bezwartościowe.

3.2.2. POŚREDNIA ESTYMACJA STĘŻEŃ

W przypadku pośredniej estymacji stężeń jako model danych służy równanie w postaci:

$$\tilde{\mathbf{y}} = \mathbf{G}[\dot{\mathbf{x}}] + \boldsymbol{\eta} \quad (14)$$

gdzie $\dot{\mathbf{x}}$ jest wektorem próbek dokładnego widma mieszaniny. Wzorcowanie polega na identyfikacji operatora $\mathbf{G}$ lub operatora $\mathbf{R}$, zdefiniowanego wzorem:

$$\hat{\mathbf{x}} = \mathbf{R}[\tilde{\mathbf{y}}] \quad (15)$$

na podstawie następujących danych pomiarowych:

$$D^{cal} = \{\mathbf{x}^{cal}, \mathbf{y}^{cal}\} \quad (16)$$

gdzie $\mathbf{x}^{cal}$ jest wektorem próbek widma odniesienia, a $\mathbf{y}^{cal}$ wektorem odpowiadających temu widmu danych uzyskanych za pomocą wzorcowanego spektrofotometru. Zakłada się przy tym, że:

- Widmo odniesienia znane jest dokładnie (tzn. błędy $\mathbf{x}^{cal}$ można zaniedbać).
- Operator G ma postać [33]:

$$G[x(\lambda); \lambda] \equiv \int_{-\infty}^{+\infty} g(\lambda - \lambda') x(\lambda) d\lambda' \equiv g(\lambda) * x(\lambda) \quad (17)$$

gdzie $g(\lambda)$ jest funkcją aparaturową spektrofotometru, modelującą zarówno wpływ jego części optycznej, jak i elektronicznej.

- Zaburzenia danych η_n są realizacjami niezależnych, identycznych zmiennych losowych $\underline{\eta}_n$ o zerowych wartościach oczekiwanych i wariancjach σ_n^2 .

Liczne publikacje, zarówno te dotyczące konkretnego zastosowania jak i te ogólnejsze, wskazują na to, że przyjęty model, opisany równaniem (14), z operatorem G zdefiniowanym wzorem (17), pokrywa znaczną część potrzeb praktycznych [12], [13], [20], [24], [26], [33, s. 78, 114, 188, 231, 238, 269], [45, rozdz. 3], [67].

Wyznaczając estymatę $\hat{x}(\lambda)$ widma badanej substancji $x(\lambda)$ na podstawie danych pomiarowych $\tilde{\mathbf{y}}$, uzyskanych za pomocą spektrofotometru, zakłada się, że znany jest pewien model danych postaci (14) lub (15) i dostępna jest pewna informacja aprioryczna o widmie $x(\lambda)$ i zaburzeniach danych η . Tak sformułowane zadanie odtwarzania widma jest zadaniem źle uwarunkowanym numerycznie [33, s. 35]. Ponieważ estymacja stężeń opiera się w tym przypadku na wyniku odtwarzania widma absorpcyjnego $\hat{x}(\lambda)$, to jest to także zadanie źle uwarunkowane numerycznie i metoda jego rozwiązania musi mieć silne właściwości regularizujące.

4. BAYESOWSKIE METODY OBRÓBK DANYCH POMIAROWYCH

4.1. ISTOTA METOD BAYESOWSKICH

Metody Bayesowskie należą do metod probabilistycznych, które są adekwatnym narzędziem odtwarzania mezurandu, informacja aprioryczna ma charakter losowy [3]. Ich użycie opiera się na założeniu, że odtwarzany mezurand $\mathbf{c}$ jest realizacją pewnego wektora losowego $\underline{\mathbf{c}}$, natomiast zaburzenie danych η jest realizacją innego wektora losowego $\underline{\eta}$. Pełne informacje aprioryczne o tych wektorach losowych – odpowied-

nie funkcje gęstości rozkładów prawdopodobieństwa *a priori* $f_{\underline{c}}(\mathbf{c})$ i $f_{\underline{y}}(\mathbf{c})$ – są w praktyce rzadko dostępne. W najlepszym przypadku dysponujemy typem rozkładów oraz estymatami ich dwóch pierwszych momentów, tzn. wartości oczekiwanej i wariancji. Pełny wynik odtwarzania metodami probabilistycznymi nie jest na ogół wymagany, a nawet bywa kłopotliwy w użyciu ze względu na swoją ekstensywność. Redukcja pełnego wyniku do postaci użytkowej, np. do postaci estymaty $\hat{\mathbf{c}}$, dokonywana jest najczęściej metodami wariancyjnymi.

Reguła Bayesa, nazywana niekiedy formułą prawdopodobieństwa odwrotnego, ułatwia wyznaczenie rozkładu prawdopodobieństwa wektora losowego $\underline{c}$ pod warunkiem, że wektor losowy $\underline{y}$ przyjął ustaloną wartość $\tilde{y}$. Ogólnie mówiąc, umożliwia ona poznanie przyczyny na podstawie wywołanych przez nią skutków [36]. Reguła ta ma postać:

$$f_{\underline{c}|\underline{y}}(\mathbf{c}|\tilde{y}) = \frac{f_{\underline{y}|\underline{c}}(\tilde{y}|\mathbf{c})f_{\underline{c}}(\mathbf{c})}{f_{\underline{y}}(\tilde{y})} \quad (18)$$

gdzie $f_{\underline{c}}(\mathbf{c})$ jest funkcją gęstości apriorycznego rozkładu prawdopodobieństwa wektora losowego $\underline{c}$, którego realizacją jest $\mathbf{c}$; $f_{\underline{y}}(\tilde{y})$ – funkcją gęstości apriorycznego rozkładu prawdopodobieństwa wektora losowego $\underline{y}$, którego realizacją jest $\tilde{y}$; $f_{\underline{c}|\underline{y}}(\mathbf{c}|\tilde{y})$ – funkcją gęstości rozkładu prawdopodobieństwa wektora losowego $\underline{c}$ pod warunkiem, że $\underline{y} = \tilde{y}$; $f_{\underline{y}|\underline{c}}(\tilde{y}|\mathbf{c})$ zaś funkcją gęstości rozkładu prawdopodobieństwa wektora losowego $\underline{y}$ pod warunkiem, że $\underline{c} = \mathbf{c}$. Funkcja $f_{\underline{y}}(\tilde{y})$ nie zależy od wektora $\mathbf{c}$, ponieważ:

$$f_{\underline{y}}(\tilde{y}) = \int_{\mathbf{C}} f_{\underline{y}|\underline{c}}(\tilde{y}|\mathbf{c})f_{\underline{c}}(\mathbf{c})d\mathbf{c} \quad (19)$$

gdzie $\mathbf{C}$ jest zbiorem dopuszczalnych rozwiązań. Estymację wektora $\mathbf{c}$ oprzeć więc można na analizie licznika prawej strony wzoru (18). Najczęściej stosuje się następujące estymatory wektora $\mathbf{c}$:

- regresyjny:

$$\hat{\mathbf{c}} = \int_{\mathbf{C}} \mathbf{c} f_{\underline{c}|\underline{y}}(\mathbf{c}|\tilde{y})d\mathbf{c} \quad (20)$$

- największej wiarygodności:

$$\hat{\mathbf{c}} = \arg_{\mathbf{c}} \sup \{ f_{\underline{c}|\underline{y}}(\mathbf{c}|\tilde{y}) \} = \arg_{\mathbf{c}} \sup \{ f_{\underline{y}|\underline{c}}(\tilde{y}|\mathbf{c})f_{\underline{c}}(\mathbf{c}) \} \quad (21)$$

- medianowy:

$$\hat{\mathbf{c}} = \arg_{c_j} \left\{ \int_{-\infty}^{c_j} f(c_j | \tilde{\mathbf{y}}) dc_j = \int_{c_j}^{\infty} f(c_j | \tilde{\mathbf{y}}) dc_j \mid j = 1, \dots, J \right\} \quad (22)$$

Wybór estymatora zależy w ogólności od specyfiki zadania; najczęściej jednak stosuje się estymator największej wiarygodności, zdefiniowany wzorem (21).

4.2. ROLA INFORMACJI *A PRIORI*

Kluczowym elementem każdej metody Bayesowskiej jest rozkład gęstości prawdopodobieństwa *a priori*, który charakteryzuje wiedzę o mezurandzie i surowych danych pomiarowych, dostępną przed zebraniem tych danych [42, s. 20]. Wybór rozkładu *a priori* wektora losowego $\mathbf{c}$ obejmuje wybór typu rozkładu oraz jego parametrów. W praktyce bardzo często wiedza o estymowanym mezurandzie ogranicza się do przedziału $[a, b]$ jego możliwych wartości; wówczas, aby nie wyróżnić żadnej z realizacji mezurandu, stosuje się tzw. nieinformatywny rozkład *a priori* [42, s. 23], najczęściej – rozkład równomierny:

$$f_{\mathbf{c}}(\mathbf{c}) = \frac{1}{(b-a)^J} \text{ dla } \mathbf{c} \in [a, b]^J \quad (23)$$

Podczas doboru rozkładu *a priori* warto zabiegać o to, aby wynikający zeń rozkład *a posteriori* należał do tej samej rodziny rozkładów. Mówi się wtedy o tzw. rozkładach sprzężonych. Zastosowanie rozkładów sprzężonych prowadzi do prostego wyznaczenia momentów lub innych charakterystyk rozkładu *a posteriori*, gdyż są one stosunkowo prostymi funkcjami momentów rozkładu *a priori* lub też danych pomiarowych.

Jak wynika ze wzoru (18), rozkład *a posteriori* jest proporcjonalny do rozkładu *a priori* i do rozkładu danych pomiarowych. Jeżeli wykres funkcji gęstości rozkładu *a priori* jest stosunkowo płaski, to estymata Bayesa odzwierciedla w głównej mierze informację zawartą w danych pomiarowych. Jeżeli natomiast jest on wyostrzony, to estymata Bayesa odzwierciedla przede wszystkim informację zawartą w informacji *a priori*. W każdym przypadku wraz ze wzrostem liczby danych pomiarowych wzrasta dominacja rozkładu danych pomiarowych nad przyjętym rozkładem apriorycznym.

4.3. PRZYKŁADY ZASTOSOWAŃ

Ze względu na złożoność obliczeniową oraz trudności związane z pozyskaniem dostatecznej informacji apriorycznej o przetwarzanych sygnałach do początku lat

dziewięćdziesiątych XX w. doniesienia literaturowe na temat zastosowań Bayesowskich metod obróbki danych pomiarowych były stosunkowo nieliczne. Należy do nich koncepcja jednoczesnej estymacji mezurandu oraz wariancji zaburzeń danych η przedstawiona w [31] oraz metoda interpretacji danych sejsmicznych, charakteryzujących dno morskie w pewnym rejonie północnego Atlantyku, zaproponowana w [8].

Istotny wzrost mocy obliczeniowej komputerów, zwłaszcza procesorów sygnałowych, sprawił, że w końcu lat dziewięćdziesiątych XX w. metody Bayesowskie stały się jednym z chętniej stosowanych narzędzi przetwarzania sygnałów. Przegląd zastosowań tych metod w dziedzinie cyfrowego przetwarzania obrazów do celów pomiarowych i diagnostycznych znaleźć można w [10], [18], [21] i [57]; przykład zastosowania do usuwania zakłóceń z obrazów ultrasonograficznych – w [1]; przykład zastosowania do odtwarzania obrazów tomograficznych – w [17], [22], [28]; przykład zastosowania do analizy elektroencefalogramów – w [9] i [15]. Innym obszarem, w którym ostatnio szczególnie chętnie wykorzystuje się metody Bayesowskie, jest elektroakustyka. Przykłady jej zastosowania do analizy sygnału mowy znaleźć można w [19], [39], [61] i [68]; przykład zastosowania do tłumienia pogłosu – w [37]; przykład zastosowania do usuwania zakłóceń z nagrań dźwiękowych – w [38].

W ostatnich latach można także zauważyć wzrost zainteresowania możliwością zastosowania tych metod do oznaczania składu substancji chemicznych na podstawie danych spektrometrycznych. I tak w [53] i [34] zaproponowano metody jednoczesnej estymacji stężeń i widm składników mieszaniny z założeniem, że:

- widma składników oraz widmo mieszaniny zostały zmierzone za pomocą tego samego spektrofotometru;
- zmienne losowe, modelujące stężenia i widma składników, są statystycznie niezależne;
- dostępna jest informacja *a priori* o stężeniach i widmach składników w postaci odpowiednich funkcji gęstości prawdopodobieństwa.

5. BAYESOWSKA METODA ESTYMACJI STĘŻEŃ

5.1. ZAŁOŻENIA

Metody odtwarzania wektora stężeń $\mathbf{c} = [c_1 \dots c_J]^T$ J składników, wchodzących w skład analizowanej substancji, opierają się na wykorzystaniu wzoru (7), w myśl którego wektor próbek widma mieszaniny, $\mathbf{x}^{Ab} = [x_1^{Ab} \dots x_N^{Ab}]^T$, jest liniową kombinacją wektorów próbek widm wszystkich jej składników, $\mathbf{x}_1^{Ab} \dots \mathbf{x}_J^{Ab}$:

$$\mathbf{x}^{Ab} = c_1 \mathbf{x}_1^{Ab} + \dots + c_J \mathbf{x}_J^{Ab} = \mathbf{X}^{Ab} \mathbf{c} \quad (24)$$

gdzie $\mathbf{X}^{Ab} \equiv [\mathbf{x}_1^{Ab} \dots \mathbf{x}_J^{Ab}]$. Zadanie estymacji wektora stężeń składników analizowanej mieszaniny na podstawie surowych danych pomiarowych $\tilde{\mathbf{y}}^{Tr}$, reprezentujących jej widmo w dziedzinie transmitancji $x^{Tr}(\lambda)$, rozwiązane zostało metodą Bayesowską z następującymi założeniami:

- Widmo $x^{Tr}(\lambda)$ oraz obwiednia surowego wyniku pomiaru $y^{Tr}(\lambda)$ są ciągłymi funkcjami długości fali λ , których zależność opisuje równanie całkowe:

$$1 - y^{Tr}(\lambda) = g(\lambda) * [1 - x^{Tr}(\lambda)] = \int_{-\infty}^{+\infty} g(\lambda - \lambda') [1 - x^{Tr}(\lambda')] d\lambda' \quad (25)$$

które po dyskretyzacji przybiera postać:

$$1 - \underline{\mathbf{y}}^{Tr} = \mathbf{G}(1 - \underline{\mathbf{x}}^{Tr}) \quad (26)$$

- Zaburzenia surowych danych pomiarowych $\tilde{\mathbf{y}}^{Tr}$ modelowane są za pomocą wektora $\boldsymbol{\eta} = [\eta_1, \dots, \eta_N]^T$, którego składowe η_n są realizacjami identycznych niezależnych zmiennych losowych $\underline{\eta}_n$ o zerowej wartości oczekiwanej i skończonej wariancji.

- Dostępna jest informacja *a priori* w postaci wariancji rozkładu zmiennych losowych $\underline{\eta}_n$ oraz wartości oczekiwanej i macierzy kowariancji wektora $\underline{\mathbf{c}} = [\underline{c}_1, \dots, \underline{c}_J]^T$.

- Dostępne są widma wzorcowe składników mieszaniny, tzn. macierz $\mathbf{X}^{Ab}$.

- Adekwatnym modelem zależności pomiędzy stężeniami a odpowiadającym im widmem są równania:

$$\underline{\mathbf{x}}^{Ab} = \mathbf{X}^{Ab} \underline{\mathbf{c}} + \underline{\boldsymbol{\varepsilon}} \quad (27)$$

$$\underline{\mathbf{x}}^{Tr} = \text{CAT}[\underline{\mathbf{x}}^{Ab}] = \text{CAT}[\mathbf{X}^{Ab} \underline{\mathbf{c}} + \underline{\boldsymbol{\varepsilon}}] \quad (28)$$

w którym $\underline{\boldsymbol{\varepsilon}} = [\underline{\varepsilon}_1 \dots \underline{\varepsilon}_N]^T$ jest wektorem losowym modelującym tzw. widmo szcztakowe, odpowiadające niezidentyfikowanym lub zignorowanym składnikom analizowanej substancji, a symbol CAT oznacza operator przekształcenia absorbancji w transmitancję

$$[\underline{x}^{Tr}, \dots, \underline{x}_N^{Tr}]^T = \underline{\mathbf{x}}^{Tr} = \text{CAT}[\underline{\mathbf{x}}^{Ab}] = [10^{-\underline{x}_1^{Ab}}, \dots, 10^{-\underline{x}_N^{Ab}}]^T \quad (29)$$

W danych założeniach model danych pomiarowych przybiera postać

$$\underline{\tilde{\mathbf{y}}}^{Tr} = 1 - \mathbf{G}(1 - \underline{\mathbf{x}}^{Tr}) + \underline{\boldsymbol{\eta}} \quad (30)$$

która po wstawieniu równania (28) uzyskuje formę dogodną do wyprowadzenia estymatora

$$\underline{\tilde{\mathbf{y}}}^{Tr} = 1 - \mathbf{G}(1 - \text{CAT}[\mathbf{X}^{Ab} \underline{\mathbf{c}} + \underline{\boldsymbol{\varepsilon}}]) + \underline{\boldsymbol{\eta}} \quad (31)$$

5.2. ESTYMATOR

Zaproponowana w rozprawie [54] metoda estymacji wektora stężeń $\underline{\mathbf{c}}$ na podstawie realizacji $\tilde{\mathbf{y}}^{Tr}$ wektora losowego $\underline{\tilde{\mathbf{y}}}^{Tr}$ opiera się na odpowiednim wykorzystaniu wzoru (18), który po uwzględnieniu zbioru dopuszczalnych rozwiązań $\mathbf{C}$ przybiera postać

$$\hat{\mathbf{c}} = \arg_{\mathbf{c}} \sup \{ f_{\underline{\tilde{\mathbf{y}}}^{Tr} | \mathbf{c}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \mathbf{c}) f_{\mathbf{c}}(\mathbf{c}) | \mathbf{c} \in \mathbf{C} \} \quad (32)$$

przy czym zbiór $\mathbf{C}$ zdefiniowany jest wzorem:

$$\mathbf{C} = \{ \mathbf{c} | c_1, \dots, c_J \geq 0; c_1 + \dots + c_J \leq 1 \}$$

ponieważ stężenia są zawsze dodatnie, a ich suma z definicji nigdy nie przekracza 100%.

W celu uwzględnienia wpływu niezerowych stężeń składników, niepodlegających oznaczaniu, skorzystano z następującej zależności wynikającej z definicji prawdopodobieństwa warunkowego:

$$f_{\underline{\tilde{\mathbf{y}}}^{Tr}, \underline{\boldsymbol{\varepsilon}}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr}, \underline{\boldsymbol{\varepsilon}}) = f_{\underline{\tilde{\mathbf{y}}}^{Tr} | \underline{\boldsymbol{\varepsilon}}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \underline{\boldsymbol{\varepsilon}}) f_{\underline{\boldsymbol{\varepsilon}}}(\underline{\boldsymbol{\varepsilon}}) \quad (33)$$

Ponieważ zależność ta jest prawdziwa dla każdej realizacji $\mathbf{c}$ zmiennej losowej $\underline{\mathbf{c}}$

$$f_{\underline{\tilde{\mathbf{y}}}^{Tr}, \underline{\boldsymbol{\varepsilon}} | \mathbf{c}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr}, \underline{\boldsymbol{\varepsilon}} | \mathbf{c}) = f_{\underline{\tilde{\mathbf{y}}}^{Tr} | \underline{\boldsymbol{\varepsilon}}, \mathbf{c}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \underline{\boldsymbol{\varepsilon}}, \mathbf{c}) f_{\underline{\boldsymbol{\varepsilon}} | \mathbf{c}}(\underline{\boldsymbol{\varepsilon}} | \mathbf{c}) \quad (34)$$

a zmienna losowa $\underline{\boldsymbol{\varepsilon}}$ nie zależy od $\mathbf{c}$, zachodzi równość

$$f_{\underline{\tilde{\mathbf{y}}}^{Tr}, \underline{\boldsymbol{\varepsilon}} | \mathbf{c}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr}, \underline{\boldsymbol{\varepsilon}} | \mathbf{c}) = f_{\underline{\tilde{\mathbf{y}}}^{Tr} | \underline{\boldsymbol{\varepsilon}}, \mathbf{c}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \underline{\boldsymbol{\varepsilon}}, \mathbf{c}) f_{\underline{\boldsymbol{\varepsilon}}}(\underline{\boldsymbol{\varepsilon}}) \quad (35)$$

w której $f_{\underline{\tilde{\mathbf{y}}}^{Tr}, \underline{\boldsymbol{\varepsilon}} | \mathbf{c}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr}, \underline{\boldsymbol{\varepsilon}} | \mathbf{c})$ jest funkcją łącznej gęstości prawdopodobieństwa zmiennych losowych $\underline{\tilde{\mathbf{y}}}^{Tr}$ i $\underline{\boldsymbol{\varepsilon}}$ pod warunkiem, że $\underline{\mathbf{c}} = \mathbf{c}$; $f_{\underline{\tilde{\mathbf{y}}}^{Tr}, \underline{\boldsymbol{\varepsilon}} | \mathbf{c}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr}, \underline{\boldsymbol{\varepsilon}} | \mathbf{c})$ jest funkcją gęsto-

ści prawdopodobieństwa zmiennej losowej $\tilde{\mathbf{y}}^{Tr}$ pod warunkiem, że $\underline{\mathbf{x}} = \mathbf{\varepsilon}$ oraz $\underline{\mathbf{c}} = \mathbf{c}$; $f_{\underline{\mathbf{x}}}(\mathbf{\varepsilon})$ jest funkcją gęstości prawdopodobieństwa *a priori* zmiennej losowej $\underline{\mathbf{x}}$.

Jak wynika ze wzoru (31), zmienna losowa $\tilde{\mathbf{y}}^{Tr}$ jest liniową funkcją zmiennej losowej $\underline{\boldsymbol{\eta}}$, przy czym

$$\det \left[\frac{\partial \tilde{\mathbf{y}}^{Tr}}{\partial \underline{\boldsymbol{\eta}}^T} \right] = 1 \quad (36)$$

a zatem

$$f_{\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \underline{\mathbf{x}}, \mathbf{c}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \mathbf{\varepsilon}, \mathbf{c}) = f_{\underline{\boldsymbol{\eta}}}(\underline{\boldsymbol{\eta}}) \big|_{\underline{\boldsymbol{\eta}} = \tilde{\mathbf{y}}^{Tr} - \mathbf{1} + \mathbf{G}(1 - \text{CAT}[\mathbf{X}^{Ab} \mathbf{c} + \mathbf{\varepsilon}])} \quad (37)$$

Po uwzględnieniu tego faktu równość (35) przyjmuje postać:

$$f_{\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \underline{\mathbf{x}} | \mathbf{c}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr}, \mathbf{\varepsilon} | \mathbf{c}) = f_{\underline{\boldsymbol{\eta}}} \{ \tilde{\mathbf{y}}^{Tr} - \mathbf{1} + \mathbf{G}(1 - \text{CAT}[\mathbf{X}^{Ab} \mathbf{c} + \mathbf{\varepsilon}]) \} f_{\underline{\mathbf{x}}}(\mathbf{\varepsilon}) \quad (38)$$

Funkcja $f_{\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \mathbf{c}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \mathbf{c})$, która występuje we wzorze (32), może być wyznaczona przez obustronne całkowanie równania (38) po zbiorze wszystkich wartości wektora $\mathbf{\varepsilon}$

$$\begin{aligned} f_{\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \mathbf{c}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \mathbf{c}) &= \int_{\mathbf{E}} f_{\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \underline{\mathbf{x}} | \mathbf{c}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr}, \mathbf{\varepsilon} | \mathbf{c}) d\mathbf{\varepsilon} \\ &= \int_{\mathbf{E}} f_{\underline{\boldsymbol{\eta}}} \{ \tilde{\mathbf{y}}^{Tr} - \mathbf{1} + \mathbf{G}(1 - \text{CAT}[\mathbf{X}^{Ab} \mathbf{c} + \mathbf{\varepsilon}]) \} f_{\underline{\mathbf{x}}}(\mathbf{\varepsilon}) d\mathbf{\varepsilon} \end{aligned} \quad (39)$$

gdzie $\mathbf{E}$ jest zbiorem dopuszczalnych realizacji zmiennej losowej $\underline{\mathbf{x}}$. Jak łatwo zauważyć, prawa strona tego równania wyraża wartość oczekiwaną następującej funkcji zmiennej losowej $\underline{\mathbf{x}}$:

$$f(\underline{\mathbf{x}}) \equiv f_{\underline{\boldsymbol{\eta}}} \{ \tilde{\mathbf{y}}^{Tr} - \mathbf{1} + \mathbf{G}(1 - \text{CAT}[\mathbf{X}^{Ab} \mathbf{c} + \underline{\mathbf{x}}]) \} \quad (40)$$

co oznacza, że

$$f_{\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \mathbf{c}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \mathbf{c}) = E[f(\underline{\mathbf{x}})] = E[f_{\underline{\boldsymbol{\eta}}} \{ \tilde{\mathbf{y}}^{Tr} - \mathbf{1} + \mathbf{G}(1 - \text{CAT}[\mathbf{X}^{Ab} \mathbf{c} + \underline{\mathbf{x}}]) \}] \quad (41)$$

Zakładając, że realizacje zmiennej losowej $\underline{\mathbf{x}}$ mają odpowiednio małe wartości, możliwa jest linearyzacja tego wyrażenia, co prowadzi do następującego uproszczenia:

$$f_{\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \mathbf{c}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} | \mathbf{c}) = E[f(\underline{\mathbf{x}})] = f_{\underline{\boldsymbol{\eta}}} \{ \tilde{\mathbf{y}}^{Tr} - \mathbf{1} + \mathbf{G}(1 - \text{CAT}[\mathbf{X}^{Ab} \mathbf{c} + E[\underline{\mathbf{x}}]]) \} \quad (42)$$

Estymator wektora stężeń przybiera w konsekwencji postać

$$\hat{\mathbf{c}} = \arg_{\mathbf{c}} \sup \{ f_{\underline{\eta}}(\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} - 1 + \mathbf{G}(1 - \text{CAT}[\mathbf{X}^{Ab}\mathbf{c} + \mathbf{E}[\underline{\xi}]]) f_{\underline{\xi}}(\mathbf{c}) \mid \mathbf{c} \in \mathbf{C} \} \quad (43)$$

5.3. OGÓLNA METODYKA BADAŃ

Badania metrologicznej przydatności zaproponowanej Bayesowskiej metody estymacji stężeń (oznaczanej dalej akronimem MB) przeprowadzono z użyciem danych półsyntetycznych i rzeczywistych, reprezentujących widma absorpcyjne mieszanin substancji organicznych i nieorganicznych. Syntezę uzyskanych wyników przedstawiono w trzech kolejnych rozdziałach. I tak rozdział 6 dotyczy mieszanin fenoli, rozdział 7 – mieszanin olejów jadalnych, rozdział 8 zaś – mieszanin substancji nieorganicznych. We wszystkich przypadkach wyniki estymacji, uzyskane z użyciem MB, porównano z odpowiednimi wynikami estymacji, uzyskanymi za pomocą metody najmniejszych kwadratów z ograniczeniami (oznaczanej dalej akronimem MNKO), zdefiniowanej wzorem

$$\hat{\mathbf{c}} = \arg_{\mathbf{c}} \sup \{ \|\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} - 1 + \mathbf{G}(1 - \text{CAT}[\mathbf{X}^{Ab}\mathbf{c}])\|_2 \mid \mathbf{c} \in \mathbf{C} \} \quad (44)$$

Wyniki estymacji stężeń, uzyskane z użyciem danych półsyntetycznych, poddano obróbce statystycznej. Każdy eksperyment numeryczny został powtórzony $R = 100$ razy dla różnych realizacji wektora $\underline{\eta}$, reprezentującego zaburzenia danych pomiarowych, oraz dla różnych realizacji widma szczątkowego $\underline{\xi}$. Wyniki estymacji $\{\hat{\mathbf{c}}(r) \mid r = 1, \dots, R\}$ zostały użyte do wyznaczenia estymaty względnego obciążenia

$$\hat{b}_j = \frac{1}{R} \sum_{r=1}^R \hat{\delta}_{\mathbf{c}_j}(r) \quad \text{dla } j = 1, \dots, 5 \quad (45)$$

oraz estymaty względnego odchylenia standardowego

$$\hat{s}_j = \sqrt{\frac{1}{R-1} \sum_{r=1}^R [\delta_{\mathbf{c}_j}(r) - \hat{b}_j]^2} \quad \text{dla } j = 1, \dots, 5 \quad (46)$$

gdzie $\delta_{\mathbf{c}_j}(r) \equiv [\hat{\mathbf{c}}_j(r) - \dot{\mathbf{c}}_j] / \dot{\mathbf{c}}_j$.

Rzeczywiste dane pomiarowe zebrano z użyciem spektrofotometru *SpectraMatch GT* firmy *CVI Laser Spectral Products*. Jako dane odniesienia użyto wyniki uzyskane za pomocą bardzo dokładnego spektrofotometru *U-3300* firmy *Hitachi*. Jako kryterium dokładności estymacji stężeń na podstawie danych rzeczywistych przyjęto znormalizowany błąd średniokwadratowy

$$\partial_2 = \sqrt{\sum_{j=1}^6 (\hat{\mathbf{c}}_j - \dot{\mathbf{c}}_j)^2} / \sqrt{\sum_{j=1}^6 \dot{\mathbf{c}}_j^2} \quad (47)$$

6. PRZYKŁAD ZASTOSOWAŃ – ANALIZA MIESZANIN FENOLI

Przedstawioną w poprzednim rozdziale metodę estymacji stężeń (MB) zastosowano do analizy mieszanin następujących substancji chemicznych: 2-chlorofenolu, 2,4-dichlorofenolu, 2,4,6-trichlorofenolu, 4-nitrofenolu, 4-chlorofenolu oraz m-krezolu. Badania przeprowadzono z użyciem danych półsyntetycznych, reprezentujących widmo absorpcyjne w zakresie długości fali 260–450 nm [54, rozdz. 6 i 7]. Przyjęto założenie, że zmienne losowe $\underline{c}$ i $\underline{\eta}$ mają rozkład normalny, tzn.:

• Funkcja gęstości prawdopodobieństwa *a priori* zmiennej losowej $\underline{c}$ wyraża się wzorem:

$$f_{\underline{c}}(\underline{c}) = (2\pi)^{-\frac{J}{2}} \det(\Sigma_c)^{-\frac{1}{2}} \exp\left\{-\frac{(\underline{c}-\underline{\mu}_c)^T \Sigma_c^{-1} (\underline{c}-\underline{\mu}_c)}{2}\right\} \quad (48)$$

gdzie wektor $\underline{\mu}_c$ jest wartością oczekiwaną zmiennej losowej $\underline{c}$, a Σ_c jest jej macierzą kowariancji.

• Funkcja gęstości prawdopodobieństwa *a priori* zmiennej losowej $\underline{\eta}$ wyraża się wzorem:

$$f_{\underline{\eta}}(\underline{\eta}) = (2\pi\sigma_{\eta}^2)^{-\frac{N}{2}} \exp\left\{-\frac{\underline{\eta}^T \underline{\eta}}{2\sigma_{\eta}^2}\right\} \quad (49)$$

gdzie σ_{η}^2 jest wariancją elementów wektora $\underline{\eta}$.

Badania właściwości numerycznych i metrologicznych MB przeprowadzono w środowisku obliczeniowym MATLAB. Podstawą programowej implementacji tej metody była następująca definicja funkcji celu występującej we wzorze (43):

$$\text{function value} = \text{FUN}(\underline{c}) \quad (50)$$

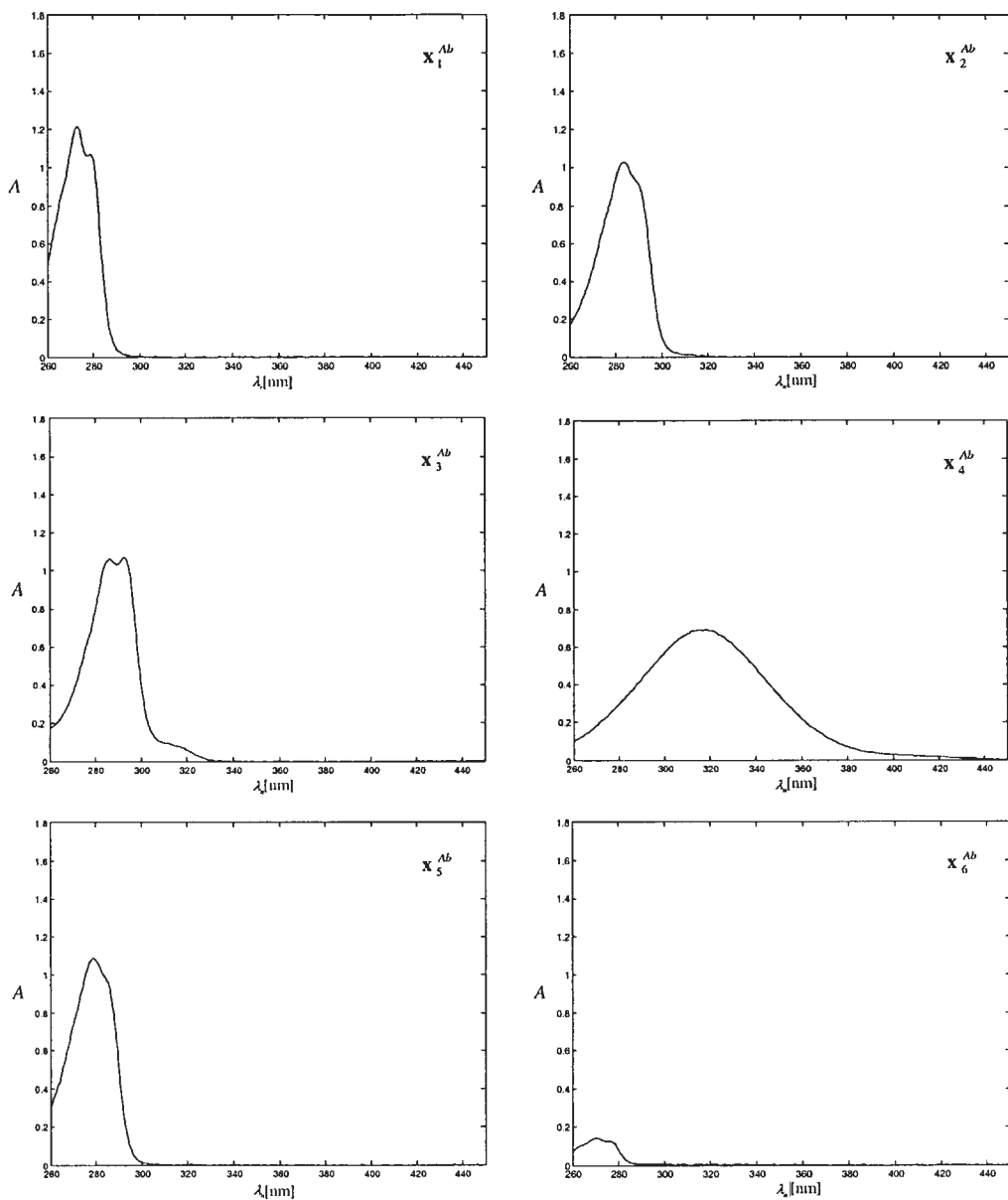
$$\text{value} = (\underline{c}-\underline{\mu}_c)^T \Sigma_c^{-1} (\underline{c}-\underline{\mu}_c) + \frac{1}{\sigma_{\eta}^2} \|\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} - \mathbf{I} + \mathbf{G}(\mathbf{I} - \text{CAT}(\mathbf{X}^{Ab} \underline{c} + \underline{\mu}_e))\|^2 \quad (51)$$

Jej minimalizację z ograniczeniami przeprowadzono z użyciem procedury FMINCON z biblioteki *Optimization Toolbox*.

6.1. METODYKA BADAŃ

6.1.1. SYNTEZA DANYCH

Wyniki pomiaru widm sześciu składników (2-chlorofenolu, 2,4-dichlorofenolu, 2,4,6-trichlorofenolu, 4-nitrofenolu, 4-chlorofenolu oraz m-krezolu) analizowanych



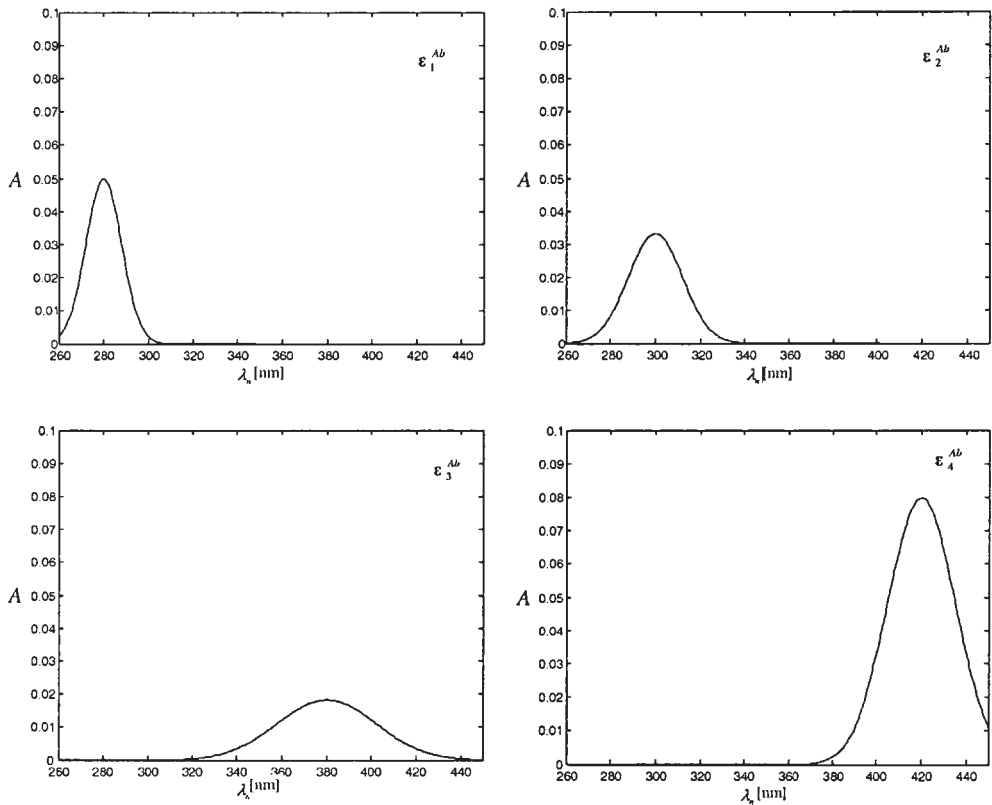
Rys. 5. Widma sześciu substancji, które posłużyły do syntezy danych
 Fig. 5. Spectra of six substances, which have been used for data synthesis

mieszanin – tj. wektory x_1^{Ab} , x_2^{Ab} , x_3^{Ab} , x_4^{Ab} , x_5^{Ab} i x_6^{Ab} uzyskane za pomocą spektrofotometru odniesienia o rozdzielczości 0,2 nm, a przedstawione na rysunku 5 – posłu-

żyły do syntezy odpowiednich danych reprezentujących widma mieszanin według następującego wzoru:

$$\mathbf{x}^{Ab} = \dot{c}_1 \mathbf{x}_1^{Ab} + \frac{1}{q} \dot{c}_2 \mathbf{x}_2^{Ab} + \dot{c}_3 \mathbf{x}_3^{Ab} + \frac{1}{q} \dot{c}_4 \mathbf{x}_4^{Ab} + \dot{c}_5 \mathbf{x}_5^{Ab} + \dot{c}_6 \mathbf{x}_6^{Ab} \quad (52)$$

gdzie q jest parametrem wpływającym na stosunek największej do najmniejszej wartości stężeń.



Rys. 6. Widma składników, które posłużyły do syntezy widna szczątkowego
Fig. 6. Component spectra which have been used for synthesis of residual spectra

Dane reprezentujące cztery inne widma – wektory ϵ_1^{Ab} , ϵ_2^{Ab} , ϵ_3^{Ab} i ϵ_4^{Ab} (rys. 6) posłużyły do syntezy tzw. widna szczątkowego, które reprezentuje niepodlegające estymacji składniki analizowanych mieszanin o śladowych stężeniach

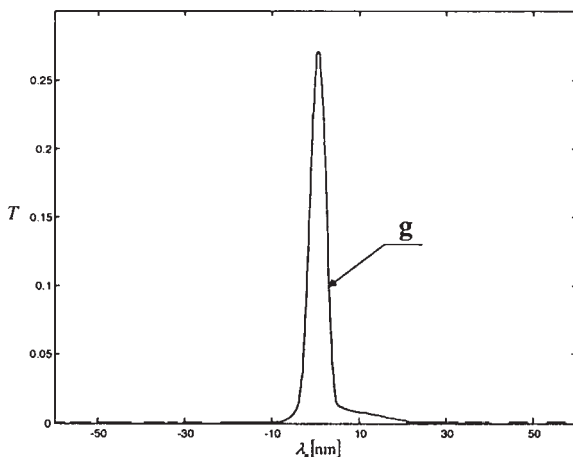
$$\underline{\varepsilon} = p(\underline{u}_1 \varepsilon_1^{Ab} + \underline{u}_2 \varepsilon_2^{Ab} + \underline{u}_3 \varepsilon_3^{Ab} + \underline{u}_4 \varepsilon_4^{Ab}) \quad (53)$$

gdzie $\underline{u}_1$, $\underline{u}_2$, $\underline{u}_3$, i $\underline{u}_4$ są niezależnymi zmiennymi losowymi o rozkładzie równomiernym w przedziale $[0, 1]$, a współczynnik p jest parametrem określającym poziom widma szczątkowego.

6.1.2. PROGRAM BADAŃ

Program badań obejmował dwie grupy eksperymentów numerycznych. Pierwsza grupa zorientowana była na zbadanie właściwości MB, gdy stosunek ekstremalnych wartości stężeń nie przekracza 20, druga – na zbadanie tej metody, gdy stężenia podlegają większym rozrzutom. W obu grupach eksperymentów wykorzystano funkcję aparaturową hipotetycznego spektrofotometru, pokazaną na rysunku 7.

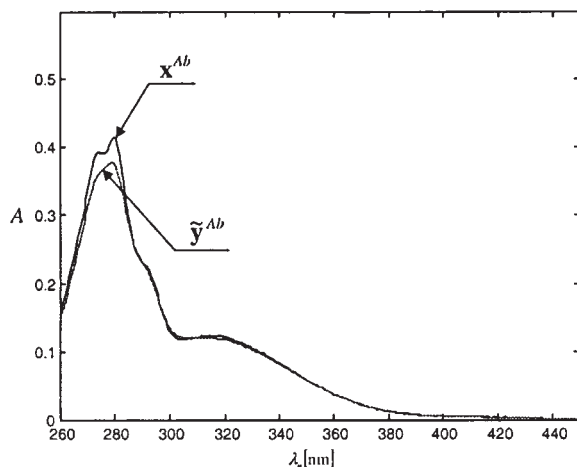
Eksperymenty należące do pierwszej grupy przeprowadzono z założeniem, że $q = 1$, oraz $\dot{c}_1 = 0,2$, $\dot{c}_2 = 0,1$, $\dot{c}_3 = 0,05$, $\dot{c}_4 = 0,17$, $\dot{c}_5 = 0,01$ i $\dot{c}_6 = 0,13$. Na rysunku 8 przedstawiono wektor $\mathbf{x}^{Ab}$ otrzymany dla tych wartości q i $\dot{c}_j$, wraz z odpowiadającym mu surowym wynikiem pomiaru $\tilde{\mathbf{y}}^{Ab}$. Wybrane wyniki eksperymentów, należących do pierwszej grupy, przedstawiono w punkcie 6.2.1.



Rys. 7. Funkcja aparaturowa hipotetycznego spektrofotometru wykorzystana do syntezy danych
Fig. 7. Apparatus function of a hypothetical spectrophotometer
which has been used for data synthesis

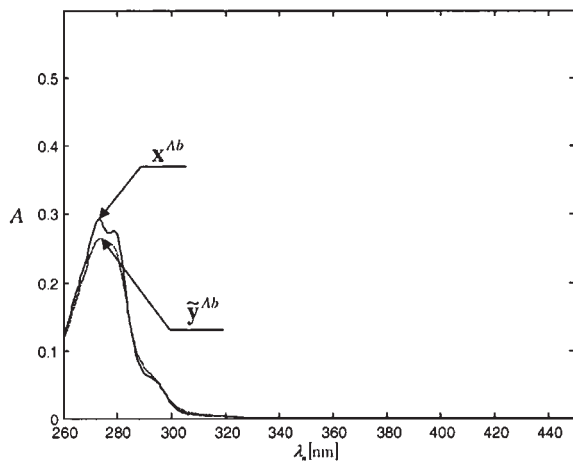
Eksperymenty należące do drugiej grupy przeprowadzono z założeniem, że $q \in \{1, 10, 10^2, 10^3, 10^4\}$ oraz $\dot{c}_1 = 0,2$, $\dot{c}_2 = 0,1$, $\dot{c}_3 = 0,05$, $\dot{c}_4 = 0,17$, $\dot{c}_5 = 0,01$ i $\dot{c}_6 = 0,13$. Na rysunku 9 przedstawiono wektor $\mathbf{x}^{Ab}$ odpowiadający $q = 10^4$ wraz z odpowiadają-

cym mu surowym wynikiem pomiaru $\tilde{y}^{Ab}$. Wybrane wyniki eksperymentów należących do drugiej grupy przedstawiono w punkcie 6.2.2.



Rys. 8. Widmo analizowanej mieszaniny oraz dane reprezentujące to widmo wykorzystane w pierwszej grupie eksperymentów

Fig. 8. Spectrum of the analysed mixture and the data representative of that spectrum, used in the first group of experiments



Rys. 9. Widmo analizowanej mieszaniny dla $q = 10^4$ oraz dane reprezentujące to widmo, wykorzystane w drugiej grupie eksperymentów

Fig. 9. Spectrum of the analysed mixture for $q = 10^4$ and the data representative of that spectrum, used in the first group of experiments

6.2. WYNIKI BADAŃ

6.2.1. WYNIKI ESTYMACJI STĘŻEŃ O PORÓWNYWALNYCH POZIOMACH

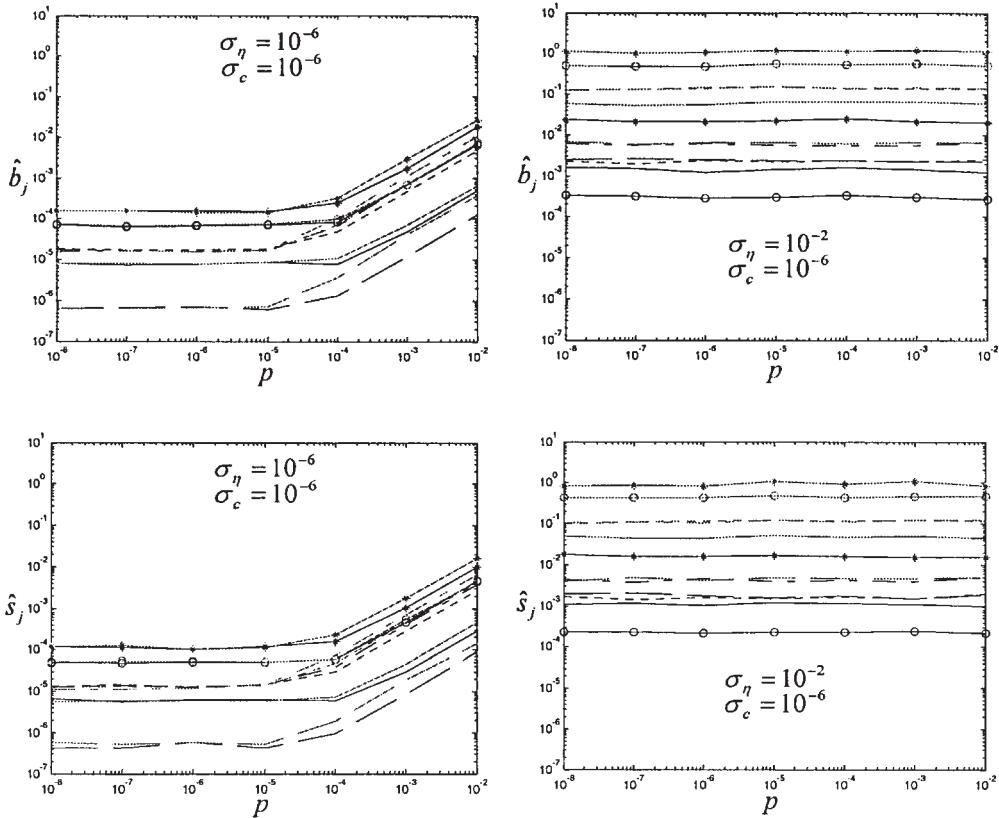
Badania MB zostały przeprowadzone dla dwóch wariantów informacji *a priori*:

$$V1: \mu_c = \dot{c}, \quad \Sigma_c = \text{diag}\{\sigma_{c,1}^2, \dots, \sigma_{c,6}^2\}, \quad \text{gdzie } \sigma_{c,j} \in \{10^{-2}, 10^{-4}, 10^{-6}\} \quad (54)$$

$$V2: \mu_c = 0,9\dot{c}, \quad \Sigma_c = \text{diag}\{\sigma_{c,1}^2, \dots, \sigma_{c,6}^2\}, \quad \text{gdzie } \sigma_{c,j} \in \{10^{-2}\dot{c}_j, 10^{-4}\dot{c}_j, 10^{-6}\dot{c}_j\} \quad (55)$$

dla $j = 1, \dots, 6$. W obu przypadkach przyjęto:

$$\mu_e = \frac{P}{2}(\varepsilon_1^{Ab} + \varepsilon_2^{Ab} + \varepsilon_3^{Ab} + \varepsilon_4^{Ab}) \quad (56)$$

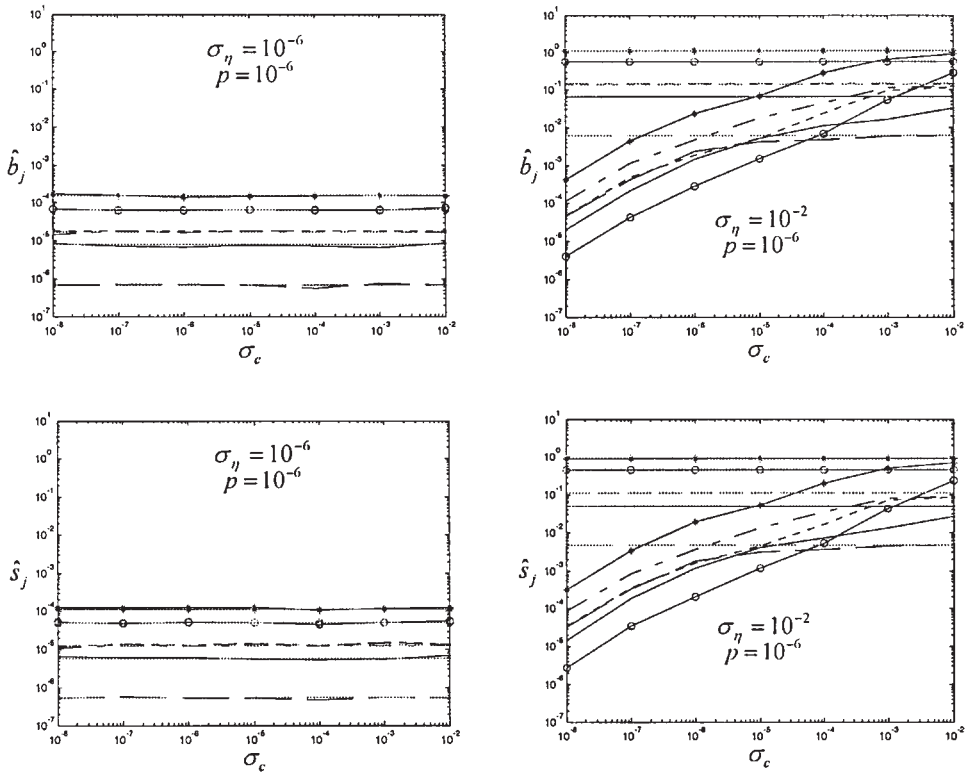


Rys. 10. Przykłady zależności estymat $\hat{b}_j$ i $\hat{s}_j$, uzyskanych za pomocą MB dla $\mu_c = \dot{c}$ (kolor czarny) oraz MNKO (kolor czerwony), od parametru p

Fig. 10. Examples of the dependence of the estimates $\hat{b}_j$ and $\hat{s}_j$, obtained by means of MB for $\mu_c = \dot{c}$ (red line) and MNKO (black line), on the parameter p

Pelne wyniki estymacji dla wszystkich badanych wartości parametrów p , σ_η i σ_c zamieszczono w rozprawie [54]. Tutaj przytoczone zostaną tylko niektóre z nich, najlepiej ilustrujące wnioski z badań.

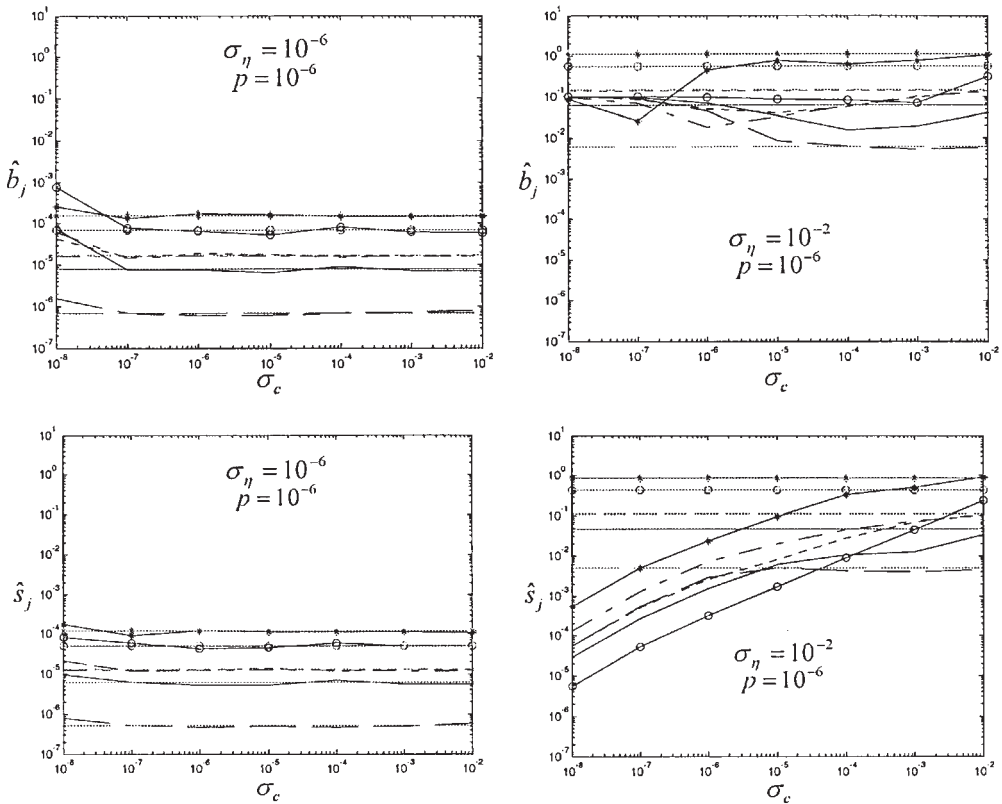
Na rysunkach 10–12 przedstawiono zależność uzyskanych estymat $\hat{b}_j$ i $\hat{s}_j$ od odchylenia standardowego zaburzeń danych σ_η , odchylenia standardowego rozkładu *a priori* σ_c i parametru p . W celu rozróżnienia wyników odpowiadających poszczególnym składnikom zastosowano następujące rodzaje linii: c_1 ———, c_2 , c_3 -·-·-·, c_4 - - - - , c_5 *-*-* oraz c_6 ○-○-○. Ze względu na niezależność MNKO od odchylenia standardowego σ_c na wykresach przedstawiających zależności wyników estymacji, uzyskanych za pomocą tej metody od σ_c , przedstawiono wartości uśrednione (po realizacji każdego eksperymentu numerycznego).



Rys. 11. Przykłady zależności estymat $\hat{b}_j$ i $\hat{s}_j$, uzyskanych za pomocą MB dla $\mu_c = \hat{c}$ (kolor czarny) oraz MNKO (kolor czerwony), od parametru σ_c

Fig. 11. Examples of the dependence of the estimates $\hat{b}_j$ and $\hat{s}_j$, obtained by means of MB for $\mu_c = \hat{c}$ (red line) and MNKO (black line), on the parameter σ_c

Analiza kompletnych wyników estymacji, zawartych w rozprawie [54], wskazuje na przewagę MB nad MNKO w warunkach dużego poziomu zaburzeń danych pomiarowych. Wraz ze wzrostem dokładności informacji apriorycznej, tzn. dla mniejszych wartości σ_ϵ , coraz większą rolę odgrywa poprawność przyjętej informacji *a priori*.



Rys. 12. Przykłady zależności estymat $\hat{b}_j$ i $\hat{s}_j$, uzyskanych za pomocą MB dla $\mu_\epsilon = 0,9\epsilon$ (kolor czarny) oraz MNKO, (kolor czerwony), od parametru σ_ϵ .

Fig. 12. Examples of the dependence of the estimates $\hat{b}_j$ and $\hat{s}_j$, obtained by means of MB for $\mu_\epsilon = 0.9\epsilon$ (red line) and MNKO (black line), on the parameter σ_ϵ .

W przypadku wariantu V1, w którym przyjęta wartość oczekiwana odtwarzanego wektora stężeń jest równa dokładnej wartości stężeń użytych do syntezy danych, wraz ze spadkiem wartości σ_ϵ uwiadcza się przewaga MB nad MNKO, co jest szczególnie widoczne w przypadku wysokiego poziomu zaburzeń danych pomiarowych. Jest to spowodowane faktem, iż w tym przypadku dominującą rolę w wyrażeniu (43) zaczyna odgrywać składnik reprezentujący informację *a priori* o odtwarza-

nych stężeniach. W konsekwencji dokładność wyników estymacji uzyskanych za pomocą tej metody znacznie wzrasta w stosunku do MNKO, dla której uzyskane wyniki pozostają na stałym poziomie, niezależnie od parametru σ_c . Dodatkowo dla dużych wartości σ_η wyniki estymacji uzyskane za pomocą obu metod są porównywalne, przy czym dokładność estymacji jest praktycznie niezależna od poziomu widma szcztątkowego p .

Dla małych wartości σ_η wyniki uzyskane za pomocą obu metod są porównywalne i są niezależne od σ_c . W przypadku MNKO jest to oczywiste, ponieważ metoda ta nie uwzględnia żadnej informacji *a priori* dotyczącej odtwarzanych stężeń, natomiast w przypadku MB brak wpływu parametru σ_c na wyniki estymacji jest uzasadniony bardzo dokładnymi danymi pomiarowymi ($\sigma_\eta = 10^{-6}$), co powoduje, że w wyrażeniu (43) dominującą rolę podczas estymacji odgrywa składnik reprezentujący dane pomiarowe. Dodatkowo w tym przypadku do pewnego poziomu widma szcztątkowego ($p = 10^{-5}$) dokładność estymacji obu metod jest porównywalna i praktycznie niezależna od p . Powyżej tej wartości granicznej dokładność estymacji maleje, przy czym wyniki estymacji uzyskane za pomocą MB są dokładniejsze niż wyniki uzyskane za pomocą MNKO, co jest uzasadnione uwzględnieniem informacji *a priori* dotyczącej także widma szcztątkowego, w przeciwieństwie do jej braku w MNKO.

Wyniki uzyskane dla wariantu danych V2 obrazują wpływ dokładności informacji *a priori* na wyniki estymacji za pomocą MB. W przypadku gdy zbiór dopuszczalnych rozwiązań jest stosunkowo szeroki ($\sigma_c = 10-2 \cdot \hat{c}$), nawet przy niedokładnej informacji *a priori* dotyczącej odtwarzanych stężeń, w tym przypadku $\mu_c = 0,9\hat{c}$, wyniki uzyskane za pomocą obu metod są porównywalne, przy czym dla dużych wartości zaburzeń danych pomiarowych σ_η znowu można zaobserwować pewną przewagę MB. Wraz ze wzrostem dokładności informacji *a priori* w zakresie dużych wartości zaburzeń σ_η względne obciążenia wyników estymacji $\hat{b}_j$ dążą do wartości $0,1 \hat{c}$, niezależnie od poziomu widma szcztątkowego p . Jest to spowodowane tym, iż dla odpowiednio małej wartości parametru σ_c zbiór dopuszczalnych rozwiązań zostaje ograniczony do bardzo wąskiego zakresu wartości wokół niedokładnej wartości $\mu_c = 0,9\hat{c}$. W przypadku małych wartości zaburzeń danych pomiarowych σ_η , wyniki estymacji uzyskane za pomocą MB dla wariantu V2 są porównywalne z wynikami dla wariantu V1, niezależnie od poziomu widma szcztątkowego p .

6.2.2. WYNIKI ESTYMACJI MAŁYCH STĘŻEŃ W OBECNOŚCI DUŻYCH STĘŻEŃ

Analiza dokładności estymacji stężeń z użyciem zaproponowanej MB w przypadku dużego rozrzutu stężeń składników została przeprowadzona w następujących założeniach dotyczących informacji *a priori*:

$$\mu_c = 0,8\dot{c}, \quad \Sigma_c = \text{diag}\{\sigma_{c,1}^2, \dots, \sigma_{c,6}^2\}, \quad \text{gdzie } \sigma_{c,j} = 0,3\dot{c}_j \text{ dla } j = 1, \dots, 6 \quad (57)$$

$$\mu_\epsilon = \frac{p}{2}(\epsilon_1^{Ab} + \epsilon_2^{Ab} + \epsilon_3^{Ab} + \epsilon_4^{Ab}) \quad (58)$$

Tabela 1. Maksymalne wartości $\hat{b}_j$ dla $p = 10^{-8}$, uzyskane dla MB i MNKO

Table 1. Maximum values of $\hat{b}_j$ for $p = 10^{-8}$, obtained for MB and MNKO

q	Metoda	σ_n				
		10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
10^0	MB	$1,59 \cdot 10^{-4}(5)$	$1,53 \cdot 10^{-3}(5)$	$1,53 \cdot 10^{-2}(5)$	$1,38 \cdot 10^{-1}(5)$	$9,57 \cdot 10^{-1}(5)$
	MNKO	$1,40 \cdot 10^{-4}(5)$	$1,44 \cdot 10^{-3}(5)$	$1,33 \cdot 10^{-2}(5)$	$1,50 \cdot 10^{-1}(5)$	$9,85 \cdot 10^{-1}(5)$
10^1	MB	$1,03 \cdot 10^{-4}(5)$	$1,03 \cdot 10^{-3}(5)$	$1,15 \cdot 10^{-2}(5)$	$1,21 \cdot 10^{-1}(5)$	$6,04 \cdot 10^{-1}(5)$
	MNKO	$1,47 \cdot 10^{-4}(2)$	$1,26 \cdot 10^{-3}(2)$	$1,40 \cdot 10^{-2}(2)$	$1,37 \cdot 10^{-1}(2)$	$9,23 \cdot 10^{-1}(2)$
10^2	MB	$3,02 \cdot 10^{-4}(2)$	$3,10 \cdot 10^{-3}(2)$	$3,01 \cdot 10^{-2}(2)$	$2,19 \cdot 10^{-1}(2)$	$7,39 \cdot 10^{-1}(2)$
	MNKO	$1,27 \cdot 10^{-3}(2)$	$1,35 \cdot 10^{-2}(2)$	$1,19 \cdot 10^{-1}(2)$	$9,68 \cdot 10^{-1}(2)$	$5,46 \cdot 10^0(2)$
10^3	MB	$1,20 \cdot 10^{-3}(2)$	$1,16 \cdot 10^{-2}(2)$	$9,43 \cdot 10^{-2}(2)$	$6,25 \cdot 10^{-1}(2)$	$7,14 \cdot 10^{-1}(2)$
	MNKO	$1,60 \cdot 10^{-2}(2)$	$1,39 \cdot 10^{-1}(2)$	$1,04 \cdot 10^0(2)$	$5,52 \cdot 10^0(2)$	$5,03 \cdot 10^{+1}(2)$
10^4	MB	$5,44 \cdot 10^{-3}(2)$	$4,91 \cdot 10^{-2}(2)$	$3,10 \cdot 10^{-1}(2)$	$2,09 \cdot 10^0(2)$	$1,03 \cdot 10^0(4)$
	MNKO	$1,45 \cdot 10^{-1}(2)$	$1,17 \cdot 10^0(2)$	$6,57 \cdot 10^0(2)$	$7,58 \cdot 10^{+1}(2)$	$5,11 \cdot 10^{+2}(2)$

W tabelach 1–4, zestawiono maksymalne wartości $\hat{b}_j$ i $\hat{s}_j$ uzyskane zarówno dla MB, jak i dla MNKO – w nawiasach podano indeksy stężeń, których dotyczą podane wartości. Wyniki uzyskane w tym eksperymencie umożliwiły sformułowanie następujących wniosków:

Tabela 2. Maksymalne wartości $\hat{b}_j$ dla $p = 10^{-2}$, uzyskane dla MB i MNKO

Table 2. Maximum values of $\hat{b}_j$ for $p = 10^{-2}$, obtained for MB and MNKO

q	Metoda	σ_η				
		10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
10^0	MB	$1,65 \cdot 10^{-2}(5)$	$1,60 \cdot 10^{-2}(5)$	$2,17 \cdot 10^{-2}(5)$	$1,45 \cdot 10^{-1}(5)$	$9,52 \cdot 10^{-1}(5)$
	MNKO	$2,44 \cdot 10^{-2}(5)$	$2,60 \cdot 10^{-2}(5)$	$2,86 \cdot 10^{-2}(5)$	$1,71 \cdot 10^{-1}(5)$	$1,10 \cdot 10^0(5)$
10^1	MB	$4,53 \cdot 10^{-2}(2)$	$3,63 \cdot 10^{-2}(2)$	$3,92 \cdot 10^{-2}(2)$	$1,17 \cdot 10^{-1}(2)$	$8,57 \cdot 10^{-1}(2)$
	MNKO	$1,23 \cdot 10^{-1}(2)$	$1,33 \cdot 10^{-1}(2)$	$1,41 \cdot 10^{-1}(2)$	$2,73 \cdot 10^{-1}(2)$	$1,77 \cdot 10^0(2)$
10^2	MB	$1,84 \cdot 10^{-1}(2)$	$1,90 \cdot 10^{-1}(2)$	$2,01 \cdot 10^{-1}(2)$	$4,73 \cdot 10^{-1}(2)$	$1,76 \cdot 10^0(2)$
	MNKO	$5,08 \cdot 10^{-1}(2)$	$5,44 \cdot 10^{-1}(2)$	$5,86 \cdot 10^{-1}(2)$	$7,65 \cdot 10^{-1}(2)$	$3,61 \cdot 10^0(2)$
10^3	MB	$9,17 \cdot 10^{-1}(2)$	$8,08 \cdot 10^{-1}(2)$	$1,16 \cdot 10^0(2)$	$2,13 \cdot 10^0(2)$	$2,42 \cdot 10^0(2)$
	MNKO	$3,47 \cdot 10^0(2)$	$3,53 \cdot 10^0(2)$	$3,53 \cdot 10^0(2)$	$1,72 \cdot 10^{+1}(2)$	$1,64 \cdot 10^{+2}(2)$
10^4	MB	$1,98 \cdot 10^0(2)$	$2,10 \cdot 10^0(2)$	$2,13 \cdot 10^0(2)$	$3,88 \cdot 10^0(2)$	$2,06 \cdot 10^0(4)$
	MNKO	$3,31 \cdot 10^{+1}(2)$	$2,15 \cdot 10^{+1}(4)$	$2,28 \cdot 10^{+1}(2)$	$4,82 \cdot 10^{+2}(2)$	$6,28 \cdot 10^{+3}(2)$

Tabela 3. Maksymalne wartości $\hat{s}_j$ dla $p = 10^{-8}$, uzyskane dla MB i MNKOTable 3. Maximum values of $\hat{s}_j$ for $p = 10^{-8}$, obtained for MB and MNKO

q	Metoda	σ_η				
		10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
10^0	MB	$1,13 \cdot 10^{-4}(5)$	$1,08 \cdot 10^{-3}(5)$	$1,16 \cdot 10^{-2}(5)$	$9,95 \cdot 10^{-2}(5)$	$8,05 \cdot 10^{-1}(5)$
	MNKO	$1,16 \cdot 10^{-4}(5)$	$1,13 \cdot 10^{-3}(5)$	$1,01 \cdot 10^{-2}(5)$	$1,01 \cdot 10^{-1}(5)$	$6,81 \cdot 10^{-1}(5)$
10^1	MB	$7,81 \cdot 10^{-5}(5)$	$6,98 \cdot 10^{-4}(5)$	$8,43 \cdot 10^{-3}(5)$	$7,63 \cdot 10^{-2}(5)$	$4,21 \cdot 10^{-1}(5)$
	MNKO	$1,03 \cdot 10^{-4}(2)$	$9,26 \cdot 10^{-4}(2)$	$1,01 \cdot 10^{-2}(2)$	$1,05 \cdot 10^{-1}(2)$	$6,17 \cdot 10^{-1}(2)$
10^2	MB	$1,72 \cdot 10^{-4}(2)$	$2,01 \cdot 10^{-3}(2)$	$2,08 \cdot 10^{-2}(2)$	$1,44 \cdot 10^{-1}(2)$	$7,60 \cdot 10^{-1}(2)$
	MNKO	$9,03 \cdot 10^{-4}(2)$	$1,02 \cdot 10^{-2}(2)$	$8,75 \cdot 10^{-2}(2)$	$7,24 \cdot 10^{-1}(2)$	$6,50 \cdot 10^0(2)$
10^3	MB	$9,48 \cdot 10^{-4}(2)$	$8,04 \cdot 10^{-3}(2)$	$6,72 \cdot 10^{-2}(2)$	$7,90 \cdot 10^{-1}(2)$	$9,19 \cdot 10^{-1}(2)$
	MNKO	$1,26 \cdot 10^{-2}(2)$	$1,12 \cdot 10^{-1}(2)$	$8,90 \cdot 10^{-1}(2)$	$7,39 \cdot 10^0(2)$	$6,60 \cdot 10^1(2)$
10^4	MB	$1,13 \cdot 10^{-4}(5)$	$1,08 \cdot 10^{-3}(5)$	$1,16 \cdot 10^{-2}(5)$	$9,95 \cdot 10^{-2}(5)$	$8,05 \cdot 10^{-1}(5)$
	MNKO	$1,16 \cdot 10^{-4}(5)$	$1,13 \cdot 10^{-3}(5)$	$1,01 \cdot 10^{-2}(5)$	$1,01 \cdot 10^{-1}(5)$	$6,81 \cdot 10^{-1}(5)$

Tabela 4. Maksymalne wartości $\hat{s}_j$ dla $p = 10^{-2}$, uzyskane dla MB i MNKOTable 4. Maximum values of $\hat{s}_j$ for $p = 10^{-2}$, obtained for MB and MNKO

q	Metoda	σ_η				
		10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
10^0	MB	$1,05 \cdot 10^{-2}(5)$	$9,08 \cdot 10^{-3}(5)$	$1,57 \cdot 10^{-2}(5)$	$1,12 \cdot 10^{-1}(5)$	$6,61 \cdot 10^{-1}(5)$
	MNKO	$1,69 \cdot 10^{-2}(5)$	$1,68 \cdot 10^{-2}(5)$	$2,15 \cdot 10^{-2}(5)$	$1,20 \cdot 10^{-1}(5)$	$8,17 \cdot 10^{-1}(5)$
10^1	MB	$1,63 \cdot 10^{-2}(2)$	$1,49 \cdot 10^{-2}(2)$	$1,80 \cdot 10^{-2}(2)$	$7,35 \cdot 10^{-2}(5)$	$4,37 \cdot 10^{-1}(5)$
	MNKO	$4,44 \cdot 10^{-2}(2)$	$4,46 \cdot 10^{-2}(2)$	$4,67 \cdot 10^{-2}(2)$	$1,10 \cdot 10^{-1}(2)$	$5,87 \cdot 10^{-1}(2)$
10^2	MB	$7,80 \cdot 10^{-2}(2)$	$8,31 \cdot 10^{-2}(2)$	$8,70 \cdot 10^{-2}(2)$	$2,34 \cdot 10^{-1}(2)$	$1,25 \cdot 10^0(2)$
	MNKO	$7,77 \cdot 10^{-1}(2)$	$7,06 \cdot 10^{-1}(2)$	$6,30 \cdot 10^{-1}(2)$	$1,20 \cdot 10^0(2)$	$1,11 \cdot 10^1(2)$
10^3	MB	$5,11 \cdot 10^{-1}(2)$	$4,96 \cdot 10^{-1}(2)$	$5,89 \cdot 10^{-1}(2)$	$1,78 \cdot 10^0(2)$	$2,22 \cdot 10^0(2)$
	MNKO	$4,80 \cdot 10^0(2)$	$3,40 \cdot 10^0(2)$	$4,66 \cdot 10^0(2)$	$8,02 \cdot 10^1(2)$	$6,92 \cdot 10^2(2)$
10^4	MB	$2,60 \cdot 10^0(2)$	$2,69 \cdot 10^0(2)$	$2,79 \cdot 10^0(2)$	$5,10 \cdot 10^0(2)$	$2,92 \cdot 10^0(4)$
	MNKO	$3,10 \cdot 10^1(2)$	$2,01 \cdot 10^1(2)$	$2,79 \cdot 10^1(2)$	$3,53 \cdot 10^2(2)$	$3,53 \cdot 10^3(2)$

• Niepewność estymat uzyskanych za pomocą MB jest mniejsza niż dla MNKO, gdy $q \geq 10$, przy czym wyższość MB jest bardziej zauważalna dla mniejszych wartości parametrów q i p .

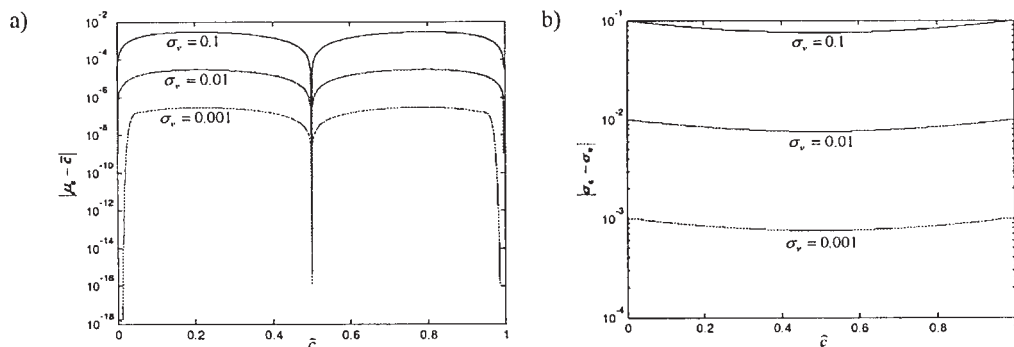
• Gdy $q = 1$, uzyskane dokładności estymacji dla obu metod są porównywalne.

7. PRZYKŁAD ZASTOSOWAŃ – ANALIZA MIESZANIN OLEJÓW JADALNYCH

7.1. METODYKA BADAŃ

W artykule [49] przedstawione zostały wyniki badania MB użytej do estymacji stężeń składników mieszanin oleju kukurydzianego, oleju orzechowego i oliwy na podstawie danych półsyntetycznych. Opierają się one na identycznych z przyjętymi w rozdziale 6 założeniach dotyczącymi rozkładu wektora $\underline{\eta}$ oraz odmiennymi założeniami dotyczącymi rozkładu wektora $\underline{\epsilon}$, przyjęto bowiem, że

$$f_{\underline{\epsilon}}(\mathbf{c}) = C \exp\left(-\frac{[\mathbf{v}(\mathbf{c})]^T \mathbf{v}(\mathbf{c})}{2\sigma_v^2}\right) \quad (59)$$



Rys. 13. Różnica między $\hat{c}_j$ a wartością oczekiwaną zmiennej losowej $\underline{\epsilon}_j$ (a)

oraz między σ_v a wartością odchylenia standardowego tej zmiennej (b)

Fig. 13. Difference between $\hat{c}_j$ and the expected value of the random variable $\underline{\epsilon}_j$ (a),

and between σ_v and the standard deviation of that random variable (b)

We wzorze tym C jest współczynnikiem normalizującym, a $\mathbf{v}(\mathbf{c})$ jest $(J - 1)$ -wymiarowym wektorem, którego elementy zdefiniowane są następującą transformacją odwzorowującą przedział $[0, 1]$ w przedział $(-\infty, +\infty)$:

$$v_j(\mathbf{c}) \equiv \frac{c_j - \hat{c}_j}{c_j(1 - c_j)} \quad \text{dla } j = 1, \dots, J - 1 \quad (60)$$

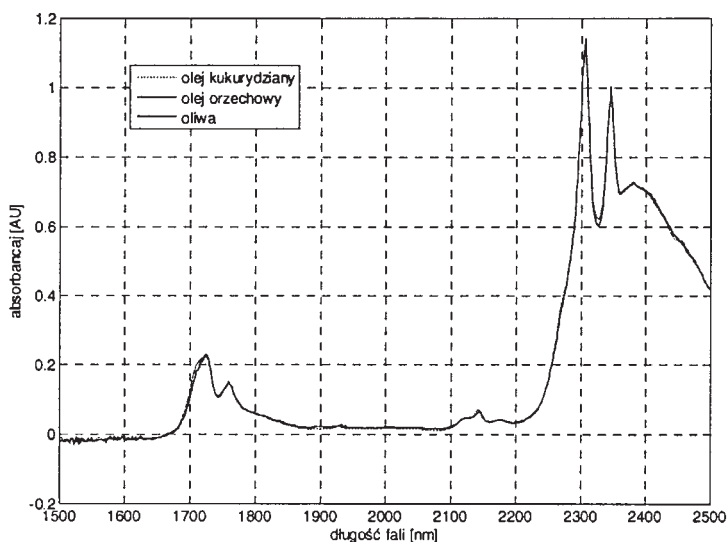
gdzie $\hat{c}_j$ jest wartością c_j , dla której funkcja gęstości odpowiedniego rozkładu brzegowego osiąga maksimum. Warto zauważyć, że wartość $\hat{c}_j$ jest bliska wartości oczek-

kiwanej zmiennej losowej $\underline{c}_j$, a wartość σ_v – wartości odchylenia standardowego zmiennej losowej $\underline{c}_j$; różnice pokazano na rysunku 13.

Do implementacji MB użyto w tym przypadku pakietów oprogramowania MATLAB ver. 7.5, oraz programu globalnej optymalizacji TOMLAB ver. 6.0 (solver *glbSolve*)¹, a funkcję celu, której minimalizacja prowadzi do uzyskania estymat stężeń według wzoru (43), zdefiniowano w sposób następujący:

$$\text{function value} = \text{FUN}(\mathbf{c}) \quad (61)$$

$$\text{value} = \frac{[\mathbf{v}(\mathbf{c})]^T \mathbf{v}(\mathbf{c})}{2\sigma_v^2} + \frac{1}{\sigma_\eta^2} \|\tilde{\mathbf{y}}^{Tr} - \text{GCAT}(\mathbf{X}^{Ab} \mathbf{c} + \mathbf{x}_j^{Ab} + \boldsymbol{\mu}_e)\|^2 \quad (62)$$



Rys. 14. Dane zebrane za pomocą spektrofotometru typu FTIR o rozdzielczości 1 cm^{-1}
Fig. 14. Spectrophotometric data acquired by means of a FTIR spectrophotometer of resolution 1 cm^{-1}

Do syntezy danych spektrofotometrycznych, użytych w badaniach, wykorzystano dane reprezentujące widma oleju kukurydzianego ($\tilde{\mathbf{x}}_1^{Ab}$), oleju orzechowego ($\tilde{\mathbf{x}}_2^{Ab}$) i oliwy ($\tilde{\mathbf{x}}_3^{Ab}$), zebrane za pomocą precyzyjnego spektrofotometru o wysokiej rozdzielczości. Dane te pokazano na rysunku 14; podobieństwo widm składników sprawia, że problem ich ilościowego oznaczania jest wyjątkowo trudny. Dane pomiarowe poddano wstępnej obróbce (polegającej na filtracji szumu i usunięciu linii bazy), a następnie użyto do generacji „dokładnych” danych spektrofotometrycznych według wzoru:

¹ Por. <http://tomopt.com/tomlab/>.

$$\dot{\mathbf{x}}^{Ab} = \dot{c}_1 \dot{\mathbf{x}}_1^{Ab} + \dot{c}_2 \dot{\mathbf{x}}_2^{Ab} + \dot{c}_3 \dot{\mathbf{x}}_3^{Ab} \quad (63)$$

gdzie:

$$\dot{c}_1 \in \{0,01, 0,05, 0,09\}, \quad \dot{c}_2 \in \{0,01, 0,05, 0,09\} \quad i \quad \dot{c}_3 = 1 - \dot{c}_1 - \dot{c}_2 \quad (64)$$

są stężeniami składników, podlegającymi estymacji. Przykład „dokładnych” danych półsyntetycznych $\dot{\mathbf{x}}^{Ab}$ pokazano na rysunku 15.

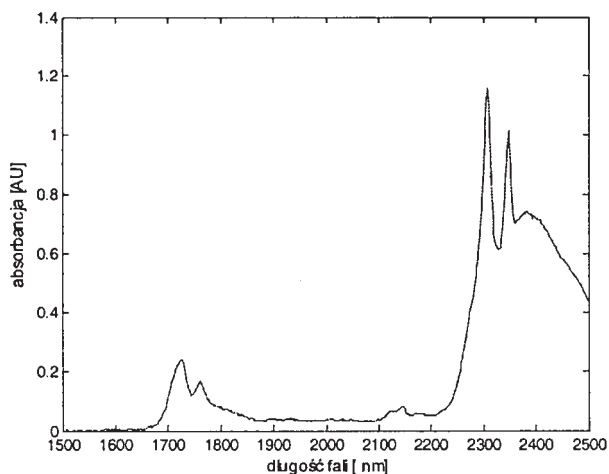
Dane reprezentujące widma szczątkowe syntetyzowano według wzoru

$$\underline{\varepsilon} = p(\underline{u}_1 \varepsilon_1^{Ab} + \underline{u}_2 \varepsilon_2^{Ab} + \underline{u}_3 \varepsilon_3^{Ab} + \underline{u}_4 \varepsilon_4^{Ab}) \quad (65)$$

gdzie p jest parametrem określającym poziom widma szczątkowego; $\underline{u}_1$, $\underline{u}_2$, $\underline{u}_3$, i $\underline{u}_4$ są identycznymi niezależnymi zmiennymi losowymi o rozkładzie równomiernym w przedziale $[0, 1]$; natomiast ε_1^{Ab} , ε_2^{Ab} , ε_3^{Ab} i ε_4^{Ab} są wektorami próbek funkcji Gaussa, których parametry podano w tabeli 5.

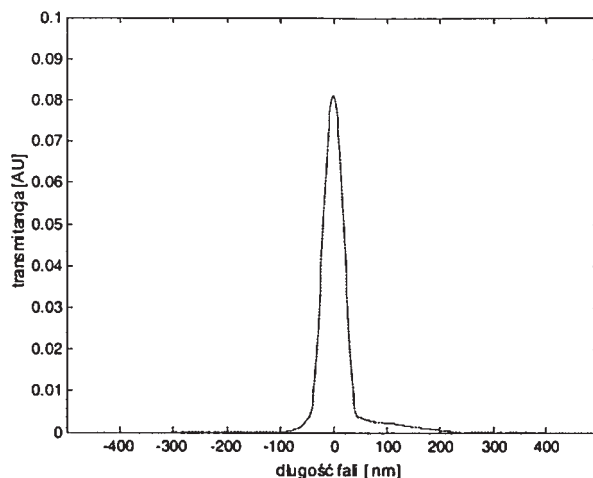
Tabela 5. Parametry funkcji Gaussa użytych do generacji widma szczątkowego
Table 5. Parameters of Gauss functions used for generation of residual spectrum

	ε_1^{Ab}	ε_2^{Ab}	ε_3^{Ab}	ε_4^{Ab}
Wartość oczekiwana	1700 nm	1900 nm	2100 nm	2400 nm
Odchylenie standardowe	8 nm	32 nm	22 nm	15 nm



Rys. 15. Przykład „dokładnych” danych $\dot{\mathbf{x}}^{Ab}$ uzyskanych dla $\dot{c}_1 = 0,01$ i $\dot{c}_2 = 0,01$

Fig. 15. Example of „exact” data $\dot{\mathbf{x}}^{Ab}$ obtained for $\dot{c}_1 = 0,01$ and $\dot{c}_2 = 0,01$



Rys. 16. Funkcja aparaturowa $g(\lambda)$ użyta do syntezy danych
Fig. 16. Apparatus function $g(\lambda)$ used for data synthesis

7.2. WYNIKI BADAŃ

Porównanie MB z MNKO oparto na wynikach badań uzyskanych dla dwóch wariantów parametrów charakteryzujących informację aprioryczną:

$$V1: \hat{c}_1 = \dot{c}_1, \hat{c}_2 = \dot{c}_2 \text{ i } \sigma_v \in \{10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2}, 10^{-1}\} \quad (66)$$

$$V2: \hat{c}_1 = 0,95\dot{c}_1, \hat{c}_2 = \dot{c}_2 \text{ i } \sigma_v \in \{10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2}, 10^{-1}\} \quad (67)$$

Tabela 6. Maksymalne wartości $\hat{b}_j$, uzyskane dla wariantu V1

Table 6. Maximum values of $\hat{b}_j$, obtained for the variant V1

		MB							MNKO
		σ_v							
$\dot{c}_1$	$\dot{c}_2$	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	
0,01	0,01	$8,07 \cdot 10^{-10}$	$9,46 \cdot 10^{-9}$	$5,76 \cdot 10^{-8}$	$3,93 \cdot 10^{-7}$	$5,81 \cdot 10^{-6}$	$5,15 \cdot 10^{-4}$	$4,18 \cdot 10^{-2}$	$2,22 \cdot 10^{-1}$
0,01	0,05	$1,31 \cdot 10^{-9}$	$1,41 \cdot 10^{-8}$	$1,01 \cdot 10^{-7}$	$6,74 \cdot 10^{-7}$	$1,42 \cdot 10^{-5}$	$1,45 \cdot 10^{-3}$	$3,98 \cdot 10^{-2}$	$1,14 \cdot 10^{-1}$
0,01	0,09	$1,31 \cdot 10^{-9}$	$1,46 \cdot 10^{-8}$	$1,01 \cdot 10^{-7}$	$6,74 \cdot 10^{-7}$	$2,39 \cdot 10^{-5}$	$2,07 \cdot 10^{-3}$	$4,10 \cdot 10^{-2}$	$1,23 \cdot 10^{-1}$
0,05	0,01	$1,31 \cdot 10^{-9}$	$1,41 \cdot 10^{-8}$	$1,01 \cdot 10^{-7}$	$6,74 \cdot 10^{-7}$	$2,58 \cdot 10^{-5}$	$2,26 \cdot 10^{-3}$	$2,37 \cdot 10^{-2}$	$2,01 \cdot 10^{-1}$
0,05	0,05	$6,69 \cdot 10^{-10}$	$2,58 \cdot 10^{-9}$	$5,42 \cdot 10^{-8}$	$2,38 \cdot 10^{-7}$	$2,82 \cdot 10^{-5}$	$2,82 \cdot 10^{-3}$	$3,00 \cdot 10^{-2}$	$3,90 \cdot 10^{-2}$
0,05	0,09	$6,69 \cdot 10^{-10}$	$4,49 \cdot 10^{-9}$	$5,42 \cdot 10^{-8}$	$3,11 \cdot 10^{-7}$	$2,61 \cdot 10^{-5}$	$2,51 \cdot 10^{-3}$	$2,34 \cdot 10^{-2}$	$2,54 \cdot 10^{-2}$
0,09	0,01	$1,31 \cdot 10^{-9}$	$1,46 \cdot 10^{-8}$	$1,01 \cdot 10^{-7}$	$6,74 \cdot 10^{-7}$	$4,72 \cdot 10^{-5}$	$3,16 \cdot 10^{-3}$	$2,54 \cdot 10^{-2}$	$2,24 \cdot 10^{-1}$
0,09	0,05	$6,69 \cdot 10^{-10}$	$4,49 \cdot 10^{-9}$	$5,42 \cdot 10^{-8}$	$4,43 \cdot 10^{-7}$	$5,21 \cdot 10^{-5}$	$3,26 \cdot 10^{-3}$	$2,97 \cdot 10^{-2}$	$4,02 \cdot 10^{-2}$
0,09	0,09	$7,75 \cdot 10^{-10}$	$1,03 \cdot 10^{-8}$	$6,63 \cdot 10^{-8}$	$5,53 \cdot 10^{-7}$	$4,87 \cdot 10^{-5}$	$3,77 \cdot 10^{-3}$	$2,03 \cdot 10^{-2}$	$2,11 \cdot 10^{-2}$

gdzie $\hat{c}_1$ i $\hat{c}_2$ są dokładnymi wartościami stężeń użytymi do syntezy danych. W obydwu przypadkach przyjęto $p = 10^{-3}$ oraz $M = N = 501$. Maksymalne wartości $\hat{b}_j$ i $\hat{s}_j$, uzyskane dla BM i MNKO, pokazano w tabelach 6–9.

Tabela 7. Maksymalne wartości $\hat{s}_j$, uzyskane dla wariantu V1

Table 7. Maximum values of $\hat{s}_j$, obtained for the variant V1

		MB							MNKO
		σ_v							
$\hat{c}_1$	$\hat{c}_2$	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	
0,01	0,01	$5,33 \cdot 10^{-10}$	$4,80 \cdot 10^{-9}$	$4,32 \cdot 10^{-8}$	$2,88 \cdot 10^{-7}$	$4,55 \cdot 10^{-6}$	$3,94 \cdot 10^{-4}$	$3,42 \cdot 10^{-2}$	$1,65 \cdot 10^{-1}$
0,01	0,05	0	0	0	$2,31 \cdot 10^{-8}$	$1,16 \cdot 10^{-5}$	$1,04 \cdot 10^{-3}$	$3,53 \cdot 10^{-2}$	$8,65 \cdot 10^{-2}$
0,01	0,09	0	0	$1,15 \cdot 10^{-9}$	$2,61 \cdot 10^{-7}$	$1,96 \cdot 10^{-5}$	$1,57 \cdot 10^{-3}$	$3,39 \cdot 10^{-2}$	$9,49 \cdot 10^{-2}$
0,05	0,01	0	0	0	$1,83 \cdot 10^{-7}$	$1,97 \cdot 10^{-5}$	$1,64 \cdot 10^{-3}$	$1,94 \cdot 10^{-2}$	$1,53 \cdot 10^{-1}$
0,05	0,05	0	0	0	$1,67 \cdot 10^{-7}$	$2,28 \cdot 10^{-5}$	$2,05 \cdot 10^{-3}$	$2,45 \cdot 10^{-2}$	$2,88 \cdot 10^{-2}$
0,05	0,09	0	0	0	$3,09 \cdot 10^{-7}$	$1,96 \cdot 10^{-5}$	$1,88 \cdot 10^{-3}$	$1,70 \cdot 10^{-2}$	$2,00 \cdot 10^{-2}$
0,09	0,01	0	0	$1,13 \cdot 10^{-9}$	$3,67 \cdot 10^{-7}$	$3,63 \cdot 10^{-5}$	$2,37 \cdot 10^{-3}$	$2,34 \cdot 10^{-2}$	$1,56 \cdot 10^{-1}$
0,09	0,05	0	0	0	$4,21 \cdot 10^{-7}$	$3,83 \cdot 10^{-5}$	$2,31 \cdot 10^{-3}$	$2,20 \cdot 10^{-2}$	$3,18 \cdot 10^{-2}$
0,09	0,09	$5,34 \cdot 10^{-10}$	$4,69 \cdot 10^{-9}$	$4,24 \cdot 10^{-8}$	$3,57 \cdot 10^{-7}$	$3,94 \cdot 10^{-5}$	$2,64 \cdot 10^{-3}$	$1,54 \cdot 10^{-2}$	$1,55 \cdot 10^{-2}$

Tabela 8. Maksymalne wartości $\hat{b}_j$, uzyskane dla wariantu V2

Table 8. Maximum values of $\hat{b}_j$, obtained for the variant V2

		MB							MNKO
		σ_v							
$\hat{c}_1$	$\hat{c}_2$	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	
0,01	0,01	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$4,98 \cdot 10^{-2}$	$4,34 \cdot 10^{-2}$	$1,97 \cdot 10^{-1}$
0,01	0,05	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$4,97 \cdot 10^{-2}$	$4,64 \cdot 10^{-2}$	$1,04 \cdot 10^{-1}$
0,01	0,09	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$4,98 \cdot 10^{-2}$	$5,14 \cdot 10^{-2}$	$1,22 \cdot 10^{-1}$
0,05	0,01	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$4,99 \cdot 10^{-2}$	$4,43 \cdot 10^{-2}$	$2,65 \cdot 10^{-2}$	$2,40 \cdot 10^{-1}$
0,05	0,05	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$4,99 \cdot 10^{-2}$	$4,50 \cdot 10^{-2}$	$3,16 \cdot 10^{-2}$	$3,90 \cdot 10^{-2}$
0,05	0,09	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$4,99 \cdot 10^{-2}$	$4,44 \cdot 10^{-2}$	$1,95 \cdot 10^{-2}$	$2,32 \cdot 10^{-2}$
0,09	0,01	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$4,98 \cdot 10^{-2}$	$3,73 \cdot 10^{-2}$	$2,53 \cdot 10^{-2}$	$2,14 \cdot 10^{-1}$
0,09	0,05	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$4,98 \cdot 10^{-2}$	$3,76 \cdot 10^{-2}$	$3,42 \cdot 10^{-2}$	$3,92 \cdot 10^{-2}$
0,09	0,09	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$4,98 \cdot 10^{-2}$	$3,76 \cdot 10^{-2}$	$1,88 \cdot 10^{-2}$	$2,32 \cdot 10^{-2}$

Tabela 9. Maksymalne wartości $\hat{s}_j$, uzyskane dla wariantu V2Table 9. Maximum values of $\hat{s}_j$, obtained for the variant V2

		MB							MNKO
		σ_v							
$\dot{c}_1$	$\dot{c}_2$	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	
0,01	0,01	0	$1,31 \cdot 10^{-16}$	$1,20 \cdot 10^{-16}$	$1,20 \cdot 10^{-16}$	$7,17 \cdot 10^{-6}$	$7,54 \cdot 10^{-4}$	$3,22 \cdot 10^{-2}$	$1,39 \cdot 10^{-1}$
0,01	0,05	0	$1,31 \cdot 10^{-16}$	$1,20 \cdot 10^{-16}$	$2,30 \cdot 10^{-8}$	$1,08 \cdot 10^{-5}$	$1,04 \cdot 10^{-3}$	$3,53 \cdot 10^{-2}$	$7,71 \cdot 10^{-2}$
0,01	0,09	0	$1,31 \cdot 10^{-16}$	$1,43 \cdot 10^{-9}$	$1,61 \cdot 10^{-7}$	$1,96 \cdot 10^{-5}$	$1,50 \cdot 10^{-3}$	$3,23 \cdot 10^{-2}$	$9,45 \cdot 10^{-2}$
0,05	0,01	$1,05 \cdot 10^{-16}$	$1,31 \cdot 10^{-16}$	$1,05 \cdot 10^{-16}$	$3,27 \cdot 10^{-7}$	$3,14 \cdot 10^{-5}$	$2,91 \cdot 10^{-3}$	$2,06 \cdot 10^{-2}$	$1,68 \cdot 10^{-1}$
0,05	0,05	$1,05 \cdot 10^{-16}$	$1,31 \cdot 10^{-16}$	0	$1,67 \cdot 10^{-7}$	$3,39 \cdot 10^{-5}$	$2,96 \cdot 10^{-3}$	$2,41 \cdot 10^{-2}$	$2,88 \cdot 10^{-2}$
0,05	0,09	$1,05 \cdot 10^{-16}$	$1,31 \cdot 10^{-16}$	0	$2,79 \cdot 10^{-7}$	$3,57 \cdot 10^{-5}$	$2,71 \cdot 10^{-3}$	$1,45 \cdot 10^{-2}$	$1,84 \cdot 10^{-2}$
0,09	0,01	$3,54 \cdot 10^{-11}$	$1,16 \cdot 10^{-16}$	$4,04 \cdot 10^{-9}$	$5,18 \cdot 10^{-7}$	$5,42 \cdot 10^{-5}$	$3,90 \cdot 10^{-3}$	$2,32 \cdot 10^{-2}$	$1,66 \cdot 10^{-1}$
0,09	0,05	$1,36 \cdot 10^{-16}$	$1,16 \cdot 10^{-16}$	$8,60 \cdot 10^{-9}$	$5,90 \cdot 10^{-7}$	$5,18 \cdot 10^{-5}$	$3,26 \cdot 10^{-3}$	$2,40 \cdot 10^{-2}$	$2,72 \cdot 10^{-2}$
0,09	0,09	$3,34 \cdot 10^{-10}$	$1,16 \cdot 10^{-16}$	0	$4,43 \cdot 10^{-7}$	$5,37 \cdot 10^{-5}$	$3,83 \cdot 10^{-3}$	$1,33 \cdot 10^{-2}$	$1,78 \cdot 10^{-2}$

8. PRZYKŁAD ZASTOSOWAŃ – ANALIZA MIESZANIN SUBSTANCJI NIEORGANICZNYCH

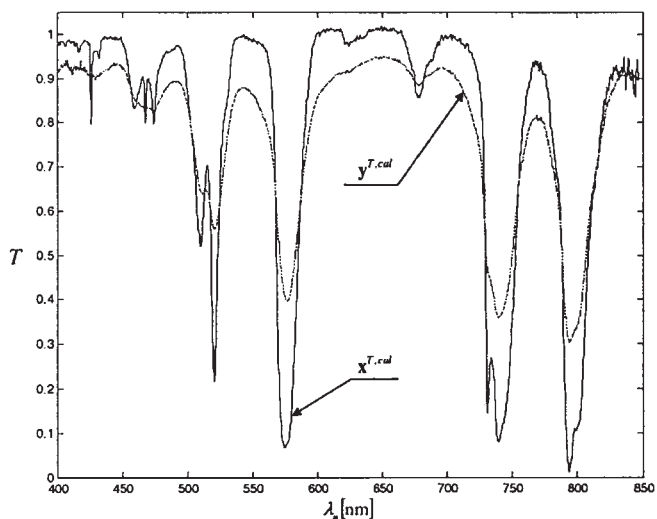
8.1. METODYKA BADAŃ

Badania MB, zastosowanej do analizy mieszanin substancji nieorganicznych, przeprowadzono, używając danych rzeczywistych, reprezentujących widmo absorpcyjne w zakresie długości fali 260–450 nm [54, rozdz. 6 i 7], przy tych samych założeniach dotyczących rozkładów *a priori*, jak te przedstawione w rozdziale 7.

8.1.1. WZORCOWANIE SPEKTROFOTOMETRU

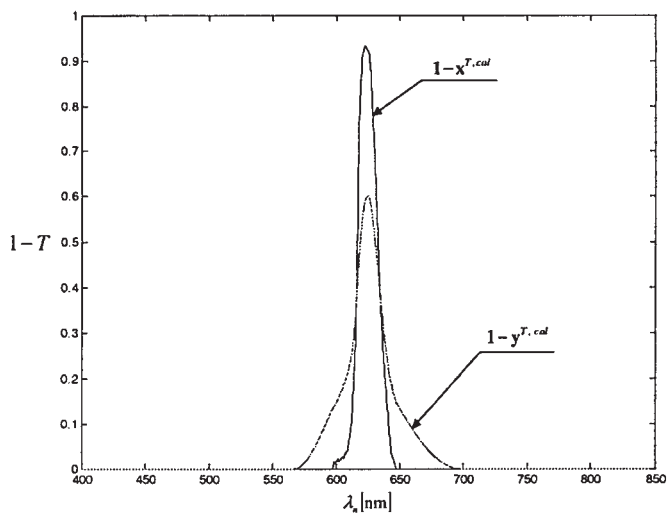
Do przeprowadzenia wzorcowania spektrofotometru *SpectraMatch GT* wykorzystano próbkę wodnego roztworu niobu, której widmo zawiera wyraźne, dające się łatwo odseparować piki. Wyniki pomiarów tego widma w dziedzinie transmitancji przedstawiono na rysunku 17: linią czarną – wynik uzyskany za pomocą spektrofotometru *U-3300*, a linią czerwoną – wynik uzyskany za pomocą spektrofotometru *SpectraMatch GT* podlegającego wzorcowaniu.

Wzorcowanie spektrofotometru przeprowadzono, używając danych reprezentujących pojedyncze piki, wydzielone z widm odniesienia. W celu spełnienia założeń, na których opiera się metoda spektralna z regularyzacją Tichonowa [43] wykorzystana do wzorcowania, wartości transmitancji T zastąpiono ich dopełnieniami do jedności $1 - T$ (rys. 18). Uzyskaną w ten sposób estymatę funkcji aparaturowej spektrofotometru *SpectraMatch GT* $\hat{g}$ przedstawiono na rysunku 19 linią czarną, a linią czerwoną pokazano tę estymatę po dodatkowej obróbce wygładzającej.



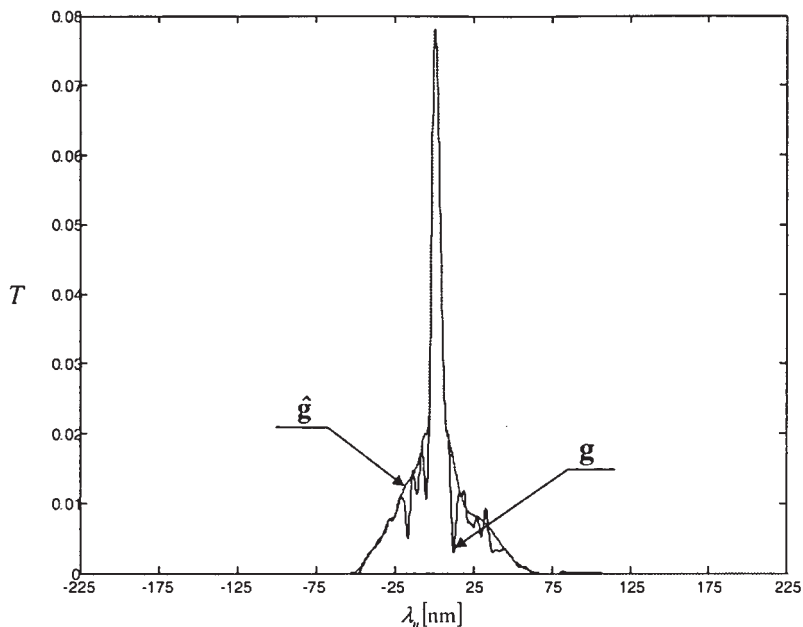
Rys. 17. Wynik pomiaru widma niobu, uzyskany za pomocą spektrofotometrów *U-3300* (linia czarna) i *SpectraMatch GT* (linia czerwona)

Fig. 17. Result of spectrum measurement, obtained for niobium by means of the spectrophotometers *U-3300* (black line) and *SpectraMatch GT* (red line)



Rys. 18. Dane użyte do wzorcowania spektrofotometru *SpectraMatch GT* reprezentujące pojedynczy pik widma niobu, wyizolowany z danych odniesienia (linia czarna) i z danych uzyskanych za pomocą spektrofotometru *SpectraMatch GT* (linia czerwona)

Fig. 18. Data used for calibration of the spectrophotometer *SpectraMatch GT* representative of a single peak of niobium spectrum, isolated from the reference data (black line) and from the data acquired by means of *SpectraMatch GT* (red line)



Rys. 19. Wynik wzorcowania spektrofotometru *SpectraMatch GT*:
estymata funkcji aparaturowej

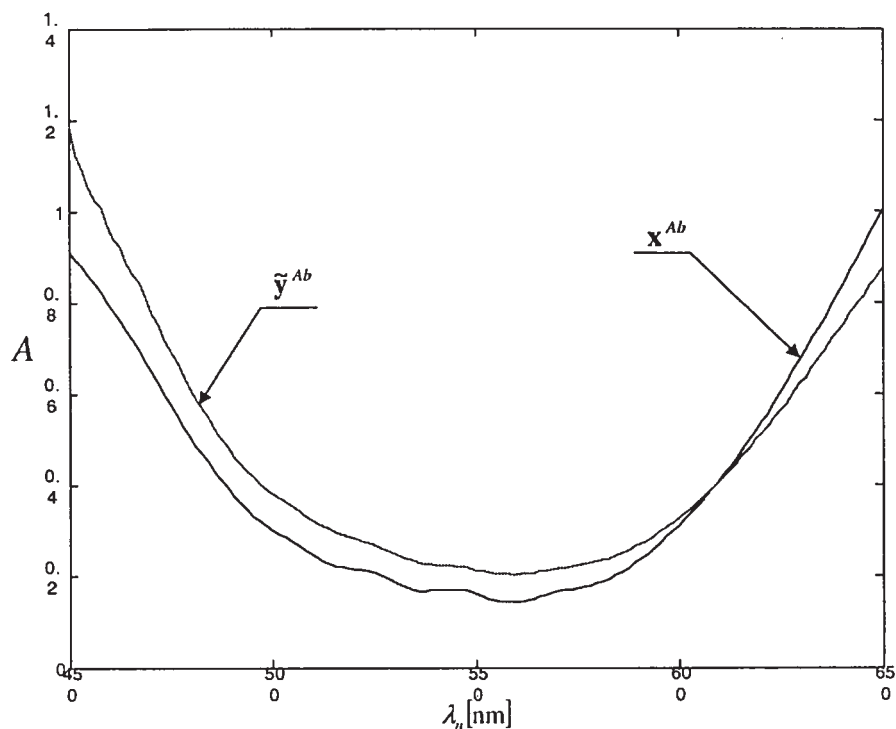
przed (linia czarna) i po (linia czerwona) wygładzaniu

Fig. 19. Result of calibration of the spectrophotometer *SpectraMatch GT*: an estimate
of the apparatus function before (black line) and after (red line) smoothing

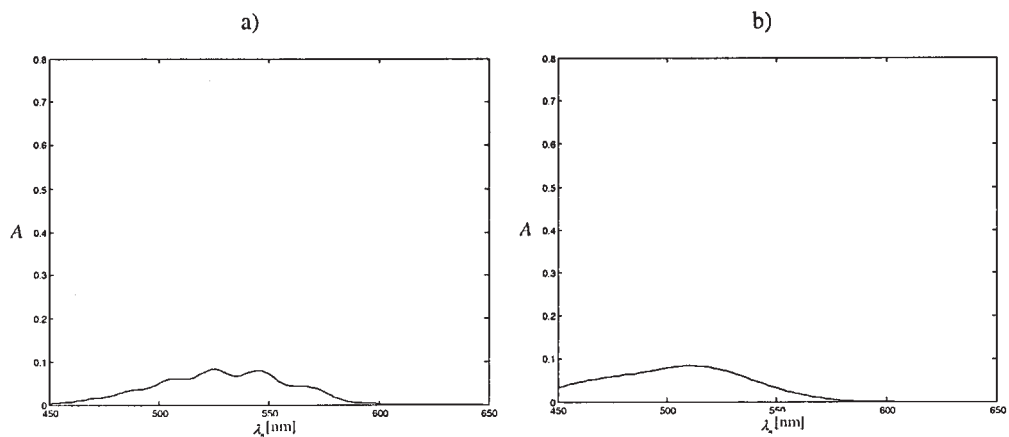
8.1.2. ESTYMACJA STĘŻEŃ

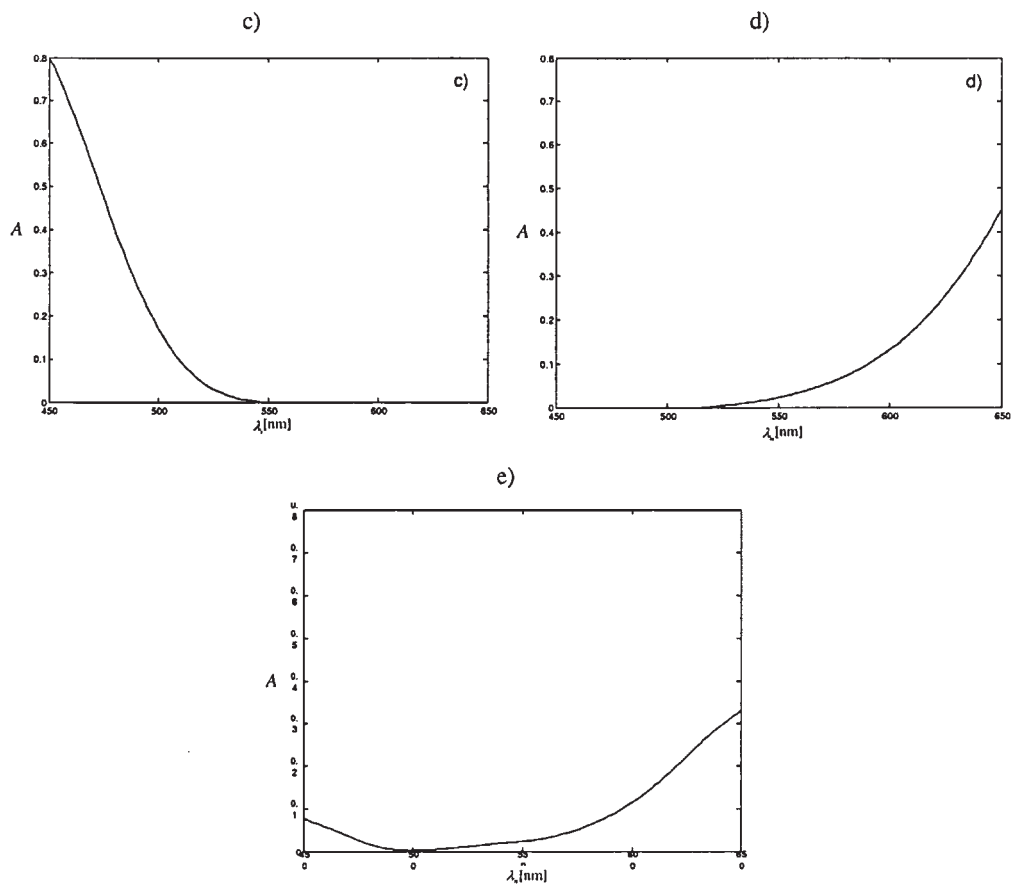
Do badania MB użyto danych spektrofotometrycznych, reprezentujących roztwory manganianu potasu ($2 \mu\text{g/mL}$), siarczanu kobaltu ($1,5 \mu\text{g/mL}$), dichromianu potasu ($0,2 \text{ mg/mL}$), siarczanu miedzi (10 mg/mL) i siarczanu niklu (10 mg/mL). Dane te zebrano za pomocą spektrofotometru *SpectraMatch GT*; przedstawiono je na rysunku 20 na tle odpowiednich danych zebranych za pomocą precyzyjnego spektrofotometru *U-3300*. Na podstawie wstępnych badań spektrofotometru *SpectraMatch GT* ustalono, że odchylenie standardowe zaburzenia danych σ_η wynosi $\sigma_\eta^{\text{emp}} = 0,004$ i jest niezależne od długości fali w badanym zakresie.

Na rysunku 21 przedstawiono wyniki pomiaru widm składników analizowanej mieszaniny, uzyskane za pomocą spektrofotometru odniesienia *U-3300*: a) dla manganianu potasu, b) dla siarczanu kobaltu, c) dla dichromianu potasu, d) dla siarczanu miedzi, e) dla siarczanu niklu. Szczegółowe wyniki estymacji stężeń przedstawiono w następnym podrozdziale.



Rys. 20. Dane uzyskane za pomocą *SpectraMatch GT* (linia czerwona) na tle widma odniesienia uzyskanego za pomocą *U-3300* (linia czarna)
 Fig. 20. Data obtained by means of *SpectraMatch GT* (red line) compared with the reference spectrum obtained by means of *U-3300* (black line)

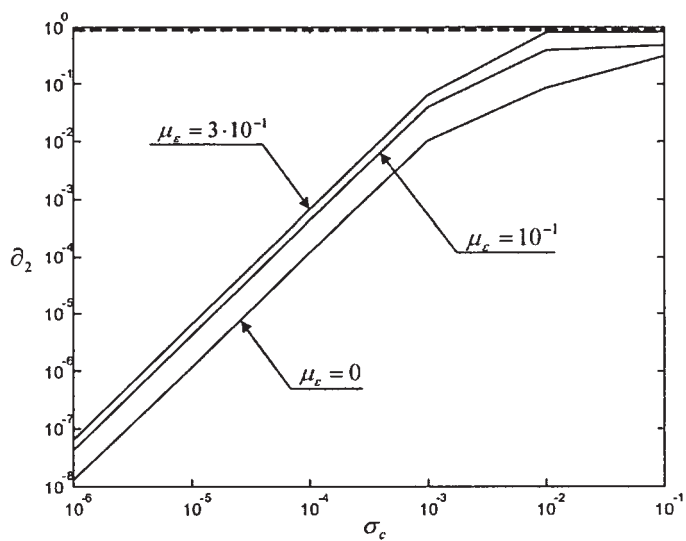




Rys. 21. Wzorcowe widma składników badanej mieszaniny
 Fig. 21. Reference spectra of the components of the analysed mixture

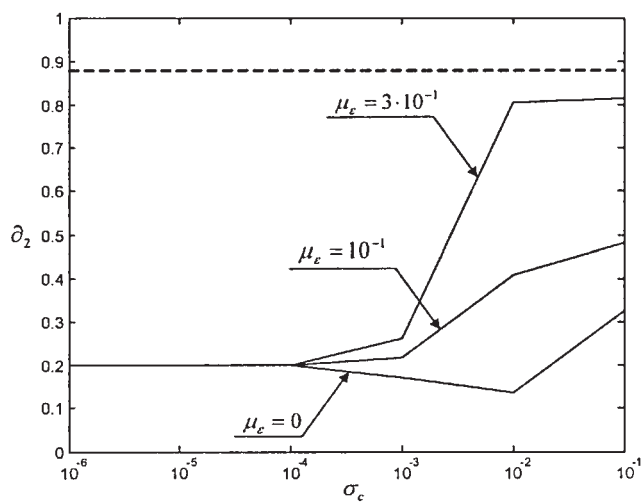
8.2. WYNIKI BADAŃ

Estymacja stężeń składników mieszaniny substancji nieorganicznych została przeprowadzona dla kilku wariantów informacji *a priori*. Na rysunku 22 przedstawiono zależność dokładności estymacji od odchylenia standardowego σ_c dla $\mu_c = \hat{c}$ oraz trzech wartości parametru $\mu_c \in \{0, 10^{-1}, 3 \times 10^{-1}\}$, a na rysunku 23 – dla $\mu_c = 0,8\hat{c}$. Linia przerywaną zaznaczono wartość $\partial_2 = 0,88$ uzyskaną dla MNKO. Wyniki estymacji dla innych wariantów informacji *a priori* zostały przedstawione w tabeli 10. Przytoczone wyniki estymacji stężeń ilustrują wpływ użytej informacji apriorycznej na dokładność estymacji. W przypadku większych wartości σ_c wyniki uzyskane za pomocą MB są nieznacznie lepsze niż wyniki uzyskane za pomocą MNKO.



Rys. 22. Zależność wskaźnika dokładności estymacji ∂_2 od odchylenia standardowego σ_c dla MB z $\mu_c = \dot{c}$

Fig. 22. Dependence of the indicator of estimation accuracy ∂_2 on the standard deviation σ_c for MB with $\mu_c = \dot{c}$



Rys. 23. Zależność wskaźnika dokładności estymacji ∂_2 od odchylenia standardowego σ_c dla MB z $\mu_c = 0,8\dot{c}$

Fig. 23. Dependence of the indicator of estimation accuracy ∂_2 on the standard deviation σ_c for MB with $\mu_c = 0,8\dot{c}$

Wraz ze wzrostem dokładności informacji apriorycznej, tzn. dla mniejszych wartości σ_c , coraz większą rolę odgrywa poprawność przyjętej informacji *a priori*. Zgodnie z rysunkiem 22, w przypadku gdy $\mu_c = \hat{c}$, dokładność estymacji rośnie. Sytuacja przedstawiona na rysunku 23 pokazuje, jak fałszywa informacja aprioryczna wpływa na dokładność estymacji – wraz ze zmniejszaniem się wartości σ_c , wyniki estymacji dążą do błędnie przyjętej wartości $\mu_c = 0,8\hat{c}$.

Tabela 10. Wskaźnik dokładności estymacji ∂_2 dla MB i różnych wariantów informacji *a priori*
Table 10. Indicator of estimation accuracy ∂_2 for MB with various variants of *a priori* information

μ_c	μ_e	σ_c					
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
$\hat{c}$	0	$3,17 \cdot 10^{-1}$	$8,62 \cdot 10^{-2}$	$1,05 \cdot 10^{-2}$	$1,20 \cdot 10^{-4}$	$1,20 \cdot 10^{-6}$	$1,33 \cdot 10^{-8}$
	$\cdot 10^{-1}$	$4,78 \cdot 10^{-1}$	$3,95 \cdot 10^{-1}$	$4,05 \cdot 10^{-2}$	$4,38 \cdot 10^{-4}$	$4,38 \cdot 10^{-6}$	$4,42 \cdot 10^{-8}$
	$3 \cdot 10^{-1}$	$8,13 \cdot 10^{-1}$	$8,01 \cdot 10^{-1}$	$6,70 \cdot 10^{-2}$	$6,71 \cdot 10^{-4}$	$6,71 \cdot 10^{-6}$	$6,77 \cdot 10^{-8}$
0,8 $\hat{c}$	0	$3,27 \cdot 10^{-1}$	$1,37 \cdot 10^{-1}$	$1,71 \cdot 10^{-1}$	$2,00 \cdot 10^{-1}$	$2,00 \cdot 10^{-1}$	$2,00 \cdot 10^{-1}$
	$\cdot 10^{-1}$	$4,80 \cdot 10^{-1}$	$4,07 \cdot 10^{-1}$	$2,18 \cdot 10^{-1}$	$2,00 \cdot 10^{-1}$	$2,00 \cdot 10^{-1}$	$2,00 \cdot 10^{-1}$
	$3 \cdot 10^{-1}$	$8,13 \cdot 10^{-1}$	$8,05 \cdot 10^{-1}$	$2,63 \cdot 10^{-1}$	$2,01 \cdot 10^{-1}$	$2,00 \cdot 10^{-1}$	$2,00 \cdot 10^{-1}$
0,5 $\hat{c}$	0	$3,52 \cdot 10^{-1}$	$2,64 \cdot 10^{-1}$	$4,04 \cdot 10^{-1}$	$4,98 \cdot 10^{-1}$	$5,00 \cdot 10^{-1}$	$5,00 \cdot 10^{-1}$
	$\cdot 10^{-1}$	$4,84 \cdot 10^{-1}$	$4,28 \cdot 10^{-1}$	$4,65 \cdot 10^{-1}$	$4,99 \cdot 10^{-1}$	$5,00 \cdot 10^{-1}$	$5,00 \cdot 10^{-1}$
	$3 \cdot 10^{-1}$	$8,13 \cdot 10^{-1}$	$8,11 \cdot 10^{-1}$	$5,44 \cdot 10^{-1}$	$5,00 \cdot 10^{-1}$	$5,00 \cdot 10^{-1}$	$5,00 \cdot 10^{-1}$
0,3 $\hat{c}$	0	$3,97 \cdot 10^{-1}$	$3,55 \cdot 10^{-1}$	$5,45 \cdot 10^{-1}$	$6,96 \cdot 10^{-1}$	$7,00 \cdot 10^{-1}$	$7,00 \cdot 10^{-1}$
	$\cdot 10^{-1}$	$4,87 \cdot 10^{-1}$	$4,80 \cdot 10^{-1}$	$6,15 \cdot 10^{-1}$	$6,98 \cdot 10^{-1}$	$7,00 \cdot 10^{-1}$	$7,00 \cdot 10^{-1}$
	$3 \cdot 10^{-1}$	$8,13 \cdot 10^{-1}$	$8,15 \cdot 10^{-1}$	$7,17 \cdot 10^{-1}$	$7,00 \cdot 10^{-1}$	$7,00 \cdot 10^{-1}$	$7,00 \cdot 10^{-1}$

9. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Przedmiotem badań, których wyniki przedstawiono w niniejszym artykule, była nowa metoda estymacji stężeń składników substancji chemicznych na podstawie danych pomiarowych, uzyskanych za pomocą spektrofotometru o ograniczonej rozdzielczości i niepomijalnym poziomie szumów. Metoda ta, nazwana w skrócie MB, opiera się na wykorzystaniu informacji apriorycznej o spektrofotometrze i zbiorze dopuszczalnych rozwiązań, zagregowanej dzięki użyciu reguły Bayesa. Właściwości MB zostały zbadane zarówno z użyciem danych syntetycznych, jak i danych rzeczywistych. Przedmiotem badań przeprowadzonych z użyciem danych syntetycznych były następujące cechy zaproponowanej metody:

- wpływ dokładności informacji *a priori* na dokładność estymacji,
- wpływ poziomu widma resztkowego na dokładność estymacji,
- odporność na zakłócenia danych pomiarowych,
- wpływ poziomu rozrzutu wartości poszczególnych stężeń na dokładność estymacji.

Ocena praktycznej przydatności MB przeprowadzona została z użyciem danych rzeczywistych, uzyskanych za pomocą spektrofotometru: *SpectraMatch GT* firmy *CVI Laser Spectral Products*. Jako dane odniesienia użyto wyniki pomiaru widma, uzyskane za pomocą bardzo dokładnego spektrofotometru *U-3300* firmy *Hitachi*.

Na podstawie analizy wyników badań można stwierdzić, iż zaproponowana metoda estymacji stężeń cechuje się znacznie większą dokładnością niż powszechnie stosowana MNKO, jeśli odchylenia wartości stężeń od wartości typowych nie przekraczają $\pm 20\%$. Należy podkreślić, iż dokładność metody estymacji opartej na formule Bayesa w znacznym stopniu jest uzależniona od dostępności i dokładności informacji *a priori* na temat odtwarzanych stężeń i samego spektrofotometru. Wymaganie to może być jednak stosunkowo łatwo spełnione w zadaniach monitoringu, które charakteryzują się dwoma cechami:

- w sposób ciągły mierzone są stężenia składników tej samej substancji, w tym samym zakresie, z jednakową niepewnością;
- zakres zmienności mierzonych wartości jest stosunkowo niewielki i znany *a priori*.

Z reguły w tego typu zastosowaniach dostępna jest informacja o wartościach średnich i wariancjach monitorowanych parametrów, a nawet o kompletnych rozkładach statystycznych, które z powodzeniem mogą być użyte w opisanej metodzie estymacji. W tym miejscu warto zwrócić uwagę na to, że użycie błędnej informacji apriorycznej może być gorsze niż jej brak. Opracowana metoda estymacji stężeń nadaje się więc raczej do budowy tanich systemów monitoringu opartych na spektrofotometrach o małej rozdzielczości, niż do rozwiązywania problemów estymacji stężeń w laboratoriach analitycznych.

LITERATURA

- [1] ACHIM A., BEZERIANOS A., TSAKALIDES P., *Novel Bayesian Multiscale Method for Speckle Removal in Medical Ultrasound Images*, IEEE Transactions on Medical Imaging, Vol. 20, No. 8, Aug. 2001, 772–783.
- [2] BINKOWSKI J. (red.), *Encyklopedia Fizyki*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1974.
- [3] BERNARDO J.M., SMITH A.F.M., *Bayesian Theory*, John Wiley & Sons, Chichester–New York 1994.
- [4] BHANDARE P., MENDELSON Y., PEURA R.A., JANATSCH G., KRUSE-JARRES J.D., MARBACH R., HEISE H.M., *Multivariate Determination of Glucose in Whole Blood Using Partial Least-Squares and Artificial Neural Networks Based on Mid-Infrared Spectroscopy*, Applied Spectroscopy, Vol. 47, No. 8, Aug. 1993, 1214–1221.

- [5] BINKOWSKI J. (red.), *Słownik chemii analitycznej*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 1984.
- [6] BOTSOGLOU N.A., FLETOURIS D.J., PAPAGEORGIOU G.E., FLOROU-PANERI P., MANTIS A.J., *Rapid Determination of Amphotericin B in Serum and Urine by Third-Order Derivative Spectrophotometry*, Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 85, No.4, April 1996, 402–406.
- [7] CACERES A., CARDENAS S., GALLEGO M., VALCARCEL M., *A Continuous Spectrophotometric System for the Discrimination/Determination of Monosaccharides and Oligosaccharides in Foods*, Analytica Chimica Acta, Vol. 404, No. 1, Jan. 10, 2000, 121–129.
- [8] CARY P.W., CHAPMAN C.H., *Waveform Inversion of Expanding Spread Profile 5 from the North Atlantic Transect*, Journal of Geophysical Research, Vol. 93, No. B11, Nov. 1988, 13575–13588.
- [9] CASSIDY M.J., PENNY W.D., *Bayesian Nonstationary Autoregressive Models for Biomedical Signal Analysis*, IEEE Transactions on Biomedical Engineering, Vol. 49, No. 10, Oct. 2002, 1142–1152.
- [10] CHANTAS G.K., GALATSANOS N.P., LIKAS A.C., *Bayesian Restoration Using a New Nonstationary Edge-Preserving Image Prior*, IEEE Transactions on Image Processing, Vol. 15, No. 10, Oct. 2006, 2987–2997.
- [11] CHIBA K., INAMOTO I., TSUNODA K.-I., AKAIWA H., *Sensitive Determination of Sulphur Concentration in Steel by Spectrophotometry with a Waveguide Capillary Cell*, The Analyst, Vol. 119, No. 4, 1994, 709–712.
- [12] CRAGGS C., GALLOWAY K.P., GARDINER D.J., *Maximum Entropy Methods Applied to Simulated and Observed Raman Spectra*, Applied Spectroscopy, Vol. 50, No. 1, Jan. 1996, 43–47.
- [13] CRILLY P.B., *A Quantitative Evaluation of Various Iterative Deconvolution Algorithms*, IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, Vol. 40, No. 3, June 1991, 558–562.
- [14] CYGAŃSKI A., *Metody spektroskopowe w chemii analitycznej*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 1997.
- [15] DAUNIZEAU J., MATTOU J., CLONDA D., GOULARD B., BENALI H., LINA J.-M., *Bayesian Spatio-Temporal Approach for EEG Source Reconstruction: Conciliating ECD and Distributed Models*, IEEE Transactions on Biomedical Engineering, Vol. 53, No. 3, March 2006, 503–516.
- [16] EL-SAYED A.Y., *Simultaneous Determination of Aluminum and Iron in Glasses, Phosphate Rocks and Cement Using First- and Second-Derivative Spectrophotometry*, Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, Vol. 355, No. 1, April 1996, 29–33.
- [17] EPPSTEIN M.J., DOUGHERTY D.E., HAWRYSZ D.J., SEVICK-MURACA E.M., *Three-dimensional Bayesian Optical Image Reconstruction with Domain Decomposition*, IEEE Transactions on Medical Imaging, Vol. 20, No. 3, March 2001, 147–163.
- [18] FADILI J. M., BOUBCHIR L., *Analytical form for a Bayesian wavelet estimator of images using the Bessel K form densities*, IEEE Transactions on Image Processing, Vol. 14, No. 2, Feb. 2005, 231–240.
- [19] FEARNHEAD P., *Exact Bayesian Curve Fitting and Signal Segmentation*, IEEE Transactions on Signal Processing, Vol. 53, No. 6, June 2005, 2160–2166.
- [20] FERRY A., JACOBSEN P., *Curve Fitting and Deconvolution of Instrumental Broadening: A Simulated Annealing Approach*, Applied Spectroscopy, Vol. 49, No. 3, March 1995, 273–278.
- [21] FIGUEIREDO M.A.T., NOWAK R.D., *Wavelet-based Image Estimation: an Empirical Bayes Approach Using Jeffrey's Noninformative Prior*, IEEE Transactions on Image Processing, Vol. 10, No. 9, Sep. 2001, 1322–1331.
- [22] FRESE T., BOUMAN C.A., SAUER K., *Adaptive Wavelet Graph Model for Bayesian Tomographic Reconstruction*, IEEE Transactions on Image Processing, Vol. 11, No. 7, July 2002, 756–770.
- [23] GAJEWSKA I. (red.), *Poradnik fizykochemiczny*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa

- 1974.
- [24] GIPSON G.T., TATSUOKA K.S., SWEATMAN B.C., CONNOR S.C., *Weighted least-squares deconvolution method for discovery of group differences between complex biofluid ^1H NMR spectra*, Journal of Magnetic Resonance, Vol. 183, No. 2, Dec. 2006, 269–277.
 - [25] GODLEWSKI J., *Generacja i detekcja promieniowania optycznego*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1997.
 - [26] GREEK L.S., SCHULZE H.G., BLADES M.W., BREE A.V., GORZALKA B.B., TURNER R.F. B., *SNR Enhancement and Deconvolution of Raman Spectra Using a Two-point Entropy Regularization Method*, Applied Spectroscopy, Vol. 49, No. 4, April 1995, 425–431.
 - [27] HOURANT P., BAETEN V., MORALES M.T., MEURENS M., APARICIO R., *Oil and Fat Classification by Selected Bands of Near-Infrared Spectroscopy*, Applied Spectroscopy, Vol. 54, No. 8, Aug. 2000, 1168–1174.
 - [28] HSIAO I.-T., RANGARAJAN A., GINDI G., *Joint-MAP Bayesian Tomographic Reconstruction with a Gamma-Mixture Prior*, IEEE Transactions on Image Processing, Vol. 11, No. 12, Dec. 2002, 1466–1477.
 - [29] HUANG Y., ZHANG J.M., DJURIĆ P.M., *Bayesian detection for BLAST*, IEEE Transactions on Signal Processing, Vol. 53, No. 3, March 2005, 1086–1096.
 - [30] HYVÄRINEN A., OJA E., *Independent Component Analysis: Algorithms and Applications*, Neural Networks, Vol. 13, No. 4–5, June 2000, 411–430.
 - [31] ISAEV K.V., *Ob odnom metode regularizacii zadač obrabotki nabljudenij*, Avtometrija, No. 4, 1987, 31–34.
 - [32] JAKUBOWSKI L. (red.), *Słownik fizyczny*, Wyd. Wiedza Powszechna, Warszawa 1984.
 - [33] JANSSEN P.A. (ed.), *Deconvolution of Images And Spectra*, Academic Press, Inc., New York 1997.
 - [34] KANG H.D., *Decomposition of Multicomponent Mass Spectra Using Bayesian Probability Theory*, Journal of Mass Spectrometry, Vol. 37, No. 7, July 2002, 748–754.
 - [35] KOIKE M., KONDO Y., MATTHEWS W.A., JOHNSTON P.V., NAKAJIMA H., KAWAGUCHI A., NAKANE H., MURATA I., BUDIYONO A., KANADA M., TORIYAMA N., *Assessment of the Uncertainties in the NO_2 and O_3 Measurements by Visible Spectrometers*, Journal of Atmospheric Chemistry, Vol. 32, No. 1, Jan. 1999, 121–145.
 - [36] LEONARD T., HSU J.S.J., *Bayesian Methods*, Cambridge University Press, New York 1999.
 - [37] LIN Y., LEE D.D., *Bayesian Regularization and Nonnegative Deconvolution for Room Impulse Response Estimation*, IEEE Transactions on Signal Processing, Vol. 54, No. 3, March 2006, 839–847.
 - [38] LOMBARDI M.J., GODSILL S.J., *On-Line Bayesian Estimation of Signals in Symmetric Stable Noise*, IEEE Transactions on Signal Processing, Vol. 54, No. 2, Feb. 2006, 775–779.
 - [39] LOIZOU P. C., *Speech Enhancement Based on Perceptually Motivated Bayesian Estimators of the Magnitude Spectrum*, IEEE Transactions on Speech and Audio Processing, Vol. 13, No. 5, Part 2, Sept. 2005, 857–869.
 - [40] LOW-YING S., SHAW R.A., LEROUX M., MANTSCH H.H., *Quantitation of Glucose and Urea in Whole Blood by Mid-Infrared Spectroscopy of Dry Films*, Vibrational Spectroscopy, Vol. 28, No. 1, Feb. 28, 2002, 111–116.
 - [41] LUYPAERT J., ZHANG M.H., MASSART D.L., *Feasibility Study for the Use of Near Infrared Spectroscopy in the Qualitative and Quantitative Analysis of Green Tea, Camellia Sinensis (L.)*, Analytica Chimica Acta, Vol. 478, No. 2, Feb. 22, 2003, 303–312.
 - [42] MARIN J.-M., ROBERT C.P., *Bayesian Core: A Practical Approach to Computational Bayesian Statistics*, Springer, New York 2007.
 - [43] MIĘKINA A., MORAWSKI R.Z., *Noise Reduction in Spectrophotometric Data Processing Using*

- Tikhonov's Regularization*, Proc. 1st IMEKO-TC4 Symp. "Noise in Electrical Measurements" (Como, June 19–21, 1986), 217–222.
- [44] MIEKINA A., MORAWSKI R.Z., PODGÓRSKI A., *Dynamic Reconstruction of Measurands and Calibration of Measuring System*, Measurement – Journal of IMEKO, Sept. 1994, Vol. 14, No. 1, 63–72.
 - [45] MORAWSKI R.Z., *Metody odtwarzania sygnałów pomiarowych*, Metrologia i Systemy Pomiarowe, seria Monografie, Warszawa 1989, 1–123.
 - [46] MORAWSKI R.Z., *Unified Approach to Measurement Signal Reconstruction*, Measurement – Journal of IMEKO, Jul.–Sept. 1991, Vol. 9, No. 3, 140–144.
 - [47] MORAWSKI R.Z., *Unified Approach to Measurand Reconstruction*, IEEE Trans. Instrum. & Meas., April 1994, Vol. 43, No. 2, 226–231.
 - [48] MORAWSKI R.Z., *Spectrophotometric applications of digital signal processing*, Measurement Science and Technology, Vol. 17, No. 9, Sep. 2006, R117–R144.
 - [49] MORAWSKI R.Z., NIEDZIŃSKI C., *Application of a Bayesian estimator for identification of edible oils on the basis of spectrophotometric data*, Metrology and Measurement Systems, Vol. XV, No. 3, 2008, 247–266.
 - [50] MORAWSKI R.Z., PODGÓRSKI A., SUTKOWSKI K., *Dynamic Calibration of Measurement Channels Using Algorithms of Non-differentiable Optimization*, IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, Vol. 41, No. 6, Dec. 1992, 881–884.
 - [51] MORAWSKI R.Z., PODGÓRSKI A., *Dynamic Calibration Using Variational Algorithms Based on Entropy-like Criteria*, Proc. 13th IMEKO World Congress (Torino, Italy, Sept. 5–9, 1994), 921–927.
 - [52] MORAWSKI R.Z., PODGÓRSKI A., WOLNY M., *Solving the problem of static calibration by means of splines in two variables*, Proc. 13th IMEKO World Congress (Torino, Italy, Sept. 5–9, 1994), 916–920.
 - [53] MOUSSAOUI S., BRIE S., MOHAMMAD-DJAFARI A., CARTERET C., *Separation of Non-Negative Mixture of Non-Negative Sources Using a Bayesian Approach and MCMC Sampling*, IEEE Transactions on Signal Processing, Vol. 54, No. 11, Nov. 2006, 4133–4145.
 - [54] NIEDZIŃSKI C., *Bayesowska metoda estymacji stężeń w spektrometrycznej analizie substancji wieloskładnikowych*, rozprawa doktorska, Wydział Elektroniki i Technik Informacyjnych PW, Warszawa 2007.
 - [55] NIEDZIŃSKI C., MORAWSKI R.Z., *Bayesian Approach to Spectrophotometric Analysis of Multi-component Substances*, IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, Vol. 49, No. 3, June 2000, 637–642.
 - [56] NIEDZIŃSKI C., MORAWSKI R.Z., *Estimation of Low Concentrations in the Presence of High Concentrations Using Bayesian Algorithms for Interpretation of Spectrophotometric Data*, Journal of Chemometrics, Vol. 18, No. 5, May 2004, 217–230.
 - [57] PIZURICA A., PHILIPS W., LEMAHIEU I., ACHEROY M., *A Joint Inter- and Intrascale Statistical Model for Bayesian Wavelet-based Image Denoising*, IEEE Transaction on Image Processing, Vol. 11, No. 5, May 2002, 545–557.
 - [58] RAUF M., LORI W., PHELAN V., *Testing the Purity of Olive Oil*, International Laboratory News, April 1998, 21BB.
 - [59] ROIG B., THOMAS O., *Rapid Estimation of Global Sugars by UV Photodegradation and UV Spectrophotometry*, Analytica Chimica Acta, Vol. 477, No. 2, Feb. 3, 2003, 325–329.
 - [60] SHIGEYUKI O., MASAOKI S., SHIN I., *Variational Bayes Method for Mixture of Principal Component Analyzers*, Systems and Computers in Japan, Vol. 34, No. 11, Oct. 2003, 55–66.
 - [61] ŠMÍDL V., QUINN A., *Mixture-Based Extension of the AR Model and its Recursive Bayesian Identification*, IEEE Transactions on Signal Processing, Vol. 53, No. 9, Sept. 2005, 3530–3542.
 - [62] SUTTON R.E., *Ultraviolet and Absorption Light Spectrometry*, Analytical Chemistry, Vol. 70, No. 12, June 15, 1998, 107R–118R.

- [63] SZCZEPANIAK W., *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2005.
- [64] TAMADA J.A., LESHOM, TIERNEY M.J., *Keeping Watch on Glucose*, IEEE Spectrum, Vol. 39, No. 4, April 2002, 52–57.
- [65] TENHUNEN J., KOPOLA H., MYLLYLÄ R., *Non-Invasive Glucose Measurement Based on Selective Near Infrared Absorption; Requirements on Instrumentation and Spectral Range*, Measurement – Journal of IMEKO, Vol. 24, No. 3, 1998, 173–177.
- [66] TIKHONOV A.N., GORNCARSKIY A.V., STEPANOV V.V., JAGOLA A.G., *Regularizirujuščije algoritmy i apriornaja informacija*, Izd. Nauka, Moscow 1983.
- [67] WIŚNIEWSKI M.P., MORAWSKI R.Z., BARWICZ A., *An Adaptive Rational Filter for Interpretation of Spectrometric Data*, IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, Vol. 52, No. 3, June 2003, 966–971.
- [68] YOMA N.B., CARRASCO J., MOLINA C., *Bayes-Based Confidence Measure in Speech Recognition*, IEEE Signal Processing Letters, Vol. 12, No. 11, Nov. 2005, 745–748.
- [69] ZWINKELS J.C., GIGNAC D.S., *Design and Testing of a New High-accuracy Ultraviolet-visible-near-infrared Spectrophotometer*, Applied Optics, Vol. 31, No. 10, April 1992, 1557–1567.

SPIS OZNACZEŃ

Wielkości podstawowe

- λ – zmienna skalarna modelująca długość fali, a przyjmująca wartości z przedziału $[\lambda_{\min}, \lambda_{\max}]$;
- N – liczba próbek odtwarzanego widma;
- n – indeks dyskretyzacji osi λ ;
- $\Delta\lambda$ – interwał dyskretyzacji osi λ : $\Delta\lambda = \frac{\lambda_{\max} - \lambda_{\min}}{N - 1}$;
- λ_n – n -ty punkt dyskretyzacji osi λ : $\lambda_n = \lambda_{\min} + (n - 1) \Delta\lambda$ dla $n = 1, 2, \dots, N$;
- $x^{Ab}(\lambda)$ – widmo w dziedzinie absorbancji;
- $x^{Tr}(\lambda)$ – widmo w dziedzinie transmitancji;
- $\mathbf{x}$ – dyskretna reprezentacja widma $x(\lambda)$, $\mathbf{x} \equiv [x_1, \dots, x_N]^T$, $x_n = x(\lambda_n)$;
- $\mathbf{x}^{Ab}$ – dyskretna reprezentacja widma $x^{Ab}(\lambda)$, $\mathbf{x}^{Ab} = [x_1^{Ab}, \dots, x_N^{Ab}]^T$, $x_n^{Ab} = x^{Ab}(\lambda_n)$;
- $\mathbf{x}^{Tr}$ – dyskretna reprezentacja widma $x^{Tr}(\lambda)$; $\mathbf{x}^{Tr} = [x_1^{Tr}, \dots, x_N^{Tr}]^T$, $x_n^{Tr} = x^{Tr}(\lambda_n)$;
- $\mathbf{X}^{Ab}$ – macierz dyskretnych reprezentacji widm absorpcyjnych składników mieszaniny: $\mathbf{X}^{Ab} = [\mathbf{x}_1^{Ab}, \dots, \mathbf{x}_J^{Ab}]^T$;
- $\mathbf{y}^{Ab}$ – surowe dane pomiarowe w dziedzinie absorbancji; $\mathbf{y}^{Ab} = [y_1^{Ab}, \dots, y_N^{Ab}]^T$, $y_n^{Ab} = y^{Ab}(\lambda_n)$;
- $\mathbf{y}^{Tr}$ – surowe dane pomiarowe w dziedzinie transmitancji; $\mathbf{y}^{Tr} = [y_1^{Tr}, \dots, y_N^{Tr}]^T$, $y_n^{Tr} = y^{Tr}(\lambda_n)$;

- $y^{Ab}(\lambda)$ – ciągła obwiednia danych y^{Ab} ;
 $y^{Tr}(\lambda)$ – ciągła obwiednia danych y^{Tr} ;
 $g(\lambda)$ – funkcja aparaturowa spektrofotometru w dziedzinie transmitancji;
 $\mathbf{g}$ – dyskretna reprezentacja funkcji $g(\lambda)$, $\mathbf{g} \equiv [g_1, \dots, g_N]^T$, $g_n = g(\lambda_n)$;
 $\mathbf{G}$ – macierz Toeplitza związana z funkcją aparaturową spektrofotometru,
 $G_{k,l} = g(\lambda_k - \lambda_l)\Delta\lambda$, $k = 1, \dots, N$, $l = 1, \dots, N$;
 η – zaburzenie surowych danych pomiarowych, $\eta \equiv [\eta_1, \dots, \eta_N]^T$;
 J – liczba składników mieszaniny, których stężenia podlegają estymacji;
 j – indeks składnika mieszaniny, $j = 1, \dots, J$;
 c_j – stężenie j -tego składnika mieszaniny;
 M – liczba śladowych składników mieszaniny, których stężenia nie podlegają estymacji;
 m – indeks stężenia śladowego składnika mieszaniny, $m = 1, \dots, M$;
 ε_m – stężenie m -tego śladowego składnika mieszaniny.

Zasady modyfikacji oznaczeń wielkości podstawowych

- $\dot{x}$ – dokładna realizacja wielkości x ;
 $\tilde{x}$ – zaburzona realizacja wielkości x ;
 $\hat{x}$ – estymata wielkości x ;
 $\mathbf{x}$ – wielkość wektorowa;
 $\underline{x}$ – zmienna losowa, której realizacją jest wielkość zdeterminowana x ;
 μ_x – wartość oczekiwana wielkości losowej $\underline{x}$;
 σ_x^2 – wariancja wielkości losowej $\underline{x}$.

Operatory

- $\arg_v\{ \}$ – operator wyznaczania wartości zmiennej v spełniającej warunek zdefiniowany w $\{ \}$;
 $\inf\{ \}$ – operator wyznaczania kresu dolnego zbioru $\{ \}$;
 $\sup\{ \}$ – operator wyznaczania kresu górnego zbioru $\{ \}$;
 $E[\]$ – operator wyznaczania wartości oczekiwanej zmiennej losowej;
 $\text{Var}[\]$ – operator wyznaczania wariancji zmiennej losowej;
 $R[\]$ – operator odtwarzania mezurandu;
 $G[\]$ – operator modelujący tor pomiarowy spektrofotometru;
 $\text{CAT}[\]$ – operator przekształcenia widma w dziedzinie absorbancji w widmo w dziedzinie transmitancji, $x^{Tr}(\lambda) = 10^{-x^{Ab}(\lambda)}$;
 $| |$ – operator wyznaczania wartości bezwzględnej;
 $\| \|$ – operator wyznaczania normy;
 $*$ – operator splotu.

Akronimy

<i>T</i>	– transmitancja;
<i>A</i>	– absorbancja;
<i>IR</i>	– zakres podczerwonego promieniowania elektromagnetycznego;
<i>NIR</i>	– podzakres IR, w którym $\lambda < 2500$ nm;
<i>UV</i>	– zakres ultrafioletowego promieniowania elektromagnetycznego;
<i>Vis</i>	– zakres widzialnego promieniowania elektromagnetycznego.

PODSTAWOWE POJĘCIA SPEKTROFOTOMETRII

– *Podczerwień* (skrót IR od ang. *infrared*) – niewidzialne dla oka ludzkiego promieniowanie elektromagnetyczne o długości fali w przedziale od ok. 0,76 μm do 500 μm , podzielonym umownie na trzy podzakresy: podczerwień bliską (NIR od ang. *near infrared*) od 0,76 μm do 2,5 μm , podczerwień średnią (MIR od ang. *middle infrared*) od 2,5 μm do 50 μm oraz podczerwień daleką (FIR od ang. *far infrared*) od 50 μm do 500 μm [32, s. 322].

– *Światło widzialne* (skrót Vis od ang. *visible*) – promieniowanie elektromagnetyczne, na które reaguje ludzkie oko, o długości fali zawartej w przedziale od około 400 nm do 760 nm [32, s. 401].

– *Nadfiolet* (skrót UV od ang. *ultra-violet*) – niewidzialne dla oka ludzkiego promieniowanie elektromagnetyczne o długości fali w przedziale od około 10 nm do 400 nm [32, s. 322].

– *Natężenie promieniowania* (*I*) – stosunek wartości strumienia mocy promieniowania do kąta bryłowego, w którym ten strumień jest zawarty [23, s. E-159].

– *Transmitancja* (*T*) – stosunek natężenia promieniowania wiązki po przejściu przez próbkę analizowanej substancji do natężenia promieniowania wiązki pierwotnej (lub po przejściu przez próbkę odniesienia) [23, s. E-159].

– *Absorbancja* (*A*) – logarytm dziesiętny odwrotności transmitancji [23, s. E-159].

– *Widmo* – rozkład natężenia światła polichromatycznego, transmitancji lub absorbancji w funkcji długości fali [14, s. 16].

– *Linia widmowa (spektralna)* – oddzielna część widma, której odpowiada (w przybliżeniu) światło monochromatyczne, powstające w wyniku przejść elektronów między określonymi poziomami energetycznymi [32, s. 208].

– *Spektroskopia* – dział fizyki i chemii obejmujący badanie budowy i właściwości atomów, cząsteczek i jąder atomowych przez obserwację absorpcji, emisji, rozpraszania lub odbicia promieniowania elektromagnetycznego lub korpuskularnego [2, s. 160].

– *Spektrofotometria* – zespół metod badawczych, za pomocą których wykonuje się pomiary widma w zakresie długości fali od około 0,18 μm do 50 μm [14, s. 23].

– *Spektrofotometr* – przyrząd do pomiaru widma w zakresie długości fali od około 0,18 μm do 50 μm [2, s. 158].

– *Analiza jakościowa* – ustalanie składu jakościowego substancji, czyli wykrywanie i identyfikacja niektórych lub wszystkich jej składników [2, s. 7].

– *Oznaczanie (analiza ilościowa)* – określanie ilościowej zawartości danego składnika w analizowanej substancji [2, s. 104].

– *Stężenie roztworu* – stosunek ilości substancji rozpuszczonej w roztworze do ilości substancji w całym roztworze [23, s. 391].

BAYESIAN METHOD FOR ESTIMATION OF CONCENTRATIONS ON THE BASIS OF SPECTROPHOTOMETRIC DATA

The paper is on a new method for spectrophotometric data processing, dedicated to monitoring-type applications in manufacturing and environment protection. In applications of this kind, a spectrophotometer is performing continually the same function (*e.g.*, it is measuring the spectrum of the same substance or the concentrations of its components, in the same range, with the same uncertainty), and the range of measurand variation is relatively limited and known *a priori*. The proposed Bayesian method for estimation of concentrations of the components of a (bio)chemical substance is based on the following assumptions: (1) the vector of concentrations is estimated on the basis of the spectrophotometric data representative of the absorption spectrum of the analysed substance; (2) the dependence of those data on the transmittance spectrum may be adequately modelled by means of a linear integral operator; (3) the dependence of the absorbance spectrum on the concentrations may be adequately modelled by means of the Lambert–Beer’s laws of absorption; (4) the reference spectra of the dominant components of the analysed substance are available; (5) appropriate statistical information on the concentrations and on the errors in the data is available. The metrological properties of the proposed method have been studied by means of semi-synthetic and real-world data. The results obtained enabled the authors to conclude that the proposed method is providing significantly better performance than the commonly used method of constrained least squares if the deviations of concentrations from their typical values do not exceed $\pm 20\%$.

Jacek J. FISZ*

MIKRO/NANOSPEKTROSKOPIA I OBRAZOWANIE FLUORESCENCYJNE W PRAWIDŁOWYM UJĘCIU: NANOMETROLOGIA**

W pracy przedstawiamy prawidłowe ujęcie mikro/nanospektroskopii fluorescencyjnej w świetle spolaryzowanym, we wzbudzeniach jedno- i wielofotonowych, prawidłowo sprzęgające podstawy optyki soczewek obiektywowych z podstawami spektroskopii fluorescencyjnej. Dyskutujemy przypadek mikro/nanospektroskopii konfokalnej oraz tzw. szerokiego pola, a także przypadek wzbudzeń falą zanikającą wykładniczo, próbujących nanowarstwy związków organicznych, nieorganicznych i układów hybrydowych. Wprowadzamy opis zmiennie-aperturowej mikro/nanospektroskopii fluorescencyjnej optycznie cienkich płasko zorganizowanych ośrodków.

1. WPROWADZENIE

Spektroskopia fluorescencyjna, poza technikami rozpraszania światła, jest jedną z ważniejszych metod spektroskopowych szeroko stosowanych w naukach biologicznych, medycznych, w farmacji, w nanotechnologii biomedycznej, a także w nanotechnologii materiałów organicznych, nieorganicznych i materiałów hybrydowych, mających zastosowania w dziedzinie fotowoltaiki czy w technologii (nano)sensorów i (nano)biosensorów [1–27]. Zacytowane tutaj odnośniki literaturowe są bardzo obszernymi opracowaniami autorskimi lub opracowaniami zbiorowymi, w których zacytowanych jest kilka tysięcy prac badawczych i przeglądowych, dyskutujących bardzo szerokie praktyczne zastosowania spektroskopii fluorescencyjnej oraz mikro/nanospektroskopii. Opracowania te, wraz z zacytowaną w nich literaturą, wskazują na ogromny rozwój technik mikro/nanospektropowych w okresie ostatnich trzydziestu lat, prowadzących do przełomowych odkryć i wdrożeń publikowanych w czasopiśmie o najwyższej randze – Cell, Science, Nature, Nature Biotechnology, Nature Methods, Nature Medicine, Nature Protocols czy Nature Photonics. Mikrospektrosko-

* Instytut Aleksandra Jabłońskiego, Instytut Fizyki, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu.

** Pamięć Aleksandra Jabłońskiego (1898–1980) i Marka Fisz (1910–1963).

pia fluorescencyjna stała się kluczowym narzędziem badawczym w takich obszarach, jak: (a) technologie nowoczesnych materiałów (nanostruktury związków organicznych, nieorganicznych i układów hybrydowych – np. kropki kwantowe czy nanorurki), (b) biologia molekularna (np. konformacje białka), (c) biologia komórki (np. starzenie komórek, śmierć komórek czy procesy nowotworzenia), (d) genetyka (np. manipulacja na genach). Należy do tego dołączyć także wszystkie obszary nauk medycznych (np. szybkie rozpoznawanie chorób, kontrola procesu leczenia z właściwym doбором stężenia leków) i farmacji (np. opracowywanie leków nowych generacji na bazie organicznych, nieorganicznych i hybrydowych nanostruktur, charakteryzujących się większą skutecznością w procesie leczenia przy zdecydowanej redukcji bądź przy prawie całkowitym wyeliminowaniu niepożądanych skutków ubocznych).

W odróżnieniu od tradycyjnej spektroskopii fluorescencyjnej, próbującej właściwości materiałów w skali makroskopowej (w sensie przestrzennym), techniki mikrospektroskopowe (a przy pewnych rozwiązaniach, np. przy „łamaniu” limitu dyfrakcyjnego Abbego lub przy wzbudzeniach falą zanikającą wykładniczo, stają się one już technikami nanoskopowymi) umożliwiają badania właściwości materiałów w skali przestrzennej mikroskopowej, a nawet nanoskopowej. Dzięki równoległemu szybkiemu rozwojowi elektronicznych metod rejestracji sygnałów optycznych, rozwojowi coraz czulszych detektorów światła, a także dzięki wprowadzaniu nowych i tańszych źródeł światła (diody emitujące światło czy małe lasery diodowe) potrzebnego do wzbudzeń fluorescencji, w bardzo szybkim tempie pojawiają się na rynku coraz czulsze i dokładniejsze mikroskopy fluorescencyjne. To z kolei natychmiast przekłada się na wzrost liczby nowych osiągnięć naukowych we wszystkich wcześniej wymienionych obszarach badań podstawowych i aplikacyjnych.

Sam rozwój urządzeń (elementów) technicznych wykorzystywanych w mikrospektroskopii fluorescencyjnej nie jest jednak wystarczającym czynnikiem potrzebnym do uzyskiwania lepszych (lub właściwych) wyników badań naukowych. Do pełnego sukcesu potrzebne jest jeszcze to, aby aparatura pomiarowa wykorzystywana w takich badaniach była zbudowana zgodnie z prawami optyki i z podstawami spektroskopii fluorescencyjnej w świetle spolaryzowanym. Uzyskiwane wyniki pomiarowe nie mogą być obarczone żadnymi systematycznymi błędami pomiarowymi, wynikającymi z błędnej konstrukcji aparatury lub z błędnej procedury wykonywania samych pomiarów. Z drugiej strony, opis mikrospektroskopii fluorescencyjnej i metody analizy uzyskiwanych danych pomiarowych muszą prawidłowo odzwierciedlać warunki fizyczne doświadczeń mikrospektroskopowych z użyciem obiektów o dużych aperturach numerycznych. Spełnienie wszystkich wymienionych tutaj czynników daje bardzo wysokie prawdopodobieństwo uzyskiwania ostatecznych wyników możliwie najdokładniej odzwierciedlających rzeczywiste właściwości badanych materiałów.

W serii prac [28–30] wykazaliśmy, że w zasadzie od samego początku rozwoju fluorescencyjnych technik mikrospektroskopowych czynione były istotne błędy, będące konsekwencją nieuwzględniania efektów optycznych wynikających z jednoczesne-

go wzbudzenia i detekcji emitowanego światła fluorescencji przy dużych aperturach numerycznych używanych obiektywów mikroskopowych. Chociaż w mikrospektroskopii fluorescencyjnej używane są obiektywy mikroskopowe o dużych aperturach numerycznych, w praktyce doświadczalnej technika ta była traktowana jak metoda doświadczalna próbująca badane materiały równoległymi (lub prawie równoległymi) wiązkami światła wzbudzającego fluorescencję i rejestrowanego światła fluorescencji [3–27]. Polaryzacyjna spektroskopia fluorescencyjna w świetle wiązek równoległych z jednej strony oraz w świetle wiązek zbieżnych (wzbudzanie) i rozbieżnych (emisja światła fluorescencji w ognisku) z drugiej strony wymagają zupełnie innego traktowania. Dotyczy to konstrukcji aparatury pomiarowej (np. mikroskopu fluorescencyjnego z przeznaczeniem do badań polaryzacyjnych), procedury realizacji pomiarów, a także opisu teoretycznego i analizy danych pomiarowych. Dotychczas stosowane w literaturze [3–27] modelowanie i analiza danych otrzymywanych z pomiarów czasowo-rozdzielczej mikroskopii fluorescencyjnej były w efekcie czynione w taki sposób, jakby połówkowe kąty stożka zbieżności światła skupianego przez obiektyw mikroskopowy oraz połówkowe kąty stożka detekcji („zbierania”) światła fluorescencji przez ten sam obiektyw były nie większe niż $15\text{--}20^\circ$ [28], podczas gdy w typowych pomiarach mikrospektroskopowych rzeczywiste wartości tych kątów występują w zakresie od 40° do prawie 70° . W przypadku mikrospektroskopii fluorescencyjnej we wzbudzeniach jednofotonowych prawidłowe rozważenie problemu wymaga uwzględnienia tego, że w przestrzeni laboratoryjnej (przed obiektywem mikroskopowym) jednokierunkowa liniowa polaryzacja wiązki światła wzbudzającego oraz jednokierunkowa liniowa polaryzacja wiązki światła fluorescencji rejestrowanego przez detektor muszą być rozważane w przestrzeni ogniska (po drugiej stronie obiektywu) jako wiązki stożkowe, zbieżna dla światła wzbudzającego i rozbieżna w przypadku „zbieranego” przez obiektyw światła emitowanej fluorescencji. W sensie polaryzacji światła obu wiązek ich jednokierunkowym liniowym polaryzaczom w przestrzeni laboratoryjnej, w przestrzeni ogniska odpowiadają dwa stożki rozkładów liniowych polaryzacji. Uwzględnienie tych efektów prowadzi do zasadniczej zmiany opisu czasowo-rozdzielczej polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej [29, 30].

W przypadku wzbudzeń dwu- lub wielofotonowych problem jest jeszcze bardziej złożony. Także i w tym przypadku efekt dużych apertur numerycznych obiektywów nie był uwzględniany [3–27] i wyniki badań przeprowadzanych do tej pory były obciążone poważnymi błędami. Jednak ten przypadek mikrospektroskopii fluorescencyjnej jest szczególnie i reprezentuje on szerszą klasę badań mikrospektroskopowych, tzw. nieliniową mikrospektroskopię optyczną (wielofotonowo wzbudzana fluorescencja, rozpraszanie ramanowskie dowolnego rzędu, generacja drugiej lub trzeciej harmonicznej). Przypadek ten wymaga zastanowienia się nad problemem samego ogniska, tj. nad strukturą rozkładu pola elektromagnetycznego w ognisku oraz nad stanem polaryzacji światła (pola elektromagnetycznego) w ognisku (a dokładniej w różnych punktach ogniska). Aby prawidłowo rozważyć ten problem należy cofnąć się w dzie-

dzinie optyki o dokładnie 50 lat, tj. do pracy opublikowanej w 1959 r. przez Richardsa i Wolfa [31]. W pracy tej przedstawiono wektorowy opis dyfrakcji równoległej wiązki liniowo spolaryzowanego spójnego światła na soczewce obiektywowej. Wyniki obliczeń otrzymane przez Richardsa i Wolfa [31] wyraźnie wykazują, że w ognisku tej soczewki pole elektromagnetyczne ma rozkład niejednorodny i w każdym punkcie ogniska pole elektromagnetyczne ma ogólnie trzy niezerowe składowe kartezjańskie, a składowe te są w zależności fazowej. Jeśli idzie o polaryzację światła w ognisku, jego polaryzacja może być liniowa, eliptyczna lub kołowa w zależności od wyboru punktu w obszarze ogniska oraz od wyboru płaszczyzny rzutu rozkładu pola elektromagnetycznego. W celu prawidłowego spojrzenia na dwufotonowo wzbudzaną fluorescencję w ognisku należy ponownie cofnąć się w czasie, tym razem o 39 lat, i sięgnąć do serii prac McClaina [32–34], w których przedstawiona jest systematyczna dyskusja problemu polaryzacji fluorescencji przy wzbudzeniach dwufotonowych równoległą wiązką światła o polaryzacji liniowej, kołowej oraz eliptycznej. Absorpcja dwufotonowa opisana jest tensorem drugiego rzędu i z tego względu stan polaryzacji światła wzbudzającego ma znaczenie zasadnicze. W zależności od stanu polaryzacji światła próbkowane są inne kombinacje liniowe elementów tego tensora [32–34], a które z kolei są amplitudami w liniowych kombinacjach funkcji korelacji opisujących dynamikę obrotową wzbudzonych molekuł fluorescencyjnych. Oczywiście jest zatem, że prawidłowe spojrzenie na mikrospektroskopię fluorescencyjną przy wzbudzeniach dwufotonowych wymaga połączenia wyników prac [31] i [32–34], gdyż każdy punkt w obszarze ogniska jest inną realizacją (w sensie stanu polaryzacji światła wzbudzającego w tym punkcie) polaryzacyjnej spektroskopii fluorescencyjnej przy wzbudzeniach dwufotonowych. Problem ten dotyczy także przypadku ogólnego, tj. wzbudzeń wielofotonowych [35].

W tym opracowaniu przedstawiamy prawidłowe spojrzenie na polaryzacyjną mikro- i nanospektroskopię fluorescencyjną, przy wzbudzeniach jedno- i wielofotonowych, naprawiając dotychczasowy zły literaturowy stan wiedzy. Omawiamy podstawy czasowo-rozdzielczej polaryzacyjnej spektroskopii fluorescencyjnej dla przypadku tradycyjnego, w którym światło wzbudzające fluorescencję oraz światło fluorescencji dochodzące do detektora są równoległymi lub prawie równoległymi wiązkami światła. Dyskutujemy sposoby rejestracji i analizy kinetycznych zaników fluorescencji oraz problem polaryzacji fluorescencji dla wzbudzeń jednofotonowych oraz dla uproszczonej sytuacji dla wzbudzeń dwu-, trój- i czterofotonowych. Omawiamy także szczególny przypadek spektroskopii fluorescencyjnej, w którym fluorescencja jest wzbudzana w cienkich warstwach, ośrodkach (50–300 nm) przez tzw. falę zanikającą wykładniczo. Ten rodzaj wzbudzeń pojawia się w zjawisku całkowitego wewnętrznego odbicia światła wzbudzającego na granicy ośrodków podłoża i próbki. Po tym wprowadzeniu do podstaw tradycyjnej spektroskopii fluorescencyjnej dyskusję koncentrujemy na czasowo-rozdzielczej mikro- i nanospektroskopii fluorescencyjnej w świetle spolaryzowanym. Szczególną uwagę poświęcamy wzbudzeniom jednofotonowym, gdyż jest

to przypadek najbardziej rozpowszechniony w różnych technikach mikrospektroskopii fluorescencyjnej. Problem polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej opisu-
jemy na dwa sposoby, tj. w ujęciu optyki geometrycznej oraz w ujęciu, w którym
ogniskowanie światła wzbudzającego opisywane jest teorią Richardsa i Wolfa (dy-
frakcyjny opis ogniskowania światła) [31]. Pokazujemy, że ze względu na efekty pola-
ryzacji oba podejścia są ilościowo równoważne, oraz że prawidłowo opisują ekspery-
menty mikrospektroskopii fluorescencyjnej. Tym samym pokazujemy, że tradycyjny
(literaturowy) sposób opisu i analizy wyników takich doświadczeń jest w konflikcie
z podstawami optyki soczewek obiektywowych i z podstawami spektroskopii fluore-
scencyjnej w świetle spolaryzowanym. Podobny problem dyskutujemy dla wzbudzeń
dwu- i trójfotonowych z ograniczeniem do najprostszego przypadku, tj. do podłużnych
fluoroforów, dla których tensor absorpcji wielofotonowej jest diagonalny i element
tego tensora, odpowiadający osi długiej fluoroforów, jest elementem dominującym
(a w zasadzie jedynym niezerowym). Założenie to robimy dla uproszczenia dyskusji
oraz dla wskazania maksymalnych efektów polaryzacyjnych, jakie mogą pojawić się
w mikrospektroskopii fluorescencyjnej przy wzbudzeniach wielofotonowych. Przed-
ostatni rozdział tego opracowania poświęcamy krótkiej dyskusji czasowo-rozdzielczej
mikrospektroskopii fluorescencyjnej w świetle spolaryzowanym w przypadku optycz-
nie cienkich makroskopowo uporządkowanych warstw ośrodków organicznych, nie-
organicznych lub ośrodków zbudowanych z układów hybrydowych. Proponujemy
technikę mikrospektroskopową przy zmiennie-aperturowych czasowo-rozdzielczych
pomiarach polaryzacyjnych. W ostatnim rozdziale przedstawiamy bardzo zwięzłe
podsumowanie najważniejszych rezultatów tego opracowania. Wskazujemy także na
wiele możliwych rozwinięć pewnych idei omawianych w tym opracowaniu z wyko-
rzystaniem innych, bardzo istotnych, koncepcji z dziedziny metrologii fotonicznej.

W naszym przekonaniu materiał przedstawiony w tym opracowaniu nie tylko
wprowadza prawidłowe spojrzenie na polaryzacyjną mikrospektroskopię i obrazowa-
nie fluorescencyjne. Materiał ten wskazuje także na dalsze możliwości rozwoju tych
technik oraz wskazuje szerokie perspektywy ich praktycznych zastosowań w inżynie-
rii biomedycznej, w badaniach nad technologiami nowoczesnych materiałów oraz
w szeroko rozumianej dziedzinie badań nano(bio)technologicznych.

2. SPEKTROSKOPIA FLUORESCENCYJNA PRZY WZBUDZENIACH JEDNO- I WIELOFOTONOWYCH

2.1. WPROWADZENIE

W tej części pracy przedyskutujemy podstawowe zagadnienia dotyczące spektro-
skopii fluorescencyjnej w świetle spolaryzowanym, przy wzbudzeniach jedno- i wie-
lofotonowych. Przypadek spektroskopii fluorescencyjnej przy wzbudzeniach jedno-

fotonowych jest przypadkiem powszechnie stosowanym od kilkudziesięciu lat w badaniach podstawowych biofizycznych, biochemicznych, chemicznych (włączając do tego chemię fizyczną i chemię analityczną), biologicznych, biotechnologicznych i medycznych [2–27]. Spektroskopia fluorescencyjna przy wzbudzeniach wielofotonowych jest zdecydowanie mniej rozpowszechniona, choć charakteryzuje się ona cennymi cechami w porównaniu do przypadku wzbudzeń jednofotonowych [3, 9]. Wynika to najprawdopodobniej z tego, że jest ona trudniejsza w opisie. Proces absorpcji dwufotonowej w świetle spolaryzowanym jest opisywany przez tensor drugiego rzędu [9, 32–35, 37–42]. Podstawową, bardzo pozytywną cechą techniki wzbudzeń wielofotonowych jest to, że wzbudzeń elektronowych fluoroforów dokonuje się przy większych długościach fal, znacząco oddalonych od zakresu ultrafioletowego. Promieniowanie to ma często bardzo destrukcyjny wpływ na same fluorofory, a szczególnie na środowisko, którego właściwości są próbkowane techniką fluorescencyjną. Ma to istotne znaczenie w badaniach biologicznych, medycznych i farmaceutycznych, w których używane materiały organiczne są szczególnie wrażliwe na destrukcyjny charakter promieniowania ultrafioletowego. Zdecydowana większość materiałów biomedycznych zawiera wiele naturalnych grup chromoforowych (np. w białkach) łatwo wzbudzanych przez światło z zakresu ultrafioletowego i emitujące światło fluorescencji w zakresach falowych, przy których próbkowane są sondy fluorescencyjne wprowadzone do takich materiałów. Przez używanie techniki wzbudzeń wielofotonowych w większości przypadków doświadczalnych trudności te są zdecydowanie redukowane lub nawet całkowicie eliminowane. Wzbudzenia wielofotonowe mają jeszcze jedną bardzo istotną cechę. Dzięki dokonywaniu wzbudzeń, przy zwielokrotnionej wartości długości fali światła w porównaniu do wzbudzeń jednofotonowych, znacząco redukowany jest efekt rozpraszania światła wzbudzającego na tzw. dużych obiektach badanej próbki. Ma to duże znaczenie w dziedzinie badań biomedycznych, a zwłaszcza w badaniach stopnia polaryzacji i czasowo-rozdzielczej depolaryzacji fluorescencji.

Materiał przedstawiony w tej części pracy dotyczy tradycyjnej spektroskopii fluorescencyjnej, tj. spektroskopii z użyciem (w przybliżeniu) równoległych wiązek światła wzbudzającego i równoległych wiązek światła fluorescencji (docierającego do detektora). Molekuły fluorescencyjne, dzięki czułości na wiele fizykochemicznych właściwości swojego najbliższego otoczenia (nanootoczenia), dostarczają istotnych informacji o lokalnej polarności, polaryzowalności, lepkości i kwasowości próbkowanych ośrodków molekularnych. Tak więc tradycyjna spektroskopia fluorescencyjna może być także traktowana jako jedna z technik nanometrologii molekularnej. Jednakże technika ta dostarcza informacji o nanowłaściwościach ośrodków molekularnych, uśrednionej po bardzo dużych obszarach przestrzennych badanej próbki, a więc uśrednionej po ogromnej liczbie molekuł fluorescencyjnych z ich nanootoczeniami.

Materiał dyskutowany w tym rozdziale traktujemy jako bardzo skrótowy opis spektroskopii fluorescencyjnej, który stosuje się także do mikro/nanospektroskopii ze względu na niezmienniczość właściwości fluoroforów i ich otoczeń, niezależnie od

tego czy są one próbkowane w sposób tradycyjny, czy też z użyciem soczewek obiektywowych (obiektywów mikroskopowych) o dużych aperturach numerycznych. Właściwości układów molekularnych (w przybliżeniu dalekiego pola) nie mogą być zależne od sposobu ich „obserwacji” (zakładamy tutaj całkowitą jednorodność próbki). Jeśli tak jest, oznacza to, że jedna z używanych technik doświadczalnych obarczona jest dużym błędem systematycznym.

2.2. SPEKTROSKOPIA FLUORESCENCYJNA PRZY WZBUDZENIACH JEDNOFOTONOWYCH

2.2.1. KINETYKA ZANIKU FLUORESCENCJI

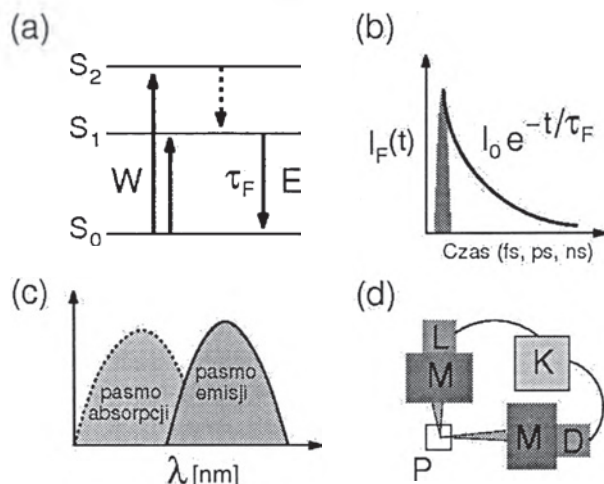
W molekularnej spektroskopii fluorescencyjnej proces wzbudzania molekuł oraz spontaniczna emisja światła fluorescencji opisywane są schematem Jabłońskiego [1, 43]. Uproszczona wersja tego schematu, uwzględniająca jedynie singletowe stany energetyczne S ; bez uwzględnienia stanów tripletowych T , pokazana jest na rysunku 2.1(a). Układ molekularny jest wzbudzany światłem o natężeniu impulsowym (rys. 2.1(b)) z podstawowego stanu elektronowego S_0 do wzbudzonego stanu elektronowego S_1 . Molekuły mogą być jednocześnie wzbudzane do wyższego stanu elektronowego S_2 , jeśli przy długości fali światła wzbudzającego oba pasma absorpcji molekuł nakrywają się. Molekuły wzbudzone do wyższego stanu wzbudzonego relaksują bezpromieniście do niższego stanu S_1 (konwersja wewnętrzna). Molekuły będące w stanie S_1 emitują światło fluorescencji w zakresie widmowym charakterystycznym dla każdego fluoroforu (rys. 2.1(c)) i przechodzą do podstawowego stanu energetycznego S_0 . Czas przebywania molekuł w stanie S_1 określa się mianem średniego czasu życia molekuł w stanie wzbudzonym τ_F . Czas ten jest także określany mianem średniego czasu zaniku (gaśnięcia) fluorescencji (zanik fluorescencji pokazany na rys. 2.1(b)). Zakładając, że fluorescencja jest wzbudzana impulsem typu delta Diraca, oraz przyjmując, że depopulacja stanu wzbudzonego S_1 związana jest jedynie z przejściami promienistymi molekuł do stanu podstawowego S_0 (przejście z emisją światła fluorescencji) i z przejściami bezpromienistymi, zanik mierzonej fluorescencji można opisać zależnością [2–4]:

$$I_{\delta}(t) = I_0 \exp(-t / \tau_F) \quad (2.1)$$

Z równania (2.1) wynika znaczenie średniego czasu gaśnięcia fluorescencji τ_F . (W dalszej części pracy wskażemy doświadczalne metody rejestracji takich sygnałów fluorescencji). Jest on rozumiany jako czas, po którym początkowe natężenie światła fluorescencji I_0 (wyemitowane w chwili czasu $t = 0$) zmaleje o czynnik e . Jak już wspomnieliśmy, czas gaśnięcia fluorescencji τ_F związany jest z pomniejszaniem populacji molekuł w stanie wzbudzonym S_1 (w funkcji czasu) w wyniku procesu promienistego, jakim jest emitowana fluorescencja, oraz z procesów bezpromienistych.

Odwrotność tego czasu jest kinetyczną szybkością depopulacji stanu wzbudzonego i jest ona równa sumie kinetycznych szybkości przejść promienistych k_R oraz kinetycznych szybkości przejść bezpromienistych k_{NR} , tj.

$$1/\tau_F = k_R + k_{NR} \quad (2.2)$$



Rys. 2.1. Spektroskopia fluorescencyjna przy wzbudzeniach jednofotonowych
Fig. 2.1. One-photon-excitation fluorescence pectrcsopy

W czasowo-rozdzielczej spektroskopii fluorescencyjnej układ molekularny wzbudzany jest światłem impulsowym (np. impuls wskazany na rys. 2.1(b)). Każdy punkt tego impulsu jest źródłem fluorescencji mierzonej w dowolnej późniejszej chwili. Natężenie mierzonego światła fluorescencji jest splotem kształtu impulsu laserowego z modelowym zanikiem fluorescencji przy wzbudzeniu impulsem typu delta Diraca, tj.

$$I(t) = R(t) \otimes I_\delta(t) = \int_{t'=0}^t R(t-t') I_\delta(t') dt' \quad (2.3)$$

W większości przypadków doświadczalnych opisywanie gaśnięcia fluorescencji jednym czasem zaniku jest zbyt uproszczeniem. W takich przypadkach zanik fluorescencji modeluje się zanikiem wielowykładniczym [2–4]

$$I(t) = C \sum_{i=1}^N \alpha_i \exp(-t/\tau_{F,i}) \quad (2.4)$$

gdzie amplitudy α_i spełniają warunek unormowania

$$\sum_{i=1}^n \alpha_i = 1 \quad (2.5)$$

a C jest czynnikiem uwzględniającym wszystkie stałe wartości (np. natężenie impulsu światła wzbudzającego, czułość detektora, wydajność kwantową fluorescencji). W przypadku gdy nawet uwzględnienie czterech składników w podanym równaniu nie daje dobrego dopasowania numerycznego do doświadczalnego zaniku fluorescencji, zanik fluorescencji modeluje się ciągłym rozkładem czasów gaśnięcia [2–4], tj. przez całkę

$$I(t) = \int_0^{\infty} \alpha(\tau_F) \exp(-t/\tau_F) d\tau_F \quad (2.6)$$

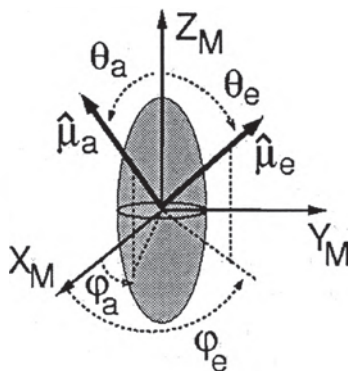
Poprawność sposobu modelowania kształtu zaniku natężenia światła fluorescencji jest kontrolowana dobrocią dopasowania zaniku modelowego (po jego splocie z kształtem impulsu laserowego) do zaniku zmierzonego. Kształt modelowego zaniku natężenia światła fluorescencji odzwierciedla właściwości ośrodka molekularnego próbkowanego molekułami (sondami) fluorescencyjnymi (np. niejednorodność ośrodka w sensie jego lokalnych właściwości – polarność, polaryzowalność, lepkość czy zasadowość).

W praktyce doświadczalnej pomiary emitowanej fluorescencji realizowane są najczęściej według schematu układu pomiarowego pokazanego na rysunku 2.1(d). Badana próbka umieszczana jest w kuwecie wykonanej ze szkła lub z kwarcu. Wybór rodzaju kuwety zależy od długości fali światła wzbudzającego. Światło wzbudzające rozchodzi się w kierunku prostopadłym do kuwety. Za pomocą monochromatora M wybierana jest długość fali światła wzbudzającego. Światło fluorescencji mierzone jest w kierunku prostopadłym w stosunku do kierunku wzbudzania próbki. Monochromator M w kanale detekcyjnym wybiera wąski zakres widmowy emitowanej fluorescencji, której natężenie mierzone jest przez detektor D . Pomiar natężenia światła fluorescencji może być zautomatyzowany i może być sterowany komputerem. Przy ustalonej długości fali światła wzbudzającego zmiany ustawień monochromatora w kanale detekcyjnym (z każdorazowym pomiarem natężenia fluorescencji) umożliwiają zmierzenie pasma emitowanej fluorescencji. W przypadku odwrotnym, przy ustalonej długości fali światła w kanale detekcyjnym, zmiany ustawień monochromatora w kanale detekcyjnym (z każdorazowym pomiarem sygnału fluorescencji) umożliwiają zmierzenie pasma wzbudzenia fluorescencji, które swoim kształtem powinno odzwierciedlać kształt pasma absorpcji fluoroforów. Podobne doświadczenia przeprowadzone w technice czasowo-rozdzielczej umożliwiają zmierzenie czasowo-rozdzielczych zaników widm emisji i widm wzbudzenia. Pomiary takie mają szczególne znaczenie w sytuacjach, gdy w badanym materiale molekularnym (najczęściej biologicznym) znajduje się kilka rodzajów fluoroforów, różniących się kształtem

i położeniem pasm absorpcji i emisji oraz różniących się czasami gaśnięcia fluorescencji. W próbce może być jeden rodzaj fluoroforu, ale umiejscowiony w różnych obszarach próbki, istotnie różniących się lokalnymi właściwościami fizykochemicznymi (np. ten sam fluorofor umiejscowiony wewnątrz membrany i na zewnątrz membrany, w zawiesinie membran w roztworze). Wspomniane tutaj pomiary ułatwiają rozróżnienie formy fluoroforów lub lokalnych właściwości próbkowanego fluorescencyjnie ośrodka przez zastosowanie odpowiednich metod numerycznych do globalnych analiz czasowo-rozdzielczej spektroskopii fluorescencyjnej.

2.2.2. POLARYZACJA FLUORESCENCJI

Spektroskopia fluorescencyjna charakteryzuje się jeszcze jedną istotną cechą, bardzo ważną ze względu na próbkowanie lepkości i organizację ośrodków molekularnych. Cechą tą jest stopień polaryzacji emitowanej fluorescencji. Polaryzacja fluorescencji wynika z tego, że akty absorpcji światła i akty emisji fluorescencji opisywane są, w przybliżeniu dipolowym elektrycznym, przez dipolowe momenty przejścia absorpcji i emisji (liniowe oscylatory przejść elektronowych). Kierunki absorpcyjnych i emisyjnych momentów przejść dla danej molekuly mają konkretne orientacje. Dla molekuł o dużej symetrii kierunki te najczęściej pokrywają się z osiami o największej symetrii. Dla molekuł o małej symetrii oba kierunki mogą przybierać dowolne orientacje. Na rysunku 2.2 przedstawiona jest schematycznie molekula fluorescencyjna z wybranym molekularnym układem odniesienia $X_M Y_M Z_M$. Układ odniesienia wybiera się, w taki sposób, aby oś Z_M była osią o najwyższej symetrii molekuly fluorescencyjnej, przynajmniej w sensie hydrodynamicznym.

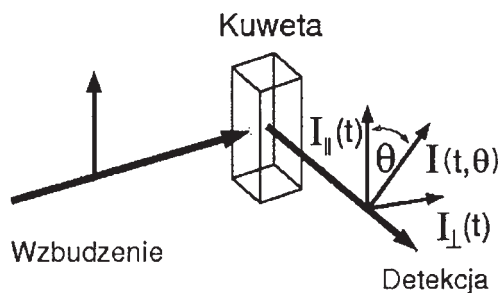


Rys. 2.2. Kierunki liniowych oscylatorów przejść elektronowych absorpcyjnych i emisyjnych
Fig. 2.2. Directions of the absorption and emission linear oscillators

W przypadku molekuł przybliżanych (w sensie hydrodynamicznym) wydłużoną elipsoidą obrotową oś Z_M pokrywa się z osią długą elipsoidy [2–4]. Orientacje katowe kierunków (danych wektorami jednostkowymi) dipoli momentów przejścia absorpcji

$\hat{\mu}_a$ i emisji $\hat{\mu}_e$ definiuje się w układzie molekularnym przez podanie pary dwóch kątów sferycznych (θ_a, φ_a) oraz (θ_e, φ_e) , wskazanych na rysunku 2.2. Jak już wspomnieliśmy, dla molekuł o wysokiej symetrii, zgodnie z teorią grup, oba kierunki można przewidzieć, a tym samym można przewidzieć wartości kątów polarnych (θ_a, φ_a) oraz (θ_e, φ_e) . Dla molekuł fluorescencyjnych o niskiej symetrii lub molekuł całkowicie niesymetrycznych, wartości kątów θ_a oraz θ_e , a także wartość różnicy $\varphi_a - \varphi_e$, można wyznaczyć z czasowo-rozdzielczych pomiarów zaniku polaryzacji światła fluorescencji w lepkich roztworach lub z pomiarów natężenia spolaryzowanego światła fluorescencji tych molekuł w sztywnych matrycach polimerowych, zakładając, że matryce te nie mają żadnych wnęk – wolnych przestrzeni [2–4, 6, 9, 17].

Stopień polaryzacji fluorescencji oraz jego zmianę w funkcji czasu po wzbudzeniu impulsowym (depolaryzacja fluorescencji) można określać z pomiarów polaryzacyjnych, przeprowadzonych według standardowego schematu doświadczalnego pokazanego na rysunku 2.3. Niech wskazana na rysunku 2.3 kuweta zawiera roztwór molekuł fluorescencyjnych, zawiesinę membran zawierających fluorofory lub makromolekuły (np. białka) z naturalnymi chromoforami, wzbudzając fluorescencję światłem liniowo spolaryzowanym, w kanale detekcyjnym mierzymy zaniki natężenia światła spolaryzowanej fluorescencji. Wyboru kierunku polaryzacji mierzonego natężenia światła fluorescencji dokonujemy za pomocą analizatora (liniowego polaryzatora).



Rys. 2.3. Polaryzacyjna spektroskopia fluorescencyjna
Fig. 2.3. Polarized fluorescence spectroscopy

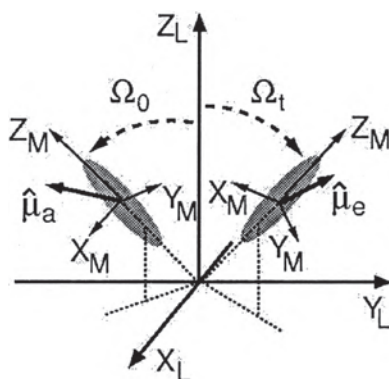
Zanik w czasie natężenia spolaryzowanej fluorescencji, mierzony przy dowolnych orientacjach kierunków liniowej polaryzacji światła wzbudzającego i mierzonego natężenia światła fluorescencji, zdefiniowany jest następująco [44–51]:

$$I(t) = CPh(t) \int \int_{\Omega_0 \Omega_t} f(\Omega_0) P_{ab}(\Omega_0) p(\Omega_0; \Omega_t, t) P_{em}(\Omega_t) d\Omega_0 d\Omega_t \quad (2.7)$$

We wzorze tym C jest czynnikiem uwzględniającym wszystkie stałe wartości, a $Ph(t)$ (patrz równanie (2.4)) opisuje kinetyczny zanik fluorescencji. Podwójna całka związana jest z uśrednieniem statystycznym po wszystkich możliwych orientacjach

molekuł fluorescencyjnych w chwili wzbudzenia tych molekuł impulsem laserowym (kąty Eulera Ω_0) oraz po wszystkich możliwych orientacjach molekuł fluorescencyjnych w chwili detekcji światła fluorescencji (zespół trzech kątów Eulera Ω_t). $P_{ab}(\Omega_0)$ określa prawdopodobieństwo wzbudzenia fluoroforu w konkretnym ustawieniu polaryzatora w kanale wzbudzenia, natomiast $P_{em}(\Omega_t)$ jest proporcjonalne do prawdopodobieństwa zarejestrowania fotonu fluorescencji w konkretnym ustawieniu analizatora w kanale detekcyjnym. Funkcja $f(\Omega_0)$ opisuje unormowany do jedności rozkład kątowy molekuł fluorescencyjnych w badanym materiale. Jeśli rozkład fluoroforów jest izotropowy w skali makroskopowej i mikroskopowej $f(\Omega_0) = 1/8\pi^2$. Jeżeli rozkład fluoroforów jest makroskopowo izotropowy, ale jest rozkładem anizotropowym w sensie lokalnym próbkowanego materiału (np. fluorofory umieszczone w membranach lub fluorofory wbudowane w białka, lub przyłączone do biopolimerów (np. DNA)), funkcja rozkładu $f(\Omega_0)$ jest lokalnie anizotropowa.

Dynamika obrotowa wzbudzonych fluoroforów jest opisana czasowo zależnym propagatorem (funkcją Greena) $p(\Omega_0; \Omega_t, t)$, opisującym prawdopodobieństwo warunkowe znalezienia fluoroforu w czasie $t > 0$ o orientacji kątowej Ω_t pod warunkiem, że w chwili $t = 0$ jego orientacja kątowa była dana zespołem trzech kątów Eulera Ω_0 , jak pokazano to na rysunku 2.4.



Rys. 2.4. Dynamika obrotowa molekuł fluorescencyjnych
Fig. 2.4. Rotational dynamics of fluorophores

Postać tego propagatora znajduje się z rozwiązania równania dyfuzji obrotowej, izotropowej w przypadku roztworów i ograniczonej potencjałem porządkującym, jeśli fluorofory znajdują się w membranach lub są przyłączone do makromolekuł lub do biopolimerów. Wzór (2.7) ma charakter ogólny i stosuje się do roztworów, zawiesiny układów molekularnych o lokalnym uporządkowaniu, zawiesiny (bio)makromolekuł czy (bio)polimerów, a także do makroskopowo uporządkowanych układów molekularnych (płaskie membrany, uporządkowane polimery, warstwy Langmuira–Blodgett, powierzchnie i granice faz ośrodków, do których są zaadsorbowane obiekty zawiera-

jące grupy chromoforowe), a także stosuje się do badania reakcji fotochemicznych fluoroforów umieszczonych w wymienionych układach molekularnych [3–17, 44–51]. Wzór ten stosuje się także do opisu polaryzacyjnej spektroskopii fluorescencyjnej we wzbudzeniach dwu- i wielofotonowych [42].

W przypadku materiałów molekularnych izotropowych w skali makroskopowej (roztwory, zawiesiny membran, roztwory makromolekuł lub biopolimerów, a także zawiesiny komórek biologicznych), wzór (2.7) sprowadza się do postaci [2–4]:

$$I(t, \theta) = C \left[Ph(t) + \frac{4}{5} P_2(\theta) W(t) Ph(t) \right], \quad (2.8)$$

gdzie

$$P_2(\theta) = \frac{3}{2} \cos^2 \theta - \frac{1}{2}, \quad (2.9)$$

jest wielomianem Legendrea drugiego rzędu [53]. Kąt θ jest kątem między kierunkiem polaryzacji światła wzbudzającego i wybranym kierunkiem polaryzacji mierzonego zaniku fluorescencji (patrz rys. 2.3). Funkcja $W(t)$, przybliżana najczęściej zanikiem wielowykładniczym

$$W(t) = \sum_{j=1}^M b_j \exp(-t/\tau_{R,j}) \quad (2.10)$$

opisuje dynamikę obrotową wzbudzonych fluoroforów, a czasy $\tau_{R,j}$ są czasami relaksacji obrotowej fluoroforów. W modelu dyfuzji obrotowej czasy te wyrażone są przez odpowiednie kombinacje składowych tensora dyfuzji [3–4]. Zakładając jednego rodzaju fluorofor w próbce oraz jednorodność próbki w sensie lepkości, funkcja $W(t)$ ma zanik pięciowykładniczy dla rotora asymetrycznego, trójwykładniczy dla rotora symetrycznego (elipsoida obrotowa; tensor dyfuzji jest diagonalny i ma dwie różne składowe, równoległą i prostopadłą względem osi długiej molekuly) oraz jest zanikiem jednowykładniczym dla rotora sferycznie symetrycznego (tensor dyfuzji jest skalarem). We wszystkich tych modelach współczynniki b_j wyrażone są przez odpowiednie kombinacje funkcji trygonometrycznych parametryzowanych kątami sferycznymi, opisującymi orientację absorpcyjnego i emisyjnego momentu przejścia elektronowego w molekuule fluorescencyjnej, oraz przez odpowiednie kombinacje składowych tensora dyfuzji. W przypadku rotora symetrycznego, jak już wspomnieliśmy, ewolucja czasowa funkcji korelacji $W(t)$ jest trójwykładnicza

$$W(t) = \sum_{i=0}^2 R_i(t) T_i(\theta_a, \theta_e, \varphi_a - \varphi_e) \quad (2.11)$$

gdzie molekularne funkcje korelacji $R_i(t)$ ($i = 0, 1, 2$) mają postać [3, 4]:

$$R_0(t) = \exp[-6D_{\perp}t] \quad (2.12)$$

$$R_1(t) = \exp[-(5D_{\perp} + D_{\square})t] \quad (2.13)$$

$$R_2(t) = \exp[-(2D_{\perp} + 4D_{\square})t] \quad (2.14)$$

oraz

$$T_0(\theta_a, \theta_e) = P_2(\theta_a)P_2(\theta_e) \quad (2.15)$$

$$T_1(\theta_a, \theta_e, \varphi_a - \varphi_e) = \frac{3}{4} \sin 2\theta_a \sin 2\theta_e \cos(\varphi_a - \varphi_e) \quad (2.16)$$

$$T_2(\theta_a, \theta_e, \varphi_a - \varphi_e) = \frac{3}{4} \sin^2 \theta_a \sin^2 \theta_e \cos 2(\varphi_a - \varphi_e) \quad (2.17)$$

W podanych równaniach $D_{\perp} = D_{xx} = D_{yy}$ oraz $D_{\square} = D_{zz}$ są dwoma składowymi tensora dyfuzji obrotowej. Jeżeli $D_{\perp} = D_{\square} = D$ (rotor sferycznie symetryczny), $W(t)$ ma zanik jednowykładniczy, z czasem relaksacji $\tau_R = 1/(6D)$.

W doświadczeniach czasowo-rozdzielczej polaryzacyjnej spektroskopii fluorescencyjnej dokonuje się pomiarów dwóch podstawowych składowych natężenia emitowanej fluorescencji, tj. składowej o kierunku polaryzacji zgodnej z kierunkiem polaryzacji światła wzbudzającego oraz składowej prostopadłej, jak to pokazano na rysunku 2.3. Pierwsza składowa mierzona jest przy kącie $\theta = 0^\circ$, a druga przy kącie $\theta = 90^\circ$. Podstawiając wartości tych kątów do równania (2.8), otrzymujemy wzory opisujące ewolucję czasową obu zaników natężenia światła spolaryzowanej emisji fluorescencji, tj. [2–4]:

$$I_{\square}(t) = C \left[Ph(t) + \frac{4}{5} W(t) Ph(t) \right] \quad (2.18)$$

$$I_{\perp}(t) = C \left[Ph(t) - \frac{2}{5} W(t) Ph(t) \right] \quad (2.19)$$

Ze wzorów tych można otrzymać wyrażenie opisujące zanik całkowitego natężenia emitowanej fluorescencji. Całkowite natężenie światła fluorescencji definiuje się jako sumę trzech składowych spolaryzowanych. Ponieważ obie składowe prostopadłe względem kierunku fotoselekcji fluoroforów światłem wzbudzającym są sobie równe, zanik w czasie całkowitego natężenia światła fluorescencji definiuje się jako [2–4]

$$I_{\text{tot}}(t) = I_{\square}(t) + 2I_{\perp}(t) \quad (2.20)$$

Biorąc pod uwagę definicje obu składowych spolaryzowanych (równania (2.18) i (2.19), z podanego wzoru otrzymuje się wyrażenie

$$I_{\text{tot}}(t) = 3CPh(t) \quad (2.21)$$

które mówi, że zanik całkowitego natężenia emitowanej fluorescencji zależy jedynie od kinetycznej ewolucji stanu wzbudzonego. Z tego powodu analiza tego zaniku umożliwia określenie czasu lub czasu kinetycznego gaśnięcia fluorescencji. Warto tutaj nadmienić, że wzory (2.18) i (2.19) mają dwa człony. Pierwszy opisuje kinetyczną ewolucję stanu wzbudzonego, czyli depopulację stanu wzbudzonego wynikającą jedynie z kinetycznej relaksacji fluoroforów do stanu podstawowego. Drugi człon opisuje kinetyczno-dynamiczną ewolucję stanu wzbudzonego. W sensie dynamicznym drobiny przebywające w stanie wzbudzonym mogą obrócić się w stosunku do kierunku toru detekcji fluorescencji w taki sposób, że jeśli wyemitują światło fluorescencji, nie będzie ono zarejestrowane przez detektor. Jednakże takie akty emisji (nierejestrowane przez detektor) będą pomniejszały liczbę fluoroforów w stanie wzbudzonym, powodując w efekcie pozorne skrócenie średniego czasu życia molekuł fluorescencyjnych w stanie wzbudzonym. Z tego powodu analizowanie zaniku, opisanego wzorem (2.21), daje prawdziwą informację o czasie życia stanu wzbudzonego fluoroforów.

Fizycznie kinetyczny zanik fluorescencji, opisywany przez pierwszy człon w ogólnym wzorze (2.8), może być rejestrowany bezpośrednio przez przeprowadzenie pomiaru zaniku natężenia światła fluorescencji pod takim kątem θ (często nazywanym kątem magicznym θ_{mag}), przy którym drugi człon nie daje żadnego wkładu do mierzonego sygnału światła fluorescencji. Zgodnie ze wzorem (2.9), wymóg ten prowadzi do warunku $P_2(\theta_{\text{mag}}) = 0$. Warunek ten zwraca wartość kąta magicznego jako $\theta_{\text{mag}} = 54,7^\circ$, a sam zanik natężenia fluorescencji o takim kącie detekcji ma postać [2–4, 6, 16, 17]

$$I_{\text{mag}}(t) = CPh(t) \equiv \frac{1}{3} I_{\text{tot}}(t) \quad (2.22)$$

Podstawową wielkością opisującą efekt depolaryzacji emitowanego światła fluorescencji jest anizotropia emisji, w której anizotropia emitowanej fluorescencji (różnica składowej równoległej i prostopadłej) jest normowana względem całkowitego natężenia emitowanego światła fluorescencji, tj. [2–4, 51]

$$r(t) = \frac{I_{\parallel}(t) - I_{\perp}(t)}{I_{\text{tot}}(t)} \equiv \frac{I_{\parallel}(t) - I_{\perp}(t)}{3I_{\text{mag}}(t)} \quad (2.23)$$

Biorąc pod uwagę wyrażenia matematyczne, opisujące zaniki natężeń fluorescencji występujących w poprzednim wzorze, otrzymuje się

$$r(t) = 0,4W(t) = 0,4 \sum_{j=1}^M b_j \exp(-t/\tau_{R,j}) \quad (2.24)$$

Z zależności (2.24) wynika, że anizotropia emisji $r(t)$ jest bezpośrednią informacją o szybkości dynamiki obrotowej sond fluorescencyjnych umieszczonych w konkretnym ośrodku molekularnym oraz że zanik anizotropii emisji jest zanikiem w ogóle wielowykładniczym.

Ponieważ na podstawie wzoru (2.24) funkcję korelacji $W(t)$ można wyrazić przez anizotropię emisji $r(t)$, tj.:

$$W(t) = \frac{5}{2} r(t) \quad (2.25)$$

bardzo często w literaturze obie składowe zaniku natężenia spolaryzowanej emisji światła fluorescencji, dane wzorami (2.18) i (2.19), oblicza się w sposób następujący [2–4]:

$$I_{\parallel}(t) = C \left[Ph(t) + \frac{1}{2} r(t) Ph(t) \right] \quad (2.26)$$

$$I_{\perp}(t) = C [Ph(t) - r(t) Ph(t)] \quad (2.27)$$

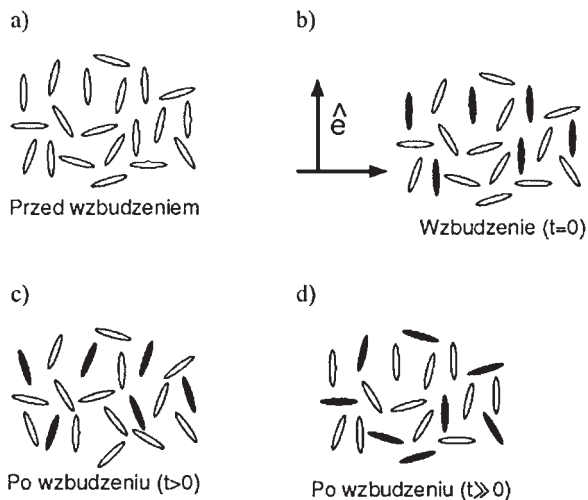
Ostatnie dwa wzory są najczęściej używane w opisie i analizie wyników doświadczalnych uzyskanych z czasowo-rozdzielczych pomiarów spolaryzowanych natężeń światła fluorescencji. Oba opisy są całkowicie równoważne.

W praktyce doświadczalnej, w celu dokładnego wyznaczenia parametrów opisujących kinetyczną i dynamiczną ewolucję wzbudzonych molekuł fluorescencyjnych, okno czasowe pomiarów czasowo-rozdzielczych musi być tak dobrane, aby obie ewolucje były dobrze odzwierciedlone w mierzonych zanikach natężeń światła fluorescencji. Jeżeli skala czasu dynamiki obrotowej molekuł jest bardzo krótka w porównaniu do skali czasu zaniku kinetycznego światła fluorescencji (np. z powodu małej lepkości ośrodka), badania doświadczalne przeprowadza się w dwóch oknach czasowych, a uzyskane wyniki analizuje się globalnie (jednocześnie). Należy przypomnieć, że wzory (2.18) i (2.19) oraz (2.26) i (2.27) przedstawiają modelowe ewolucje zaników spolaryzowanych składowych natężenia światła fluorescencji. W analizie numerycznej danych doświadczalnych są one splątane ze zmierzonym kształtem impulsu laserowego i, przy numerycznie zmienianych wartościach parametrów modelowych, są każdorazowo porównywane z zanikami uzyskanymi doświadczalnie. Metoda najmniejszych kwadratów umożliwia określenie wartości parametrów modelowych, przy których „dobroć” dopasowania jest najlepsza.

Charakter ewolucji czasowej funkcji korelacji $W(t)$, opisującej dynamikę obrotową fluoroforów w badanym ośrodku molekularnym, zależy od wielu czynników. Jednym z nich jest kształt hydrodynamiczny fluoroforów, o czym wspomnieliśmy już wcześniej. Zależy on także od lokalnych właściwości badanego ośrodka w nanootoczeniu molekuł fluorescencyjnych. Badany ośrodek molekularny może być izotropowy także w sensie mikroskopowym. Jest to przypadek roztworów. Może on być jednak anizotropowy lokalnie, jak np. w przypadku zawiesiny membran zawierających fluorofory, czy w przypadku (bio)makromolekuł oraz (bio)polimerów zawierających naturalne fluorofory lub fluorofory wprowadzone do nich (przyczepione). W tych przypadkach, chociaż w sensie makroskopowym fluorofory mają rozkład izotropowy, ich lokalny

rozkład kątowy jest najczęściej anizotropowy, a dyfuzja obrotowa fluoroforów jest kontrolowana potencjałem ograniczającym ten rozkład kątowy [3, 4, 6].

Na rysunku 2.5 przedstawiony jest schematycznie proces fotoselekcji fluoroforów w roztworze światłem liniowo spolaryzowanym. W stanie podstawowym równowagowy rozkład fluoroforów jest izotropowy (rys. 2.5a). W czasie $t = 0$ wzbudzone są te fluorofory, których kierunki dipoli absorpcji są równoległe lub prawie równoległe do kierunku polaryzacji światła (rys. 2.5b). Pierwsze fotony fluorescencji są rejestrowane już zaraz po procesie wzbudzenia próbki. Jednocześnie fluorofory podlegają procesowi dyfuzji obrotowej, zmieniając swoją orientację. Początkowo natężenie emitowanego światła fluorescencji o polaryzacji w kierunku równoległym do polaryzacji światła wzbudzającego jest największe. Z upływem czasu, wskutek ruchu dyfuzyjnego, maleje składowa równoległa mierzonego światła fluorescencji, natomiast wzrasta natężenie składowej prostopadłej (rys. 2.5c). Po odpowiednio długim czasie od momentu fotoselekcji fluoroforów obie składowe zaczynają przyjmować to samo natężenie. Oznacza to, że anizotropia natężenia emitowanego światła fluorescencji szybciej przyjmuje wartość zerową $I_{\parallel}(t \rightarrow \infty) - I_{\perp}(t \rightarrow \infty) = 0$, podczas gdy w tej skali czasu sygnał całkowitego natężenia światła fluorescencji przyjmuje jeszcze wartości niezerowe. Oznacza to, że rozkład kątowy fluoroforów – będących jeszcze w stanie wzbudzonym i przechodzących do stanu podstawowego, z jednoczesną emisją światła fluorescencji – jest już całkowicie izotropowy (rys. 2.5d).



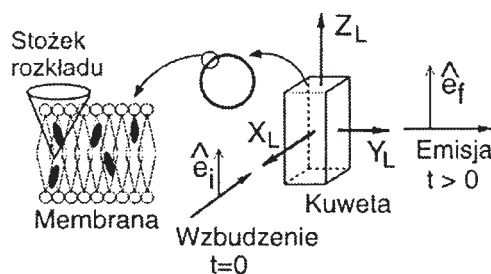
Rys. 2.5. Fotoselekcja fluoroforów światłem liniowo spolaryzowanym
Fig. 2.5. Photoselection of fluorophores with linearly polarized light

Patrząc na ten przykład przez pryzmat równania (2.24) wnioskujemy, że w przypadku roztworów $W(t \rightarrow \infty) = 0$ oraz $r(t \rightarrow \infty) = 0$. Takie właściwości zaobserwujemy

doświadczalnie, jeśli czas relaksacji obrotowej fluoroforów jest odpowiednio krótszy od średniego czasu życia fluoroforów w stanie wzbudzonym.

W przypadku molekuł fluorescencyjnych, znajdujących się w ośrodku o lokalnym uporządkowaniu [3, 4], problem wygląda troszkę inaczej. Na rysunku 2.6 przedstawiony jest schematycznie przykład doświadczeń depolaryzacji fluorescencji na izotropowej zawieszynie sferycznych membran (liposomów fosfolipidowych), do których wprowadzone zostały sondy fluorescencyjne. W laboratoryjnym układzie odniesienia $X_L Y_L Z_L$ fluorofory wraz z lokalnie uporządkowanymi fragmentami (wycinkami) liposomów mają izotropowy rozkład kątowy. Z drugiej strony liposomy mają duże wymiary (200–400 nm), więc ich dynamika obrotowa w skali średniego czasu życia fluoroforów w stanie wzbudzonym jest całkowicie zaniedbywalna.

W procesie fotoselekcji liniowo spolaryzowanym impulsem światła (czas $t = 0$) wzbudzone są fluorofory, których dipole przejść absorpcyjnych są prawie równoległe do kierunku polaryzacji światła wzbudzającego. Wskutek dyfuzji obrotowej fluoroforów z biegiem czasu od momentu wzbudzenia, podobnie jak w przypadku roztworów, obserwuje się zmniejszanie natężenia światła fluorescencji $I_{\parallel}(t)$, z jednoczesnym wzrostem natężenia składowej prostopadłej $I_{\perp}(t)$.



Rys. 2.6. Fotoselekcja i ograniczona przestrzennie dynamika obrotowa fluoroforów w zawieszynie membran

Fig. 2.6. Photoselection and spatially restricted rotational dynamics of fluorophores in membrane suspension

Jednak w czasie znacznie późniejszym, w odniesieniu do momentu fotoselekcji fluoroforów ($t \gg 0$), anizotropia emitowanego światła fluorescencji, normowana względem całkowitego natężenia światła fluorescencji mierzonego w tym czasie, przyjmuje stałą wartość, co oznacza, że $I_{\parallel}(t \rightarrow \infty) - I_{\perp}(t \rightarrow \infty)$ wolniej zmierza do wartości zerowej aniżeli $I_{\text{tot}}(t \rightarrow \infty)$. Wynika to z tego, że każdy fluorofor może już przyjmować w swoim lokalnym otoczeniu dowolną orientację kątową, ale ograniczoną uporządkowaniem tego otoczenia (stożek rozkładu fluoroforów pokazany na rys. 2.6). Innymi słowy, aczkolwiek wewnątrz stożków fluorofory rozłożą się (średnio po zespole stożków) po wszystkich możliwych orientacjach, same stożki rozkładów nie zmieniają swoich orientacji w skali czasu życia fluoroforów w stanie wzbudzonym, ze

względem na pomijalny ruch obrotowy dużych obiektów, jakimi są liposomy. Ten sam problem dotyczy (bio)makromolekuła (np. białka) lub (bio)polimerów (np. DNA), oznaczonych („zabarwione”) sondami fluorescencyjnymi lub mających swoje naturalne grupy chromoforowe.

Dla tego typu układów molekularnych funkcję korelacji (2.8) można przybliżyć (w ujęciu fenomenologicznym) zależnością [3, 4, 44–46]:

$$W(t) = (W_0 - W_\infty) \exp(-t / \tau_R) + W_\infty \quad (2.28)$$

gdzie W_0 jest wartością początkową funkcji korelacji, a niezerowa graniczna wartość tej funkcji, tj. W_∞ , odzwierciedla stopień lokalnego uporządkowania fluoroforów względem osi symetrii stożka lokalnego rozkładu fluoroforów. Czas τ_R traktujemy jako efektywny czas relaksacji rozkładu fluoroforów od momentu ich fotoselekcji do momentu osiągnięcia przez nie równowagowego rozkładu kąтового (średnio po wszystkich stożkach lokalnego uporządkowania). Biorąc pod uwagę, że w tym fenomenologicznym modelu

$$W_0 - W_\infty = (1 - \langle P_2 \rangle^2) P_2(\theta_{ac}), \quad W_\infty = \langle P_2 \rangle^2 P_2(\theta_{ac}) \quad (2.29)$$

anizotropia emisji $r(t)$ (wzór (2.17)) może być zapisana w postaci

$$r(t) = 0,4 P_2(\theta_{ac}) [(1 - \langle P_2 \rangle^2) \exp(-t / \tau_R) + \langle P_2 \rangle^2] \quad (2.30)$$

Podstawiając zależności (2.28) i (2.30) odpowiednio do równań (2.18) i (2.19) oraz do równań (2.26) i (2.27), znajdujemy wyrażenia opisujące zaniki spolaryzowanych natężeń światła fluorescencji w dyskutowanym tutaj modelu.

Kąt θ_{ac} w równaniu (2.29) jest kątem pomiędzy dipolowymi momentami przejścia absorpcji i emisji w molekuule fluorescencyjnej, a wielkość $\langle P_2 \rangle$, występująca w obu wzorach, jest molekularnym parametrem uporządkowania drugiego rzędu i jest zdefiniowana następująco:

$$\langle P_2 \rangle = \frac{\int_0^\pi f(\beta) P_2(\beta) \sin \beta d\beta}{\int_0^\pi f(\beta) \sin \beta d\beta} \quad (2.31)$$

gdzie $f(\beta)$ jest kątową funkcją rozkładu fluoroforów względem osi symetrii lokalnego uporządkowania. Graniczne wartości dla $r(t)$, w sensie czasowym ($t = 0$ i $t \rightarrow \infty$), są następujące:

$$r_0 = 0,4 P_2(\theta_{ac}) \quad (2.32)$$

$$r_\infty = 0,4 P_2(\theta_{ac}) \langle P_2 \rangle^2 \quad (2.33)$$

a ich stosunek ułatwia określenie wartości $\langle P_2 \rangle$, tj.:

$$\langle P_2 \rangle = \sqrt{\frac{r_\infty}{r_0}} \quad (2.34)$$

Wartość anizotropii $r(t)$ przy $t \rightarrow \infty$ nosi nazwę rezydualnej wartości anizotropii emisji i oznaczana jest ona symbolem r_∞ .

Znajomość parametru lokalnego uporządkowania fluoroforów $\langle P_2 \rangle$ ma bardzo istotne znaczenie w badaniach biomedycznych i nano(bio)technologicznych, gdyż parametr ten odzwierciedla informacje o konformacyjnych zmianach (bio)makromolekuł, o zmianach strukturalnych właściwości membran biologicznych i ich modeli oraz o lokalnej organizacji w materiałach kompozytowych organiczno-nieorganicznych, w tym także o oddziaływaniach międzymolekularnych w nanoskali.

W większości przypadków doświadczalnych wartość r_∞ można łatwo oszacować z histogramu zaniku czasowego anizotropii emisji, zrekonstruowanego ze wzoru (2.23). Nawet bez dokonywania analiz numerycznych zaników spolaryzowanych natężeń światła fluorescencji, jeśli tylko czas relaksacji obrotowej fluoroforów jest odpowiednio krótszy od czasu życia fluoroforów w stanie wzbudzonym oraz gdy okno czasowe jest dobrane tak, aby skala kinetyki zaniku światła fluorescencji była w nim zawarta, wykres histogramu anizotropii emisji (2.23) umożliwia natychmiastowe oszacowanie początkowej r_0 i rezydualnej r_∞ wartości anizotropii emisji. Znając czas gaśnięcia fluorescencji dla badanych fluoroforów, można wówczas wstępnie oszacować skalę czasu relaksacji obrotowej fluoroforów w danym ośrodku.

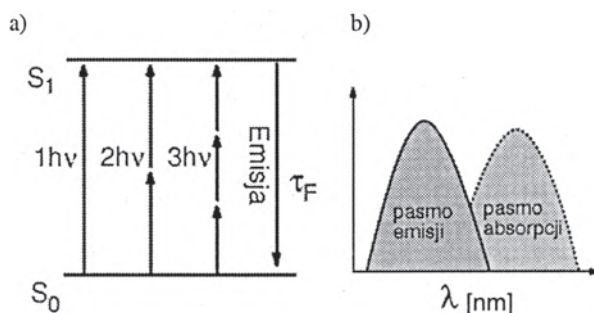
Dyskutowany tutaj model jest bardzo prosty, ale wystarczająco dobrze jakościowo odzwierciedlający mechanizm depolaryzacji fluorescencji w lokalnie uporządkowanych ośrodkach molekularnych. Jeżeli w podanych zależnościach założymy, że $\langle P_2 \rangle = 0$, otrzymujemy natychmiast fenomenologiczny opis ośrodków izotropowych także w sensie lokalnym. Do modelu tego będziemy odwoływać się, dyskutując czasowo-rozdzielczą polaryzacyjną mikro/nanospektroskopię fluorescencyjną.

2.3. POLARYZACYJNA SPEKTROSKOPIA FLUORESCENCYJNA PRZY WZBUDZENIACH WIELOFOTONOWYCH

Na rysunku 2.7(a) ponownie przedstawiamy uproszczony schemat Jabłońskiego [43], tym razem przedstawiający w bardzo uproszczony sposób ideę wzbudzeń jednokolorowych, jedno- i wielofotonowych (dwu- i trójfotonowych).

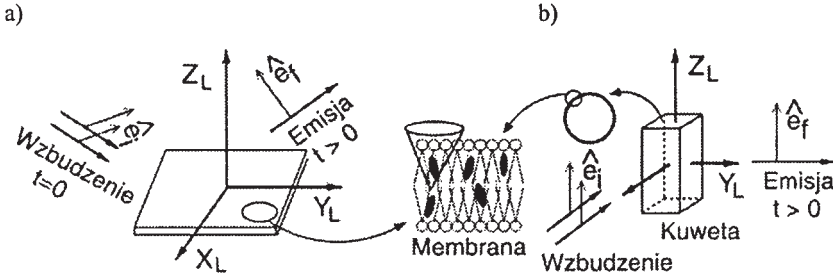
Dyskusję ograniczamy jedynie do problemu efektów polaryzacji fluorescencji. W spektroskopii fluorescencyjnej przy wzbudzeniach wielofotonowych warunkiem zajścia wzbudzenia wielofotonowego jest to, aby natężenie światła wzbudzającego było wystarczająco duże dla jednoczesnej absorpcji dwóch lub trzech fotonów, których sumaryczna energia odpowiada energii potrzebnej do wzbudzenia fluoroforu do

wyższego stanu elektronowego. Cechą charakterystyczną tego typu spektroskopii jest to, że pasmo absorpcji wielofotonowej jest przesunięte w zakres długofalowy w stosunku do pasma emisji (rys. 2.7(b)), w przeciwieństwie do spektroskopii fluorescencyjnej, we wzbudzeniach jednofotonowych (rys. 2.1(c)).



Rys. 2.7. Spektroskopia fluorescencyjna przy wzbudzeniach wielofotonowych
Fig. 2.7. Multiphoton-excitation fluorescence spectroscopy

Problem dwufotonowych wzbudzeń fluoroforów w sztywnych ośrodkach izotropowych, w przypadku różnych polaryzacji światła wzbudzającego (liniowa, eliptyczna i kołowa), był dyskutowany bardzo szczegółowo w pionierskich pracach McLaina [32–34]. McLain pokazał, że w zależności od stanu polaryzacji światła wzbudzającego, próbkowane są inne kombinacje liniowe elementów tensora absorpcji dwufotonowej, który jest tensorem drugiego rzędu. Problem dynamiczny tego samego zagadnienia, w przypadku roztworów (układów izotropowych w skali makroskopowej i mikroskopowej), był dyskutowany w pracach [9, 37–40] w reprezentacji współrzędnych kartezjańskich. Zagadnienie początkowej wartości anizotropii emisji dla przypadku układów molekularnych uporządkowanych lokalnie (bez dyskusji czasowo-rozdzielczej dynamiki obrotowej) był dyskutowany w pracy [41]. Ponieważ do obliczeń przedstawionych w pracy [41] wykorzystano program do obliczeń symbolicznych Mathematica, uzyskane wyniki nie mają praktycznego zastosowania ze względu na ich bardzo nieczytelną (skomplikowaną) postać. Biorąc pod uwagę zawartość cytowanych publikacji [9, 37–41], w swojej pracy [42] rozważyliśmy problem ogólniejszy, odnoszący się do dowolnie zorganizowanego układu molekularnego o dowolnej symetrii. Do opisu polaryzacji fluorescencji we wzbudzeniach dwufotonowych zastosowaliśmy algebrę nieprzywiedlnych tensorów sferycznych. Podobnie jak to zrobiono w pracach [9, 32–34, 37–41], założyliśmy przypadek wzbudzeń dwufotonowych jednokolorowych. Dzięki zastosowaniu algebry nieprzywiedlnych tensorów sferycznych udało nam się opisać ten problem w postaci bardzo zwartej i zunifikowanej z przypadkiem wzbudzeń jednofotonowych. Metodę tę stosuje się także do zunifikowanego opisu przypadków, gdy w procesie wzbudzania angażowana jest większa liczba fotonów (wzbudzenia wielofotonowe – trzy, cztery lub pięć fotonów).



Rys. 2.8. Polaryzacyjna spektroskopia fluorescencyjna we wzbudzeniach dwufotonowych
Fig. 2.8. Polarized fluorescence spectroscopy at two-photon excitations

Na rysunku 2.8a przedstawiony jest układ molekularny makroskopowo uporządkowany w postaci podwójnej warstwy fosfolipidowej, ułożonej na odpowiednio przygotowanym podłożu. Układ ten jest uporządkowany anizotropowo, o symetrii osiowej względem osi Z_L laboratoryjnego układu odniesienia. Molekuły fluorescencyjne znajdujące się w takiej membranie mają anizotropowy rozkład kątowy (ograniczenie ich kątowego rozkładu wskazuje stożek możliwych orientacji, pokazany po prawej stronie rysunku 2.8). W chwili $t = 0$ fluorofory podlegają jednoczesnej fotoselekcji przez dwa identyczne fotony. W dowolnej późniejszej chwili mierzone jest natężenie emitowanego światła fluorescencji.

Jak już wspomnieliśmy wcześniej, równanie (2.7) ma charakter ogólny i stosuje się także do opisu polaryzacji fluorescencji w przypadku wzbudzeń wielofotonowych. Dla wzbudzeń dwufotonowych $P_{ab}(\Omega_0)$ musi być wyrażone przez składowe tensora absorpcji dwufotonowej, natomiast $P_{em}(\Omega_t)$ pozostaje bez zmian, tj.:

$$P_{ab}(\Omega_0) = |\hat{e}_i A \hat{e}_i|^2 = (\hat{e}_i \otimes \hat{e}_i) : A|^2 = (E_i : A)(E_i : A)^* \quad (2.35)$$

$$P_{em}(\Omega_t) = |\hat{e}_f \hat{\mu}_{em}|^2 = (\hat{e}_f \otimes \hat{e}_f^*) : (\hat{\mu}_{em} \otimes \hat{\mu}_{em}^*) = E_f : F_{em} \quad (2.36)$$

gdzie A jest drugiego rzędu tensorem absorpcji dwufotonowej, $E_i = \hat{e}_i \otimes \hat{e}_i$ jest drugiego rzędu tensorem wzbudzania (symbol $\otimes$ oznacza iloczyn tensorowy), $E_f = \hat{e}_{em} \otimes \hat{e}_{em}^*$ jest drugiego rzędu tensorem detekcji oraz $F_{em} = \hat{\mu}_{em} \otimes \hat{\mu}_{em}^*$ jest drugiego rzędu tensorem emisji. Dla porównania $P_{ab}(\Omega_0)$ w przypadku wzbudzeń jednofotonowych, dla których wzór (2.7) w przypadku układów molekularnych izotropowych w skali makroskopowej i mikroskopowej sprowadza się do postaci (2.8), ma postać

$$P_{ab}(\Omega_t) = |\hat{e}_i \hat{\mu}_{ab}|^2 = (\hat{e}_i \otimes \hat{e}_i^*) : (\hat{\mu}_{ab} \otimes \hat{\mu}_{ab}^*) = E_i : F_{ab} \quad (2.37)$$

gdzie $F_{ab} = \hat{\mu}_{ab} \otimes \hat{\mu}_{ab}^*$ jest drugiego rzędu tensorem absorpcji jednofotonowej. Sposób zastąpienia tensorów kartezjańskich E_i , E_f , F_{ab} oraz F_{em} przez nieprzywiedlne składo-

we sferyczne przedstawiliśmy w pracy [42]. Jedyne co warto pokazać to związek pomiędzy kartezjańskimi i sferycznymi składowymi tensora absorpcji dwufotonowej (związki typowe dla tensora drugiego rzędu) [54]

$$A_0^{(0)} = -\frac{1}{\sqrt{3}} \text{Tr} \mathbf{A}, \quad A_0^{(2)} = -\frac{1}{\sqrt{6}} (3A_{zz} - \text{Tr} \mathbf{A}) \quad (2.38)$$

$$A_{\pm 1}^{(2)} = \pm (A_{xz} \pm iA_{zy}), \quad A_{\pm 2}^{(2)} = \frac{1}{2} (A_{zz} - A_{yy} \pm 2iA_{xy}) \quad (2.39)$$

W podanych zależnościach brakuje składowych sferycznych rzędu $j = 1$. Wynika to stąd, że rozważamy przypadek wzbudzeń dwoma identycznymi fotonami (wzbudzenia jednokolorowe). W takich przypadkach tensor $\mathbf{A}$ jest symetryczny i składowe sferyczne tego tensora z $j = 1$ przyjmują wartości zerowe.

Nie będziemy tutaj przedstawiać szczegółów wyprowadzenia wzorów opisujących dyskutowany przypadek. Ograniczymy się jedynie do wskazania wyników końcowych, istotnych dla późniejszej dyskusji problemu mikrospektroskopii fluorescencyjnej. Używając tych samych metod matematycznych, jak w przypadku wzbudzeń jednofotonowych [44–51], uzyskaliśmy ogólną postać równania (2.7) dla przypadku wzbudzeń dwufotonowych, w świetle spolaryzowanym liniowo, w reprezentacji sferycznej [42]. Otrzymane równanie adaptowaliśmy przez wykorzystanie odpowiednich metod teorii grup (operatorów rzutu) do przypadków: a) jednoosiowo uporządkowanych układów molekularnych (rys. 2.8a, b) układów izotropowych makroskopowo, ale uporządkowanych w skali nanoskopowej (rys. 2.8b oraz c) dla roztworów będących całkowicie izotropowymi układami molekularnymi. Wzór opisujący zanik w czasie natężenia spolaryzowanego światła fluorescencji, emitowanego przez fluorofory wprowadzone do makroskopowo izotropowych układów molekularnych, ma postać bardzo podobną do przypadku wzbudzeń jednofotonowych (wzór 2.8), tj. [42]

$$I_{\{2\}}(t, \theta) = C \left[C_{\{2\}} Ph(t) + \frac{4}{5} P_2(\theta) W_{\{2\}}(t) Ph(t) \right] \quad (2.40)$$

W przypadku wzbudzeń dwufotonowych zanik kinetyczny $Ph(t)$, w pierwszym składniku ostatniego wzoru, jest dodatkowo mnożony przez stały czynnik $C_{\{2\}}$, którego wartość (postać) zależy od kształtu tensora absorpcji dwufotonowej. Także i postać funkcji korelacji $W_{\{2\}}(t)$ zależy od kształtu tensora $\mathbf{A}$ [42].

Dla układów molekularnych makroskopowo izotropowych, ale mogących być zorganizowanymi w skali lokalnej (rys. 2.8b), zakładając, że fluorofory są rotorami symetrycznymi i tensor $\mathbf{A}$ jest diagonalny w osiach elipsoidy obrotowej czynnik $C_{\{2\}}$ oraz funkcja korelacji $W_{\{2\}}(t)$ mają postać [42]

$$C_{\{2\}} = \frac{1}{3} (\text{Tr} \mathbf{A})^2 + \frac{2}{5} [(A_0^{(2)})^2 + 2(A_0^{(2)})^2] \quad (2.41)$$

$$W_{\{2\}}(t) = \sqrt{\frac{2}{3}} \text{Tr} A G_1(t) - \sqrt{\frac{2}{7}} G_2(t) \quad (2.42)$$

gdzie:

$$G_1(t) = \sum_{p=0,\pm 2} U_p(t) A_p^{(2)} C_{2,p}^*(\theta_e, \varphi_e) \quad (2.43)$$

$$G_2(t) = \sum_{n,p=0,\pm 2} C(222; -n \ n - p) U_p(t) A_n^{(2)} A_{p-n}^{(2)} C_{2,p}^*(\theta_e, \varphi_e) \quad (2.44)$$

Składowe sferyczne $A_0^{(0)}$ oraz $A_0^{(2)}$ dane są wzorem (2.38), natomiast $A_{\pm 1}^{(2)}$ oraz $A_{\pm 2}^{(2)}$ przyjmują wartości:

$$A_{\pm 1}^{(2)} = 0, \quad A_{\pm 2}^{(2)} = \frac{1}{2}(A_{xx} - A_{yy}) \quad (2.45)$$

Współczynniki $C(j_1 j_2 j; m_1 m_2)$ są współczynnikami Clebscha–Gordana [53, 54]. Kartezjańskie i sferyczne składowe tensora absorpcji dwufotonowej, występujące w równaniach (2.41)–(2.45), zdefiniowane są w molekularnym układzie odniesienia $X_M Y_M Z_M$ (rys. 2.2). Funkcje $U_p(t) = U_{-p}(t)$ są molekularnymi funkcjami korelacji dla ruchu obrotowego. Dla roztworów i w modelu dyfuzji obrotowej są one równoważne funkcjom $R_i(t)$, danymi wzorami (2.13), (2.14). Warto jednak zauważyć, że w podanych zależnościach nie wystąpi funkcja $R_1(t)$ (podobnie $U_1(t) = U_{-1}(t)$), gdyż $A_{\pm 1}^{(2)} = 0$. W przypadku ośrodków molekularnych o lokalnym uporządkowaniu fluoroforów (rys. 2.8b) funkcje $U_p(t) = U_{-p}(t)$ można opisać w modelu dyfuzji obrotowej ograniczonej lokalnym potencjałem porządkującym lub w sposób fenomenologiczny (równ. 2.28).

Przyjmijmy teraz bardzo uproszczające założenia, że tensor absorpcji dwufotonowej jest diagonalny oraz że jego składowa wzdłuż długiej osi fluoroforu (elipsoidy obrotowej – rotor symetryczny) ma dominującą wartość, tj. $A_{zz} \gg A_{xx}, A_{yy}$, a nawet że A_{zz} jest jedynym niezerowym elementem tego tensora. Założenie to jest dobrym przybliżeniem do przypadku rodziny podłużnych molekuł dwufenylopolienów, dla których zostało ono zweryfikowane doświadczalnie dla wzbudzeń dwu- i trójfotonowych [9]. Założenie to umożliwia prześledzenie maksymalnych efektów polaryzacji fluorescencji dla dowolnej liczby fotonów zaangażowanych w procesie wzbudzenia. Z drugiej, uzyskane wyniki będą miały bardzo istotne znaczenie w dyskusji polaryzacji fluorescencji dla wzbudzeniach jedno-, dwu- i wielofotonowych z zastosowaniem obiektów mikroskopowych o dużych aperturach numerycznych.

W przypadku wzbudzeń dwufotonowych poprzednie założenia powodują, że [42]

$$A_0^{(2)} = \frac{2}{\sqrt{6}} A_{zz}, \quad A_{\pm 2}^{(2)} = 0, \quad A_{\pm 1}^{(2)} = 0, \quad C_{\{2\}} = \frac{3}{5} (A_{zz})^2 \quad (2.46)$$

W takich uproszczeniach, po włączeniu czynnika $C_{\{2\}}$ do stałej C , równanie (2.40) przyjmuje postać

$$I_{\{2\}}(t, \theta) = C \left[Ph(t) + \frac{8}{7} P_2(\theta) W_{\{2\}}^{(N)}(t) Ph(t) \right] \quad (2.47)$$

gdzie teraz

$$W_{\{2\}}^{(N)}(t) = W_{\{2\}}(t) / C_{\{2\}} \quad (2.48)$$

jest funkcją korelacji normowaną przez czynnik $C_{\{2\}}$. W modelu dyfuzji swobodnej funkcja ta dana jest przez

$$W_{\{2\}}^{(N)}(t) = \exp[-t/(6D)] P_2(\theta_a) \quad (2.49)$$

a w opisie fenomenologicznym, uwzględniającym ewentualną niezerową wartość rezydualną, funkcję tą można przybliżać wzorami (2.28) i (2.29).

Ze wzoru (2.47) otrzymuje się wyrażenia dla obu składowych spolaryzowanych

$$I_{\{2\},\square}(t) = C \left(Ph(t) + \frac{8}{7} W_{\{2\}}^{(N)}(t) Ph(t) \right) \quad (2.50)$$

$$I_{\{2\},\perp}(t) = C \left(Ph(t) - \frac{4}{7} W_{\{2\}}^{(N)}(t) Ph(t) \right) \quad (2.51)$$

z których, zgodnie z równaniem (2.23), otrzymuje się postać anizotropii emisji:

$$r_{\{2\}}(t) = \frac{4}{7} W_{\{2\}}^{(N)}(t) \quad (2.52)$$

Postępując podobnie w przypadku wzbudzeń trój- i czterofotonowych, otrzymuje się [35]:

– wzbudzenia trójfotonowe

$$I_{\{3\}}(t, \theta) = C \left[Ph(t) + \frac{4}{3} P_2(\theta) W_{\{3\}}^{(N)}(t) Ph(t) \right] \quad (2.53)$$

$$r_{\{3\}}(t) = \frac{2}{3} W_{\{3\}}^{(N)}(t) \quad (2.54)$$

– wzbudzenia czterofotonowe

$$I_{\{4\}}(t, \theta) = C \left[Ph(t) + \frac{16}{11} P_2(\theta) W_{\{4\}}^{(N)}(t) Ph(t) \right] \quad (2.55)$$

$$r_{\{4\}}(t) = \frac{8}{11} W_{\{4\}}^{(N)}(t) \quad (2.56)$$

Ponieważ niezależnie od przyjętego modelu ewolucji czasowej funkcji $W_{\{n\}}^{(N)}(t)$ (gdzie $n = 1, 2, 3, 4$), jej wartość początkowa równa się jedności, tzn. $W_{\{n\}}^{(N)}(t=0) = 1$. Wartości graniczne zatem anizotropii emisji r_0 , idąc od wzbudzenia jednofotonowego do wzbudzenia czterofotonowego, wykazują ewidentny wzrost początkowej anizotropii emitowanej fluorescencji, tj.

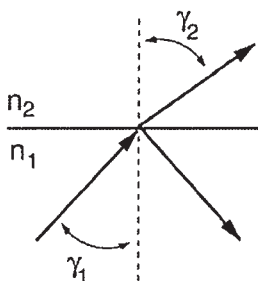
$$r_{0,\{1\}} = \frac{2}{5}, \quad r_{0,\{2\}} = \frac{4}{7}, \quad r_{0,\{3\}} = \frac{2}{3}, \quad r_{0,\{4\}} = \frac{8}{11} \quad (2.57)$$

zgodnie z równaniami (2.32), (2.52), (2.54) i (2.56). Przykłady doświadczalnych badań fluorescencyjnych we wzbudzeniach trój- i czterofotonowych, ważnych w obszarze nauk biomedycznych, można znaleźć w pracach [55] i [56].

2.4. SPEKTROSKOPIA FLUORESCENCYJNA WE WZBUDZENIACH FAŁĄ ZANIKAJĄCĄ WYKŁADNICZO

Zjawisko całkowitego wewnętrznego odbicia światła na granicy dwóch ośrodków o różniących się współczynnikach załamania światła – wraz z dyskusją i zastosowaniem zjawiska powstawania fali elektromagnetycznej, której natężenie zanika wykładniczo w ośrodku optycznie rzadszym – dyskutowane są w opracowaniu Harricka [57].

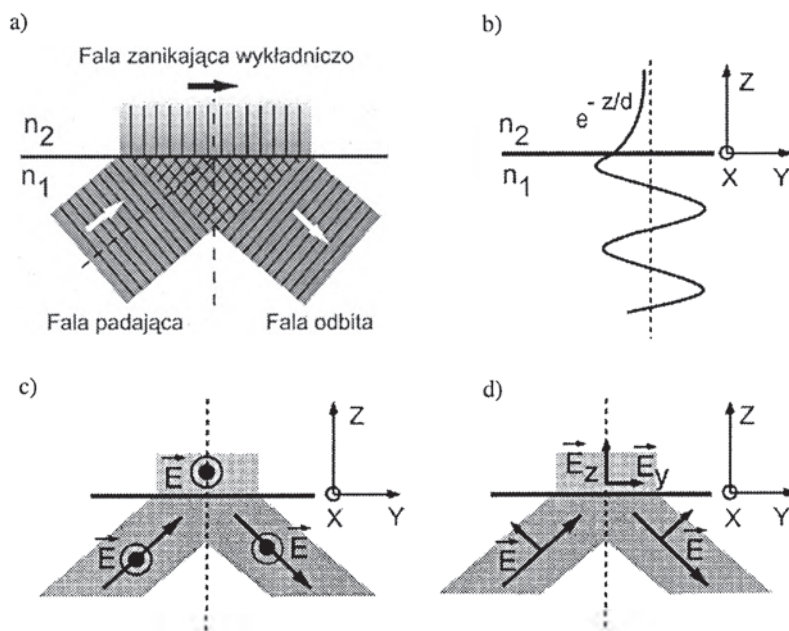
Jeśli światło pada na granicę dwóch ośrodków charakteryzujących się różnymi gęstościami optycznymi, to zaobserwujemy, że część światła ulegnie odbiciu, a część wniknie do drugiego ośrodka (rys. 2.9).



Rys. 2.9. Ilustracja prawa Snella
Fig. 2.9. Illustration of the Snells law

Jeżeli ośrodek pierwszy jest optycznie gęstszy od ośrodka drugiego, tj. $n_1 > n_2$, to istnieje graniczna wartość kąta padania γ_{gr} , w której pole elektromagnetyczne rozchodzi się wzdłuż granicy rozdziału obu ośrodków. Dla kątów padania większych od kąta granicznego, tj. $\gamma_1 > \gamma_{gr}$, następuje zjawisko całkowitego wewnętrznego odbicia światła. Fala padająca na granicę obu ośrodków i fala odbita interferują ze sobą. W rezultacie, w ośrodku o większym współczynniku załamania światła (n_1), powstaje fala stojąca. Rozważenie równań Maxwella oraz warunków ciągłości dla składowych pola

elektrycznego i magnetycznego na granicy obu ośrodków prowadzi do wniosku, że wzdłuż granicy rozdziału ośrodków rozchodzi się fala elektromagnetyczna charakteryzująca się tym, że jej skrzydło po stronie ośrodka rzadszego, w sensie natężenia, zanika wykładniczo w funkcji odległości od granicy ośrodków [57–59]. Aczkolwiek formalnie nie ma przepływu energii pola elektromagnetycznego do ośrodka rzadszego, skrzydło fali rozchodzącej się wzdłuż granicy rozdziału ośrodków może być wykorzystywane do wzbudzeń fluorescencji fluoroforów zaadsorbowanych do tej granicy lub znajdujących się w jej pobliżu. Problem ten był dyskutowany w wielu opracowaniach poświęconych zjawisku rozchodzenia się fali zanikającej wykładniczo, a szczególnie z zastosowaniami tego zjawiska w spektroskopii fluorescencyjnej na granicy rozdziału dwóch ośrodków molekularnych. W opracowaniach przeglądowych [58, 59] cytowany jest bardzo bogaty zbiór publikacji i monografii poświęconych tej technice spektroskopowej, także w zastosowaniach mikrospektroskopowych.



Rys. 2.10. Całkowite wewnętrzne odbicie światła. Fala zanikająca wykładniczo
 Fig. 2.10. Total internal reflection of the light. Evanescent wave

Na rysunku 2.10 przedstawiamy podstawowe właściwości tej techniki spektroskopowej. Na rysunku 2.10a przedstawiono rozchodzenie się fali padającej na granicy ośrodków, falę całkowicie odbitą od tej granicy, a także falę rozchodzącą się wzdłuż granicy rozdziału obu ośrodków. Na rysunku 2.10b natomiast przedstawiono natężeniową ewolucję pola elektromagnetycznego wzdłuż normalnej do granicy obu ośrodków. Pokazano falę stojącą w ośrodku optycznie gęstszym oraz zanik wykładniczy

natężenia fali rozchodzącej się wzdłuż granicy obu ośrodków, której skrzydło po stronie ośrodka rzadszego charakteryzuje się wykładniczym zanikiem natężenia wzdłuż normalnej do granicy ośrodków (oś Z). Szybkość zaniku natężenia fali wykładniczej, tj. wielkość d , zależy od wartości współczynników załamania światła obu ośrodków (n_1, n_2), od długości fali światła w ośrodku optycznie gęstszym (λ_1) oraz od wartości kąta padania ($\gamma_1 > \gamma_{gr}$) [58, 59], czyli:

$$d = \frac{\lambda_1}{2\pi\sqrt{\sin^2 \gamma_1 - (n_2/n_1)^2}} \quad (2.58)$$

W przybliżeniu elektrycznym dipolowym procesu absorpcji światła profil natężenia światła rozchodzącego się wzdłuż granicy rozdziału ośrodków, w strukturze fali zanikającej wykładniczo, ma postać

$$I(z, t) = I_0 \exp\left(\frac{-z}{z_d}\right) \quad (2.59)$$

gdzie $z_d = d/2$ oraz I_0 jest wartością dla tego natężenia na samej granicy ośrodków ($z = 0$) i zależy od kąta padania światła, obu współczynników załamania światła oraz od długości fali światła padającego. W literaturze, w ujęciu dość potocznym, wielkość z_d określana jest mianem głębokości penetracji ośrodka rzadszego światłem fali zanikającej wykładniczo. Termin ten sugerują nam schematy, wykresy z rysunków 2.10a i 2.10b.

Jak już wspomnieliśmy wcześniej, wartość wielkości z_d zależy od kilku parametrów. To czego nie można zmienić podczas doświadczeń fluorescencyjnych, podczas wzbudzania falą zanikającą wykładniczo, to przede wszystkim współczynnik załamania światła badanej próbki (n_2). Wybór długości fali światła padającego na granicę ośrodków także nie może być dowolny, gdyż długość fali światła używanego w takich doświadczeniach musi pasować do zakresu falowego pasma absorpcji fluoroforów wzbudzanych falą zanikającą wykładniczo. Parametrami kontrolującymi takie pomiary są współczynnik załamania podłoża n_1 oraz wartość kąta padania światła na granicę ośrodków $\gamma_1 > \gamma_{gr}$. W zależności od tych dwóch parametrów wartość wielkości z_d może zmieniać się w granicach 50–300 nm [58, 59]. Wynika z tego, że technika fluorescencyjna we wzbudzeniach falą zanikającą wykładniczo umożliwia wzbudzanie fluorescencję w bardzo cienkich warstwach badanego ośrodka. Przez zmianę kąta padania światła grubość penetracji próbki można zmieniać w sposób dość płynny. W zależności od precyzji zmian wartości tego kąta można dokonywać zmian wartości parametru z_d nawet w granicach od kilku do kilkunastu nanometrów.

W badaniach fluorescencyjnych we wzbudzaniu falą zanikającą wykładniczo, w świetle spolaryzowanym, istotnym problemem jest stan polaryzacji fali zanikającej wykładniczo. Problem ten przedstawiony jest schematycznie na rysunkach 2.10c i 2.10d. Gdy światło padające na granicę obu ośrodków jest spolaryzowane w kierunku prostopadłym do płaszczyzny padania, wówczas także i fala zanikająca wykładni-

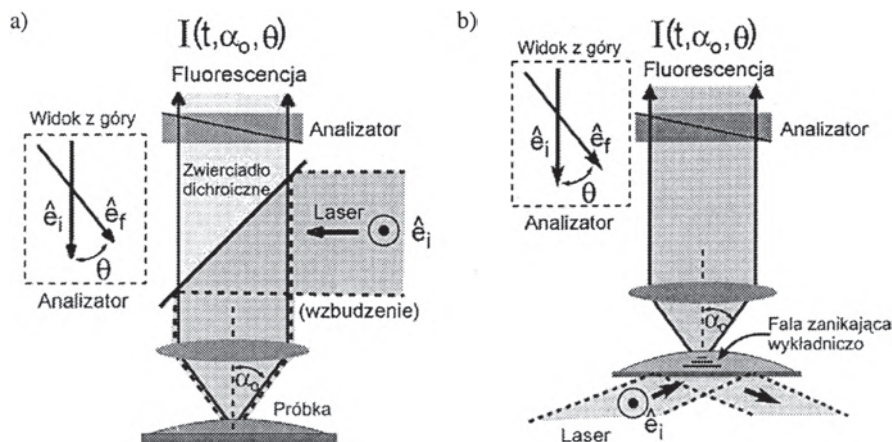
czo ma taką polaryzację. Obie polaryzacje mają kierunek osi X na rysunku 2.10c. Jeżeli jednak światło padające na granicę rozdziału obu ośrodków ma polaryzację liniową, ale równoległą do płaszczyzny padania, fala zanikająca wykładniczo (rozchodząca się wzdłuż granicy rozdziału obu ośrodków) nie ma już polaryzacji liniowej. Pole to ma dwie składowe, tj. wzdłuż osi Y i wzdłuż osi Z . Obie składowe są w zależności fazowej i w efekcie zaburzenie to ma polaryzację eliptyczną [58, 59]. Zależność fazowa pomiędzy obydwoma składowymi zmienia się w funkcji długości drogi propagacji fali zanikającej wykładniczo wzdłuż granicy rozdziału obu ośrodków. Z tego powodu w badaniach polaryzacyjnych, w których kierunek polaryzacji fali zanikającej wykładniczo ma zasadnicze znaczenie w analizie ilościowej, światło wzbudzające, padające na granicę obu ośrodków, ma polaryzację w kierunku prostopadłym do płaszczyzny padania. W takich warunkach można jednoznacznie określić polaryzacyjne efekty procesu fotoselekcji fluoroforów przez falę zanikającą wykładniczo. Można wówczas dokładnie opisać czasowo-rozdzielczą spektroskopię fluorescencyjną w świetle spolaryzowanym na granicy obu ośrodków (lub w jej pobliżu), dla ośrodków makroskopowo izotropowych (z możliwością lokalnych nanoskopowych uporządkowań) lub układów molekularnych uporządkowanych w sposób makroskopowy (warstwy Langmuira–Blodgett – zaadsorbowane (bio)makromolekuły, membrany fosfolipidowe oraz cienkie warstwy układów organicznych, nieorganicznych i hybrydowych).

3. MIKROSPEKTROSKOPIA FLUORESCENCYJNA WE WZBUDZENIACH JEDNOFOTONOWYCH

3.1. WPROWADZENIE

Mikrospektroskopia fluorescencyjna, przez użycie obiektywów mikroskopowych, próbuje bardzo małe obszary badanych układów molekularnych. Podstawy spektroskopii fluorescencyjnej, kinetycznej i dynamicznej – przedstawione w poprzedniej części tej pracy w wielkim skrócie i z ograniczeniem jedynie do bardzo elementarnych aspektów tej techniki – stosują się także do mikrospektroskopii fluorescencyjnej w przybliżeniu dalekiego pola. Przechodząc od spektroskopii fluorescencyjnej, przy równoległych wiązках światła (światła wzbudzającego i rejestrowanego światła emitowanej fluorescencji) do mikrospektroskopii, należy jedynie we właściwy sposób uwzględnić efekty ogniskowania światła oraz efekty detekcji sygnałów fluorescencji z zastosowaniem soczewek obiektywowych (obiektywów mikroskopowych) o dużych aperturach numerycznych. Temu problemowi poświęcona jest ta część pracy. Omówimy tutaj przypadek wzbudzeń jednofotonowych.

Na rysunku 3.1 przedstawiono schematy dwóch z najczęstszych doświadczalnych realizacji czasowo-rozdzielczej lub stacjonarnej mikrospektroskopii i obrazowania fluorescencyjnego w świetle spolaryzowanym.



Rys. 3.1. Polaryzacyjna mikrospektroskopia fluorescencyjna: a) przy wzbudzeniu szerokopolewym i detekcji szerokopolewej lub konfokalnej oraz b) przy wzbudzeniu falą zanikającą wykładniczo
 Fig. 3.1. Polarized fluorescence microspectroscopy: a) at the wide-field detection and wide-field or confocal detection, and b) at the evanescent-wave excitation

Na rysunku 3.1a wiązka światła laserowego liniowo spolaryzowanego (wektor jednostkowy $\hat{e}_i$), po jej uprzednim poszerzeniu w celu wygładzenia gaussowskiego profilu natężenia światła w profil jednorodny (w przekroju poprzecznym wiązki), pada na zwierciadło dichroiczne i jest ogniskowana w próbce przez obiektyw mikroskopowy o odpowiedniej aperturze numerycznej. W zależności od wartości apertury numerycznej obiektywu poprzeczny i podłużny wymiar ogniska są rzędu, odpowiednio, 200–300 nm i 300–500 nm. W przypadku wzbudzeń jednofotonowych proces wzbudzenia fluoroforów oraz proces emisji światła fluorescencji przedstawione są schematycznie na rysunku 2.1a. Molekuły fluorescencyjne są wzbudzane zarówno w ognisku obiektywu, jak również w całym stożkowym rozkładzie (podwójny stożek) ogniskowanego światła wzbudzającego. Z tego powodu światło fluorescencji emitowane jest z całego naświetlonego obszaru próbki, z największym natężeniem w samym ognisku. Taki sposób wzbudzania fluorescencji określa się mianem wzbudzania szerokiego pola (ang. *wide-field excitation*). Kątowa szerokość stożka wzbudzania określana jest kątem połówkowym α_0 , którego wartość zależy od wartości apertury numerycznej NA obiektywu i od wartości współczynnika załamania światła n cieczy immersyjnej, wypełniającej przestrzeń pomiędzy obiektywem i badaną próbką, czyli.

$$\alpha_0 = \arcsin \frac{NA}{n} \quad (3.1)$$

Emitowane w próbce światło fluorescencji zbierane jest przez ten sam obiektyw i przechodzi przez zwierciadło dichroiczne, przezroczyste dla zakresu falowego emi-

towanej fluorescencji. Przez ustawienie analizatora pod kątem detekcji θ (względem kierunku liniowej polaryzacji światła wzbudzającego $\hat{e}_i$) wybierany jest konkretny kierunek (wektor jednostkowy $\hat{e}_f$) polaryzacji światła fluorescencji, mierzony przez odpowiedni układ detekcyjny (nie jest on pokazany na rys. 3.1). Ponieważ światło fluorescencji pochodzi z całego obszaru wzbudzanego w próbce, ten rodzaj detekcji określa się mianem detekcji szerokopolowej. Wstawiając za analizatorem układ optyczny składający się z dodatkowej soczewki oraz przesłony z małą żrenicą (ang. *pinhole*), mierzony sygnał fluorescencji zredukujemy do sygnału emitowanego w samym ognisku obiektywu. Dodatkowa soczewka ustawiona w kanale detekcyjnym obrazuje ognisko w żrenicy przesłony, eliminując tym samym światło fluorescencji emitowane z obszarów powyżej i poniżej ogniska obiektywu. Ten rodzaj mikrospektroskopii określa się mianem konfokalnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej. Choć obszar wzbudzania próbki jest nadal typu szerokiego pola, fakt że obszar, z którego „wybierane” jest światło emitowanej fluorescencji jest ograniczony jedynie do obszaru ogniska, daje możliwość przestrzennego fluorescencyjnego obrazowania badanej próbki w funkcji trzech współrzędnych przestrzennych x , y i z (obrazowanie 3D). Przestrzenna rozdzielczość obrazowania jest ograniczona rozmiarami ogniska obiektywu mikroskopowego, gdyż mierzony sygnał fluorescencji zawiera informację o badanej próbce, „uśrednioną” po obszarze całego ogniska.

Na rysunku 3.1b przedstawiono schematycznie układ doświadczalny mikrospektroskopii fluorescencyjnej podczas wzbudzania fluorescencji falą zanikającą wykładniczo. Zgodnie z tym co zostało powiedziane wcześniej na temat spektroskopii fluorescencyjnej we wzbudzeniach falą zanikającą wykładniczo, jak pokazuje to rysunek 3.1b, równoległa wiązka spolaryzowanego liniowo światła wzbudzającego pada na odpowiednio przygotowaną próbkę pod kątem większym aniżeli kąt graniczny γ_{gr} . Pod takim warunkiem fluorescencja w próbce jest wzbudzana na głębokościach około 50–300 nm w zależności od współczynników załamania światła podłoża i badanej próbki od długości fali światła wzbudzającego, a także od kąta padania światła wzbudzającego na granicę faz ośrodków podłoże/próbka. Podobnie jak w przypadku układu pomiarowego, przedstawionego na rysunku 3.1a, światło emitowanej fluorescencji jest zbierane obiektywem mikroskopowym, a kierunek liniowej polaryzacji światła fluorescencji jest wybierany przez odpowiednie ustawienie analizatora w kanale detekcyjnym. Kąt detekcji jest definiowany względem kierunku polaryzacji światła wzbudzającego, który zgodnie z rysunkiem 3.1a, jest prostopadły do płaszczyzny padania tego światła. Głębokość penetracji próbki przez falę zanikającą wykładniczo można zmieniać w sposób płynny przez zmianę wartości kąta padania światła wzbudzającego lub zmianę jego długości fali nawet co 10–20 nm. Przez poziome przesuwanie próbki względem światła wzbudzającego i obiektywu mikroskopowego można dokonać fluorescencyjnego zobrazowania badanej próbki w tej płaszczyźnie, z rozdzielczością uwarunkowaną przez poprzeczny wymiar ogniska używanego obiektywu.

Z tego powodu ta technika spektroskopowa często określana jest mianem tomografii fluorescencyjnej. Biorąc pod uwagę możliwe wartości głębokości penetracji próbki przez falę zanikającą wykładniczo oraz możliwość zmiany tej głębokości co kilkanaście nanometrów, technikę tę często uważa się jako nanoskopię fluorescencyjną w sensie badania zmian właściwości badanej próbki wzdłuż osi optycznej układu.

Zastosowania doświadczalne mikro/nanospektroskopii fluorescencyjnej należy podzielić na dwa kierunki. Pierwszy kierunek dotyczy natężeniowego obrazowania próbek z wykorzystaniem wprowadzanych do nich fluoroforów lub z wykorzystaniem naturalnych grup chromoforowych składników próbki (autofluorescencja). Dobierając odpowiednie filtry lub zmieniając ustawienia monochromatora w kanale detekcyjnym, można określić lokalizację konkretnych fluoroforów w badanej próbce. Fluorofory o bardzo konkretnych właściwościach fizykochemicznych będą lokalizowały się w obszarach próbki o „przychylnych” właściwościach (np. w sensie lokalnej polarności, polaryzowalności lub tworzenia się wiązań wodorowych). Znając właściwości fluoroforów, na podstawie takich barwnych obrazów fluorescencyjnych można zobrażować strukturę badanego materiału i w jakościowy sposób wydedukować przybliżone właściwości tego materiału. W naszym przekonaniu ten typ doświadczeń należy nazywać mikroskopią fluorescencyjną, gdyż uzyskiwane z tych doświadczeń informacje służą raczej do obrazowania badanego materiału, natomiast nie dostarczają żadnych ilościowych informacji.

Drugi kierunek zastosowań mikro/nanospektroskopii to czasowo-rozdzielcze badania fluorescencyjne w świetle spolaryzowanym. Umożliwiają one ilościowe określanie zmian właściwości fluoroforów w zależności od miejsca ich lokalizacji w badanej próbce. Wybierając fluorofory czułe (w sensie kinetyki zaniku fluorescencji) na polarność, polaryzowalność, kwasowość, a nawet lepkość (jeśli w stanie wzbudzonym fluoroforów może/musi zachodzić proces zmieniający ich kształt geometryczny (np. procesy fotoizomeryzacyjne), można określać jakościowo i ilościowo właściwości ośrodka oraz przestrzenne zmiany (mapy zmian) tych właściwości w skali najbliższego otoczenia fluoroforów (w ich nanootoczeniu) z rozdzielczością optyczną używanej aparatury. Takich informacji dostarcza kinetyczna mikrospektroskopia fluorescencyjna, znana w literaturze pod nazwą angielską jako *fluorescence lifetime imaging microscopy* (FLIM). Technika FLIM może być także wykorzystywana w wyznaczaniu odległości pomiędzy parą dwóch odmiennych fluoroforów, dzięki wykorzystaniu zjawiska rezonansowego przekazywania energii wzbudzenia fluoroforu typu donorowego (bezpośrednio wzbudzonego) do fluoroforu typu akceptorowego (pobierającego energię wzbudzenia od donora). Technika ta może dotyczyć swobodnych fluoroforów wprowadzonych do badanego materiału oraz może dotyczyć donorowo-akceptorowej pary fluoroforów, które przyczepiają się do konkretnej makromolekuły (np. białka) lub biopolimeru (np. DNA) w dwóch (ale zamierzonych) miejscach. Pary donorowo-akceptorowe naturalnych chromoforów dwóch (bio)makromolekuł są także przykładami znanymi z praktyki doświad-

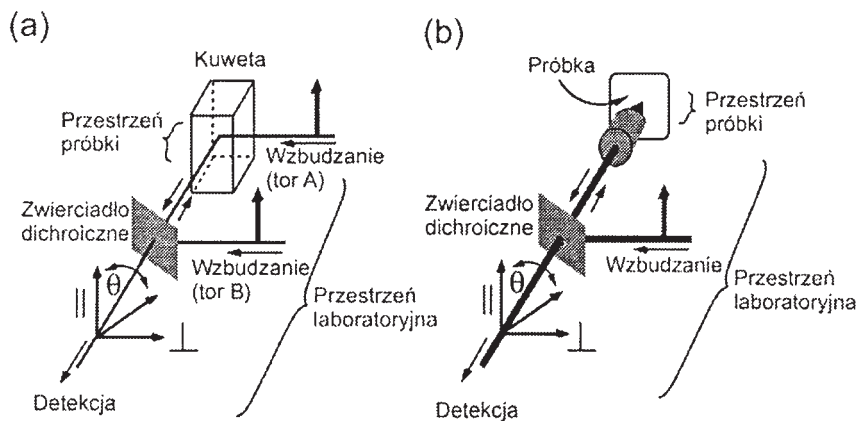
czalnej. Zjawisko rezonansowego przekazywania energii zachodzi w przypadku, gdy odległość między donorem i akceptorem nie jest większa aniżeli około 10 nm (w większości przypadków doświadczalnych). Tak więc umożliwia ona określanie (w tej skali) odległości między dwoma fluoroforami, badanie zmian konformacyjnych (bio)makromolekuł lub (bio)polimerów, jak również umożliwia określanie średniej odległości między dwoma (bio)makromolekułami. Informacje te są bardzo istotne dla jakościowego i ilościowego charakteryzowania właściwości materiałów biomedycznych. Technika ta określana jest często w literaturze skrótem FRET (ang. *fluorescence resonance energy transfer*) i jest, naszym zdaniem, dość nieszczęśliwa. Fluorescencja jest zjawiskiem, a nie określoną formą energii, więc nie może być przekazywana. Naszym zdaniem właściwym określeniem do tego zjawiska jest: *fluorescence excitation energy resonance transfer* (FEERT). Techniki FLIM i FREET dostarczają informacji o kinetycznej ewolucji stanów wzbudzonych fluoroforów. Obie metody umożliwiają dokonywanie trójwymiarowego zobrazowania właściwości badanych próbek przez mapy rozkładów czasów gaśnięcia fluorescencji (w przypadku techniki FLIM) oraz map kinetycznych szybkości transferu energii wzbudzenia (w przypadku techniki FREET).

Badania polaryzacyjne, w których dokonuje się pomiarów zaników światła fluorescencji dla dwóch skrajnych ustawień analizatora (pomiaru składowych $I_{\square}(t)$ i $I_{\perp}(t)$), zgodnie z tym co napisaliśmy w pierwszej części tej pracy, umożliwiają określanie szybkości dynamiki dyfuzyjnej ruchu obrotowego fluoroforów. Technika ta często jest określana mianem EAIM (ang. *emission anisotropy imaging*). W badaniach mikro/nanospektroskopowych metoda ta umożliwia określanie lokalnej mobilności obrotowej fluoroforów w bardzo ograniczonych i wybranych obszarach próbki, a więc umożliwia badania lepkości ich najbliższego otoczenia. W skaningowej technice 3D prowadzi to w efekcie do trójwymiarowego obrazowania właściwości badanych materiałów mapami rozkładów czasów relaksacji obrotowej fluoroforów, a więc także i mapami rozkładów lokalnej lepkości.

Wymienione tutaj techniki FLIM, FREET oraz EAIM nie są jedynymi technikami mikrospektroskopii fluorescencyjnej. Istnieje wiele odmian tych technik. W pierwszej kolejności należy wspomnieć tzw. mikrospektroskopię fluorescencyjną pojedynczych molekuł (smFLIM, smEAIM) czy pojedynczych par akceptorowo-donorowych (spFFRET). Bardzo istotnymi technikami są techniki FCS (ang. *fluorescence correlation spectroscopy*) czy FRAP (ang. *fluorescence recovery after photobleaching*). Wszystkie wymienione tutaj techniki dotyczą polaryzacyjnej mikro/nanospektroskopii fluorescencyjnej z jednoczesnym wzbudzaniem i detekcją fluorescencji przez obiektyw mikroskopowy o dużej aperturze numerycznej lub w metodzie wzbudzeń falą zanikającą wykładniczo. Z tego powodu, ze względu na prawidłowości wykonania pomiarów, właściwego sposobu opisu i analizy mierzonych spolaryzowanych sygnałów światła fluorescencji, techniki te nie różnią się.

3.2. ZASTANY (ZŁY) STAN WIEDZY O LITERATURZE

W przypadku spektroskopii fluorescencyjnej w świetle wiązek równoległych lub prawie równoległych (przypadek dyskutowany w drugim rozdziale tej pracy) kinetykę zaniku fluorescencji możemy określić z analizy histogramu zaniku całkowitego natężenia światła fluorescencji $I_{\text{tot}}(t) = I_{\parallel}(t) + 2I_{\perp}(t)$ lub z analizy natężenia światła fluorescencji $I_{\text{mag}}(t)$ mierzonego przy kącie detekcji $\theta_{\text{mag}} = 54,7^{\circ}$ (wzory (2.12) i (2.13)). Natomiast dynamikę obrotową fluoroforów oraz wartość rezydualną funkcji korelacji (w przypadku lokalnych ograniczeń kątowych na możliwe orientację fluoroforów) uzyskuje się z jednoczesnej analizy histogramów obu spolaryzowanych składowych światła fluorescencji $I_{\parallel}(t)$ oraz $I_{\perp}(t)$ (wzory (2.17) i (2.18)). W fizycznym ujęciu informacje o kinetycznej i dynamicznej ewolucji wzbudzonych fluoroforów powinny być niezależne od tego czy pomiary dokonywane są w sposób tradycyjny (przy równoległych wiązkach światła wzbudzającego i światła emitowanej fluorescencji), czy też z użyciem soczewek obiektywowych (obiektywów mikroskopowych) w kanale wzbudzania i/lub w kanale detekcyjnym. Tak długo, jak długo rozważa się (także doświadczalnie) spektroskopię fluorescencyjną w przybliżeniu dalekiego pola (ang. *far-field fluorescence spectroscopy*), kinetyka zaniku fluorescencji, $Ph(t)$, oraz dynamika obrotowa fluoroforów, $W(t)$, muszą ilościowo być takie same niezależnie od użytej metody doświadczalnej. Warunek ten będzie spełniony tylko wtedy, gdy niezależnie od użytej metody doświadczalnej, realizacja pomiarów oraz opis i analiza uzyskanych wyników pomiarowych będą prawidłowo uwzględniały warunki fizyczne tych badań.



Rys. 3.2. Polaryzacyjna spektroskopia fluorescencyjna: a) klasyczna, przy warunku równoległych wiązek światła w kanale wzbudzania i w kanale detekcji oraz b) z zastosowaniem soczewek obiektywowych o dużych aperturach numerycznych

Fig. 3.2. Polarized fluorescence spectroscopy: a) traditional, at the parallel beams of light in the excitation and detection channels, and b) with the application of high-aperture objective lenses

Aczkolwiek kinetyczna i dynamiczna mikrospektroskopia fluorescencyjna jest powszechnie używana już od prawie trzydziestu lat, w serii prac [28–30] pokazaliśmy, że sposób wykonywania, opis i analiza pomiarów mikrospektroskopowych były przez ten cały czas realizowane według procedur tradycyjnej spektroskopii fluorescencyjnej, czyli w świetle wiązek równoległych, ewidentnie źle odzwierciedlających rzeczywiste warunki doświadczalne badań mikrospektroskopowych. Aż trudno w to uwierzyć, że przez prawie trzydzieści lat doświadczalnicy rozwijający różne warianty mikrospektroskopii fluorescencyjnej oraz praktycy stosujący te techniki nie zastanowili się nad podstawami fizycznymi polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej.

Na rysunku 3.2 przedstawiono schematycznie układy pomiarowe odnoszące się do obu typów badań doświadczalnych. Na rysunku 3.2a (biorąc pod uwagę tor A wzbudzania fluorescencji) pokazano typowy schemat realizacji czasowo-rozdzielczej polaryzacyjnej spektroskopii fluorescencyjnej. Równoległa wiązka liniowo spolaryzowanego światła wzbudza fluorescencję w kuwecie. W kanale detekcyjnym mierzone są zaniki natężenia światła emitowanej fluorescencji (w postaci wiązki równoległej – po zastosowaniu odpowiedniej przesłony i soczewki o bardzo dużej ogniskowej). Kierunek polaryzacji mierzonych sygnałów wybiera się przez analizator (polaryzator). Jeżeli zmienimy tor biegu światła wzbudzającego, z toru A na tor B, i skierujemy zwierciadłem dichroicznym światło wzbudzające w kierunku kuwety, uzyskamy w przestrzeni laboratoryjnej schemat układu pomiarowego typowego dla polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej, pokazany na rysunku 3.2b. Jest całkiem niewykluczone, że właśnie takie spojrzenie na oba typy pomiarów było powodem zaistnienia dyskutowanego tutaj „nieporozumienia”. Oba typy doświadczeń różnią się tym, i to w sposób zasadniczy, co dzieje się wewnątrz próbki, a dokładniej w miejscu, gdzie wzbudzana jest fluorescencja oraz z którego pochodzi (mierzony w układzie laboratoryjnym) sygnał emitowanej fluorescencji. W przypadku rysunku 3.2a wiązki światła wzbudzającego oraz światła fluorescencji są wiązkami równoległymi w obu przestrzeniach. W przypadku rysunku 3.2b, w przestrzeni laboratoryjnej obie wiązki są równoległymi wiązkami światła, natomiast w przestrzeni próbki są one wiązkami, odpowiednio: a) zbieżną (skupianą) wiązką światła wzbudzającego oraz b) rozbieżną (i kolimowaną przez obiektyw) wiązką światła fluorescencji emitowanej w ognisku obiektywu. Ponieważ w typowych badaniach mikrospektroskopowych wartości kątów połówkowych α_0 , obliczanych ze wzoru (3.1), są w granicach pomiędzy 45° i prawie 70° , jest to zatem oczywiste, że oba przypadki doświadczalne, pokazane na rysunku 3.2, należy traktować w bardzo odmienny sposób. Polaryzacyjna mikrospektroskopia fluorescencyjna wymaga dokonania prawidłowego sprzęgnięcia podstaw optyki soczewek obiektywowych z podstawami spektroskopii fluorescencyjnej w świetle spolaryzowanym.

3.3. OPIS MIKROSPEKTROSKOPII FLUORESCENCYJNEJ W UJĘCIU OPTYKI GEOMETRYCZNEJ

Wzór (2.6), opisujący natężenie spolaryzowanego światła fluorescencji, odnosi się do sytuacji doświadczalnej przedstawionej na rysunku 2.3, w przypadku makroskopowo izotropowych układów molekularnych (mogących jednak charakteryzować się uporządkowaniem lokalnym – w nanoskali). Ponieważ tego typu pomiary przeprowadza się z użyciem tzw. równoległych wiązek światła (jeśli są używane soczewki), to są one długoogniskowe o kątach połówkowych (α_0 mniejszych od 10–15°). Wzór ten otrzymuje się z równania ogólnego (2.7), korzystając z operatora rzutu odpowiadającego trójwymiarowej grupie symetrii $O^+(3)$ obrotów właściwych, transformujących obrotowo (o zespół trzech kątów Eulera) układ laboratoryjny $X_L Y_L Z_L$ w układ molekularny $X_M Y_M Z_M$ (rys. 2.4) [28]. W trakcie procesu rzutowania wzoru (2.7) do formy niezmienniczej, ze względu na grupę $O^+(3)$, otrzymuje się wyrażenie [28]

$$I(t) = C \left[Ph(t) + \frac{4}{5} \left(\sum_{p=-2}^2 C_{2,p}^*(\theta_i^{(L)}, \varphi_i^{(L)}) C_{2,p}(\theta_f^{(L)}, \varphi_f^{(L)}) \right) W(t) Ph(t) \right] \quad (3.2)$$

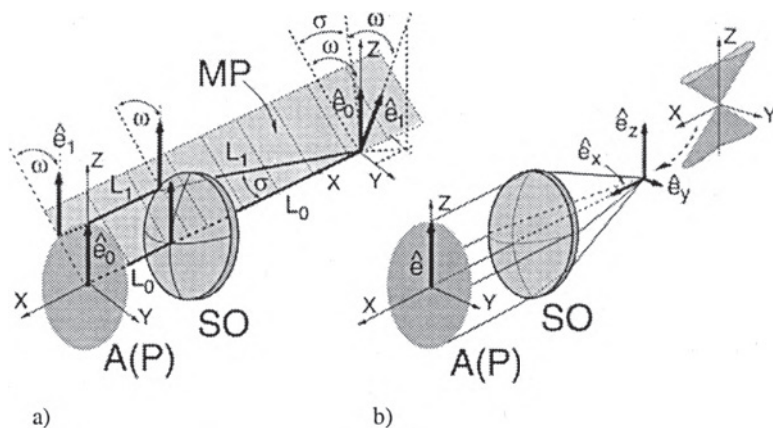
We wzorze (3.2) $C_{2,p}(\theta_i^{(L)}, \varphi_i^{(L)})$ oraz $C_{2,p}(\theta_f^{(L)}, \varphi_f^{(L)})$ są zmodyfikowanymi funkcjami kulistymi [53], parametryzowanymi przez dwa zespoły kątów sferycznych opisujących orientację kierunku polaryzacji światła wzbudzającego ($\theta_i^{(L)}, \varphi_i^{(L)}$) oraz wybranego kierunku polaryzacji światła fluorescencji ($\theta_f^{(L)}, \varphi_f^{(L)}$) w laboratoryjnym układzie odniesienia $X_L Y_L Z_L$. Gdy obie wiązki światła są wiązkami równoległymi, wówczas można skorzystać z relacji [53]

$$P_2(\theta) = \sum_{p=-2}^2 C_{2,p}^*(\theta_i^{(L)}, \varphi_i^{(L)}) C_{2,p}(\theta_f^{(L)}, \varphi_f^{(L)}) \quad (3.3)$$

gdzie θ jest kątem pomiędzy obydwoma kierunkami polaryzacji. Wówczas wzór (3.2) przechodzi w zależność (2.8). W przypadku doświadczeń polaryzacyjnych z wykorzystaniem soczewek obiektywowych o dużych aperturach numerycznych należy rozróżniać kierunki polaryzacji światła wzbudzającego oraz rejestrowanego światła fluorescencji w przestrzeni laboratoryjnej i w przestrzeni próbki (przestrzeń ogniska soczewki).

Na rysunku 3.3a przedstawiona jest soczewka obiektywowa SO, która zbiera światło emitowane w ognisku, transformuje je do wiązki równoległej, która następnie jest polaryzowana liniowo przez analizator A. Ta sama soczewka ogniskuje równoległą wiązkę światła wzbudzającego o polaryzacji liniowej wybranej polaryzatorem P. Obie transformacje światła między przestrzenią laboratoryjną i przestrzenią ogniska można opisać z wykorzystaniem optyki geometrycznej. Rozważmy problem równole-

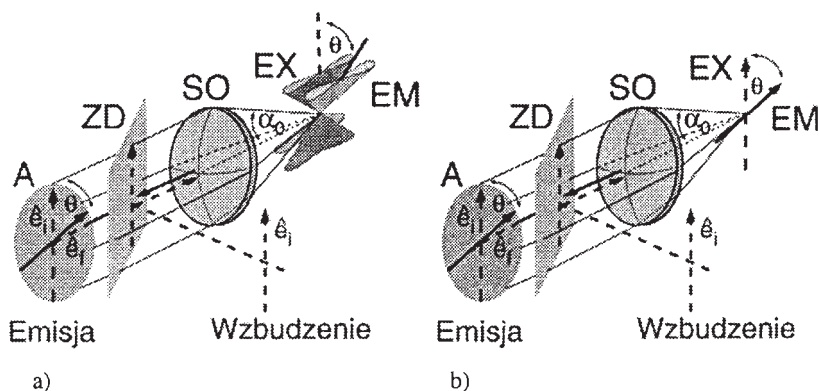
głej wiązki światła o liniowej polaryzacji, skupianej przez soczewkę obiektywową o dużej aperturze numerycznej. Zgodnie z tym, co zostało wykazane przez Richardsa i Wolfa [31], każdy promień światła w wiązce równoległej oraz odpowiadający mu promień w wiązce zbieżnej leżą w jednej płaszczyźnie MP (ang. *meridional plane*), tworzonej z osią optyczną układu. Kierunki liniowej polaryzacji obu promieni tworzą z tą płaszczyzną ten sam kąt. Na rysunku 3.3a pokazane są dwa promienie, L_0 oraz L_1 , obrazujące właściwości płaszczyzn MP. Kierunek liniowej polaryzacji promienia L_0 jest taki sam w obu przestrzeniach. Kierunki liniowej polaryzacji promienia L_1 w obu przestrzeniach są różne, natomiast tworzą ten sam kąt ω z płaszczyzną MP. Rozważając każdy z promieni światła w wiązce równoległej w przestrzeni laboratoryjnej, możemy zrekonstruować przybliżony rozkład kierunków liniowych polaryzacji promieni światła w samym ognisku. Pokazano to na rysunku 3.3b. Liniowej polaryzacji równoległej wiązki światła przed soczewką w ognisku odpowiada asymetryczny stożkowy rozkład tych kierunków. W efekcie natężenie światła w ognisku ma ogólnie trzy niezerowe składowe spolaryzowane. Korzystając z prawa niezmienniczości optyki geometrycznej ze względu na odwrócenie kierunku biegu światła, na rysunek 3.3 możemy popatrzeć także, biorąc pod uwagę transformację biegu światła fluorescencji (wiązki rozbieżnej) w równoległą wiązkę spolaryzowanego liniowo światła fluorescencji w przestrzeni laboratoryjnej.



Rys. 3.3. Wzbudzenie i detekcja fluorescencji z wykorzystaniem soczewek obiektywowych o dużych aperturach numerycznych

Fig. 3.3. Excitation and detection of fluorescence with the application of high-aperture objective lenses

Ponieważ w dyskutowanym tutaj modelu opisu transformacji światła przez soczewkę obiektywową, między przestrzenią laboratoryjną i przestrzenią ogniska, wykorzystujemy udowodnione przez Richardsa i Wolfa [31] właściwości płaszczyzn MP, model ten nazwiemy w skrócie modelem MPP (ang. *meridional-plane-properties based model*).



Rys. 3.4. Schematyczne przedstawienie polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej z:
a) prawidłowo rozumianymi warunkami doświadczalnymi w ognisku obiektywu mikroskopowego,
b) ze złym rozumieniem tego samego problemu

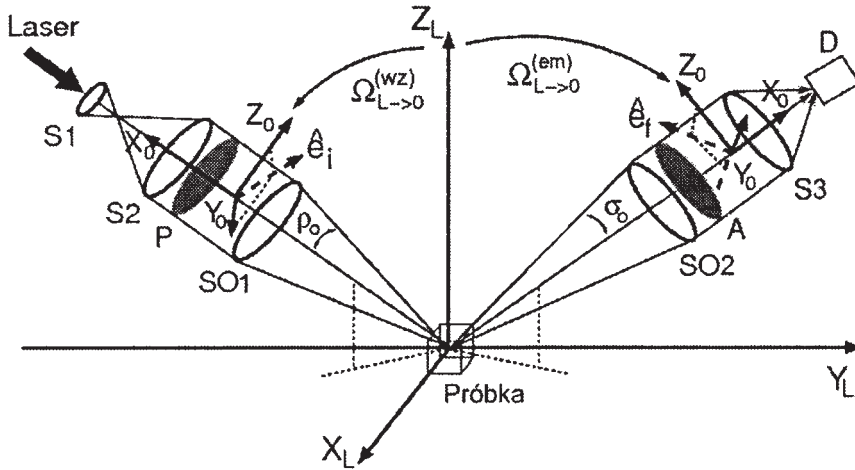
Fig. 3.4. Schematic presentation of polarized fluorescence microspectroscopy with: a) correctly understood experimental conditions at the focus, b) with incorrect understanding of the same problem

Na rysunku 3.4a przedstawiono prawidłowy schemat podstaw fizycznych działania mikroskopu fluorescencyjnego w świetle spolaryzowanym, w opisie optyki geometrycznej. W układzie laboratoryjnym wiązka światła wzbudzającego jest wiązką równoległą o jednorodnej polaryzacji liniowej. Wiązka ta pada na zwierciadło dichroiczne ZD i jest kierowana na soczewkę obiektywową, transformującą jednorodną liniową polaryzację wiązki równoległej w stożkowy rozkład (EX) kierunków polaryzacji w ognisku. To samo dotyczy wiązki światła fluorescencji, której natężenie (i zanik w czasie) jest mierzone w układzie laboratoryjnym. Jednorodnej liniowej polaryzacji równoległej wiązki światła w przestrzeni laboratoryjnej odpowiada odpowiednio zorientowany stożek rozkładu kierunków liniowej polaryzacji światła fluorescencji emitowanego w ognisku (EM). W płaszczyźnie analizatora (w przestrzeni laboratoryjnej) oba kierunki polaryzacji tworzą kąt θ , któremu w przestrzeni ogniska odpowiada ten sam kąt pomiędzy długimi osiami symetrii obu rozkładów stożkowych.

Na rysunku 3.4b pokazano schemat podobnego układu, ale z pominięciem stożkowych rozkładów kierunków polaryzacji światła wzbudzającego i światła fluorescencji w ognisku. Do takiego schematu stosują się wzory opisujące tradycyjną polaryzacyjną spektroskopię fluorescencyjną i taki schemat był stosowany w literaturze do opisu oraz analizy danych doświadczalnych uzyskiwanych z pomiarów mikrospektroskopowych, z jednocześnie wysoko aperturowym wzbudzaniem i detekcją światła fluorescencji.

Prawidłowy opis polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej można uzyskać przez wysumowanie (scałkowanie) wzoru (3.1) po wszystkich kierunkach polaryzacji światła wzbudzającego i światła emitowanej fluorescencji z rozkładów stożkowych w ognisku, odpowiednio korespondujących do wybranych przez polaryzator i analizator jednorodnych liniowych polaryzacji obu wiązek światła w układzie labo-

ratoryjnym, a także odpowiednio korespondujących do apertury numerycznej soczewki obiektywowej (obiektywu mikroskopowego) [28], [60].



Rys. 3.5. Wzbudzenie i detekcja fluorescencji z wykorzystaniem soczewek obiektywowych o dużych aperturach numerycznych

Fig. 3.5. Excitation and detection of fluorescence with the application of high-aperture objective lenses

Na rysunku 3.5 przedstawiamy ogólny przypadek polaryzacyjnej spektroskopii fluorescencyjnej, w którym wiązka laserowa światła wzbudzającego, poszerzona przez układ soczewek S1 i S2, jest polaryzowana przez polaryzator P, a następnie jest skupiana przez soczewkę obiektywową SO1 na próbce. W podobny sposób zbudowany jest kanał detekcyjny, tj. światło fluorescencji emitowanej w próbce jest zbierane do tego kanału soczewką obiektywową SO2, a następnie jest polaryzowane przez analizator A i skupiane soczewką S3 na szczelinie wejściowej detektora.

Postępując zgodnie z procedurami opisanymi w pracach [28] i [60], kąty $(\theta_i^{(L)}, \phi_i^{(L)})$ i $(\theta_f^{(L)}, \phi_f^{(L)})$ w funkcjach $C_{2,p}(\theta_i^{(L)}, \phi_i^{(L)})$ oraz $C_{2,p}(\theta_f^{(L)}, \phi_f^{(L)})$, które występują w równaniu (3.2), możemy zastąpić przez kąty sferyczne $(\pi/2, \theta_i)$ i $(\pi/2, \theta_f)$ opisujące orientacje kierunków polaryzacji światła wzbudzającego i światła fluorescencji w układach odniesienia $X_0Y_0Z_0$. Kierunki te wybierane są przez polaryzator w kanale wzbudzania i przez analizator w kanale detekcji. Wówczas uogólnione funkcje sferyczne $C_{2,p}(\theta_i^{(L)}, \phi_i^{(L)})$ oraz $C_{2,p}(\theta_f^{(L)}, \phi_f^{(L)})$ możemy zastąpić przez

$$C_{2,p}(\theta_i^{(L)}, \phi_i^{(L)}) = \sum_{s=-2}^2 \left(\sum_{q=-2}^2 D_{pq}^{(2)*}(\Omega_{L \rightarrow 0}^{(wz)}) d_{qs}^{(2)}(-\pi/2) \right) R_s(\rho_0) C_{2,s}(\pi/2, \theta_i) \quad (3.4)$$

$$C_{2,p}(\theta_f^{(L)}, \varphi_f^{(L)}) = \sum_{s=-2}^2 \left(\sum_{q=-2}^{q=2} D_{pq}^{(2)*}(\Omega_{L \rightarrow 0}^{(em)}) d_{qs}^{(2)}(-\pi/2) \right) Q_s(\sigma_0) C_{2,s}(\pi/2, \theta_f) \quad (3.5)$$

Dwa zespoły trzech kątów Eulera, tj. $\Omega_{L \rightarrow 0}^{(wz)}$ i $\Omega_{L \rightarrow 0}^{(em)}$, występujące w poprzednich zależnościach i wskazane na rysunku 3.5, definiują orientacje kątowe obu kanałów względem laboratoryjnego układu odniesienia $X_L Y_L Z_L$. Dokładniej mówiąc, opisują one orientacje obu układów odniesienia $X_0 Y_0 Z_0$ względem układu $X_L Y_L Z_L$. Funkcje $D_{mn}^{(j)}(\Omega)$ są elementami macierzy Wignera, a $d_{mn}^{(j)}(\beta)$ są elementami zredukowanych macierzy Wignera rzędu j [53]. Współczynniki $R_s(\rho_0)$ oraz $Q_s(\sigma_0)$, parametryzowane przez kąty połówkowe obu stożków soczewek obiektywowych (rysunek 3.5), dane są przez wyrażenia całkowe [28]

$$R_s(\rho_0) = \frac{\int_0^{\rho_0} d_{pp}^{(2)}(\rho) \sin \rho d\rho}{\int_0^{\rho_0} \sin \rho d\rho} \quad (3.6)$$

$$Q_s(\sigma_0) = \frac{\int_0^{\sigma_0} d_{pp}^{(2)}(\sigma) \sin \sigma d\sigma}{\int_0^{\sigma_0} \sin \sigma d\sigma} \quad (3.7)$$

Współczynniki te odzwierciedlają unormowaną „sumę” we wszystkich tych orientacjach kierunków liniowych polaryzacji światła wzbudzającego i emitowanej fluorescencji w ogniskach obu soczewek obiektywowych, które przyczyniają się do wielkości mierzonego przez detektor (w przestrzeni laboratoryjnej) natężenia spolaryzowanego światła fluorescencji. Finalne wyrażenia na oba współczynniki, po obliczeniu całek, mają postać bardzo prostych wyrażeń trygonometrycznych

$$R_0(\alpha_0) = Q_0(\alpha_0) = \frac{1}{2}(\cos^2 \alpha_0 + \cos \alpha_0) \quad (3.8)$$

$$R_2(\alpha_0) = Q_2(\alpha_0) = \frac{1}{12}(\cos^2 \alpha_0 + 4 \cos \alpha_0 + 7) \quad (3.9)$$

Równania (3.4) i (3.5) mają charakter ogólny i stosują się do dowolnego ustawienia geometrii wzbudzania i detekcji fluorescencji. Dla geometrii wzbudzania i detekcji w przypadku warunków odpowiadających polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluore-

scencyjnej (pokazanych na rysunku 3.4 a) otrzymujemy, że $\Omega_{L \rightarrow 0}^{(wz)} = \Omega_{L \rightarrow 0}^{(em)} = (0, \pi/2, 0)$, co prowadzi do znaczącego uproszczenia wzorów (3.4) i (3.5), tj. [28]

$$C_{2,p}(\theta_i^{(L)}, \varphi_i^{(L)}) = R_p(\alpha_0)C_{2,p}(\pi/2, \theta_i) \quad (3.10)$$

$$C_{2,p}(\theta_f^{(L)}, \varphi_f^{(L)}) = Q_p(\alpha_0)C_{2,p}(\pi/2, \theta_f) \quad (3.11)$$

Biorąc pod uwagę zależności (3.8)–(3.11), ze wzoru (3.2) otrzymujemy zależności opisujące mierzone przez detektor spolaryzowane składowe natężeń światła fluorescencji na warunkach mikrospektroskopowych [28]

$$I_{\square}(t, \alpha_0) = C \left[Ph(t) + \frac{1}{5}(3a(\alpha_0) + b(\alpha_0))W(t)Ph(t) \right] \quad (3.12)$$

$$I_{\perp}(t, \alpha_0) = C \left[Ph(t) - \frac{1}{5}(3a(\alpha_0) - b(\alpha_0))W(t)Ph(t) \right] \quad (3.13)$$

gdzie

$$a(\alpha_0) = R_2(\alpha_0)Q_2(\alpha_0) \quad (3.14)$$

$$b(\alpha_0) = R_0(\alpha_0)Q_0(\alpha_0) \quad (3.15)$$

Podane zależności odpowiadają związkom (2.18) i (2.19) odnoszącym się do przypadku spektroskopii tradycyjnej. Zgodnie ze wzorami (3.12) i (3.13), natężenia spolaryzowanych składowych światła fluorescencji, w przypadku mikrospektroskopii, zależą od apertury numerycznej obiektywu mikroskopowego (zależność od kąta α_0 ; patrz wzór (3.1)). Zależności (2.18) i (2.19), z jednej strony, oraz związki (3.12) i (3.13) z drugiej strony, wykazują zasadniczą jakościową i ilościową różnicę między obydwooma opisami polaryzacyjnej spektroskopii fluorescencyjnej.

Natężenie zaniku spolaryzowanego światła fluorescencji, mierzonego przy dowolnym kącie detekcji θ , można zdefiniować w sposób następujący [28, 29]

$$I(t, \alpha_0, \theta) = I_{\square}(t, \alpha_0)\cos^2\theta + I_{\perp}(t, \alpha_0)\sin^2\theta \quad (3.16)$$

z czego otrzymuje się wzór ogólny

$$I(t, \alpha_0, \theta) = C(Ph(t) + K(\alpha_0, \theta)W(t)Ph(t)) \quad (3.17)$$

Czynnik $K(\alpha_0, \theta)$ zależy od połówkowego kąta stożka wzbudzenia i detekcji α_0 oraz od kąta detekcji θ . Ma on następującą postać:

$$K(\alpha_0, \theta) = \frac{1}{5}(3R_2(\alpha_0)Q_2(\alpha_0)\cos 2\theta + R_0(\alpha_0)Q_0(\alpha_0)) \quad (3.18)$$

Równania (3.17) i (3.18) umożliwiają prawidłowe określanie czasów zaniku fluorescencji w przypadku kinetycznej mikrospektroskopii fluorescencyjnej. Zgodnie z tym o czym wspomnieliśmy wcześniej, badania takie od trzydziestu lat są realizowane według procedur zapożyczonych z tradycyjnej spektroskopii fluorescencyjnej i szybkości zaniku fluorescencji (średnie czasy życia fluoroforów w stanach wzbudzonych) były zawsze uzyskiwane z analizy numerycznej histogramów zaników całkowitego natężenia światła fluorescencji $I_{\text{tot}}(t)$ (równanie (2.20)) lub z analizy histogramu zaniku natężenia światła fluorescencji $I_{\text{mag}}(t)$ mierzonego przy tzw. magicznym kącie detekcji $\theta_{\text{mag}} = 54,7^\circ$. Zgodnie z definicją (rozumieniem sensu) tego kąta, jest on kątem, przy którym zanik natężenia światła fluorescencji wynika jedynie z kinetycznej ewolucji stanu wzbudzonego fluoroforów. Warto tutaj przypomnieć, że ruch obrotowy fluoroforów można uważać za dynamiczny wkład do kinetyki zaniku fluorescencji. Część fluoroforów po fotoselekcji w chwili $t = 0$, wskutek ruchu obrotowego, może tak ustawić się w stosunku do płaszczyzny detekcji światła fluorescencji, że emitowane przez nie światło nie będzie rejestrowane przez detektor, natomiast sam fakt wyemitowania przez te fluorofory kwantów fluorescencji pomniejszy liczbę fluoroforów w stanie wzbudzonym. Efekt ten można nazwać dynamiczną modyfikacją kinetyki zaniku fluorescencji. Matematycznie warunek prawidłowego określania kinetyki zaniku fluorescencji oznacza, że należy wybrać taki kąt detekcji θ , aby drugi składnik we wzorze (3.17) przyjmował wartość zerową [29], czyli

$$K(\alpha_0, \theta_{\text{mag}}) = 0 \quad (3.19)$$

Z warunku tego otrzymujemy zależność

$$\theta_{\text{mag}} = \frac{1}{2} \arccos \left(-\frac{R_0(\alpha_0)Q_0(\alpha_0)}{3R_2(\alpha_0)Q_2(\alpha_0)} \right) \quad (3.19a)$$

która fizycznie oznacza, że w polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej każdej efektywnej aperturze numerycznej obiektywu, NA/n (równanie (3.1)), odpowiada odmienny kąt magiczny θ_{mag} .

Odnosząc uzyskany rezultat do problemu zaniku całkowitego natężenia emitowanego światła, który w występuje w mianowniku anizotropii emisji definiowanej wzorem (2.23), w mikrospektroskopii prawidłowa definicja takiego zaniku dana jest zależnością [29]

$$I_{\text{tot}}(\alpha_0, t) = 3I_{\text{mag}}(\alpha_0, t) = 3CPh(t) \quad (3.20)$$

gdzie $I_{\text{mag}}(\alpha_0, t)$ jest zanikiem natężenia światła fluorescencji mierzonym przy kącie detekcji θ_{mag} , odpowiadającym konkretnej wartości NA/n . Z tego powodu prawidłowa definicja anizotropii emisji w przypadku mikrospektroskopii ma postać [29]

$$r(\alpha_0, t) = \frac{I_{\square}(\alpha_0, t) - I_{\perp}(\alpha_0 t)}{3I_{\text{mag}}(\alpha_0, t)} \quad (3.21)$$

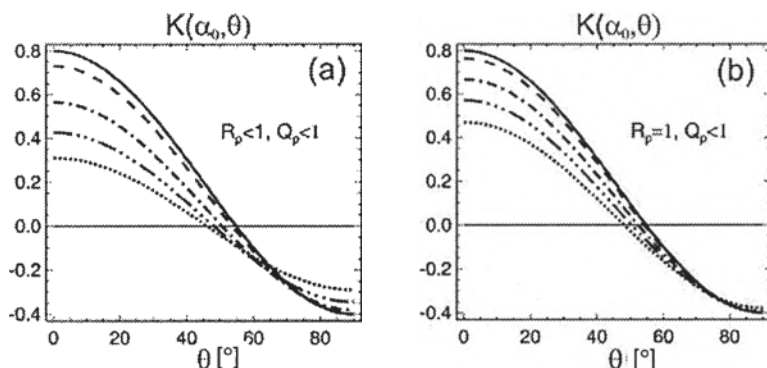
Korzystając z zależności (3.12), (3.13) oraz (3.20), z tego wzoru otrzymujemy:

$$r(\alpha_0, t) = a(\alpha_0)r(t) \quad (3.22)$$

gdzie $r(t)$ jest tradycyjnie definiowaną anizotropią emisji (wzór (2.24)), a $a(\alpha_0)$ dane jest zależnością (3.14).

3.3.1. DYSKUSJA WŁAŚCIWOŚCI MODELU MPP

Uzyskane rezultaty odnoszą się do obu przypadków polaryzacyjnej mikro/nano-spektroskopii fluorescencyjnej, wskazanych na rysunku 3.1. Wyprowadzone wcześniej zależności stosują się bezpośrednio do rysunku 3.1a, gdzie zarówno wzbudzenie i detekcja światła fluorescencji dokonywane są z użyciem soczewki obiektywowej o dużej aperturze numerycznej. Wzory te redukują się do przypadku wskazanego na rysunku 3.1b przez założenie, że apertura kątowa w kanale wzbudzenia jest równa zero. Warto przypomnieć, że przy całkowitym wewnętrznym odbiciu światła na granicy podłoże/próbka próbka jest penetrowana przez pole elektryczne w formie liniowo spolaryzowanego zaburzenia zanikającego wykładniczo wewnątrz próbki na głębokość w skali 50–300 nm. Polaryzacja tej fali jest jednorodna i prostopadła do płaszczyzny padania. Dla $\alpha_0 = 0$ współczynnik aperturowy dla wzbudzenia, $R_s(\alpha_0)$ przyjmuje wartość $R_s(\alpha_0 = 0) = 1$, zgodnie ze wzorem (3.8). Warto także nadmienić, że w przypadku granicznym $\alpha_0 \rightarrow 0$, tj. gdy przechodzimy do małych lub zerowych apertur, $R_s(\alpha_0) \rightarrow 1$ oraz $Q_s(\alpha_0) \rightarrow 1$ i wszystkie podane wzory stają się równoważne korespondującym wzorom opisującym polaryzacyjną spektroskopię fluorescencyjną w świetle wiązek równoległych w kanale wzbudzenia i w kanale detekcji.



Rys. 3.6. Zależność $K(\alpha_0, \theta)$ od apertury kątowej α_0 obiektywu i od kąta detekcji θ
 Fig. 3.6. The dependence of $K(\alpha_0, \theta)$ on angular aperture α_0 and detection angle θ

Na rysunku 3.6 przedstawione są wykresy $K(\alpha_0, \theta)$ w funkcji kąta detekcji θ , dla wybranych wartości kątów α_0 , tj. w porządku od $\alpha_0 = 0^\circ$ (linia ciągła) do $\alpha_0 = 70^\circ$ (linia kropkowana – najniższa), poprzez wartości pośrednie: $\alpha_0 = 20^\circ, 40^\circ, 55^\circ$. Rysunek 3.6(a) odpowiada jednoczesnemu wzbudzeniu i detekcji fluorescencji przez obiektyw mikroskopowy ($R_p(\alpha_0) < 1$ i $Q_p(\alpha_0) < 1$), a rysunek 3.6(b) odpowiada przypadkowi przy wzbudzeniu falą zanikającą wykładniczo ($R_p(\alpha_0) = 1$, a $Q_p(\alpha_0) < 1$). Wartości $K(\alpha_0, \theta)$ dla $\theta = 0^\circ$ i $\theta = 90^\circ$ odpowiadają wartościom współczynników występujących w równaniach (3.12) i (3.13), w członach dynamiczno-kinetycznych $W(t)Ph(t)$, tj. wartościom wielkości

$$K_{\square}(\alpha_0) = \frac{1}{5}(3a(\alpha_0) + b(\alpha_0)) \quad (3.23)$$

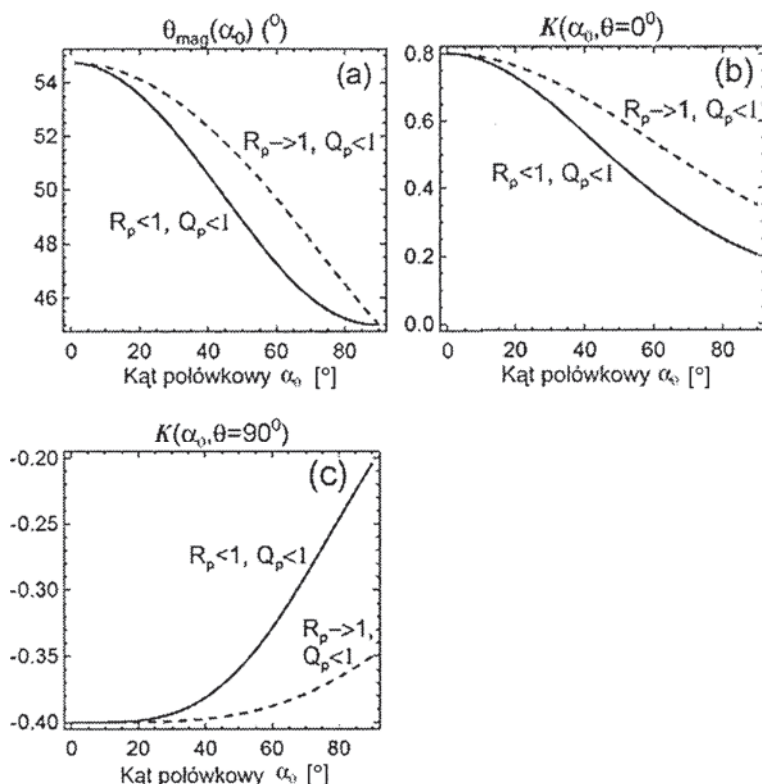
$$K_{\perp}(\alpha_0) = -\frac{1}{5}(3a(\alpha_0) - b(\alpha_0)) \quad (3.24)$$

Zmiana tych wartości w funkcji kąta α_0 wskazuje wyraźny wpływ wielkości apertury soczewki obiektywowej na ewolucję czasową obu spolaryzowanych zaników natężenia światła fluorescencji. Zmiany punktów przecięcia krzywych $K(\alpha_0, \theta)$ w funkcji kąta α_0 , z poziomą prostą wskazującą wartość zerową $K(\alpha_0, \theta)$, świadczą o zależności kąta magicznego θ_{mag} od apertury numerycznej obiektywu.

Pełniejszy obraz wpływu zmian apertury soczewki obiektywowej na ilościowe i jakościowe zmiany danych doświadczalnych, uzyskiwanych z pomiarów realizowanych według obu diskutowanych schematów układów pomiarowych (rys. 3.1), pokazany jest na wykresach rysunku 3.7. Obie krzywe pokazane na rysunku 3.7a przedstawiają zależność wartości kątów magicznych θ_{mag} od apertury kątowej α_0 soczewki obiektywowej. Zostały one wykreślone ze wzoru (3.19). Linia ciągła odpowiada układowi doświadczalnemu pokazanemu na rysunku 3.1a ($R_p(\alpha_0) < 1$, $Q_p(\alpha_0) < 1$), natomiast linia przerywana odnosi się do rysunku 3.1b ($R_p(\alpha_0) = 1$, $Q_p(\alpha_0) < 1$). W obu przypadkach wartości kątów magicznych zawarte są w granicach od $\theta_{\text{mag}} = 54,7^\circ$ (dla małych wartości α_0) do $\theta_{\text{mag}} = 45^\circ$ (dla dużych wartości α_0). Rysunki 3.7b i 3.7c przedstawiają zależność funkcyjną $K_{\square}(\alpha_0)$ i $K_{\perp}(\alpha_0)$ od apertury kątowej α_0 . Pokazują one w jak zasadniczy sposób rozmiar apertury numerycznej obiektywu mikroskopowego modyfikuje wkład kinetyczno-dynamicznego członu $W(t)Ph(t)$ w wyrażeniach na mierzone natężenia spolaryzowanych składowych emitowanego światła fluorescencji $I_{\square}(\alpha_0)$ i $I_{\perp}(\alpha_0)$ (równania (3.12) i (3.13)).

Przebiegi zmian $\theta_{\text{mag}}(\alpha_0)$, $K_{\square}(\alpha_0)$ oraz $K_{\perp}(\alpha_0)$ w funkcji kąta α_0 – wskazane na rysunku 3.7, a szczególnie ich początkowe wartości – jasno określają dopuszczalne granice wartości apertury kątowej α_0 , przy których wzory opisujące tradycyjną polaryzacyjną spektroskopię fluorescencyjną, tj. (a) kinetykę zaniku (zależności (2.11)–(2.13)) oraz (b) polaryzację fluorescencji (zależności (2.9) i (2.10) lub

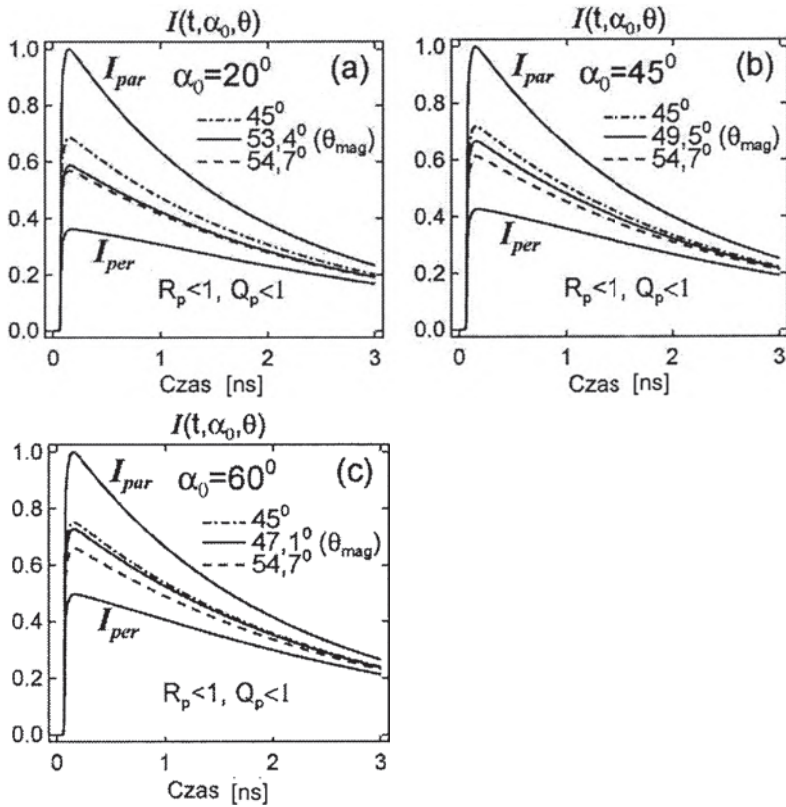
równoważnie zależności (2.17) i (2.18)), mogą być stosowane w podobnej technice, ale z wykorzystaniem soczewek obiektywowych (obiektywów mikroskopowych).



Rys. 3.7. Wykresy $\theta_{\text{mag}}(\alpha_0)$, $K_{\square}(\alpha_0)$ oraz $K_{\perp}(\alpha_0)$ w funkcji α_0
 Fig. 3.7. The plots of $\theta_{\text{mag}}(\alpha_0)$, $K_{\square}(\alpha_0)$ and $K_{\perp}(\alpha_0)$ versus α_0

Zgodnie z rysunkiem 3.7, w przypadku mikrospektroskopii konfokalnej lub szerokokopolowej (rysunek 3.1a) apertura kątowa α_0 nie powinna przekraczać wartości 15–20° w pomiarach kinetycznych oraz nie powinna przekraczać wartości 10–15° w pomiarach polaryzacyjnych. Natomiast w przypadku mikro/nanospektroskopii we wzbudzeniach falą zanikającą wykładniczo (rysunek 3.1a) kąt α_0 nie powinien przekraczać wartości 20–30° w pomiarach kinetycznych, natomiast w pomiarach polaryzacyjnych nie powinien on przekraczać zakresu wartości 15–20°.

W celu zademonstrowania wpływu dyskutowanych efektów, wynikających z dużych apertur obiektywów mikroskopowych na wyniki pomiarowe uzyskiwane w czasowo-rozdzielczej polaryzacyjnej mikro/nanospektroskopii fluorescencyjnej, na ry-



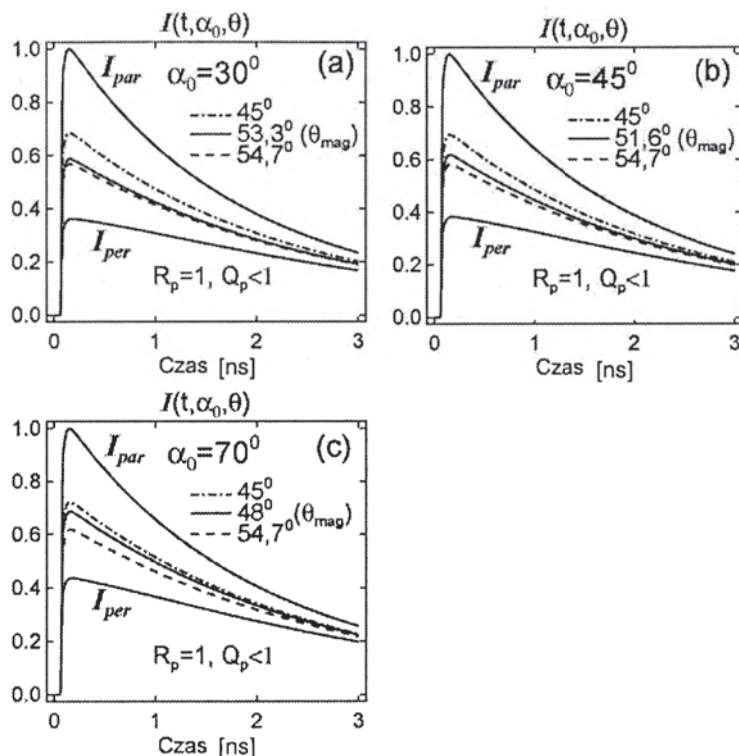
Rys. 3.8. Syntetyczne dane konfokalnej polaryzacyjnej mikro/nanospektroskopii fluorescencyjnej

Fig. 3.8. The synthetic data of confocal polarized fluorescence micro/nano-spectroscopy

sunkach 3.8 i 3.9 przedstawiamy dane syntetyczne zaników spolaryzowanych $I_{\square}(t, \alpha_0)$ i $I_{\perp}(t, \alpha_0)$, zaniku mierzonego przy prawdziwej wartości kąta magicznego $I_{\text{mag}}(\alpha_0, t)$ oraz zaniki syntetyczne zrekonstruowane dla obu skrajnych możliwych wartości kątów magicznych $54,7^\circ$ i 45° , tj. $I_{54,7}(t)$ oraz $I_{45}(t)$. Dane syntetyczne zostały wygenerowane przez numeryczne obliczenie splotów (wzór (2.3)) funkcji modelowych (przy wzbudzeniu impulsem typu delta-Diraca) $I_{\square}(t, \alpha_0)$, $I_{\perp}(t, \alpha_0)$, $I_{\text{mag}}(\alpha_0, t)$, $I_{54,7}(t)$ oraz $I_{45}(t)$ z, danych wzorami (3.17) i (3.18) (przyjmując stosowne wartości kąta θ), z doświadczalnie uzyskanym histogramem kształtu impulsu laserowego (600 kanałów; szerokość kanału 5 ps). W obliczeniach, dla uproszczenia problemu, założyliśmy jednowykładnicze modele dla zaniku kinetyki $Ph(t)$ oraz dla dynamiki ruchu obrotowego $W(t)$, przyjmując jednocześnie, że $\tau_F = \tau_R = 2,5$ ns.

Wszystkie zaniki zostały unormowane względem maksymalnej wartości korespondującego zaniku $I_{\square}(t, \alpha_0)$. Przebiegi czasowe pokazane na rysunkach 3.8(a)–3.8(c), dla $\alpha_0 = 20^\circ$, 45° , 60° , odnoszą się do przypadku jednoczesnego wzbudzenia i detekcji

światła fluorescencji z użyciem obiektywu mikroskopowego (rys. 3.1a). Natomiast wykresy przedstawione na rysunkach 3.9c, d, uzyskane dla $\alpha_0 = 30^\circ, 45^\circ, 70^\circ$, dotyczą przypadku we wzbudzeniach falą zanikającą wykładniczo (rys. 3.1b).



Rys. 3.9. Syntetyczne dane czasowo-rozdzielczej polaryzacyjnej mikro/nanospektroskopii fluorescencyjnej przy wzbudzeniach falą zanikającą wykładniczo
Fig. 3.9. The synthetic data of polarized fluorescence micro/nano-spectroscopy at evanescent-wave excitation

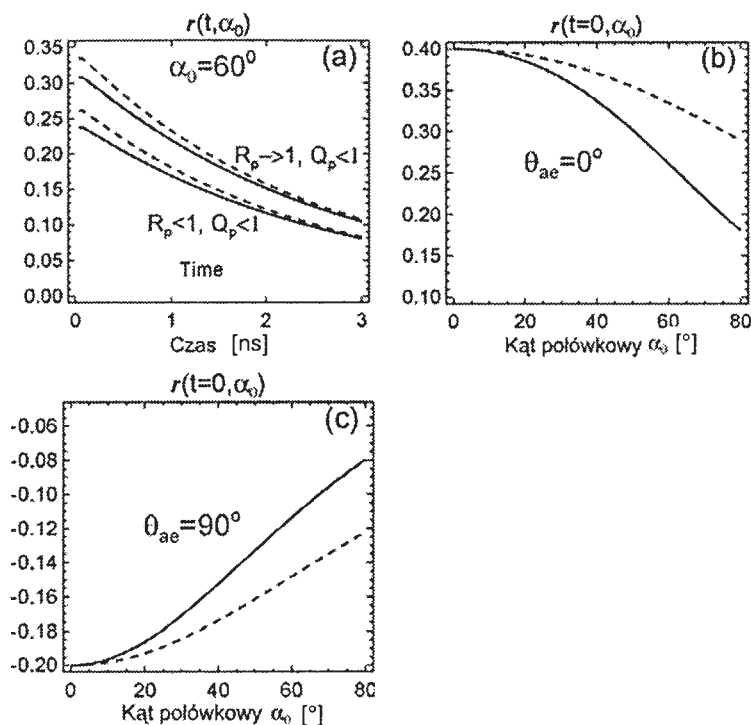
Wykresy przedstawione na rysunkach 3.8 i 3.9 demonstrują, że w zależności od apertury kątowej α_0 , kinetyczne zaniki natężenia światła fluorescencji mogą być bliskie zanikom $I_{54,7}(t)$, mogą być zawarte pomiędzy zanikami $I_{54,7}(t)$ oraz $I_{45}(t)$, a także mogą być bliskie zanikowi $I_{54,7}(t)$. W pierwszym przypadku występuje to w małych aperturach numerycznych soczewek obiektywowych, dla których apertury kątowe α_0 nie przekraczają kąta 20° w przypadku mikrospektroskopii konfokalnej i szerokopolowej (rys. 3.8(a)) lub nie przekraczają kąta 30° w przypadku wzbudzeń falą zanikającą wykładniczo (rys. 3.9(a)). W tych przypadkach kinetyka zaniku fluorescencji w dobrym przybliżeniu może być badana przy kącie detekcji $54,7^\circ$ lub z analizy zaniku danego wzorem (2.20). W drugim skrajnym przypadku, dla bardzo dużych apertur

kątowych, kinetyczne zaniki natężenia światła fluorescencji są bardzo bliskie zanikom mierzonym przy kącie detekcji 45° . W przypadku mikrospektroskopii konfokalnej i szerokopolowej (rys. 3.8(c)) kąt α_0 nie może być mniejszy niż 60° , natomiast w przypadku wzbudzeń falą zanikającą wykładniczo kąt ten nie powinien być mniejszy od wartości 70° (rys. 3.9(c)).

Wykresy spolaryzowanych zaników $I_{\square}(t, \alpha_0)$ oraz $I_{\perp}(t, \alpha_0)$, pokazane na rysunkach 3.8 i 3.9, wyraźnie wykazują wpływ wielkości apertur numerycznych obiektywów mikroskopowych na depolaryzację fluorescencji. Widać wyraźnie, że ze wzrostem wartości kąta α_0 maleje odstęp między zanikami $I_{\square}(t, \alpha_0)$ oraz $I_{\perp}(t, \alpha_0)$. Ponieważ zaniki syntetyczne pokazane na obu rysunkach zostały unormowane do maksymalnej wartości zaniku $I_{\square}(t, \alpha_0)$, wspomniany tutaj efekt przejawia się wzrostem wartości natężenia składowej prostopadłej $I_{\perp}(t, \alpha_0)$. Efekt wzrostu depolaryzacji fluorescencji, czyli większe pomniejszanie się odstępu pomiędzy zanikami obu spolaryzowanych składowych, jest mocniejszy w przypadku mikrospektroskopii konfokalnej i szerokopolowej (rys. 3.8), ponieważ obiektyw mikroskopowy jest wykorzystywany w torze wzbudzania i w torze detekcji światła fluorescencji. Efekt ten jest mniejszy (ale zdecydowanie istotny) w przypadku podobnych eksperymentów we wzbudzaniu falą zanikającą wykładniczo (rys. 3.9). Wynika to stąd, że jedynie światło rejestrowanej fluorescencji przechodzi przez obiektyw mikroskopowy.

Różnica efektów depolaryzacyjnych w obu rodzajach pomiarów jest wyraźnie odzwierciedlona na rysunku 3.10(a), na którym przedstawione są histogramy zaników anizotropii emisji $r(t, \alpha_0)$, zrekonstruowane z syntetycznych zaników obu składowych spolaryzowanych, obliczonych dla bardzo powszechnego przypadku doświadczalnego, tj. w aperturze kątowej $\alpha_0 = 60^\circ$. Dwa górne zaniki anizotropii emisji (linia ciągła i linia przerywana) odpowiadają przypadkowi wzbudzeń falą zanikającą wykładniczo, natomiast podobne dwa dolne zaniki odpowiadają przypadkowi, gdy w obu kanałach (wzbudzania i detekcji) światło przechodzi przez obiektyw mikroskopowy. Linie przerywane na rysunku 3.10(a) reprezentują zaniki $r(t, \alpha_0)$ wyliczone ze wzoru (2.23), z mianownikiem (opisującym zanik całkowitego natężenia światła fluorescencji, $I_{\text{tot}}(t)$) defilowanym w sposób tradycyjny, tj. według wzoru (2.20) lub z wykorzystaniem wzoru (2.22) (oba podejścia są sobie równoważne i jednakowo niewłaściwe dla warunków mikrospektroskopowych). Linie ciągłe pokazane na tym samym rysunku przedstawiają histogramy anizotropii emisji, wyliczone z prawidłowo zdefiniowanym mianownikiem, $I_{\text{tot}}(\alpha_0, t)$, danym równaniem (3.20). Histogramy pokazane liniami przerywanymi wyglądają tak, jakby ewolucja anizotropii emisji była co najmniej dwuwykładni, z dodatkowym zanikiem o krótszym czasie zaniku. Jest to artefakt doświadczalny, wynikający z adaptowania do mikrospektroskopii metod pomiarowych oraz opisów tych doświadczeń, wywodzących się z tradycyjnej spektroskopii polaryzacyjnej z równoległymi wiązkami światła. Histogramy pokazane liniami ciągłymi reprezentują jednowykładnicze zaniki anizotropii emisji, prawidłowo zrekonstruowane dla polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej, i prawidłowo odzwiercie-

dających liniowy związek (3.23) z histogramami anizotropii emisji $r(t)$, rozumianej w sensie tradycyjnym.



Rys. 3.10. Zanik w czasie anizotropii emisji dla typowych badań mikrospektroskopowych
Fig. 3.10. The decay of time-dependent emission anisotropy at typical microspectroscopic conditions

Na rysunkach 3.10(b) i 3.10(c) pokazane są wykresy początkowych wartości anizotropii emisji, otrzymane z zależności (3.22), dla dwóch skrajnych przypadków wzajemnej orientacji między absorpcyjnym i emisyjnym momentem przejścia elektronowego. Rysunek 3.10(b) dotyczy przypadku, gdy oba kierunki są wzajemnie równoległe, a rysunek 3.10(c) przypadku, gdy są one względem siebie prostopadłe. Rysunki te pokazują efekt pomniejszania wartości początkowych anizotropii emisji w funkcji wielkości apertury kątowej obiektywu α_0 . Odnoszą się one do obu dyskutowanych technik doświadczalnych, tj. krzywe ciągłe odnoszą się do przypadku, gdy przez obiektyw przechodzi światło wzbudzające i światło fluorescencji, natomiast krzywe przerywane odnoszą się do przypadku wzbudzeń falą zanikającą wykładniczo.

Dyskutując transformacje światła spolaryzowanego liniowo między przestrzenią laboratoryjną i przestrzenią ogniska soczewki obiektywowej, rozważaliśmy jednorodną (jednokierunkową) liniową polaryzację równoległą wiązki światła w przestrzeni laboratoryjnej oraz rozkład stożkowy kierunków liniowej polaryzacji poszczególnych

promieni w przestrzeni ogniska. Zgodnie z tym co stwierdziliśmy na początku tego rozdziału i co pokazuje rysunek 3.3b, tę samą dyskusję moglibyśmy przeprowadzić przez rozważenie transformacji składowych kartezjańskich liniowej polaryzacji światła w przestrzeni laboratoryjnej i w przestrzeni ogniska, dla światła wzbudzonego i dla światła fluorescencji emitowanego w ognisku i rejestrowanego w przestrzeni laboratoryjnej. W ujęciu fizycznym oba podejścia są sobie całkowicie równoważne. W ujęciu matematycznym jedyna zmiana, jaka byłaby wymagana w tym ujęciu problemu, to zastąpienie w równaniach (3.12) i (3.13) wielkości $a(\alpha_0)$ i $b(\alpha_0)$ przez podobne, ale wyrażone przez trzy kartezjańskie składowe natężenia światła wzbudzonego i trzy składowe natężenia światła fluorescencji, zdefiniowane w układzie odniesienia w środku ogniska (rys. 3.3b). Ponieważ składowe kartezjańskie obu natężeń zawsze można unormować, tak aby ich suma była równa jedności, nowe wzory na wielkości $a(\alpha_0)$ i $b(\alpha_0)$ byłyby wyrażone przez dwie pary składowych kartezjańskich obu natężeń światła.

3.3.2. PORÓWNANIE METODY MPP Z DANYMI DOŚWIADCZALNYMI NA PODSTAWIE LITERATURY

Trudności z pełnym (prawidłowym) opisem efektów depolaryzacji fluorescencji w mikroskopii fluorescencyjnej były wspominane w wielu pracach, i to w zasadzie od samego początku używania tej techniki. Niektórzy autorzy w swoich pracach nie komentowali nawet problemu ewidentnie pomniejszonych początkowych wartości anizotropii emisji, choć efekt był znaczący i był wyraźnie widoczny na histogramach zrekonstruowanych zaników anizotropii emisji. W wielu publikacjach (a właściwie we wszystkich), poświęconych obrazowaniu rozkładu czasów życia fluorescencji w próbkach uzyskanych techniką FLIM, autorzy obserwowali dwuwykładnicze zaniki fluorescencji nawet wtedy, gdy do materiałów wprowadzali sondy fluorescencyjne charakteryzujące się jednowykładniczym zanikiem natężenia światła fluorescencji, obserwowane w pomiarach tradycyjnych. Także i w tym przypadku problemu tego nie komentowali.

W zasadzie pierwszymi autorami, którzy już w 1991 r. otwarcie skomentowali problemy pojawiające się w mikrospektroskopii fluorescencyjnej, byli Keating i Wensel [61]. Problemy te zauważyli, opisując swoje pionierskie badania doświadczalne nanosekundowej polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej pojedynczych komórek barwionych fluoroforem Fura-2. Zauważyli oni, że, zmieniając obiektyw mikroskopowy o aperturze numerycznej $NA = 0,85$ na obiektyw o aperturze $NA = 1,3$, początkowa wartość zrekonstruowanego histogramu zaniku anizotropii emisji pomniejszyła się o 14–25%. Wyniki doświadczalne przedstawione w tej pracy charakteryzują się bardzo dużą wiarygodnością. Keating i Wensel [61] bardzo szczegółowo przedyskutowali, a następnie zastosowali do swoich danych pomiarowych, korekcje zmierzonych składowych spolaryzowanej fluorescencji ze względu na możliwe artefakty pomiarowe wynikające z różnej czułości detektora na inne kierunki liniowej

polaryzacji mierzonego natężenia światła fluorescencji. Innymi słowy, wyniki pomiarowe dyskutowane w pracy [61] są wynikami bardzo wiarygodnymi i zostały przez nas wykorzystane do zweryfikowania opisu MPP mikrospektroskopii fluorescencyjnej z jednoczesnym przechodzeniem przez obiektyw światła wzbudzającego i spolaryzowanego światła emitowanej fluorescencji (rys. 3.1a) [29].

Biorąc pod uwagę obie amplitudy, β_1 i β_2 , dwuwykładniczego zaniku anizotropii emisji fluoroforu Fura-2 w zawiesinie komórek, uzyskanych z tradycyjnych czasowo-rozdzielczych pomiarów spolaryzowanej fluorescencji, (tab. 2) wyliczyliśmy początkową wartość anizotropii emisji Fura-2, tj. $r(t = 0) = \beta_1 + \beta_2 = 0,4$. Z drugiej strony z wykresu histogramu $r(t)$ dla Fura-2 w komórkach, ale uzyskanych pomiarów mikroskopowych ($NA/n = 0,884$; stąd $\alpha_0 = 62^\circ$) odczytaliśmy wartość początkową anizotropii emisji $r(t = 0, \alpha_0 = 62^\circ) \approx 0,25$. W następnym kroku ze wzoru na $r(t = 0, \alpha_0)$, ale ze źle (literaturowym) zdefiniowanym mianownikiem dla anizotropii emisji w warunkach mikroskopowych, wyliczyliśmy przewidywaną przez opis MPP wartość $r(t = 0, \alpha_0 = 62^\circ) \approx 0,253$. Wartość ta wyśmienicie zgadza się z wartością doświadczalną uzyskaną przez Keating and Wensela [61]. Innymi słowy, początkowa wartość anizotropii emisji 0,4 uzyskana z pomiarów tradycyjnych redukuje się do wartości około 0,25 w pomiarach mikroskopowych przy aperturze kątowej $\alpha_0 = 62^\circ$.

Druga publikacja, z 1995 r. [62], charakteryzuje się tym, że w pomiarach mikroskopowych przed samym detektorem został umieszczony depolaryzator, depolaryzujący światło fluorescencji. Powoduje to, że obie składowe spolaryzowanej fluorescencji mierzone są przy identycznej czułości układu detekcyjnego na kierunek polaryzacji światła. W pracy [62] opisane są pomiary anizotropii emisji fluoroforu *p*-terefenyl w parafinie metodą mikroskopową przy $NA/n = 0,856$; stąd $\alpha_0 = 59^\circ$. Autorzy pracy [62] uzyskali $r(t = 0, \alpha_0 = 59^\circ) \approx 0,26$. Wartość początkowa anizotropii emisji *p*-terefenylu, uzyskiwana z pomiarów tradycyjnych, wynosi 0,4. Także i w tym przypadku widać znaczący efekt pomniejszania początkowych wartości anizotropii emisji wskutek używania obiektywu mikroskopowego. Robiąc podobne obliczenia z wykorzystaniem opisu MPP, uzyskaliśmy $r(t = 0, \alpha_0 = 59^\circ) \approx 0,262$. Jest to następny przykład na uzyskiwanie teoretycznych początkowych wartości anizotropii emisji, wyśmienicie zgadzających się z danymi doświadczalnymi.

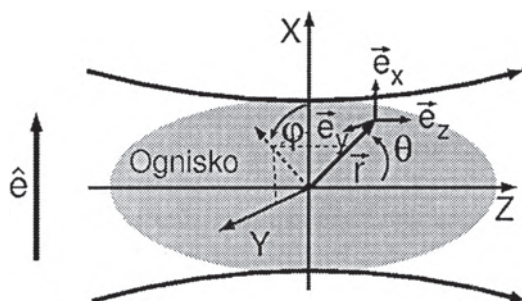
Na bazie tych dwóch przykładów możemy zatem przypuszczać, że metoda MPP opisu badań mikrospektroskopowych, bazująca na podstawach optyki geometrycznej, jest wystarczająco dokładnym ujęciem teoretycznym tej techniki spektroskopowej [29, 30].

3.4. OPIS MIKROSPEKTROSKOPII FLUORESCENCYJNEJ W DYFRAKCYJNYM UJĘCIU OGNISKOWANIA ŚWIATŁA WZBUDZAJĄCEGO

W poprzednim rozdziale pracy rozważyliśmy problem czasowo-rozdzielczej spektroskopii fluorescencyjnej w świetle spolaryzowanym z wykorzystaniem soczewek

obiektywowych o dużych aperturach numerycznych, korzystając z optyki geometrycznej. Staraliśmy się przedstawić ten problem w dość systematyczny sposób, demonstrując kilka efektów, które nie pojawiają się w tradycyjnej spektroskopii fluorescencyjnej, gdzie spolaryzowane światło wzbudzające fluorescencję oraz światło fluorescencji docierające do detektora są w postaci równoległych (lub prawie równoległych) wiązek światła.

Zastosowanie optyki geometrycznej do opisu detekcji natężenia spolaryzowanego światła fluorescencji, mierzonego z dużego kąta bryłowego, jest uzasadnione, gdyż fluorescencja jest emisją spontaniczną. Inaczej wygląda problem wzbudzeń fluorescencji ze światłem laserowym, skupianym na próbce soczewką obiektywową o dużej aperturze numerycznej, gdyż światło laserowe jest światłem spójnym. W tym rozdziale rozpatrzmy identyczny problem, jaki wystąpił w poprzednim rozdziale, z tą różnicą, że teraz proces wzbudzania fluorescencji opiszemy z wykorzystaniem optyki falowej, tj. z wykorzystaniem dyfrakcyjnego opisu skupiania światła. Dyskusję ograniczymy jednak do wykazania, że wzory opisujące mikro/nanospektroskopię fluorescencyjną, uwzględniające dyfrakcyjny opis skupiania światła wzbudzającego, mają identyczną postać z tym otrzymanym w poprzednim rozdziale, gdzie skupianie światła wzbudzającego było opisane w języku optyki geometrycznej. W następnym rozdziale pracy wykażemy, że oba opisy skupiania światła, jeżeli idzie o efekty polaryzacyjne, są opisami równoważnymi w sensie ilościowym dla typowych warunków mikrospektroskopowych. Tak więc dyskusja podstawowych właściwości polaryzacyjnej mikro/nanospektroskopii fluorescencyjnej, przedstawiona w poprzednim rozdziale, nie wymaga żadnych zmian czy uzupełnień dla przypadku dyskutowanego w tym rozdziale.



Rys. 3.11. Rozkład pola elektromagnetycznego w ognisku soczewki obiektywowej
Fig. 3.11. Electromagnetic field distribution at the focus of an objective lens

Dyfrakcyjny opis skupiania światła przez soczewkę o dowolnej aperturze numerycznej był dyskutowany już w latach 1919–1920 przez Ignatowskiego [63, 64], a głębszy opis tego problemu (włączając numeryczne badania rozkładu energii pola elektromagnetycznego w ognisku) został przedstawiony przez Richardsa i Wolfa [31],

z wykorzystaniem pewnych niezbędnych rezultatów opisanych w pracy Wolfa [65]. Richards i Wolf [31] rozważyli dyfrakcję równoległej wiązki światła o jednorodnej polaryzacji liniowej, zaprezentowanej na rysunku 3.11 przez wektor jednostkowy $\hat{e}$, na idealnej soczewce obiektywowej wolnej od aberracji sferycznej. Przeprowadzając dość skomplikowane rozważania teoretyczne, Richards i Wolf [31] otrzymali wyrażenia na kartezjańskie składowe wektorowego pola elektromagnetycznego dla dowolnego punktu ogniska. Ponieważ w spektroskopii fluorescencyjnej próbkowane są momenty przejść elektronowych, w przybliżeniu elektrycznym dipolowym (dotyczy to zarówno absorpcji światła, jak i emisji światła fluorescencji), rozważania ograniczymy jedynie do składowych pola elektrycznego.

Na rysunku 3.11 przedstawiamy (w powiększeniu) obszar ogniska światła wzbudzającego fluorescencję, otrzymywany w procesie skupiania liniowo spolaryzowanej równoległej wiązki światła przez soczewką obiektywową o aperturze kątowej α_0 , tak jak to pokazano na rysunku 3.3b). Każdemu punktowi w przestrzeni ogniska, o współrzędnych sferycznych $(\vec{r}, \theta, \varphi)$, Richards i Wolf [31] przyporządkowali odpowiednie składowe kartezjańskie natężenia pola elektrycznego oraz pola magnetycznego. Wprowadzając zmienne

$$u = kr \cos \theta \sin^2 \alpha_0 = kz \sin^2 \alpha_0 \quad (3.25)$$

$$v = kr \sin \theta \sin \alpha_0 = k\sqrt{(x^2 + y^2)} \sin \alpha_0 \quad (3.26)$$

składowe kartezjańskie pola elektrycznego opisane są przez następujące zależności:

$$e_x(u, v, \varphi) \propto i[I_0(u, v) + I_2(u, v) \cos 2\varphi] \quad (3.27)$$

$$e_y(u, v, \varphi) \propto iI_2(u, v) \sin 2\varphi \quad (3.28)$$

$$e_z(u, v, \varphi) \propto 2I_1(u, v) \cos \varphi \quad (3.29)$$

Funkcje $I_0(u, v)$, $I_1(u, v)$ oraz $I_2(u, v)$ są trzema całkami po kącie θ w granicach od 0 do α_0 , zawierającymi funkcje Bessela pierwszego rodzaju J_0 , J_1 i J_2 , tj.

$$I_0(u, v) = \int_0^{\alpha_0} \sqrt{\cos \theta} \sin \theta (1 + \cos \theta) J_0\left(\frac{v \sin \theta}{\sin \alpha_0}\right) \exp\left(\frac{iu \cos \theta}{\sin^2 \alpha_0}\right) d\theta \quad (3.29a)$$

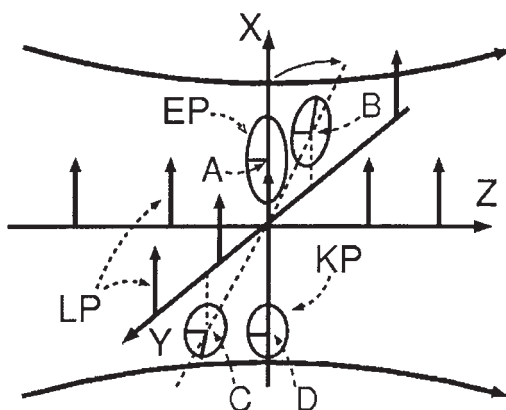
$$I_1(u, v) = \int_0^{\alpha_0} \sqrt{\cos \theta} \sin^2 \theta J_1\left(\frac{v \sin \theta}{\sin \alpha_0}\right) \exp\left(\frac{iu \cos \theta}{\sin^2 \alpha_0}\right) d\theta \quad (3.30)$$

$$I_2(u, v) = \int_0^{\alpha_0} \sqrt{\cos \theta} \sin \theta (1 - \cos \theta) J_2\left(\frac{v \sin \theta}{\sin \alpha_0}\right) \exp\left(\frac{iu \cos \theta}{\sin^2 \alpha_0}\right) d\theta \quad (3.31)$$

W podobny sposób opisywane są składowe natężenia pola magnetycznego. Należy podkreślić, cytując słowa Richardsa i Wolfa [31], że wzory (3.27)–(3.29) są identyczne ze wzorami otrzymanymi przez Ignatowskiego [63, 64] w latach 1919–1920. Wzory te pokazują, że kartezjańskie składowe pola elektrycznego (i także pola magnetycznego – wzory podane są w pracy [31]) są we wzajemnej zależności fazowej. Zależność fazowa pomiędzy tymi składowymi zmienia się od punktu do punktu w obszarze ogniska.

Bez żadnych obliczeń numerycznych, jak to pokazali Richards i Wolf [31], problem polaryzacji pola elektromagnetycznego można rozważyć jedynie w płaszczyźnie ogniskowej, tj. w płaszczyźnie XY (dla $Z = 0$, tj. dla $u = 0$). W tym przypadku funkcje $I_0(u = 0, v)$, $I_1(u = 0, v)$ oraz $I_2(u = 0, v)$ są funkcjami rzeczywistymi. Wówczas, analizując składowe pola elektrycznego (3.27)–(3.29) w sensie zależności fazowych, wnioskując, do jakich doszli Richards i Wolf [31], można przedstawić w sposób pokazany na rysunku 3.12. Zgodnie z tym rysunkiem, w płaszczyźnie ogniskowej pole elektryczne ma polaryzację liniową (LP) o kierunku osi X , dla każdego punktu na osi Y . Oddalając się od płaszczyzny YZ (w dół lub w górę; zwiększamy odległość $|\vec{r}|$ od centrum ogniska), pole elektryczne zaczyna mieć także niezerową składową wzdłuż osi Z i obie składowe są w zależności fazowej, prowadzącej do eliptycznej polaryzacji światła (EP) w tych punktach. Osie krótkie elips polaryzacji pola elektrycznego są równoległe do osi Z , natomiast osie długie tych elips mogą tworzyć niezerowe kąty z osią X . Wartości tych kątów zależą od wyboru punktu w płaszczyźnie XY . Dla punktu A oś długa elipsy jest równoległa do osi X , natomiast dla punktu B kąt ten jest niezerowy. Tangens kąta nachylenia elipsy polaryzacji można obliczyć ze wzoru podanego przez Richardsa i Wolfa [31]:

$$\operatorname{tg} \chi(u = 0, v) = \frac{I_2(u = 0, v) \sin 2\varphi}{I_0(u = 0, v) + I_2(u = 0, v) \cos 2\varphi} \quad (3.32)$$



Rys. 3.12. Polaryzacja pola elektrycznego w płaszczyźnie ogniskowej ($Z = 0$)
Fig. 3.12. The electric field polarization in the focal plane ($Z = 0$)

Zwiększając jeszcze bardziej odległość od centrum ogniska, możemy dojść do sytuacji, gdy polaryzacja pola elektrycznego (a zwłaszcza pola elektromagnetycznego, biorąc pod uwagę także pole magnetyczne) jest kołowa (PK), jak pokazano to na rysunku 3.12 dla punktów D i C. Problem zilustrowania polaryzacji pola elektrycznego w płaszczyźnie ogniskowej, według wniosków matematycznych wskazanych przez Richardsa i Wolfa [31], był dyskutowany także przez Axelroda [66] bez rozważenia (czy skomentowania) ogólnego problemu stanu polaryzacji pola elektromagnetycznego w dowolnym miejscu w obszarze ogniska.

Nie ograniczając dyskusji stanu polaryzacji światła w ognisku jedynie do płaszczyzny ogniskowej XY ($Z = 0$), gdyż jest to jedynie nieskończenie cienki wycinek („plaster”) ogniska, ogólny stan polaryzacji pola elektromagnetycznego w ognisku należy określić jako elipsoidalny [30], gdyż ogólnie w każdym punkcie ogniska wszystkie trzy składowe kartezjańskie tego pola są niezerowe i są one we wzajemnej zależności fazowej. Długości tych składowych oraz fazowe zależności pomiędzy nimi są inne w różnych punktach ogniska. Dla pola elektromagnetycznego w punktach leżących wzdłuż osi optycznej układu (oś Z) oraz w obszarze bliskim tej osi polaryzacja pola będzie liniowa (o kierunku polaryzacji wzdłuż osi X). Im dalej od osi optycznej (w kierunku do niej prostopadłym), tym większy jest wkład polaryzacji wzdłuż dwóch pozostałych osi układu odniesienia. Poza przypadkiem samej płaszczyzny ogniskowej (która jest jedynie fragmentem niewielkiego obszaru ogniska), dla której wzory (3.27)–(3.29) znacząco się redukują, przeprowadzenie podobnej analizy dla reszty obszaru ogniska nie jest możliwe bez obliczeń numerycznych. To co można powiedzieć, bez ryzyka popełnienia błędu myślowego, to że rozkład pola elektromagnetycznego w ognisku jest mocno niejednorodny oraz że ogólny stan polaryzacji pola elektromagnetycznego jest elipsoidalny. Ten ogólny stan polaryzacji redukuje się do polaryzacji liniowej, eliptycznej lub kołowej w zależności od wybranego miejsca w ognisku oraz od sposobu wybrania płaszczyzny rzutu pola elektromagnetycznego [30].

Nasza praca [30] jest, chyba, pierwszą publikacją, w której użyty został termin elipsoidalnego stanu polaryzacji pola elektromagnetycznego. Przy odpowiednio dużych aperturach numerycznych soczewek obiektywowych w pewnych obszarach ogniska, teoretycznie, stan polaryzacji może być nawet sferyczny. To do czego jesteśmy przyzwyczajeni, jako do tzw. ogólnego stanu polaryzacji światła, to polaryzacja eliptyczna. Należy jednak pamiętać, że podczas dyskutowania takiego przypadku, rozważania ograniczone są do równoległych wiązek światła i fal płaskich. W przestrzeni płaskich frontów falowych ogólny stan polaryzacji pola jest ograniczony do dwóch wymiarów, tj. do płaszczyzny prostopadłej do kierunku rozchodzenia się tego pola. Z tego powodu rzeczywiście ogólnym stanem polaryzacji światła jest polaryzacja eliptyczna. W przestrzeni ogniska soczewek obiektywowych (obiektywów mikroskopowych) o dużych aperturach numerycznych fronty falowe nie są płaskie. Dla soczewek idealnych, wolnych od aberracji sferycznej, czoła fal są kuliste i fala elektromagnetyczna rozchodzi się wzdłuż trzech osi układu odniesienia zaczepionego

w centrum ogniska. Tak więc wymiarowość przestrzenna stanu polaryzacji pola elektromagnetycznego zależy od tego czy dyskutujemy przestrzeń płaskich frontów falowych, czy przestrzeń sferycznych frontów falowych. Różnica jest zasadnicza.

Stan polaryzacji oraz wymiarowość przestrzenna pola elektromagnetycznego w dowolnym punkcie ogniska ma istotne znaczenie w spektroskopii optycznej. W przypadku spektroskopii fluorescencyjnej we wzбудzeniach jednofotonowych i absorberów liniowych (liniowe oscylatory absorpcji) zależności fazowe między składowymi kartezyjskimi pola elektrycznego w danym punkcie ogniska nie mają znaczenia, gdyż liniowe oscylatory absorpcji nie są czułe na te zależności fazowe. Ważne są jedynie amplitudy trzech kartezyjskich składowych pola elektrycznego. W przypadku fluoroforów chiralnych, których oscylatory absorpcji są kołowe (lewo- lub prawoskrętne), prawdopodobieństwo wzbudzenia takiego fluoroforu będzie zależało od tego czy znajduje się on w takim miejscu ogniska, w którym istnieje płaszczyzna rzutu pola elektromagnetycznego, w której rzut tego pola ma polaryzację kołową o odpowiedniej skrętności [30]. W przypadku spektroskopii fluorescencyjnej we wzbudzeniach, szczególnie wielofotonowych, wymiarowość pola elektrycznego oraz stan jego polaryzacji ma znaczenie bardzo istotne. Proces absorpcji wielofotonowej opisywany jest przez tensor absorpcji drugiego rzędu dla wzbudzeń dwufotonowych, trzeciego rzędu dla wzbudzeń trójfotonowych oraz czwartego rzędu dla wzbudzeń czterofotonowych. W zależności od wymiarowości pola elektrycznego i w zależności od różnic fazowych między jego składowymi próbkowane są inne kombinacje liniowe elementów tych tensorów. Ten sam problem dotyczy technik rozproszeniowych (rozpraszanie ramanowskie lub generacja wyższych harmoniczných światła). Innymi słowy, dyskutując molekularną spektroskopię optyczną dowolnego rodzaju we wzbudzeniach światłem ogniskowanym przez soczewką o odpowiednio dużej aperturze numerycznej, należy mówić o spektroskopii w świetle elipsoidalnie spolaryzowanym i należy brać pod uwagę zmianę tego trójwymiarowego stanu polaryzacji pola elektromagnetycznego w zależności od wyboru punktu w obszarze ogniska. Zgodnie z wiedzą autora tego opracowania ten aspekt mikrospektroskopii optycznej nigdy nawet nie był wspomniany w literaturze, choć jego waga jest bardzo oczywista i w zasadzie wynika z prac Ignatowskiego [63, 64], opublikowanych prawie 100 lat temu, oraz z pracy Richardsa i Wolfa [31] opublikowanej 50 lat temu.

Wracamy teraz do problemu opisu mikrospektroskopii fluorescencyjnej liniowych absorberów przy dyfrakcyjnym opisie ogniskowania światła. Każdy punkt ogniska, jeśli idzie o skupione światło wzbudzające, jest źródłem emitowanej fluorescencji. Jeśli natomiast idzie o detekcję emitowanego światła fluorescencji, obiektyw mikroskopowy jest optycznym integratorem, „sumującym” emitowane światło fluorescencji po wszystkich punktach ogniska. Całkując wyrażenia (3.27)–(3.29) po wszystkich zmiennych w granicach rozmiaru ogniska, otrzymamy zintegrowane wartości składowych pola elektrycznego, tj. e'_x , e'_y oraz e'_z . Składowe te pokazane są na rysunku 3.3b) (w inaczej wybranym układzie odniesienia nie ma to najmniejszego znaczenia).

Postępowanie takie jest uzasadnione tym, że liniowe oscylatory absorpcji nie są czułe na zależności fazowe między kartezjańskimi składowymi pola elektrycznego. Z wartości tych możemy obliczyć unormowane składowe całkowitego natężenia światła wzbudzającego, w początku układu odniesienia w ognisku [28], tzn.

$$f_j(\alpha_0) = \frac{|\dot{e}'_j(\alpha_0)|^2}{\sum_{i=x,y,z} |\dot{e}'_i(\alpha_0)|^2}; \quad j = x, y, z \quad (3.33)$$

gdzie $f_x(\alpha_0) + f_y(\alpha_0) + f_z(\alpha_0) = 1$. Każda z kartezjańskich składowych natężeniowych jest źródłem wzbudzonej w ognisku fluorescencji, a obie składowe spolaryzowanego światła fluorescencji, mierzone w przestrzeni laboratoryjnej, wyrażone są zależnościami [28]:

$$I_{\square}(t, \alpha_0) = f_x(\alpha_0)I_{x,\square}(t, \alpha_0) + f_y(\alpha_0)I_{y,\square}(t, \alpha_0) + f_z(\alpha_0)I_{z,\square}(t, \alpha_0) \quad (3.34)$$

$$I_{\perp}(t, \alpha_0) = f_x(\alpha_0)I_{x,\perp}(t, \alpha_0) + f_y(\alpha_0)I_{y,\perp}(t, \alpha_0) + f_z(\alpha_0)I_{z,\perp}(t, \alpha_0) \quad (3.35)$$

W poprzednich wzorach składowe równoległe i prostopadłe emitowanego światła w ognisku znajdujemy z metody MPP z założeniem, że światło wzbudzające przybliżamy wiązką równoległą (tj. $R(\alpha_0) = 1$), czyli [28]:

$$I_{x,\square}(t, \alpha_0) = I_{x,\perp}(t, \alpha_0) = C \left[Ph(t) - \frac{2}{5} Q_0(\alpha_0) W(t) Ph(t) \right] \quad (3.36)$$

$$I_{y,\square}(t, \alpha_0) = I_{z,\perp}(t, \alpha_0) = C \left[Ph(t) - \frac{1}{5} (3Q_2(\alpha_0) - Q_0(\alpha_0)) W(t) Ph(t) \right] \quad (3.37)$$

$$I_{z,\square}(t, \alpha_0) = I_{y,\perp}(t, \alpha_0) = C \left[Ph(t) + \frac{1}{5} (3Q_2(\alpha_0) + Q_0(\alpha_0)) W(t) Ph(t) \right] \quad (3.38)$$

Biorąc pod uwagę podane równania, składowe spolaryzowanego światła emitowanej fluorescencji $I_{\square}(t, \alpha_0)$ i $I_{\perp}(t, \alpha_0)$, których natężenia są mierzone w przestrzeni laboratoryjnej, przyjmują postać [28]

$$I_{\square}(t, \alpha_0) = C \left[Ph(t) + \frac{1}{5} (3a(\alpha_0) + b(\alpha_0)) W(t) Ph(t) \right] \quad (3.39)$$

$$I_{\perp}(t, \alpha_0) = C \left[Ph(t) - \frac{1}{5} (3a(\alpha_0) - b(\alpha_0)) W(t) Ph(t) \right] \quad (3.40)$$

gdzie

$$a(\alpha_0) = (f_z(\alpha_0) - f_y(\alpha_0)) Q_2(\alpha_0) \quad (3.41)$$

$$b(\alpha_0) = (f_z(\alpha_0) + f_y(\alpha_0) - 2f_x(\alpha_0))Q_2(\alpha_0) \quad (3.42)$$

Otrzymane wzory (3.39)–(3.42) w sensie struktury są identyczne ze wzorami (3.12)–(3.15) uzyskanymi w modelu MPP. Jedyna różnica między obydwo ma zestawami równań polega na odmiennej definicji współczynników opisujących efekt ogniskowania światła spolaryzowanego w ujęciu optyki geometrycznej (wzory (3.14), (3.15)) oraz korespondujące współczynniki uzyskane z dyfrakcyjnego opisu ogniskowania światła spolaryzowanego. Równania te stosują się do obu czasowo-rozdzielczych technik mikro/nanospektroskopowych przedstawionych na rysunku 3.1. Ponieważ przedstawiony w tym rozdziale model opisujący mikrospektroskopię fluorescencyjną angażuje teorię dyfrakcji światła na soczewce oraz metodę MPP, model ten nazwiemy DTMP (29, 30).

Modele MPP i DTMP są modelami bardzo odmiennie traktującymi ognisko soczewki obiektywowej. Model MPP traktuje ognisko jako obiekt punktowy. Nie uwzględnia on rozciągłości ogniska. Model DTMP traktuje ognisko jako obszar rozciągły o niejednorodnym rozkładzie natężenia pola elektromagnetycznego oraz o zależnym od wyboru punktu w ognisku stanie polaryzacji pola elektromagnetycznego. Model MPP jest bardzo prosty w swojej konstrukcji i prowadzi do bardzo prostych wzorów opisujących proces ogniskowania światła wzbudzającego oraz detekcji światła fluorescencji z szerokiego kąta bryłowego. Matematycznie model ten ogranicza się do dwóch bardzo prostych wyrażeń trygonometrycznych (3.8) i (3.9). Prostota matematyczna modelu MPP jest w ewidentnym kontraście do opisu DTMP, nawet z uproszczeniem dla absorberów liniowych. Model DTMP wymaga obliczenia trzech trójwymiarowych całek (3.29)–(3.31), z trzema funkcjami Bessela pierwszego rodzaju. Obliczenie tych całek po kącie θ , w granicach od 0 do α_0 (apertura kątowa soczewki), nie stanowi problemu, gdyż górną granicę całkowania wyliczymy z zależności (3.1). Natomiast całkowanie po zmiennych u i v nie jest już tak oczywiste. Musimy pamiętać, że ognisko obrazowane jest do detektora przez małą źrenicę (ang. *pinhole*). Podczas obliczania całek w tych dwóch zmiennych musimy zastanowić się nad tym, jaka część obszaru ogniska jest rzeczywiście obrazowana do detektora. Nie zawsze jest to problem aż tak trywialny. Jeżeli granice całkowania w obu tych zmiennych są źle wybrane, wówczas źle obliczone wartości $a(\alpha_0)$ oraz $b(\alpha_0)$ (wzory (3.41), 3.42)) mogą być przyczyną błędnej analizy danych doświadczalnych.

Ewidentna prostota modelu MPP i dość skomplikowana procedura obliczeniowa w modelu DTMP zachęcają do ilościowego porównania obu podejść do mikrospektroskopii fluorescencyjnej. Porównania tego można dokonać na kilka sposobów.

3.5. UJEDNOLICONY OPIS MIKROSPEKTROSKOPII FLUORESCENCYJNEJ. PORÓWNANIE MODELI MPP I DTMP

Opisy czasowo-rozdzielczej polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej uzyskane w modelu MPP i DTMP można przedstawić w formie zunifikowanej. Na-

teżenie światła mierzone przy dowolnym kącie detekcji i dla dowolnej apertury numerycznej obiektywu mikroskopowego ma postać równania (3.17), niezależnie od tego czy rozważamy opis MPP czy DTMP [30]. Równanie to opisuje przypadki doświadczalne wskazane na rysunku 3.1. Przyjmując w równaniu (3.17) wartości kąta detekcji $\theta = 0^\circ$ oraz $\theta = 90^\circ$, otrzymujemy wzory na dwie spolaryzowane składowe mierzonego natężenia światła fluorescencji, tj.

$$I_{\square}(t, \alpha_0) = C[Ph(t) + K_{\square}(\alpha_0)Ph(t)W(t)] \quad (3.43)$$

$$I_{\perp}(t, \alpha_0) = C[Ph(t) + K_{\perp}(\alpha_0)Ph(t)W(t)] \quad (3.44)$$

Korzystając ze wzoru (3.16), znajdujemy ogólną postać czynnika $K(\alpha_0, \theta)$ [30]

$$K(\alpha_0, \theta) = [K_{\square}(\alpha_0) - K_{\perp}(\alpha_0)] \cos^2 \theta + K_{\perp}(\alpha_0) \quad (3.45)$$

który po podstawieniu do wzoru (3.17), powoduje, że wzór ten ma charakter ogólny i stosuje się zarówno do opisu MPP, jak i do opisu DTMP. Korzystając z warunku na wartość kąta magicznego dla dowolnej apertury kątowej α_0 , tj. ze wzoru (3.19), znajdujemy ogólną zależność

$$\theta_{mag} = \arccos \sqrt{-\frac{K_{\perp}(\alpha_0)}{K_{\square}(\alpha_0) - K_{\perp}(\alpha_0)}} \quad (3.46)$$

W podanych zależnościach modele MPP i DTMP różnią się współczynnikami $a(\alpha_0)$ oraz $b(\alpha_0)$, które w obu opisach dane są odpowiednio wzorami (3.14) i (3.15) oraz (3.41) i (3.42).

3.5.1. EMPIRYCZNA METODA PORÓWNANIA OPISÓW MPP I DTMP

Metoda, którą tutaj proponujemy, jest metodą bardzo naturalną, nie wymagającą żadnych głębszych rozważań teoretycznych. Powinna być raczej traktowana przez doświadczalników jako sposób na rutynowe sprawdzanie poprawności działania aparatury (mikroskopu fluorescencyjnego) czy to zbudowanej w laboratorium, czy też zakupionej. Trudno jest sobie wyobrazić świadome wykonywanie prac badawczych bez uprzedniego sprawdzenia czy aparatura wykorzystywana w badaniach jest źródłem poprawnych informacji. Zastanawiające jest to, że metoda nie została zauważona przez wiele tysięcy doświadczalników pracujących w okresie ostatnich 20–30 lat w obszarze czasowo-rozdzielczej mikrospektroskopii fluorescencyjnej. Jak już wspomnieliśmy wcześniej, trudności w zrozumieniu dodatkowych efektów (optycznych) pojawiających się w pomiarach mikrospektroskopowych były znane już od bardzo dawna.

Istnieje bardzo prosta metoda, czysto empiryczna, nieangażująca żadnych rozważań teoretycznych, umożliwiająca wyświetlenie problemu różnicy informacji o kinetycznym zaniku fluorescencji, uzyskiwanym z pomiarów tradycyjnych (z równole-

głymi wiązkami światła) oraz uzyskiwanym z pomiarów mikroskopowych o różnych aperturach numerycznych obiektywów mikroskopowych. Obie techniki powinny dostarczać tę samą informację na temat charakteru kinetycznego zaniku światła fluorescencji, gdyż kinetyczna ewolucja stanu wzbudzonego fluoroforów nie może zależeć od sposobu jej obserwacji (zakładamy tutaj, że pomiary mikrospektroskopowe przeprowadzane są w warunkach odpowiadających spektroskopii fluorescencyjnej dalekiego pola (ang. *far-field fluorescence spectroscopy*)).

W metodzie empirycznej zakładamy, iż znamy kinetyczny zanik fluorescencji jakiegoś fluoroforu w roztworze, tj. znamy jego średni czas życia w stanie wzbudzonym, uzyskany z tradycyjnych pomiarów czasowo-rozdzielczych. Tego samego roztworu fluoroforów możemy użyć w badaniach mikrospektroskopowych, polegających na przeprowadzeniu kilku pomiarów zaników natężenia światła fluorescencji przy różnych kątach detekcji θ (rys. 3.1, przypadki a i b). Krótka seria pomiarowa dla różnych wartości kąta θ powinna natychmiast doprowadzić do prawidłowego wniosku odnośnie do tego, jaki kąt θ musi być przyjęty w takich pomiarach, aby analiza zaniku fluorescencji zwracała poprawną informację o kinetyce ewolucji stanu wzbudzonego fluoroforów, tj. aby zwracała wartość średniego czasu życia fluoroforów w stanie wzbudzonym, zgodną z wartością znaną z badań tradycyjnych. W ten sposób można określić empiryczną wartość kąta magicznego θ_{mag} . Powtarzając tę procedurę dla obiektywów o różnych aperturach numerycznych można zauważyć zależność wartości kątów magicznych od wartości apertur kątowych α_0 . Podstawiając do mianownika we wzorze (3.21) prawidłowy histogram całkowitego natężenia światła fluorescencji, otrzymamy prawidłowe histogramy zaników anizotropii emisji (dla obu przypadków doświadczalnych wskazanych na rysunku 3.1), pokazanych na rysunku 3.10(a) liniami ciągłymi.

Należy nadmienić, że do tej pory, dyskutując teoretyczne opisy mikrospektroskopii, nie wspominaliśmy o wielu efektach optycznych wewnątrz aparatury pomiarowej, które mogą wpływać na wyniki pomiarów mikrospektroskopowych. Takimi efektami mogą być: (a) wpływ zwierciadła dichroicznego na natężenie różnych spolaryzowanych składowych światła fluorescencji, (b) defekty konstrukcyjne lub uszkodzenia obiektywów obiektywowych, (c) aberracja sferyczna i/lub chromatyczna, a nawet (d) niejednorodny rozkład natężenia światła w przekroju poprzecznym wiązki światła wzbudzającego wchodzącego do obiektywu mikroskopowego. Wszystkie te efekty będą uwzględnione w empirycznej metodzie ustalania wartości kąta magicznego θ_{mag} . Znając wartości kąta θ_{mag} można wykonać pomiary mapy rozkładów czasów życia w badanej próbce, z zachowaniem tych samych warunków fizycznych (np. temperatura, długość fali światła wzbudzającego i długość fali światła emisji), jak podczas określania jego wartości.

Z drugiej strony dyskutowana tutaj metoda empiryczna umożliwia proste porównanie opisów MPP i DTMP. Wartości kątów θ_{mag} określone w sposób empiryczny powinny być podobne do wartości obliczanych ze wzoru (3.46), z wykorzystaniem

obu opisów mikrospektroskopii fluorescencyjnej, zakładając że układ pomiarowy nie wprowadza żadnych artefaktów optycznych. Wszystko zależy jednak od tego czy oba opisy ogniskowania światła dają podobne ilościowe rezultaty.

3.5.2. ILOŚCIOWE PORÓWNANIE OBU OPISÓW OGNISKOWANIA ŚWIATŁA

Do problemu porównania opisów ogniskowania światła laserowego w ujęciu optyki geometrycznej (płaszczyzny MPP) i w ujęciu optyki falowej (dyfrakcja światła na soczewce) podejmiemy trochę szerzej. Przedyskutujemy bowiem także wpływ niejednorodnego rozkładu natężenia światła w przekroju poprzecznym wiązki światła laserowego na efekt fotoselekcji (wzbudzenia) fluoroforów w ognisku. W sensie ilościowym oba opisy ogniskowania światła powinny prowadzić do tych samych (lub bardzo podobnych) rezultatów. Tak podpowiada intuicja. Z drugiej strony, bardziej bezpośrednie ilościowe porównanie obu opisów może być dobrym sposobem na zweryfikowanie dość podstawowego zagadnienia w samej optyce, tzn. na ile dyfrakcyjny opis ogniskowania światła zgadza się z wynikami doświadczalnymi, znanymi w literaturze.

Rozważmy równoległą wiązkę liniowo spolaryzowanego światła laserowego o gaussowskim rozkładzie natężenia w przekroju poprzecznym, która jest ogniskowana przez soczewkę obiektywową (rys. 3.13a). W przestrzeni laboratoryjnej (przed wejściem światła do obiektywu) wszystkie promienie tej wiązki, choć mają inne natężenia, mają ten sam kierunek liniowej polaryzacji. Ze względu na fotoselekcję fluoroforów zatem niczym one się nie różnią od siebie. Jednak po przejściu wiązki światła przez soczewkę promienie rozchodzące się pod małymi kątami w stosunku do osi optycznej charakteryzują się większym natężeniem. Promienie w wiązce zbieżnej, tworzące większe kąty z osią optyczną, mają mniejsze natężenie, a tym samym mają mniejszy udział w fotoselekcji fluoroforów. Załóżmy, że w przestrzeni laboratoryjnej profil gaussowski możemy opisać rozkładem jednowymiarowym w postaci

$$G(r) = A^2 \exp\left(-\frac{2r^2}{\Delta^2}\right) \quad (3.47)$$

gdzie Δ jest szerokością połówkową tego rozkładu. Przyjmując, że soczewka jest idealna (brak aberracji sferycznej), spełniony jest warunek Abbego (warunek sinusa)

$$r = f \sin \alpha \quad (3.48)$$

gdzie f jest ogniskową soczewki, a kąt α jest kątem pomiędzy osią optyczną i promieniem oddalonym od osi optycznej w przestrzeni laboratoryjnej na odległość r . Przy tym założeniu płaskie czoło fali z przestrzeni laboratoryjnej jest konwertowane przez soczewkę w czoło sferyczne w przestrzeni ogniska, jak pokazano to na rysunku 3.13b. Jeśli rozkład natężenia światła w wiązce równoległej (przed wejściem do obiektywu) jest jednorodny, to wówczas, wykorzystując warunek unormowania dla składowych kartezyjskich natężenia światła w środku ogniska

$$f_x(\alpha_0) + f_y(\alpha_0) + f_z(\alpha_0) = 1 \quad (3.49)$$

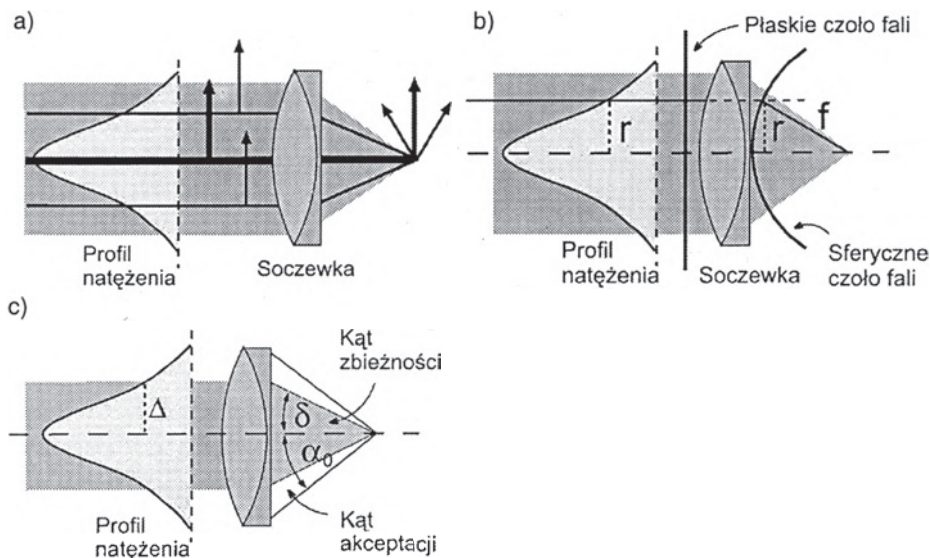
z przyrównania prawych stron wzorów (3.14) i (3.15) oraz (3.41) i (3.42), otrzymujemy związki umożliwiające bezpośrednie, ilościowe porównanie obu sposobów opisu ogniskowania liniowo spolaryzowanego światła przez soczewkę obiektywową [30], tj.:

$$f_x(\alpha_0) = \frac{1}{3} - \frac{1}{3} R_0(\alpha_0) \quad (3.50)$$

$$f_y(\alpha_0) = \frac{1}{3} + \frac{1}{6} R_0(\alpha_0) - \frac{1}{2} R_2(\alpha_0) \quad (3.51)$$

$$f_z(\alpha_0) = \frac{1}{3} + \frac{1}{6} R_0(\alpha_0) + \frac{1}{2} R_2(\alpha_0) \quad (3.52)$$

gdzie symbole składowych kartezjańskich odnoszą się do rysunku 3.3b).



Rys. 3.13. Transformacja liniowo spolaryzowanej równoległej wiązki światła przez soczewkę obiektywową o dużej aperturze numerycznej

Fig. 3.13. Transformation of the linearly polarized parallel beam of light by a high numerical aperture objective lens

Podane związki odpowiadają sytuacji, w której natężenie w przekroju poprzecznym wiązki laserowej jest jednorodne. Warunek ten można uzyskać w dobrym przybliżeniu przez odpowiednio mocne poszerzenie gaussowskiej wiązki światła laserowego, tak aby jej centralny obszar, wpadający do obiektywu, miał możliwie jednorodny rozkład natę-

żenia. Rezultat ten można uzyskać także przez zastosowanie teleskopów Galileusza, w których za pomocą dodatkowych soczewek wprowadza się aberrację sferyczną spłaszczającą rozkład gaussowski w rozkład jednorodny (prawie prostokątny). Teleskopy takie są konstruowane dla wąskich zakresów długości fal [67].

W przypadku gaussowskich wiązek światła wzory (3.50)–(3.52) muszą być transformowane do postaci, w których uwzględniony będzie fakt, że soczewka obiektywowa zamienia gaussowski rozkład natężenia światła w przestrzeni fal płaskich w niejednorodny radialny rozkład natężenia światła w przestrzeni fal kulistych (przeźreń ogniska). Korzystając z warunku Abbego (3.52) oraz z zależności

$$\operatorname{tg} \delta = \Delta / f \quad (3.53)$$

wiązącej szerokość rozkładu gaussowskiego Δ , ogniskowej f oraz kąta zbieżności wiązki gaussowskiej w ognisku δ (rys. 3.13c), otrzymujemy radialny profil rozkładu natężenia światła w przestrzeni ogniska

$$G(\alpha, \delta) = A^2 \exp\left(-\frac{\sin^2 \alpha}{\operatorname{tg}^2 \delta}\right) \quad (3.54)$$

Podmieniając w równaniach (3.50)–(3.52) współczynniki $R_s(\alpha_0)$, które są definiowane zależnością (3.6) dla jednorodnych rozkładów natężeń, przez

$$R_s(\alpha_0, \delta) = \frac{\int_0^{\alpha_0} G(\alpha, \delta) d_{pp}^{(2)}(\alpha) \sin \alpha d\alpha}{\int_0^{\alpha_0} G(\alpha, \delta) \sin \alpha d\alpha} \quad (3.55)$$

otrzymujemy związki ilościowe między opisem ogniskowania światła na bazie optyki geometrycznej a opisem tego samego problemu w języku optyki falowej [30], tj.:

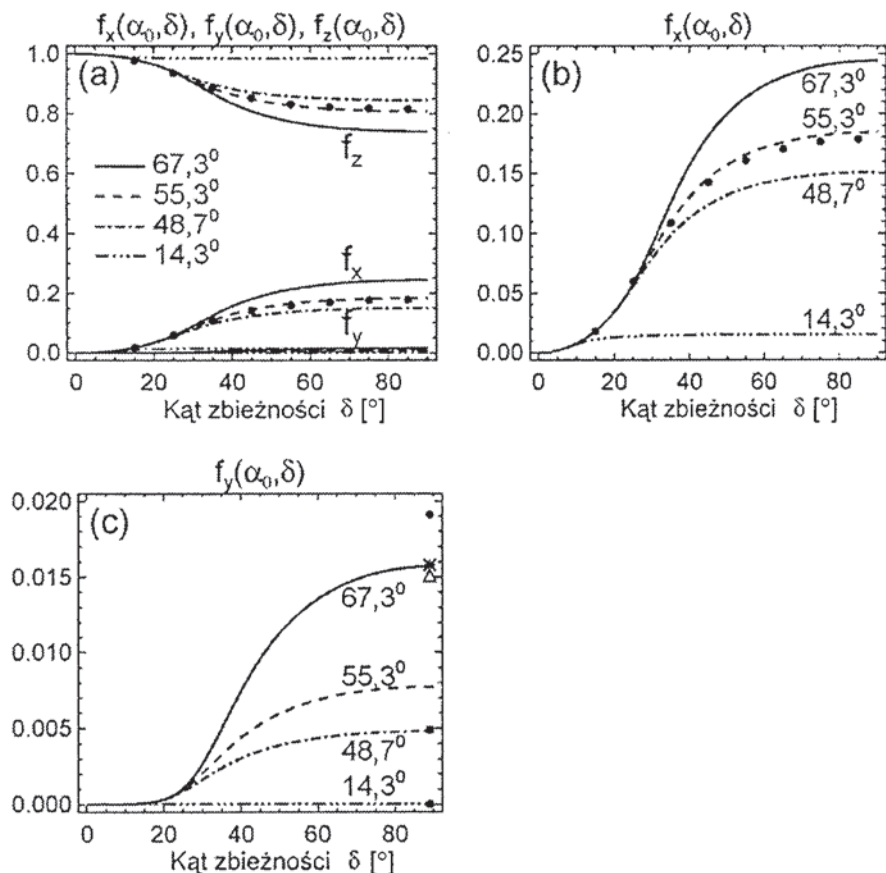
$$f_x(\alpha_0, \delta) = \frac{1}{3} - \frac{1}{3} R_0(\alpha_0, \delta) \quad (3.56)$$

$$f_y(\alpha_0, \delta) = \frac{1}{3} + \frac{1}{6} R_0(\alpha_0, \delta) - \frac{1}{2} R_2(\alpha_0, \delta) \quad (3.57)$$

$$f_z(\alpha_0, \delta) = \frac{1}{3} + \frac{1}{6} R_0(\alpha_0, \delta) + \frac{1}{2} R_2(\alpha_0, \delta) \quad (3.58)$$

Na rysunku 3.14 przedstawiamy wyniki obliczeń wartości kartezjańskich składowych natężenia światła w ognisku, uzyskane ze wzorów (3.56)–(3.58). Wartości $R_p(\alpha_0, \delta)$ ($p = 0, 2$) były obliczane numerycznie ze wzoru (3.55). Obliczenia przebiegów $f_x(\alpha_0, \delta)$, $f_y(\alpha_0, \delta)$ oraz $f_z(\alpha_0, \delta)$, w funkcji kąta zbieżności δ , w zakresie od 0° do

90°, przeprowadziliśmy dla czterech apertur kątowych α_0 , tj. 14,3°, 48,7°, 55,3° oraz 67,3°.



Rys. 3.14. Unormowane natężenia światła wzdłuż trzech osi układu odniesienia w centrum ogniska, dla różnych apertur kątowych α_0 , w funkcji kąta zbieżności światła δ

Fig. 3.14. Normalized light intensity components at the center of focus, for different angular apertures α_0 , as a functions of the convergence angle δ

Na rysunku 3.14a pokazane są wszystkie trzy składowe $f_x(\alpha_0, \delta)$, $f_y(\alpha_0, \delta)$ oraz $f_z(\alpha_0, \delta)$, natomiast, dla większej przejrzystości, na rysunkach 3.14b oraz 3.14c przedstawiamy oddzielnie (odpowiednio) składowe $f_x(\alpha_0, \delta)$ oraz $f_z(\alpha_0, \delta)$. Wyniki obliczeń przedstawione na rysunku 3.14 pokazują, że w ognisku całkowite natężenie światła spolaryzowane wzdłuż kierunku liniowej polaryzacji światła wchodzącego do obiektywu (oś Z na rys. 3.3b) oraz składowa podłużna całkowitego natężenia światła (oś X na rys. 3.3b) mają największy wkład w procesie wzbudzania fluorescencji. Składowa

poprzeczna (oś Y na rys. 3.3b) przyjmuje bardzo małe natężenia. Należy jednak pamiętać, że wszystkie trzy składowe są składowymi wypadkowymi, obliczanymi w środku ogniska, co nie oznacza, że takie proporcje między składowymi natężeniami zachowane są w dowolnym punkcie ogniska. W sensie ilościowym mierzonego natężenia światła fluorescencji dla absorberów liniowych wkłady sygnałów fluorescencji, pochodzące od wzbudzeń trzema składowymi natężeniami światła (liczonymi w środku ogniska), są proporcjonalne do unormowanych wartości $f_x(\alpha_0, \delta)$, $f_y(\alpha_0, \delta)$ oraz $f_z(\alpha_0, \delta)$, pokazanych na rysunku 3.14.

Rysunek 3.14 pokazuje także bardzo istotny wpływ niejednorodności rozkładu natężenia światła w przekroju poprzecznym wiązki światła laserowego, przed jej wejściem do obiektywu, na zależność kartezjańskich składowych natężenia światła od kąta zbieżności δ w ognisku. Ewidentnie bardzo silna zależność wartości natężeń $f_x(\alpha_0, \delta)$, $f_y(\alpha_0, \delta)$ oraz $f_z(\alpha_0, \delta)$ od tego kąta oznacza, że aby pokryć cały kąt akceptacji α_0 obiektywu (który jest jednocześnie kątową aperturą tego obiektywu), należy dokonać bardzo dużego poszerzenia wiązki laserowej. Wydaje się, że zastosowanie teleskopów transformujących gaussowskie wiązki laserowe w wiązki o jednorodnym rozkładzie natężenia światła w ich przekrojach poprzecznych [67] jest rozwiązaniem najlepszym. Problem ten ma bardzo istotne znaczenie ze względu na pełne wykorzystanie apertury numerycznej obiektywu mikroskopowego. Kąt akceptacji (czy apertura kątowa) obiektywu α_0 związany jest z wartością apertury numerycznej NA tego obiektywu przez wzór (3.1). Efektywna apertura numeryczna obiektywu, NA/n , jest wielkością, którą można wyliczyć, znając wartość NA (podawaną przez producenta obiektywu) i wartość współczynnika załamania światła cieczy immersyjnej (zakładamy tutaj, że współczynnik ten odpowiada współczynnikowi załamania światła w próbce). Jednak zgodnie z tym co pokazano na rysunku 3.14, jeśli wejście obiektywu jest naświetlone światłem laserowym o zbyt małym poszerzeniu, wprowadzony zostanie systematyczny błąd doświadczalny, gdyż w rzeczywistości kąt zbieżności wiązki δ w ognisku będzie mniejszy od kąta akceptacji α_0 . Praktycznie prowadzi to do pomniejszenia rzeczywistej apertury obiektywu (lub inaczej, do niepełnego wykorzystywania rzeczywistej apertury obiektywu). Będzie źle, jeśli w dobrej wierze w analizie danych mikrospektroskopowych efekt pomniejszenia apertury obiektywu nie zostanie uwzględniony.

Na rysunkach 3.14a oraz 3.14b dla apertury kątowej $\alpha_0 = 55,3^\circ$ krzywymi $f_z(\alpha_0, \delta)$ oraz $f_x(\alpha_0, \delta)$ towarzyszą zbiory punktów (zaznaczone kropkami), wzięte z podobnych obliczeń przeprowadzonych przez Axelroda [66] z wykorzystaniem końcowych wzorów pracy Yoshidy i Asakury [68], w której rozważony został dyfrakcyjny opis ogniskowania liniowo spolaryzowanej wiązki laserowej o profilu gaussowskim. W zasadzie praca Yoshidy i Asakury [68] sprowadziła się do podstawienia do wyników uzyskanych przez Richardsa i Wolfa [31] gaussowskiego profilu natężenia światła i zbadania wpływu szerokości tego profilu na zmianę rozkładu natężenia światła w różnych obszarach ogniska. Axelrod [66] wykorzystał wzory wyprowadzone przez Yoshidę i Asakurę [68] do obliczenia kartezjańskich składowych całkowitego natęże-

nia światła w centrum ogniska ($f_x(\alpha_0, \delta)$, $f_y(\alpha_0, \delta)$ oraz $f_z(\alpha_0, \delta)$) w funkcji kąta zbieżności wiązki w ognisku δ (od 0° do 90°), dla apertury kątowej $\alpha_0 = 55,3^\circ$. Doświadczalnie wartości uzyskane z równań (3.56)–(3.58) oraz te uzyskane przez Axelroda [66], na podstawie wzorów wyprowadzonych przez Yoshidę i Asakurę [68], są w bardzo dobrej zgodności. Apertura kątowa $\alpha_0 = 55,3^\circ$ jest wystarczająco szeroka, aby uznać zgodność obu sposobów obliczeń za miarodajne porównanie opisu ogniskowania światła przez optykę geometryczną i przez optykę falową (dyfrakcję światła na soczewce).

Na rysunku 3.14c pokazane są trzy punkty zaznaczone kropkami, które odzwierciedlają wartości teoretyczne natężeń $f_y(\alpha_0)$, obliczone przez Bahlmana i Hella [69] ze wzorów wyprowadzonych przez Richardsa i Wolfa [31], dla trzech apertur kątowych: $\alpha_0 = 14,3^\circ$, $\alpha_0 = 48,7^\circ$ oraz $\alpha_0 = 67,3^\circ$. Obliczone wartości natężeń $f_y(\alpha_0)$ pokazane na rysunku 3.14c wynoszą:

$$\begin{aligned} f_y(\alpha_0 = 14,3^\circ) &= 0,00378 \times 10^{-2} \\ f_y(\alpha_0 = 47,8^\circ) &= 0,49 \times 10^{-2} \\ f_y(\alpha_0 = 67,3^\circ) &= 1,91 \times 10^{-2} \end{aligned} \quad (3.59)$$

Natomiast podstawiając te same wartości apertur kątowych do wzorów (3.50)–(3.52), opartych na optyce geometrycznej, otrzymujemy wartości:

$$\begin{aligned} f_y(\alpha_0 = 14,3^\circ) &= 0,00411 \times 10^{-2} \\ f_y(\alpha_0 = 47,8^\circ) &= 0,482 \times 10^{-2} \\ f_y(\alpha_0 = 67,3^\circ) &= 1,57 \times 10^{-2} \end{aligned} \quad (3.60)$$

Identyczne wartości natężeń (3.60) uzyskuje się ze wzorów (3.56)–(3.58) dla $\delta \rightarrow 90^\circ$, jak widać to na rysunku 3.14c. Porównując wartości (3.59) i (3.60) składowej $f_y(\alpha_0)$ natężenia światła, możemy wywnioskować, że dla dwóch pierwszych apertur kątowych oba opisy ogniskowania światła dają identyczne rezultaty. Dla największej apertury kątowej, tj. dla $\alpha_0 = 67,3^\circ$, doświadczalnie obie wartości są do siebie podobne, choć trudno jest mówić o ich identyczności.

Celem pracy Bahlmana i Hella [69] było bezpośrednie doświadczalne zweryfikowanie teorii Richardsa i Wolfa [31] przez pomiar składowej poprzecznej natężenia światła w ognisku, tj. składowej $f_y(\alpha_0)$. Wartości $f_y(\alpha_0)$ wyznaczali z pomiarów polaryzacji fluorescencji w filmach Langmuira–Blodgett. W badaniach wykorzystali obiektyw mikroskopowy o naturalnej aperturze kątowej $\alpha_0 = 67,3^\circ$, a następnie, przez zastosowanie odpowiednich przesłon kołowych, aperturę tę zredukowali do $\alpha_0 = 14,3^\circ$ oraz $\alpha_0 = 48,7^\circ$. Z przeprowadzonych pomiarów uzyskali następujące wartości składowej $f_x(\alpha_0)$:

$$f_y(\alpha_0 = 14,3^\circ) = 0,3 \times 10^{-2}$$

$$f_y(\alpha_0 = 47,8^\circ) = 0,94 \times 10^{-2} \quad (3.61)$$

$$f_y(\alpha_0 = 67,3^\circ) = 1,58 \times 10^{-2}$$

Ponieważ uzyskane wartości doświadczalne (3.61) nie były zadowalające w porównaniu do wartości teoretycznych (3.59), Bahlman i Hell [69] powtórzyli swoje pomiary, ale po uprzednim fotowymbieleniu warstwy Langmuira–Blodgett z intencją wyeliminowania tych fluoroforów, które z racji niewłaściwego ułożenia (uporządkowania) w próbce mogły powodować odstępstwa pomiędzy wartościami (3.59) i (3.61). Niestety powtórzone pomiary niczego nie zmieniły. Dla obu mniejszych apertur, tj. dla $\alpha_0 = 14,3^\circ$ i $\alpha_0 = 48,7^\circ$, nowe uzyskane wartości $f_y(\alpha_0)$ dalej znacząco różniły się od wartości teoretycznych (3.59), natomiast dla największej apertury $\alpha_0 = 67,3^\circ$, otrzymali wartość $f_y(\alpha_0 = 67,3^\circ) = 1,51 \times 10^{-2}$, która jeszcze gorzej pasowała do wartości teoretycznej. Duże odstępstwa między teoretycznymi i doświadczalnymi wartościami $f_y(\alpha_0)$ były przedmiotem długiej dyskusji w pracy [69], której nie będziemy tutaj przytaczać. Ostatecznie Bahlman i Hell [69] doszli do wniosku (po przeprowadzeniu wielu powtórzeń swoich pomiarów, nawet przy zmianach temperatury obiektów), że za te odstępstwa odpowiedzialne są niedokładności techniczne obiektów mikroskopowych. Na rysunku 3.14c pokazane są obie wartości doświadczalne $f_y(\alpha_0 = 67,3^\circ)$ bez fotowymbielenia próbki (punkt doświadczalny zaznaczony gwiazdką) oraz po fotowymbieleniu (punkt zaznaczony trójkątem). Oba punkty doświadczalne są w idealnej zgodności z opisem ogniskowania światła w ujęciu optyki geometrycznej (wyśmienita zbieżność $f_y(\alpha_0, \delta)$ do wartości doświadczalnej zaznaczonej gwiazdką, przy $\delta \rightarrow 90^\circ$). Ta ewidentna zgodność jest widoczna także w wartościach wskazanych w równościach (3.60) i (3.61).

To że dla obu mniejszych wartości apertur kątowych wyniki teoretyczne (identyczne w obu opisach ogniskowania światła) nie są w dobrej zgodności z wynikami doświadczalnymi wynika, w naszym przekonaniu, z niedokładnego ustawienia przesłon kołowych redukujących szerokość wiązki światła laserowego. Wyśmienita zgodność wartości doświadczalnej $f_y(\alpha_0 = 67,3^\circ)$ (po wyeliminowaniu diafragmy) z przewidywaniami teoretycznymi, opisanymi w ujęciu optyki geometrycznej, wskazuje na to, że ujęcie to bardzo dobrze nadaje się do opisywania wzbudzeń w ognisku w przypadku absorberów liniowych. Możemy zatem wnioskować, że opis polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej, opierając się na prostych zależnościach trygonometrycznych (wzory (3.8) i (3.9)) występujące w modelu MPP, jest opisem wystarczająco dokładnym. Wniosek ten eliminuje konieczność obliczania skomplikowanych potrójnych całek z funkcjami Bessela

pierwszego rodzaju, jakie pojawiają się w dyfrakcyjnym opisie ogniskowania światła wzbudzającego.

3.6. SYMETRYCZNIE ADAPTOWANA METODA KALIBRACYJNA

W mikroskopie przedstawionym na rysunku 3.1a wskazane jest zwierciadło dichroiczne, kierujące światło wzbudzające w kierunku obiektywu dichroicznego. Dichroiczność tego zwierciadła ma oznaczać, że jest ono całkowicie przeźroczyste dla światła fluorescencji. W praktyce doświadczalnej problem ten nie musi być aż tak jednoznaczny, zwłaszcza gdy ten sam mikroskop jest używany do badań fluorescencyjnych we wzbudzeniach jedno- i dwufotonowych. Istnieje także duże ryzyko, że zwierciadło dichroiczne może mieć inną transmisję światła fluorescencji dla różnych kierunków polaryzacji światła, wybieranych w kanale detekcyjnym przez analizator (liniowy polaryzator). Obiektyw mikroskopowy ma dość skomplikowaną konstrukcję. Składa się z kilku posklejanych soczewek, w których mogą pojawiać się różnego typu naprężenia. Naprężenia te mogą czasami prowadzić do zjawiska dwójłomności. Światło w obiektywie może także częściowo się rozpraszać i odbijać od jego wewnętrznych ścianek. Zewnętrzne soczewki obiektywów mikroskopowych, mające bezpośredni kontakt z olejem immersyjnym, są pokryte odpowiednimi warstwami dielektrycznymi. Warstwy te można łatwo zarysować lub zetrzeć w trakcie czyszczenia obiektywu. To z kolei może prowadzić do rozpraszania światła wzbudzającego lub światła zbieranej fluorescencji, prowadząc do dodatkowej depolaryzacji światła fluorescencji. Należy także wspomnieć o aberracji sferycznej i chromatycznej, które mogą znacząco wpływać na wyniki pomiarów fluorescencyjnych w świetle spolaryzowanym. Wymienione tutaj utrudnienia techniczne – które mogą mieć wpływ na jakość uzyskiwanych wyników pomiarowych – są z jednej strony trudne do analitycznego uwzględnienia w matematycznych opisach polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej, a z drugiej strony, nieuwzględnianie tych efektów podczas analizy danych doświadczalnych będzie prowadziło do mylnej interpretacji uzyskanych wyników (błędy systematyczne).

W pracy [28] wprowadziliśmy prostą metodę kalibracyjną, która umożliwia wyeliminowanie tego typu problemów. Wzór (3.2) reprezentuje symetrycznie adaptowany opis ewolucji w czasie natężenia spolaryzowanego światła fluorescencji, w przypadku układów molekularnych makroskopowo izotropowych. Wzór ten możemy zapisać w postaci liniowej kombinacji dwóch czasowo-zależnych funkcji bazowych, $Ph(t)$ oraz $Ph(t)W(t)$

$$I(t) = \gamma_1 Ph(t) + \gamma_2 W(t) Ph(t) \quad (3.62)$$

gdzie γ_1 i γ_2 są współczynnikami opisującymi wkład obu funkcji bazowych do zaniku natężenia światła fluorescencji $I(t)$. Podany wzór ma zastosowanie ogólne. Stosuje się on do wszystkich czasowo-zależnych pomiarów polaryzacji fluorescencji w przybli-

zeniu dalekiego pola, realizowanych na dowolnie skomplikowanej aparaturze pomiarowej [28]. Wzór ten można także zapisać w postaci

$$I(t) = \gamma_1 \left(Ph(t) + \frac{\gamma_2}{\gamma_1} W(t) Ph(t) \right) \quad (3.63)$$

którą łatwiej można porównać do wzorów opisujących tradycyjną spektroskopię fluorescencyjną w świetle spolaryzowanym (wzór (2.8)) lub polaryzacyjną mikrospektroskopię fluorescencyjną (wzór (3.17)). Metoda kalibracyjna sprowadza się do wyznaczenia obu współczynników γ_1 i γ_2 , występujących w równaniu (3.62). Współczynniki te można określić, znając kształt funkcji zaniku kinetycznego $Ph_r(t)$ oraz zaniku dynamicznego $W_r(t)$ dla dowolnego fluoroforu w roztworze (wzorzec fluorescencyjny), znalezionych z pomiarów czasowo-rozdzielczej depolaryzacji fluorescencji, przeprowadzonych metodą tradycyjną. W celu określenia wartości współczynników γ_1 i γ_2 musimy przeprowadzić dwa pomiary spolaryzowanej fluorescencji dla wzorca fluorescencyjnego na kalibrowanym układzie pomiarowym. Warunki doświadczalne podczas kalibracji instrumentu muszą być jednak takie, aby wkłady funkcji $Ph_r(t)$ i $W_r(t)Ph_r(t)$ (w obu liniowych kombinacjach funkcji bazowych)

$$I_1(t) = \gamma_1 Ph_r(t) + \gamma_2 W_r(t) Ph_r(t) \quad (3.64)$$

$$I_2(t) = \gamma'_1 Ph_r(t) + \gamma'_2 W_r(t) Ph_r(t) \quad (3.65)$$

były możliwie różne. To w jaki sposób zmieniamy warunki fizyczne pomiarów, w celu otrzymania dwóch możliwie mocno różniących się zaników $I_1(t)$ i $I_2(t)$, jest najmniej istotne. Możemy zmieniać kierunek polaryzacji mierzonego natężenia światła fluorescencji lub możemy zmieniać kierunek polaryzacji światła wzbudzającego. Możemy także zmieniać kąty wzbudzania lub kąty detekcji fluorescencji, jeśli używamy aparatury pomiarowej schematycznie przedstawionej na rysunku 3.5. Obie pary współczynników liniowych, występujących w równaniach (3.64) i (3.65), wyznaczamy z regresji liniowej. Znajomość tych dwóch par współczynników umożliwia prawidłową analizę danych doświadczalnych uzyskanych z identycznych dwóch pomiarów dla innych próbek, zakładając, że współczynnik załamania światła dla roztworu wzorca fluorescencyjnego jest bardzo podobny do współczynników załamania światła badanych próbek. Zaletą tej metody jest to, że umożliwia analizę danych doświadczalnych na dowolnie skomplikowanych aparaturach bez konieczności wyprowadzania wzorów matematycznych opisujących takie pomiary. Ponadto metoda ta uwzględnia wiele artefaktów optycznych, które z racji swojej skomplikowanej natury są trudne do uwzględnienia w analitycznych opisach takich pomiarów. W przypadku mikrospektroskopii fluorescencyjnej dyskutowana tutaj metoda ułatwia zweryfikowanie właściwości obiektów mikroskopowych. Metoda ta umożliwia także bardziej systematyczne porównanie obu opisów ogniskowania światła przez soczewki obiektywowe.

Pełniejsza dyskusja możliwych zastosowań symetrycznie adaptowanej metody kalibracyjnej (metoda SAC – ang. *Symmetry Adapted Calibration method*) przedstawiona jest w pracach [28–30]. Dalszą dyskusję metody SAC, wraz z jej dodatkowymi bardzo istotnymi aplikacjami w mikro/nanospektroskopii, przedstawimy w pracy [70].

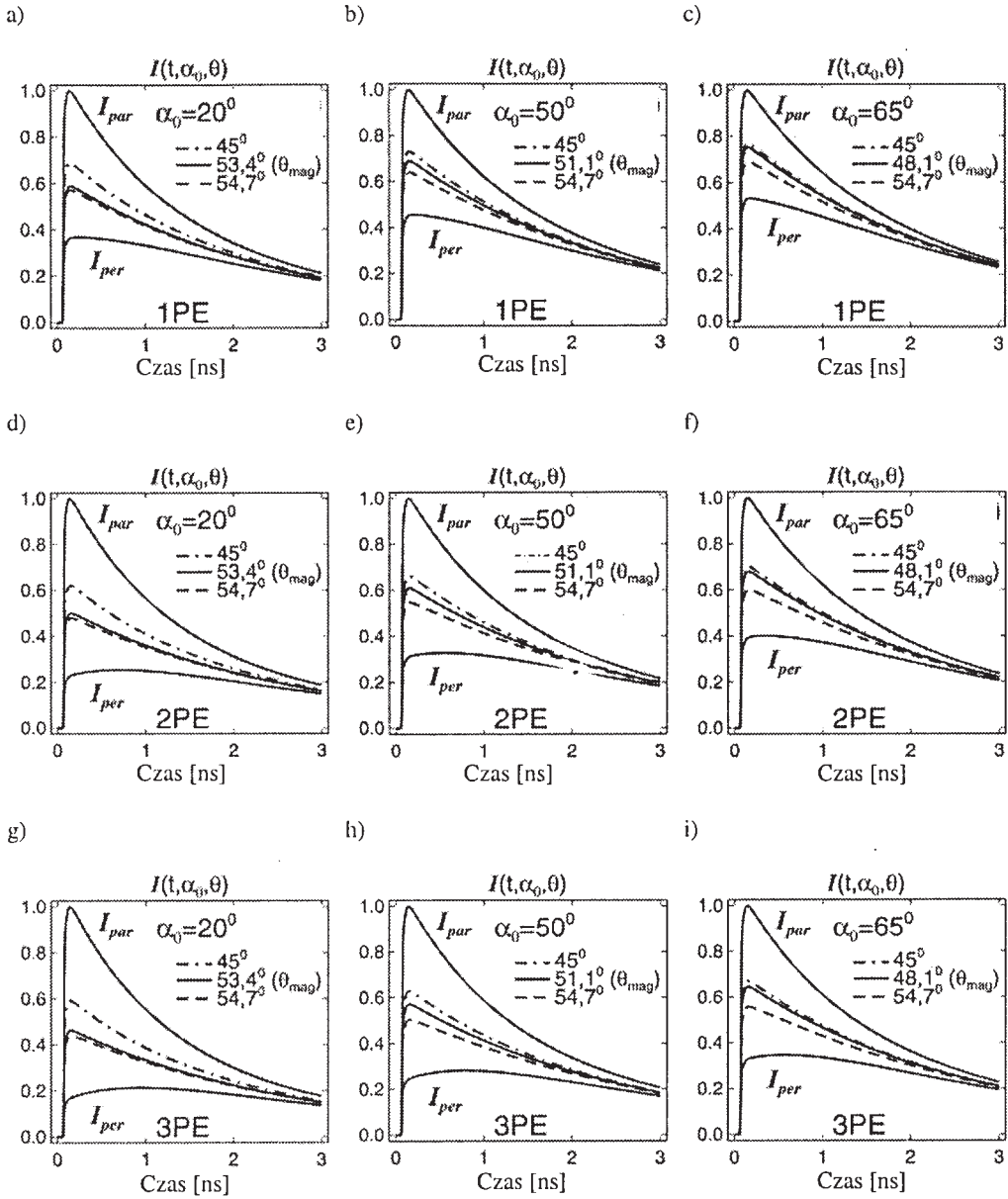
3.7. MIKROSPEKTROSKOPIA FLUORSCENCYJNA WE WZBUDZENIACH WIELOFOTONOWYCH

Ogólny przypadek polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej we wzbudzeniach wielofotonowych światłem zogniskowanym jest przypadkiem trudnym w sensie zaproponowania jego analitycznego opisu. Absorpcja wielofotonowa opisywana jest przez tensory absorpcji odpowiednich rzędów (dyskusja w rozdz. 2.3), natomiast stan polaryzacji światła w różnych punktach ogniska może być liniowy, eliptyczny lub kołowy (dyskusja w rozdz. 3.4). W tym opracowaniu, w celu zademonstrowania najistotniejszych jakościowych efektów pojawiających się w przypadku wzbudzeń wielofotonowych, omówimy najprostszy przypadek, tj. przypadek fluoroforów podłużnych, dla których tensory absorpcji dwu- i trójfotonowej są diagonalne, a elementy tych tensorów wzdłuż osi długiej fluoroforów są dominujące. Przypadek ten rozważono w rozdziale 2.3 dla wzbudzeń równoległymi wiązkami światła o polaryzacji liniowej. Dla takich fluoroforów stan polaryzacji światła w ognisku nie ma znaczenia.

Na rysunku 3.15 przedstawiamy syntetyczne zaniki spolaryzowanych składowych natężeń $I_{\square}(t, \alpha_0)$ i $I_{\perp}(t, \alpha_0)$, zaniku mierzonego przy prawdziwej wartości kąta magicznego $I_{\text{mag}}(\alpha_0, t)$ oraz zaniki syntetyczne zrekonstruowane dla obu skrajnych możliwych wartości kątów magicznych $54,7^\circ$ i 45° , tj. $I_{54,7}(t)$ oraz $I_{45}(t)$ dla wzbudzeń jedno-, dwu- i trójfotonowych. Rysunek ten „odnosi” się do przypadku jednoczesnego wykorzystywania obiektu mikroskopowego w kanale wzbudzania i w kanale detekcji (rys. 3.1a). Dane syntetyczne zostały wygenerowane w sposób omówiony w rozdziale 3.3.1. Rozważone apertury katowe α_0 są wskazane w poszczególnych panelach rysunku 3.15. W obliczeniach skorzystaliśmy ze wzorów (2.8), (2.47) oraz (2.53), zastępując funkcję $P_2(\theta)$ przez:

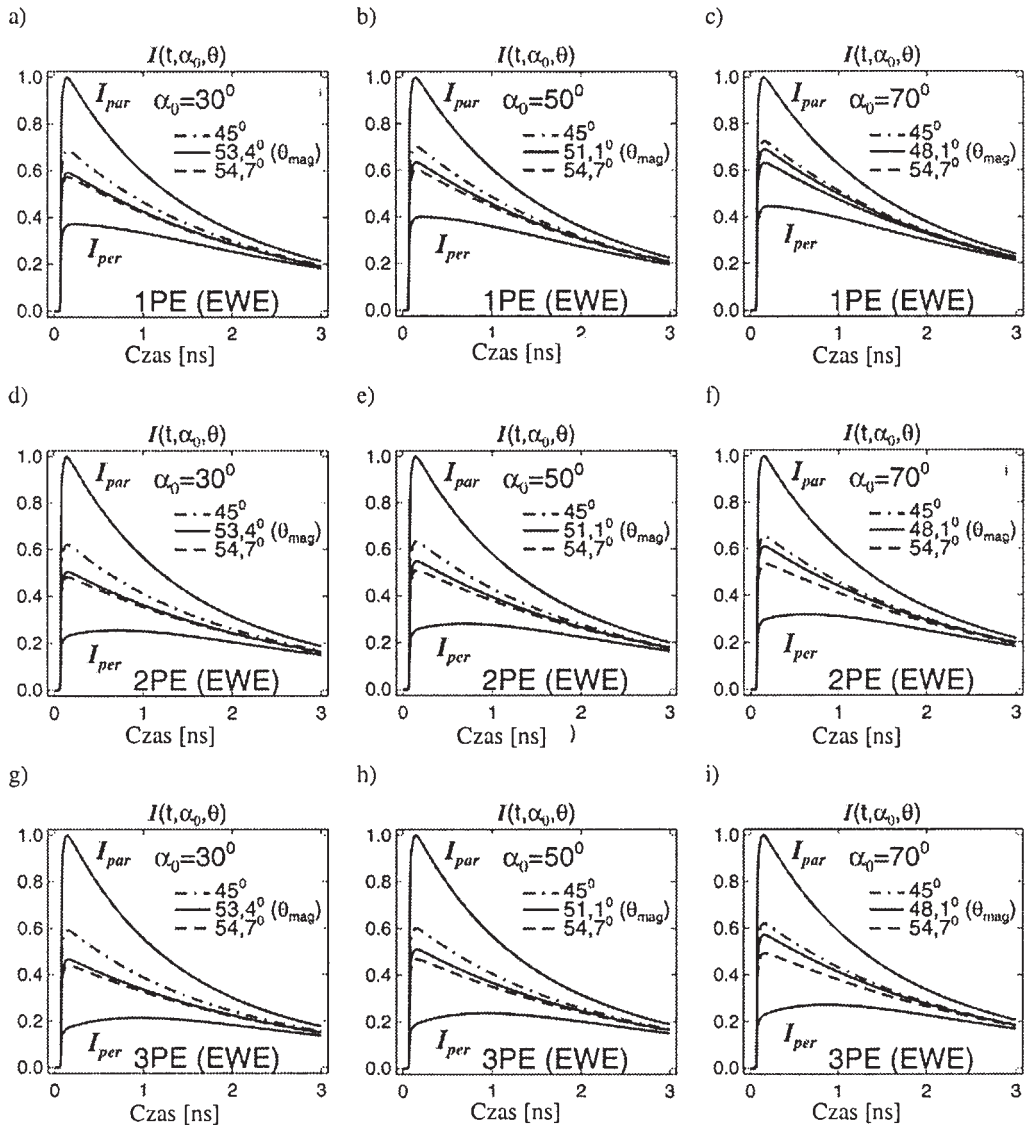
$$\frac{1}{4}(3R_2(\alpha_0)Q_2(\alpha_0)\cos 2\theta + R_0(\alpha_0)Q_0(\alpha_0)) \quad (3.66)$$

Na rysunku 3.16 przedstawiamy podobne dane syntetyczne, ale dla przypadku wzbudzeń falą zanikającą wykładniczo (układ pomiarowy wskazany na rys. 3.1b). Przypadek ten rozważyliśmy dla innych apertur katowych α_0 , także wskazanych w poszczególnych panelach tego rysunku.



Rys. 3.15. Wzbudzenie i detekcja fluorescencji z wykorzystaniem soczewek obiektywowych o dużych aperturach numerycznych, przy wzbudzeniach: (a–c) jednofotonowych, (d–f) dwufotonowych i (g–i) trójfotonowych

Fig. 3.15. Excitation and detection of fluorescence with the application of high-aperture objective lenses with the excitations at: (a–c) one-photon, (d–f) two-photon and (g–i) three-photon



Rys. 3.16. Wzbudzenie falą zanikającą wykładniczo i detekcja z wykorzystaniem soczewek obiektywowych o dużych aperturach numerycznych dla wzbudzeń: (a-c) jednofotonowych, (d-f) dwufotonowych i (g-i) trójfotonowych

Fig. 3.16. Excitation with the evanescent wave and detection with the application of high-aperture objective lenses with the excitations at: (a-c) one-photon, (d-f) two-photon and (g-i) three-photon

Rysunki 3.15 i 3.16 wskazują zasadniczą różnicę między wynikami syntetycznymi otrzymanymi dla wzbudzeń jedno-, dwu- i trójfotonowych. Zwiększanie liczby foto-

nów zaangażowanych w procesie wzbudzenia powoduje powiększanie się różnicy między zanikami $I_{54,7}(t)$ oraz $I_{45}(t)$, co oznacza, że zdecydowanie rośnie wymóg precyzyjniejszego ustawiania analizatora na prawidłową wartość kąta magicznego θ_{mag} , przy którym należy dokonać pomiaru kinetyki zaniku fluorescencji $I_{\text{mag}}(\alpha_0, t)$. Demonstrują one jednocześnie zasadniczą różnicę w efektach polaryzacyjnych, w zależności od liczby fotonów jednocześnie wzbudzających fluorofory. Zwiększając liczbę fotonów w procesie wzbudzenia, zwiększamy stopień polaryzacji fluorescencji. Widać to w odległościach między składowymi spolaryzowanymi $I_{\square}(t, \alpha_0)$ i $I_{\perp}(\alpha_0, t)$ w ich maksimach – odległości te rosną wraz ze wzrostem liczby fotonów zaangażowanych w procesie fotoselekcji. Pokazują one także wyraźną różnicę między pomiarami realizowanymi zgodnie z rysunkiem 3.1a oraz pomiarami przy wzbudzaniu falą zanikającą wykładniczo (rys. 3.1b).

Pełniejsza dyskusja problemu czasowo-rozdzielczej mikrospektroskopii fluorescencyjnej we wzbudzeniach wielofotonowych, w tym także przypadek dowolnego kształtu tensora absorpcji wielofotonowej, będzie przedstawiona w pracy [35]. To co chcieliśmy tutaj zademonstrować, to błędność literaturowego podejścia do tego typu doświadczeń. W literaturze (dyskusja we wstępie do tego opracowania), podobnie jak w przypadku mikrospektroskopii we wzbudzeniach jednofotonowych, także w przypadku wzbudzeń wielofotonowych efekty optyczne wynikające z używania obiektów mikroskopowych nie były brane pod uwagę. W rezultacie w tradycyjnym ujęciu literaturowym oba typy doświadczeń były opisywane w ten sam sposób (dokładnie tymi samymi wzorami), zapożyczony z tradycyjnej spektroskopii fluorescencyjnej z równoległymi wiązkami światła.

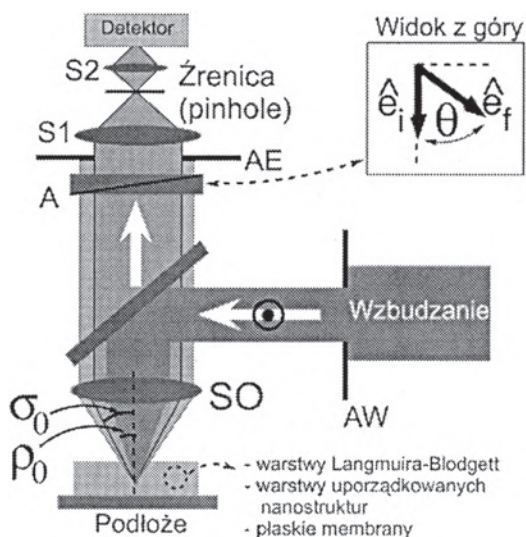
4. MIKRO/NANOSPEKTROSKOPIA FLUORESCENCYJNA OPTYCZNIE CIENKICH PŁASKO UPORZĄDKOWANYCH WARSTW MATERIAŁÓW

Wszystkie rozważania przedstawione w poprzednich rozdziałach tego opracowania dotyczyły, jeżeli idzie o fizykę molekularną, najprostszych układów molekularnych, będących układami izotropowymi w skali makroskopowej z możliwością organizacji w skali mikro- lub nanoskopowej. Nie pomniejsza to w żaden sposób istotności zagadnień przedstawionych w poprzednich rozdziałach.

W tym rozdziale chcemy przedstawić, w bardzo skrótowy sposób, problem mikrospektroskopii fluorescencyjnej w przypadku optycznie cienkich płasko zorganizowanych ośrodków, składających się ze związków organicznych, nieorganicznych i hybrydowych. Przykładami takich ośrodków są: a) warstwy Langmuira–Blodgetta zbudowane z fosfolipidów, (bio)polimerów lub (bio)makromolekuł, b) spontanicznie powstające struktury uporządkowane w postaci wielu warstw lipidów i fosfolipidów

(modele membran biologicznych) oraz c) zorganizowane organiczne, nieorganiczne lub hybrydowe nanostruktury, mające zastosowania w dziedzinie nanobiotechnologii, technologii sensorów i biosensorów lub w technologii konwerterów energii słonecznej w elektryczną (układy fotowoltaiczne).

Na rysunku 4.1 przedstawiony jest schemat mikroskopu fluorescencyjnego o konstrukcji dedykowanej badaniom polaryzacyjnym czasowo-rozdzielczej i stacjonarnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej optycznie cienkich warstw różnych materiałów. Używamy terminu „optycznie cienkie warstwy” dla uproszczenia problemu, gdyż płasko uporządkowane materiały mają oś symetrii uporządkowania kąowego, którą jest prosta prostopadła do tych warstw. Z tego powodu najczęściej materiały takie charakteryzują się dwójłomnością optyczną. W bardzo wielu przypadkach praktycznych są to warstwy o niewielkiej grubości, mniejszej lub dużo mniejszej od długości fali światła wzbudającego fluorescencję. Jeżeli układy takie charakteryzują się niewielką dwójłomnością (różnica między współczynnikami załamania światła wzdłuż osi optycznej i w kierunku prostopadłym jest bardzo mała); np. na poziomie od 0,001 do 0,01 (np. większość warstw fosfolipidowych lub polimerowych), przy tak małych grubościach próbek efekt dwójłomności jest pomijalny w porównaniu do innych artefaktów doświadczalnych towarzyszącym badaniom polaryzacyjnym. Schematycznym przykładem tego typu układów jest płaska membrana pokazana na rysunku 2.8a.



Rys. 4.1. Schemat zmiennie-aperturowego mikroskopu konfokalnego do polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej optycznie cienkich makroskopowo uporządkowanych warstw
Fig. 4.1. The scheme of variable-aperture confocal microscope for fluorescence polarization microspectroscopy of optically thin layers

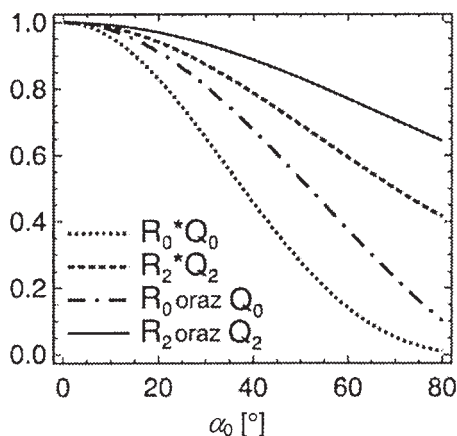
Układ mikroskopowy (rys. 4.1) różni się od tego pokazanego na rysunku 3.1a jedynie tym, że w kanale wzbudzenia oraz w kanale detekcji światła fluorescencji umieszczone są dodatkowe apertury (diafragmy), AW oraz AE, o regulowanych średnicach. Umożliwiają one zwiększanie i pomniejszanie apertur kątowych wzbudzenia ρ_0 oraz detekcji światła fluorescencji σ_0 . Po wybraniu przez analizator kierunku polaryzacji emitowanego światła fluorescencji (kąt detekcji θ), światło to jest skupiane przez soczewkę S1 na małej źrenicy (*pinhole*), a następnie przez soczewkę S2 na szczeliny wejściowej detektora. Histogram mierzonego zaniku spolaryzowanego światła fluorescencji jest wówczas opisany zależnością [71]

$$I(t, \sigma_0, \rho_0, \theta) = CPh(t)(1 - R_0(\rho_0)S_a - Q_0(\sigma_0)S_e + R_0(\rho_0)Q_0(\sigma_0)F_0(t) + 3\cos 2\theta R_2(\rho_0)Q_2(\sigma_0)F_2(t)) \quad (4.1)$$

gdzie S_a i S_e są parametrami uporządkowania dipoli absorpcyjnych i emisyjnych momentów przejść, a $F_0(t)$ oraz $F_2(t)$ są dwiema funkcjami korelacji czasowej między dipolami absorpcji wyselekcjonowanych w procesie fotoselekcji w czasie $t = 0$ a dipolami emisji fluorescencji w dowolnej późniejszej chwili, wyselekcjonowanych w przestrzeni laboratoryjnej przez analizator A [44–51]. Poprzedni wzór nie zawiera funkcji korelacji $F_1(t)$, która pojawia się w tradycyjnej kątowo-rozdzielczej polaryzacyjnej spektroskopii układów uporządkowanych [44–51]. Funkcja ta nie pojawia się we wzorze (4.1) ze względu na specyficzną orientację kierunku wzbudzenia fluorescencji oraz kierunku jej detekcji w stosunku do osi symetrii makroskopowego uporządkowania ośrodka. Warto także odnotować, że wzór (4.1) przy $\rho_0 \rightarrow 0$ i $\sigma_0 \rightarrow 0$ przechodzi do postaci znanej w polaryzacyjnej spektroskopii fluorescencyjnej z równoległymi wiązkami światła [50, 51]. Parametry S_a i S_e oraz funkcje korelacji $F_n(t)$ ($n = 0, 2$) opisują uporządkowanie oraz dynamikę obrotową fluoroforów wprowadzonych do uporządkowanej warstwy lub naturalnych fluoroforów zawartych w elementach tworzących takie warstwy. Wielkości te, w zależności od rodzaju wykorzystywanych fluoroforów (np. fluoroforów fotoreaktywnych), mogą dostarczać bardzo ważne informacje o strukturalnych i dynamicznych właściwościach warstw, jak również o ich lokalnych właściwościach fizykochemicznych (lokalna polarność, polaryzowalność, lepkość) [49–51, 72]. Wzór (4.1) zawiera cztery wielkości (dwa parametry uporządkowania i dwie funkcje korelacji) opisujące właściwości fluoroforów w cienkiej warstwie. Przejście od parametrów uporządkowania dipoli absorpcji i emisji, a także od funkcji korelacji między obydwoma rodzajami dipoli, do podobnych wielkości opisujących uporządkowanie i dynamikę obrotową samych fluoroforów w warstwie, nie pomniejsza liczby parametrów modelowych [44–51]. Uzyskanie informacji o wartościach parametrów modelowych z analizy pomiarów czasowo-rozdzielczych wymaga jednak dysponowania odpowiednią liczbą histogramów spolaryzowanych zaników fluorescencji. Zgodnie ze wzorem (4.1), zmiana kąta detekcji θ (0° , 45° lub 90° , lub też inne wartości) umożliwia jedynie modyfikowanie wkładu funkcji korelacji

$F_2(t)$. Powtarzanie więc pomiarów, podczas zmiany kąta detekcji θ , nie jest procedurą wystarczającą. Z tego powodu w kanale detekcyjnym i w kanale wzbudzenia na schemacie 4.1 wskazane są zmienne apertury AW i AE, umożliwiające zmianę warunków doświadczalnych tak, aby mierzone histogramy spolaryzowanej fluorescencji odzwierciedlały zmiany wkładów wszystkich członów w równaniu (4.1).

Na rysunku 4.2 przedstawiamy wykresy wielkości $R_0(\rho_0)$, $R_2(\rho_0)$, $Q_0(\sigma_0)$, $Q_2(\sigma_0)$, $R_0(\rho_0)Q_0(\sigma_0)$ oraz $R_2(\rho_0)Q_2(\sigma_0)$, z założeniem (dla uproszczenia), że kątowne apertury wzbudzenia i detekcji są identyczne, tj. $\rho_0 = \sigma_0 = \alpha_0$. Technicznie założenie to można zrealizować przez zastąpienie na schemacie 4.1 apertur AW i AE przez jedną aperturę (diafragmę) umieszczoną pomiędzy obiektywem i zwierciadłem dichroicznym. Na rysunku 4.2 jednoznacznie pokazano, że zmieniając apertury kątowne (obie, ρ_0 i σ_0 , lub jedną wspólną α_0), można zdecydowanie polepszyć wydajność procesu numerycznej identyfikacji parametrów modelowych występujących w równaniu (4.1). Rysunek ten ma jeszcze jedno, bardzo istotne znaczenie. Wskazuje on na to, że bardzo dokładne opisywanie mikrospektroskopii fluorescencyjnej w przypadku układów makroskopowo uporządkowanych jest niesłychanie ważne. Postać wzoru (4.1) także o tym świadczy. Z drugiej strony, wniosek ten podkreśla bardzo duże znaczenie wprowadzonych przez nas zmian do stanu wiedzy w dziedzinie polaryzacyjnej mikrospektroskopii fluorescencyjnej [28–30]. Należy także nadmienić, że zmieniając sposób wzbudzenia próbki na rysunku 4.1 na wzbudzenie falą zanikającą wykładniczo, jak pokazuje to rysunek 3.1b, oraz przyjmując we wzorze (4.1) $R_0(\rho_0) = 1$ i $R_2(\rho_0) = 1$, wzór (4.1) będzie opisywał pomiary micro/nanospektroskopowe cienkich uporządkowanych warstw różnych materiałów organicznych, nieorganicznych i hybrydowych.



Rys. 4.2. Zależne od apertury współczynniki wzbudzenia i detekcji światła fluorescencji
Fig. 4.2. Aperture-dependent excitation-detection coefficients

Dyskutując sposób uzyskania symetrycznie adaptowanego wzoru (3.2), opisującego zanik natężenia światła spolaryzowanej fluorescencji w przypadku układów makroskopowo izotropowych, wspomnieliśmy o procedurze rzutowania ogólnej formuły (2.7) do formy całkowicie symetrycznej w grupie czystych obrotów O^+ (3.1). Procedura ta jest szczegółowo opisana w pracy [28]. Używanie tej samej procedury do wzoru (4.1) oznacza (z doświadczonego punktu widzenia), że na miejsce makroskopowo uporządkowanej próbki podstawiamy, na rysunku 4.1, próbkę makroskopowo izotropową. Operator rzutu $\hat{S}_{iso}[\dots]$, zastosowany do wszystkich członów równania (4.1), daje [28]:

$$\hat{S}_{iso}[S_a] = 0, \quad \hat{S}_{iso}[S_e] = 0 \quad (4.2)$$

$$\hat{S}_{iso}[F_n(t)] = \frac{1}{5}(F_0(t) + 2F_1(t) + 2F_2(t)) \quad (4.3)$$

gdzie $n = 0, 2$. Wynik (4.2) oznacza, że symetrycznie adaptowana postać wzoru (4.1) nie zawiera parametrów uporządkowania S_a i S_e . Natomiast wynik (4.3) oznacza, że w symetrycznie adaptowanej postaci wzoru (4.1) każda funkcja korelacji $F_n(t)$ jest zastępowana przez liniową kombinację wszystkich funkcji $F_k(t)$ (gdzie $k = 0, 1, 2$). Ponieważ suma funkcji korelacji w nawiasie, w równaniu (4.3), jest funkcją korelacji $W(t)$ symetrycznie adaptowaną dla układów molekularnych makroskopowo izotropowych, wzór (4.3) możemy zapisać w postaci

$$\hat{S}_{iso}[F_n(t)] = \frac{1}{5}W(t) \quad (4.4)$$

Podstawiając rezultaty (4.2) i (4.4) do wzoru (4.1), uzyskujemy natychmiast wzór (3.17) (włącznie ze wzorem (3.18)). Wynik ten wskazuje na uniwersalność wprowadzonego przez nas opisu polaryzacyjnej mikro/nanospektroskopii fluorescencyjnej.

5. PODSUMOWANIE

W pracy tej przedstawiliśmy, w bardzo skrótowy sposób, prawidłowe ujęcie czasowo-rozdzielczej mikro/nanospektroskopii fluorescencyjnej w świetle spolaryzowanym, z wykorzystaniem soczewek obiektywowych (obiektywów mikroskopowych) o dowolnej aperturze numerycznej. Zaproponowany przez nas sposób patrzenia na tego typu doświadczenia prawidłowo sprzęga podstawy optyki soczewek obiektywowych z podstawami polaryzacyjnej spektroskopii fluorescencyjnej. Rozważyliśmy mikro/nanospektroskopię fluorescencyjną konfokalną oraz szerokiego pola, a także przypadek tej techniki we wzbudzaniu bardzo cienkich warstw ośrodków falą zanikającą wykładniczo. Dokonaliśmy także porównania opisu polaryzacyjnej mikro/na-

nospektroskopii fluorescencyjnej w przypadku wzbudzeń jednofotonowych z uproszczonymi przypadkami wzbudzeń dwu- i trójfotonowych. Przedyskutowaliśmy także bardzo istotny problem optyki soczewek obiektywowych, tj. opis wysoko-aperturowego ogniskowania spolaryzowanej liniowo wiązki światła laserowego. Pokazaliśmy, że tak długo, jak długo zależności fazowe między kartezjańskimi składowymi pola elektromagnetycznego w obszarze ogniska nie są istotne – np. dla absorberów liniowych, które w zasadzie są jedynym typem fluoroforów wykorzystywanych w mikrospektroskopii, opisy ogniskowania światła liniowo spolaryzowanego – w ujęciu optyki geometrycznej i optyki falowej (dyfrakcja światła) są całkowicie równoważnymi opisami w sensie ilościowym. W ten sposób wykazaliśmy, że mikro/nanospektroskopię fluorescencyjną można opisywać, z bardzo dużą dokładnością, dwoma zupełnie elementarnymi związkami trygonometrycznymi. Przedstawiliśmy także symetrycznie adaptowaną metodę kalibracyjną (SAC), „złotą metodę” wyłapywania wielu artefaktów doświadczalnych, mogących wprowadzać do badań doświadczalnych znaczące błędy systematyczne, a często trudne do przewidzenia. Metoda ta umożliwia dokonanie kalibracji dowolnie skomplikowanego układu pomiarowego do polaryzacyjnej spektroskopii fluorescencyjnej. Na koniec, rzeczywiście bardzo skrótowo, przedstawiliśmy ideę zmiennie-aperturowej polaryzacyjnej mikro/nanospektroskopii fluorescencyjnej optycznie cienkich płasko zorganizowanych ośrodków. Pokazaliśmy, że opis takich przypadków jest zunifikowany z opisem podobnych doświadczeń dla ośrodków makroskopowo-izotropowych. Oznacza to, że metodę SAC można wykorzystać do kalibracji instrumentu pomiarowego dedykowanemu badaniom płasko uporządkowanych, optycznie cienkich, warstw ośrodków organicznych, nieorganicznych lub hybrydowych.

W opracowaniu nie wspomnieliśmy tak bezpośrednio o wymogach, jakie muszą spełniać instrumenty pomiarowe do czasowo-rozdzielczej mikrospektroskopii fluorescencyjnej, zbudowane w laboratorium czy też zakupione w postaci mikroskopu konfokalnego wraz z tzw., potocznie nazywanym, systemem FLIM. Układy FLIM mają umożliwiać przeprowadzanie czasowo-rozdzielczych pomiarów kinetyki zaniku fluorescencji w technice skaningowej (obrazowanie przestrzennego (3D) rozkładu czasów życia fluorescencji w próbce). Dominujący na rynku producenci mikroskopów fluorescencyjnych instalują w swoich instrumentach układy FLIM (własne lub pochodzące od producentów specjalizujących się w konstrukcji tych układów) składające się: (a) ze źrenicy (*pinhole*), (b) z impulsowego źródła światła oraz (c) z detektora i układu elektronicznego do rejestracji czasowych zaników natężenia światła fluorescencji. W układach tych nie są instalowane analizatory (polaryzatory) ułatwiające wybieranie konkretnych kierunków polaryzacji rejestrowanego światła fluorescencji, w stosunku do kierunku polaryzacji światła wzbudzającego. W tej konstrukcji układu FLIM (bez analizatora) mierzone jest natężenie niespolaryzowanej (całkowitej) fluorescencji. W ujęciu fizycznym przypadek ten koresponduje do detekcji spolaryzowanego zaniku światła fluorescencji przy kącie detekcji $\theta = 45^\circ$. Są też producenci tzw.

układów FLIM wstawiający w tym układzie analizator, ale ustawiony pod stałym kątem detekcji $\theta = 54,7^\circ$. Ponadto są także producenci instalujący w układzie FLIM pryzmat polaryzacyjny, rozdzielający rejestrowane światło fluorescencji na dwa sygnały o wzajemnie prostopadłej polaryzacji i histogram kinetycznego zaniku fluorescencji obliczany jest ze wzoru (2.20). W rzeczywistości procedura ta koresponduje do bezpośredniego pomiaru zaniku kinetycznego pod kątem detekcji $\theta = 54,7^\circ$ (wzór (2.22)). Widać z tego, że także konstrukcje tzw. modułów FLIM, choć mają służyć temu samemu celowi, bardzo różnią się swoimi konstrukcjami i w rzeczywistości są źródłem różniących się danych pomiarowych. Nie jest bowiem obojętne, w jakich warunkach fizycznych dokonuje się pomiaru kinetyki światła fluorescencji. Jest to dowód na to, że producenci mikroskopów, fabrycznie wyposażonych w układy FLIM oraz producenci samych układów FLIM, nie zapanowali nad podstawami fizycznymi tego typu pomiarów. W rezultacie produkty przez nich oferowane w okresie co najmniej ostatnich dwudziestu lat mają wadę techniczną, wynikającą z błędnego rozumienia optyki soczewek obiektywowych w kontekście ich używania do spektroskopii fluorescencyjnej w świetle spolaryzowanym. Zgodnie z tym co przedstawiliśmy w tym opracowaniu [29, 30], w przeciwieństwie do tradycyjnej polaryzacyjnej spektroskopii fluorescencyjnej ($\theta_{\text{mag}} = 54,7^\circ$), w mikrospektroskopii fluorescencyjnej istnieje przedział wartości kątów magicznych θ_{mag} między wartościami 45° i $54,7^\circ$ z założeniem, że rozważamy próbki makroskopowo izotropowe. To, jaką wartość należy przyjąć za właściwy kąt magiczny, zależy od: (a) wielkości efektywnej apertury numerycznej NA/n, (b) od tego czy mikroskop wprowadza artefakty optyczne, (c) od tego czy światło laserowe przed wejściem do obiektywu ma jednorodny profil natężenia światła, a także (d) od tego czy sam obiektyw nie jest uszkodzony wskutek częstego używania (defekty warstw dielektrycznych na zewnętrznej soczewce obiektywu). Dla próbek makroskopowo uporządkowanych, zgodnie ze wzorem (4.1), nie istnieje żaden taki kąt detekcji, w którym można dokonać bezpośredniego pomiaru kinetycznego zaniku fluorescencji, proporcjonalnego do funkcji $Ph(t)$.

Ograniczając się jedynie do układów makroskopowo-izotropowych, zgodnie z tym co przedstawiliśmy w tym opracowaniu, prawidłowy moduł do czasowo-rozdzielczych badań fluorescencyjnych w świetle spolaryzowanym, poza żrenicą (*pinhole*) i zestawem detekcyjnym, powinien być także wyposażony w analizator, z możliwością jego precyzyjnego ustawienia względem kierunku polaryzacji światła wzbudzającego. W naszym przekonaniu konstrukcja takiego modułu powinna umożliwiać także dwukanałową detekcję spolaryzowanego światła fluorescencji o wzajemnie prostopadłych kierunkach polaryzacji. Tę niezbędną uniwersalność układu pomiarowego można uzyskać przez dwutorową konstrukcję kanału detekcyjnego, umożliwiającą pomiar z analizatorem obrotowym, a po zmianie toru detekcji umożliwiającą jednoczesny pomiar obu składowych spolaryzowanego światła fluorescencji. Chcąc uczynić taki zestaw bardzo uniwersalnym (także do pomiarów na próbkach makroskopowo uporządkowanych) w mikroskopie powinny być zainstalowane także dwie diafragmy

o zmiennych średnicach, jak pokazuje to rysunek 4.1. Należy tutaj podkreślić, że obrotowy analizator w kanale detekcyjnym jest konieczny dla rutynowego sprawdzania (lub kalibracji – metoda SAC) używanego układu mikrospektroskopowego, myśląc o realizacji badań doświadczalnych z zachowaniem pełnej kontroli nad tym co się robi.

Materiał przedstawiony w tym opracowaniu stanowi rzeczywisty, naprawczy wkład wiedzy do istniejącego stanu literatury, o prawie trzydziestoletniej złej tradycji, z obszaru mikrospektroskopii fluorescencyjnej, z jej wszelkimi odmianami (FLIM, FREET, EAIM, FCS, FRAP, smFLIM, smEAIM oraz spFRET), a także z jej praktycznymi zastosowaniami w dziedzinie badań biologicznych, medycznych i nano(bio)technologicznych. Autor tego opracowania często zastanawia się nad tym, które z osiągnięć opublikowanych w czasopismach wymienionych we wstępie tego opracowania (mających impakt faktory od 10 do 40) powinny zostać zweryfikowane, ale tym razem przy prawidłowo wykonanych badaniach mikrospektroskopowych. Autor zastanawia się także nad tym, ile bardzo istotnych wyników badań nie zostało opublikowanych, gdyż nie zgadzały się z przysłowiowymi oczekiwaniami.

W materiale tym nie dyskutowaliśmy wielu innych ważnych aspektów czasowo-rozdzielczej mikro/nanospektroskopii fluorescencyjnej. Bardzo istotnym elementem tej techniki są efektywne algorytmy numeryczne umożliwiające szybkie i prawidłowe analizy danych doświadczalnych, składających się z ogromnej liczby czasowo-rozdzielczych „punktów pomiarowych”. Każdy piksel obrazu fluorescencyjnego jest w tej technice indywidualnym przypadkiem spektroskopii czasowo-rozdzielczej. Obiecującą techniką optymalizacji danych mikrospektroskopowych wydaje się optymalizator GA-MLR (Combined Genetic Algorithm and Multiple Linear Regression Optimizer) [73]. Warto temu problemowi poświęcić troszkę więcej uwagi.

Niesłuchanie istotnym problemem w mikrospektroskopii fluorescencyjnej jest także problem szumów, zwłaszcza biorąc pod uwagę, że mierzone sygnały w technice skaningowej (o przestrzennej rozdzielczości 3D) są raczej niskie. Typowa liczba zliczeń fotonów w obrazowaniu fluorescencyjnym materiałów biomedycznych jest na poziomie kilkuset (100–500) zliczeń fotonów. W ostatnim okresie dużą popularność, w obróbce obrazów cyfrowych astrofizycznych, obrazów rezonansu magnetycznego, a także w konfokalnej mikroskopii fluorescencyjnej znalazły transformaty Fisz¹ [74] i Haara–Fisza [75–79]. Warto zatem zastanowić się nad głębszym rozważeniem problemu zaszumienia sygnałów fluorescencyjnych w obrazowaniu czasowo-rozdzielczym.

¹ Marek Fisz (1910–1963), polski matematyk, jeden z najlepszych polskich probabilistów. Autor podręcznika do dziś używanego w kursach akademickich, w kraju i zagranicą: *Rachunek prawdopodobieństwa i statystyka matematyczna*, PWN, 1954, 1958 i 1967, *Probability theory and mathematical statistics*, J. Wiley, New York 1969.

Pracując nad tym opracowaniem, autor przestudiował z wielkim zainteresowaniem dwa wcześniejsze tomy serii *Problemów metrologii elektronicznej i fotonicznej* [80, 81], w których przedstawiono kilka bardzo istotnych zagadnień fotonicznych, mogących mieć bardzo istotne zastosowania w zakresie stacjonarnego i czasowo-rozdzielczego obrazowania właściwości różnego typu ośrodków organicznych, nieorganicznych i hybrydowych. Duża część zagadnień dyskutowanych w obu opracowaniach zbiorowych [80, 81] może być zaadaptowana do tematyki dyskutowanej w tej pracy. Jest wielce prawdopodobne, że adaptacje te mogą prowadzić do rzeczywiście nowatorskich wdrożeń metrologii fotonicznej w dziedzinie nauk biologicznych, medycznych i nano(bio)technologicznych. Warto tutaj zacytować pracę [82] omawiającą bardzo istotny tzw. problem odwrotny (ang. *inverse problems*), z zastosowaniem równania całkowitego Fredholma pierwszego rodzaju. Praca ta jest bardzo systematyczną dyskusją uwarunkowań formalnych pomiarów pośrednich. Wskazuje ona także na potencjalne zastosowanie tej metody do analizy obrazowania różnymi technikami doświadczalnymi. Metoda ta może znaleźć wręcz fundamentalne zastosowania w analizie obrazowania fluorescencyjnego, zwłaszcza we wzbudzeniach wielofotonowych także z rozdzielczością czasową (problem analizy obrazów w różnym czasie po wzbudzeniu fluoroforów).

W bardzo szczerym i głębokim przekonaniu, autor tego opracowania uważa, że zdecydowanie potrzebna jest integracja polskiego środowiska fotonicznego. Wspólne spotkania, dyskusje, a także wspólne projekty badawcze, mogą przysporzyć nauce polskiej wielu sukcesów na arenie międzynarodowej.

LITERATURA

- [1] MICHL J., THULSTRUP E.W., *Spectroscopy with Polarized Light*, Springer, Riedel-Dordrecht, 1986.
- [2] KAWSKI A., *Fotoluminescencja roztworów*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 1992.
- [3] LAKOWICZ, J.R., *Principles of Fluorescence Spectroscopy (Third Edition)*, Springer, Berlin, 2006.
- [4] VALEUR, B., *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*, WILEY-VCH, Weinheim – New York – Chichester – Brisbane – Singapore – Toronto, 2002.
- [5] LAKOWICZ, J.R. (ED.), *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, Vol. 1, *Techniques*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1991.
- [6] LAKOWICZ, J.R. (ED.), *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, Vol. 2, *Principles*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1991.
- [7] LAKOWICZ, J.R. (ED.), *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, Vol. 3, *Biochemical Applications*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1992.
- [8] LAKOWICZ, J.R. (ED.), *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, Vol. 4, *Probe Design and Chemical Sensing*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1994.
- [9] LAKOWICZ, J.R. (ED.), *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, Vol. 5, *Nonlinear and Two-Photon Induced Fluorescence*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1997.
- [10] LAKOWICZ, J.R. (ED.), *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, Vol. 6, *Protein Fluorescence*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2001.

- [11] LAKOWICZ, J.R. (ED.), *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, Vol. 7, *DNA Technology*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2003.
- [12] GEDDES, C.D., LAKOWICZ, J.R. (EDS.), *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, Vol. 8, *Radiative Decay Engineering*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2005.
- [13] GEDDES, C.D., LAKOWICZ, J.R. (EDS.), *Advanced Concepts in Fluorescence Sensing*, Part A: *Small Molecules Sensing*, Vol. 9, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2005.
- [14] GEDDES, C.D., LAKOWICZ, J.R. (EDS.), *Advanced Concepts in Fluorescence Sensing*, Part B: *Macromolecular Sensing*, Vol. 10, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2005.
- [15] GEDDES, C.D., LAKOWICZ, J.R. (EDS.), *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, Vol. 11, *Glucose Sensing*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2006.
- [16] ARRONDO J.L.R., ALONSO A. (EDS.), *Advanced Techniques in Biophysics*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2006.
- [17] HOFF M., HUTTERER R., FIDLER V.(EDS), *Fluorescence Spectroscopy in Biology: Advanced Methods and their Applications to Membranes, Proteins, DNA, and Cells*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2005.
- [18] BERBERAN-SANTOS M.N. (ED), *Fluorescence of Supramolecules, Polymers, and Nanosystems*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2008.
- [19] RESCH-GENGER U.(ED), *Standardization and Quality Assurance in Fluorescence Measurements II: Technique*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2008.
- [20] RESCH-GENGER U. (ED), *Standardization and Quality Assurance in Fluorescence Measurements II: Bioanalytical and Biomedical Applications*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2008.
- [21] GERRITSEN, H., GRAUW C.J., *One and Two-Photon Confocal Fluorescence Lifetime Imaging and its Applications*, Oxford University Press, Oxford, 2001.
- [22] DIASPRO A, *Confocal and Two-Photon Microscopy: Foundations, Applications and Advances*, Wiley-Liss Inc., New York, 2002.
- [23] BECKER W., *Advanced Time-Correlated Single Photon Counting Techniques*, Springer, Berlin, 2005.
- [24] PERIASAMY A. (ED), *Molecular Imaging*, Oxford University Press, Oxford, 2005.
- [25] PERIASAMY A., DAY R.N. (EDS), *Molecular Imaging: FRET Microscopy and Spectroscopy*, Oxford University Press, Oxford, 2005.
- [26] PAWLEY J.B., *Handbook of Biological and Confocal Microscopy*, Plenum Press – Springer, New York, 2006.
- [27] GOLDYS E.M. (ED.), *Fluorescence Applications in Biotechnology and the Life Sciences*, Wiley-Blackwell, New Jersey, 2009.
- [28] FISZ J.J., *Fluorescence polarization spectroscopy at combined high-aperture excitation and detection: Application to one-photon-excitation fluorescence microscopy*, J. Phys. Chem. A, 2007, 111, 8606–8621.
- [29] FISZ J.J., *Another look at magic-angle-detected fluorescence and emission anisotropy decays in fluorescence microscopy*, J. Phys. Chem. A (Letter), 2007, 111, 12867–12870.
- [30] FISZ J.J., *Another treatment of fluorescence polarization microspectroscopy and imaging*, J. Phys. Chem. A, 2009, 113, 3505–3516.
- [31] RICHARDS B., WOLF E., *Electromagnetic diffraction in optical systems II. Structure of the image field in an aplanatic system*, Proc. R. Soc. London, Ser A: Math. Phys. Sci., 1959, 253, 358–379.
- [32] MONSON P.R., McCLAIN W.M., *Polarization dependence of the two-photon absorption of tumbling molecules with application to liquid 1-chloronaphthalene and benzene*, J. Chem. Phys., 1970, 53, 29–37.
- [33] McCLAIN W.M., *Polarization dependence of three-photon phenomena for randomly oriented*, J. Chem. Phys., 1972, 57, 2264–2272.

- [34] McCLAIN W.M., *Polarization of two-photon excited fluorescence*, J. Chem. Phys., 1972, 57, 2264–2272.
- [35] FISZ J.J., *Another look at multiphoton-excitation fluorescence polarization microspectroscopy and imaging* (praca zredagowana), 2009.
- [36] FISZ J.J., *Combined genetic algorithm and multiple linear regression (GA-MLR) optimizer: Application to multi-exponential fluorescence decay surface*, J. Phys. Chem. A, 2006, 110, 12977–12985.
- [37] CALLIS P.R., *On the theory of two-photon induced fluorescence anisotropy with application to indoles*, J. Chem. Phys., 1993, 99, 27–37.
- [38] WAN C., JOHNSON C.J., *Time-resolved two-photon induced anisotropy decays: The rotational diffuse regime*, J. Chem. Phys., 1994, 101, 10283–10291.
- [39] LARSON E.J., FRIESEN L.A., JOHNSON C.J., *An ultrafast one-photon and two-photon transient absorption study of the solvent-dependent photophysics an all-trans retinal*, Chem. Phys. Lett., 1997, 265, 161–168.
- [40] PAULS S.W., HEDSTROM J.F., JOHNSON C.J., *Rotational relaxation of perylene in n-alcohols and n-alkanes studied by two-photon-induced anisotropy decays*, Chem. Phys., 1998, 237, 205–222.
- [41] CHEN S-Y., VAN DER MEER B.W., *Theory of two-photon induced fluorescence anisotropy decay in membranes*, Biophys. J., 1993, 64, 1567–1575.
- [42] FISZ J.J., *Theory of one-color two-photon excitation fluorescence depolarization in organized molecular assembles and solutions*, Chem. Phys. Lett., 2003, 373, 299–307.
- [43] JABŁOŃSKI A., *Efficiency of Anti-Stokes Fluorescence in Dyes*, Nature, 1933, 131, 839.
- [44] FISZ J.J., *Fluorescence depolarization in macroscopically ordered uniaxial molecular samples. I.* Chem. Phys., 1985, 99, 177–185.
- [45] FISZ J.J., *Fluorescence depolarization in macroscopically ordered uniaxial molecular samples. II. The ground- and excited-state interactions of fluorophores with ordered environment. A discussion of the published experimental data*, Chem. Phys., 1989, 132, 303–314.
- [46] FISZ J.J., *Fluorescence depolarization in macroscopically ordered uniaxial molecular samples. III. Multifractional distribution of fluorophores in lyotropic liquid crystals. Two kinds of ground-state order parameters*, Chem. Phys., 1989, 132, 303–314.
- [47] FISZ J.J., *Fluorescence depolarization of solution and ordered systems. Photochemical reactions in the excited states. I. General considerations*, Chem. Phys., 1994, 150, 207–229.
- [48] FISZ J.J., *Fluorescence depolarization of solution and ordered systems. Photochemical reactions in the excited states. II. General considerations (b)*, Chem. Phys., 1994, 150, 207–229.
- [49] FISZ J.J., *Flexible fluorophores as the probes for monitoring the structural and dynamical properties of organized molecular media*, Chem. Phys., 1998, 297, 409–418.
- [50] FISZ J.J., BUCZKOWSKI M., *Excited-state orientation-dependent irreversible interconversion and fluorescence depolarization in organized molecular media. I. Theory*, J. Chem. Phys., 2001, 115, 7051–7060.
- [51] FISZ J.J., BUDZIŃSKI M.P., *Fluorescence depolarization in organized media. Two-excited-state reactions controlled by orientation-dependent kinetic rates I. Theory*, J. Chem. Phys., 2001, 115, 7130–7143.
- [52] JABŁOŃSKI A., *On the Notion of Emission Anisotropy*, Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Sci. Math. Astr. Phys., 1960, 8, 259–264.
- [53] BRINK D.M., SATCHLER G.R., *Angular Momentum*, Oxford University Press, Oxford, 1968.
- [54] ROSE M.E., *Elementary Theory of Angular Momentum*, Wiley, New York, 1957.
- [55] MALAK H., GRYCZYŃSKI I., DATTELBAUM J.D., LAKOWICZ J.R., *Three-Photon-Induced Fluorescence of Diphenylhexatriene in Solvents and Lipid Bilayers*, J. Fluorescence, 1997, 7, 99–105.

- [56] BIRCH D.J.S., *Multiphoton Excited Fluorescence Spectroscopy of Biomolecular Systems*, Spectrochimica Acta A, 2001, 57, 2313–2336.
- [57] HARRICK N.J., *Internal Reflection Spectroscopy*, Interscience Publisher, New York, 1967.
- [58] THOMPSON N.L., PERO J.K., *Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy*, [in:] *Fluorescence Spectroscopy in Biology: Advanced Methods and their Applications to Membranes, Proteins, DNA, and Cells* (eds. Hoff M., Hutterer R., Fidler V.), Springer, Berlin, Heidelberg, 2005.
- [59] AXELROD D., *Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy*, [in:] *Optical Imaging and Microscopy* (eds. Török P., Kao F.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2007.
- [60] FISZ J.J., BUCZKOWSKI M., ŻUCHOWSKI P., *High-aperture-excitation and – detection fluorescence spectroscopy with polarized light*, Chem. Phys. Lett., 2005, 412, 263–268.
- [61] KEATING S.M., WENSEL T.H.G., *Nanosecond fluorescence microscopy. Emission kinetics of Fura-2 in single cells*, Biophys. J., 1991, 59, 186–202.
- [62] KOSHIOKA M., SASAKI K., MASUHARA H., *Time-dependent fluorescence depolarization analysis in three-dimensional microspectroscopy*, Appl. Spectrosc., 1995, 49, 224–228.
- [63] IGNATOWSKI, V.S., *Diffraction by a lens having arbitrary aperture*, Trans. Opt. Inst. Petrograd, 1919, Vol. I, paper IV, 1–36.
- [64] IGNATOWSKI, V.S., *The relationship between geometrical and wave optics and diffraction of homocentral beams*, Trans. Opt. Inst. Petrograd, 1920, Vol. I, paper V, 1–30.
- [65] WOLF E., *Electromagnetic diffraction in optical systems I. An integral representation of the image field*, Proc. R. Soc. London, Ser A: Math. Phys. Sci., 1959, 253, 358–379.
- [66] AXELROD D., *Fluorescence Polarization Microscopy*, [in:] *Methods in Cell Biology*, Vol. 30, 1989, 333–352.
- [67] DICKEY F.M., HOLSWADE S.C., *Laser Beam Shaping, Theory and Techniques*, Springer, Berlin, 2006.
- [68] YOSHIDA A., ASAKURA T., *Electromagnetic field near the focus of Gaussian beams*, Optic, 1974, 41, 281–292.
- [69] BAHLMANN K., HELL S.W., *Depolarization by high aperture focusing*, Applied Phys. Lett., 77, 2000, 612–352.
- [70] FISZ J.J., *Making fluorescence spectroscopy, micro/nano-spectroscopy and imaging microscopy a friendly and accurate techniques: Application of the symmetry adapted calibration (SAC) method*, (praca w przygotowaniu).
- [71] FISZ J.J., *Fluorescence polarization microspectroscopy of optically thin planar-organized organic, inorganic and hybrid media: A symmetry adapted description* (praca zredagowana), 2009.
- [72] FISZ J.J., *Photochemical imaging micro/nano-spectroscopy: New perspectives for biomedical sciences and nano(bio)technology* (praca w przygotowaniu).
- [73] FISZ J.J., *Combined genetic algorithm and multiple linear regression (GA-MLR) optimizer: Application to multi-exponential fluorescence decay surface*, J. Phys. Chem. A, 2006, 110, 12977–12985.
- [74] FISZ M., *The limiting distribution of a function of two independent random variables and its statistical application*, Colloq. Math., 3, 1955, 138–146.
- [75] FRYZLEWICZ P., NANSON G.P., *A Haar-Fisz algorithm for poisson intensity estimation*, J. Comput. and Graph. Statist., 13, 2004, 621–638.
- [76] ZHANG B., FADILI J.M., STARCK J-L., *Wavelets, ridgelets, and curvelets for Poisson noise removal*, IEEE Transactions on image processing, 17, 2008, 1093–1108.
- [77] NAWRES K., GRIBBA N., MBAZAA I., HAMRUONI K., *A based Bayesian wavelet thresholding method to enhance nuclear imaging*, Journal of Biomedical Imaging, 2009, Article No. 1, doi:10.1155/2009/506120.
- [78] LEE J.A., GEETS X., GREGORIE A., *Edge-preserving filtering of images with low photon counts*, IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 2008, 30, 1014–1027.

- [79] LUISIER F., VONESCH C., BLU TH., UNSER M., *Fast interscale wavelet denoising of Poisson-corrupted image source*, Signal Processing, 2009, 90, 415–427.
- [80] MROCZKA J., *Problemy Metrologii Elektronicznej i Fotonicznej* (Praca zbiorowa), Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław, 2008.
- [81] MROCZKA J., *Problemy Metrologii Elektronicznej i Fotonicznej 2* (Praca zbiorowa), Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław, 2009.
- [82] MROCZKA J., SZCZUCZYŃSKI D., *Inverse problems formulated in terms of first-kind Fredholm integral equations in direct measurements*, Metrology and Measurement Systems, 2009, Vol. XVI, No. 3, Article No. 1.

FLUORESCENCE MICRO/NANO-SPECTROSCOPY AND IMAGING IN A CORRECT TREATMENT: NANO-METROLOGY

We here discuss a correct treatment for fluorescence micro/nano-spectroscopy with polarized light, at the one- and multiphoton excitations, that correctly couples the principles of the optics of objective lenses with the principles of fluorescence spectroscopy with polarized light. We discuss the confocal and wide-field micro/nano-spectroscopy and also the case of evanescent-wave excitations probing the nanolayers of organic, inorganic and hybrid media. We introduce the description of variable-aperture fluorescence micro/nano-spectroscopy of optically thin planar-organized media.

Kamil BARCZAK*
Tadeusz PUSTELNY*

BADANIE WŁAŚCIWOŚCI MAGNETOOPTYCZNYCH ŚWIATŁOWODÓW SPECJALNYCH TYPU D

W pracy przedstawiono badania nad światłowodami specjalnymi typu D. Struktura tych światłowodów została zaprojektowana tak, aby była czuła na pole magnetyczne. Są to polaryzacyjne światłowodów włókniste zmieniające swoje właściwości polaryzacyjne w funkcji pola magnetycznego. Wyniki (rezultaty badań) potwierdzają istotnie większą czułość tych włókien niż dla światłowodów typu *step-index*. Artykuł zawiera również analizę numeryczną właściwości polaryzacyjnych przedstawionych struktur.

1. ŚWIATŁOWODY W TECHNICIE SENSOROWEJ

Technika światłowodowa ciągle dynamicznie się rozwija od początków sięgających lat 70. zeszłego stulecia; przede wszystkim ze względu na niezaprzeczalne zalety telekomunikacyjne światłowodów włóknistych. Głównym motorem tego rozwoju jest ciągle rosnące zapotrzebowanie na informację, którą należy przestać daleko i szybko. Często informacją może być wartość jakiejś wielkości lub wartość logiczna stanu. Coraz częściej światłowód wykorzystuje się do przesyłania wielkości mierzonych przez różnego rodzaju systemy pomiarowe. Najprościej wtedy, gdyby wielkość ta od razu była zaszyfrowana w wiązce światła. Wówczas można, bez konieczności używania urządzeń elektronicznej obróbki sygnału, przesyłać sygnał z urządzenia pomiarowego do miejsca akwizycji danych. Dobrze byłoby zatem, gdyby miernik umożliwiał bezpośredni pomiar optyczny, a najlepiej gdyby transmisja realizowana była również z wykorzystaniem światłowodu. Z tych powodów, jakby automatycznie, zaczęły równie dynamicznie rozwijać się światłowodowe czujniki wielkości fizycznych oraz wielkości chemicznych [1]. Jednak czy jest to wystarczający powód, aby tworzyć nowego typu czujniki? Czujniki optyczne są często odpowiednikami już istniejących

* Katedra Optoelektroniki, Politechnika Śląska.

klasycznych sensorów, mających za sobą wiele lat doświadczeń, badań i udoskonaleń oraz niejednokrotnie duże rozdzielczości, znaczną niezawodność i stabilność. Zasadniczym powodem wprowadzania światłowodowych (zwłaszcza – optycznych) czujników jest ich izolacyjność. Z tym wiąże się bezpieczeństwo użytkowania w zakresie wysokich napięć i prądów. Kolejnym powodem jest ich niewrażliwość na elektromagnetyczne pola zakłócające, nawet o dużym natężeniu. W świecie metrologii, tak ogromnie uzależnionym od elektryczności, nieelektryczność czujników światłowodowych jest ich podstawową i największą zaletą [2].

Od lat 80. zeszłego stulecia rozwijane są badania nad możliwością wykorzystania zjawisk magnetooptycznych w światłowodach włóknistych, które mogłyby pełnić rolę czujników pola magnetycznego lub prądu [3–8] (te ostatnie w rzeczywistości również są czujnikami pola magnetycznego wytwarzanego wokół przewodnika z prądem). Największy nacisk kładzie się na tzw. optyczne przekładniki prądowe, czyli optyczne czujniki prądu stosowane w elektroenergetyce w systemach zabezpieczeń linii średniego i wysokiego napięcia (110 kV). Izolacyjność włókien optycznych oraz ich niewielki rozmiar ma kluczowe znaczenie dla ich metrologicznych zastosowań w przemyśle elektroenergetycznym [7].

Cały czas nieliczne są rozwiązania komercyjne światłowodowych czujników prądu. Niska czułość magnetooptyczna, wpływ temperatury i drgań mechanicznych na sygnał pomiarowy obniżają poziom zaufania do tych rozwiązań [8–10]. Światłowodowe czujniki prądu ciągle jeszcze pracują obok klasycznych przekładników prądowych, będących podstawowym punktem odniesienia dla systemów zabezpieczeń. Zachodzi zatem potrzeba intensywnego rozwoju technik światłowodowych, które mogłyby zapewnić szersze zastąpienie klasycznych przekładników prądowych, a także napięciowych, które są kosztowne i stwarzają potencjalne niebezpieczeństwo porażenia prądem elektrycznym personelu obsługi.

Od wielu lat prowadzone są badania nad możliwością wykorzystania światłowodów dwójłomnych w technice pomiarowej. Główne dziedziny zastosowań to pomiary naprężeń, ciśnienia, masy, drgań, odkształceń elementów konstrukcyjnych (również jako czujniki z tzw. rozłożoną detekcją) [11–15].

Problem optoelektronicznych sensorów różnych wielkości fizycznych oraz wielkości chemicznych jest od ponad dwudziestu lat rozwijany w katedrze optoelektroniki, wcześniej – w Zakładzie Optoelektroniki Instytutu Fizyki Politechniki Śląskiej w Gliwicach. W katedrze optoelektroniki powstało w tym czasie kilka oryginalnych i wartościowych rozwiązań sensorów optoelektronicznych – sensorów wykonanych zarówno w technice światłowodów włóknistych, jak również w technice optyki planarnej i zintegrowanej.

Realizowane badania nad wykorzystaniem włókien dwójłomnych w sensoryce zainspirowały pytanie: czy światłowodowy dwójłomny może mieć ciekawe właściwości magnetooptyczne? Czy światłowodowy dwójłomny może zostać wykorzystany do konstrukcji czujnika pola magnetycznego? Postawione pytanie stało się inspiracją do kon-

strukcji nowego typu włókna, które powstało we współpracy z Pracownią Technologii Światłowodów Uniwersytetu Marii Curie Skłodowskiej w Lublinie. Ze względu na charakterystyczną geometrię tzw. płaszcza światłowodu wytworzonych włókien, nazywano je **światłowodami specjalnymi typu D**.

2. PŁASKA FAŁA ELEKTROMAGNETYCZNA W OŚRODKU MATERIALNYM

2.1. STAN POLARYZACJI FAŁI ELEKTROMAGNETYCZNEJ W OŚRODKU MATERIALNYM

Zjawiska magnetoptyczne przede wszystkim polegają na wpływie zewnętrznego pola magnetycznego na stan polaryzacji propagującej się w ośrodku fali elektromagnetycznej.

Płaską fałę elektromagnetyczną w ośrodku materialnym (dielektrycznym i niemagnetycznym) można wyrazić przez dwie składowe natężenia pola elektrycznego

$$\begin{aligned} E_x &= m_x \cos(\omega t) \\ E_y &= m_y \cos(\omega t + \delta) \end{aligned} \quad (2.1)$$

gdzie: $\delta = \delta_{0x} - \delta_{0y}$ jest efektem unormowania, tzn. sprowadzenia fazy początkowej δ_{0x} składowej E_x wektora natężenia pola elektrycznego do zera (dla czasu $t = 0$ natężenie pola elektrycznego $E_x = 0$).

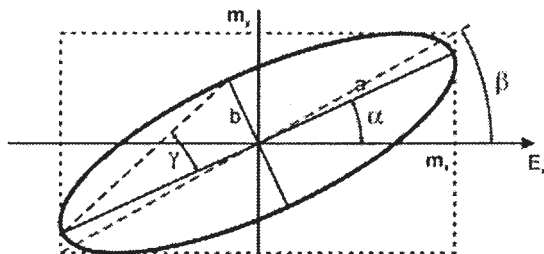
W celu opisanie polaryzacji należy pokazać uporządkowanie w postaci rzutu wektora E na płaszczyznę prostopadłą do kierunku rozchodzenia się fali. Wówczas otrzymuje się obraz kreślony przez koniec wektora pola elektrycznego. Aby tego dokonać, należy z równań (2.1) wyrugować czas t będący parametrem tego układu. Jest to nieskomplikowany problem matematyczny, w wyniku którego otrzymuje się tzw. równanie elipsy stanu polaryzacji w postaci [11]

$$\frac{E_x^2}{m_x^2} - 2 \frac{E_x}{m_x} \frac{E_y}{m_y} \cos \delta + \frac{E_y^2}{m_y^2} = \sin^2 \delta \quad (2.2)$$

Od amplitud m_x i m_y zależy kształt elipsy, natomiast od kąta δ zależy kształt i azymut elipsy stanu polaryzacji pokazanej na rysunku 2.1.

Kiedy różnica faz $\delta = 90^\circ$ oraz $m_x = m_y$, z elipsy stanu polaryzacji otrzymuje się równanie okręgu (polaryzacja kołowa). Dla $\delta = 0^\circ$ otrzymuje się równanie prostej (polaryzacja liniowa). Podstawowymi parametrami opisującymi stan polaryzacji są: azymut α i kąt eliptyczności γ , które są zaznaczone na rysunku 2.1. Określają one jednoznacznie rodzaj polaryzacji (liniowa, kołowa, eliptyczna) oraz kąt skręcenia stanu

polaryzacji. Dla opisu elipsy stanu polaryzacji definiuje się również eliptyczność, kąt przekątnej oraz skrętność opisującą kierunek skręcenia się wektora natężenia pola elektrycznego [1].



Rys. 2.1. Elipsa stanu polaryzacji: α – azymut, γ – kąt eliptyczności, β – kąt przekątnej
Fig. 2.1. Ellipse of the state of polarization: α – azimuth, γ – angle of ellipticity, β – diagonal angle

Z równania elipsy stanu polaryzacji (2.2) wynikają wprost zależności na parametry stanu polaryzacji.

Po przekształceniach, otrzymuje się wyrażenia na:
kąt eliptyczności γ

$$\sin 2\gamma = \frac{2m_x m_y}{m_x^2 + m_y^2} \sin \delta \quad (2.3)$$

oraz kąt azymutu α stanu polaryzacji

$$\operatorname{tg} 2\alpha = \frac{2m_x m_y}{m_x^2 - m_y^2} \cos \delta \quad (2.4)$$

Wzory (2.3) oraz (2.4) są bardzo ważne i użyteczne praktycznie, gdyż w rzeczywistości pomiarowej możliwe jest wyznaczenie kwadratów amplitud m_x^2 i m_y^2 oraz kąta przesunięcia δ . Tym samym wzory te ułatwiają wyznaczenie z pomiarów parametry stanu polaryzacji.

Dwójłomność naturalna, zwana również dwójłomnością postaci, jest związana z anizotropią właściwości optycznych ośrodka niepoddanego żadnym zewnętrznym oddziaływaniom [16–18]. Anizotropia optyczna ośrodka wynika z równania materiałowego, wiążącego składowe indukcji elektrycznej D_i ze składowymi natężenia pola elektrycznego E_j , w którym przenikalność elektryczna w ogólnym przypadku jest tensorem drugiego rzędu [19, 20].

Z analizy efektu dwójłomności optycznej wynika [21–23], że w danym kierunku fali w ośrodku dwójłomnym mogą rozchodzić się dwie fale o różnych prędkościach, spolaryzowane liniowo. Nazywane są one falami własnymi [24]. Polaryzacje tych fal są do siebie prostopadłe. Fakt możliwości rozchodzenia się w ośrodku dwóch fal

(o różnych współczynnikach załamania) powoduje, że w ośrodku dwójłomnym fale załamują się pod innymi kątami. (Na tej zasadzie działa wiele współczesnych polaryzatorów pryzmatycznych liniowych, jak: pryzmat Nicola, pryzmat Glana czy pryzmat Wollastona [25, 26].)

Gdy fala pada na ośrodek prostopadle, wówczas obie fale biegną tą samą drogą i przy wyjściu interferują ze sobą. Różnica prędkości ich propagacji powoduje, że fale te są przesunięte względem siebie w fazie. W wyniku interferencji na wyjściu w zależności od różnicy faz między falami własnymi powstaje fala o polaryzacji liniowej, eliptycznej lub kołowej.

2.2. MAGNETOOPTYCZNY EFEKT FARADAY'A

Magnetoptyczny efekt Faradaya polega na zmianie dwójłomności ośrodka, wywołanej polem magnetycznym [6, 10, 18]. Jak wynika z analiz prowadzonych w ramach optyki molekularnej [25], w zewnętrznym polu magnetycznym tensor przenikalności elektrycznej ma postać (w założeniu, że wektor natężenia pola magnetycznego H jest skierowany zgodnie z kierunkiem osi z):

$$[\varepsilon] = \begin{bmatrix} \varepsilon & -i\varepsilon_6 & 0 \\ -i\varepsilon_6 & \varepsilon & 0 \\ 0 & 0 & \varepsilon \end{bmatrix}, \quad \text{gdzie } \varepsilon = n^2, \quad \varepsilon_6 \ll \varepsilon \quad (2.5)$$

Analiza propagacji fali elektromagnetycznej wprowadzonej do takiego ośrodka pokazuje, że ośrodek ten charakteryzuje się dwójłomnością kołową. Skręcenie $\Delta\alpha$ kierunku drgań wektora E fali elektromagnetycznej po przejściu drogi l (względem kierunku wejściowego) wynosi [25]

$$\Delta\alpha = \frac{\pi l}{\lambda} \Delta n = \frac{\pi l}{\lambda} \frac{\varepsilon_6}{n} \cos \theta \quad (2.6)$$

Na gruncie optyki molekularnej wiadomo [10, 18], że składowa tensora przenikalności elektrycznej ε_6 zależy liniowo od natężenia zewnętrznego pola magnetycznego: $\varepsilon_6 = k_6 H$, gdzie k_6 jest stałą materiałową. Kąt skręcenia płaszczyzny polaryzacji zatem wyraża się wzorem

$$\Delta\alpha = \frac{k_6 \pi}{n\lambda} H l \cos \theta = V_H H l \cos \theta \quad (2.7)$$

gdzie $V_H = \frac{k_6 \pi}{n\lambda}$ nazywa się stałą Yerdeta wyrażaną w $\frac{\text{rad A}}{\text{m}}$, charakteryzującą czułość magnetoptyczną ośrodka. Często w literaturze spotyka się zależność na skręce-

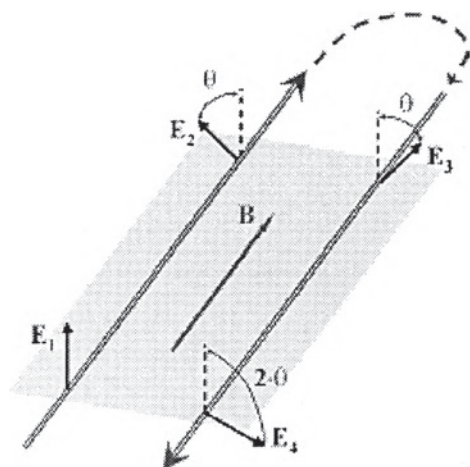
nie płaszczyzny polaryzacji wyrażoną przez indukcję pola magnetycznego. Wówczas wyrażenie (2.7) przyjmuje postać

$$\Delta\alpha = V_H B l \cos\theta \quad (2.8)$$

(V [rad/Tm]) również nosi nazwę stałej Verdet).

Z wyrażenia (2.8) wnioskuje się, że efekt Faradaya jest najsilniejszy gdy $\theta = 0$, tzn. gdy kierunek propagacji światła jest równoległy do linii sił pola magnetycznego.

Istotną cechą tego efektu jest jego nieodwracalność. Znaczy to, że powstałe w wyniku tego zjawiska skręcenie nie może być skompensowane (odwrócone do stanu pierwotnego), gdy promień zostanie powtórnie zawrócony w obszar działania pola magnetycznego tak, że będzie poruszał się w tych samych warunkach i w tym samym kierunku, lecz w przeciwnym zwrocie. Skręcenie polaryzacji będzie odbywało się w przeciwnym kierunku, jednak zawrócony promień będzie miał płaszczyznę polaryzacji obróconą w przeciwnym kierunku niż poprzednio. Z tego powodu skręcenie nie zredukuje się, lecz się podwoi.



Rys. 2.2. Ilustracja zjawiska nieodwracalności efektu Faradaya'a
Fig. 2.2. Inversibility of the Faraday Effect

Dzieje się tak dlatego, że promień ma skręcenie płaszczyzny polaryzacji względem własnego zwrotu propagacji, a po zawróceniu zmienia się zwrot propagacji. Zachowanie to ilustruje rysunek 2.2, gdzie linią przerywaną zaznaczono ideowo zawrócenie promienia, które może się odbywać przez odbicie (tak jak dzieje się to w komórkach Faradaya) lub zawrócenie toru światłowodowego, gdy mamy do czynienia np. z włóknami światłowodowymi.

W tabeli 2.1 przedstawiono czułości magnetoptyczne (stałe Verdet) niektórych ciał materialnych [26, 27].

Tabela 2.1. Stałe Verdet wybranych materiałów
Table 2.1. The values of Verdet constants for selected materials

Ośrodek	Stała Verdet [rad/Tm]	Ośrodek	Stała Verdet [rad/Tm]
Woda	3,78	Kwarc	4,84
Alkohol etylowy (25 °C)	3,23	$Y_3Fe_5O_{12}$ ($D = 700$ nm)	6457,7
Dwusiarek węgla (18 °C)	12,51	Sól kamienna	10,04
CS_2	12,57	Bromek potasu	12,37
Szkło SF3	18,3	Szkło flintowe – min.	17,45
Szkło SF22	30,85	Szkło flintowe – max.	26,18
Kalcyt	5,52	Wodór (ciśn. 1000 Pa)	0,000538

2.3. MAGNETOPTYCZNE ZJAWISKO COTTONA–MOUTONA I ZJAWISKO VOIGHTA

Światło, przechodząc przez ośrodek umieszczony w zewnętrznym polu magnetycznym o kierunku linii sił prostopadłym do kierunku rozchodzenia się światła, doznaje podwójnego załamania. Taka magnetyczna dwójłomność, obserwowana w cieczach i ciałach stałych, nosi nazwę zjawiska Cottona–Mutona, natomiast w gazach i parach zjawiska Voigta [27].

Obecnie największe znaczenie ma badanie tego zjawiska w ciałach stałych, zwłaszcza w półprzewodnikach, magnetykach i cieczach magnetycznych [18, 22].

Po przejściu światła liniowo spolaryzowanego przez ośrodek znajdujący się w zewnętrznym polu magnetycznym, w wyniku magnetycznej dwójłomności, następuje przesunięcie w fazie między falami własnymi ośrodka (o ortogonalnych polaryzacjach liniowych). Wielkość tego przesunięcia wyrażona w fazie δ w efekcie Cottona–Moutona przedstawia się zależnością:

$$\delta = C_{cm} l H^2 \quad (2.9)$$

gdzie l jest drogą geometryczną światła w ośrodku, H – natężeniem zewnętrznego pola magnetycznego (prostopadłego do kierunku propagacji wiązki światła), C_{cm} – stała materiałowa zwana stałą Cottona–Moutona.

Efekt magnetycznej dwójłomności w światłowodach włóknistych, wywołany zjawiskiem Cottona–Mutona, jest niemierzalnie mały. Wynika to z tego, że zewnętrzne pole magnetyczne w tym efekcie rozciąga się w kierunku poprzecznym światłowodu. Dla światłowodów jednodomowych jest to odcinek poniżej 10 μm . Przy działaniu pola magnetycznego na tak niezwykle krótkim odcinku, nawet w silnych polach magnetycznych (rzędu 10^5 A/m), nie obserwowano żadnego skręcenia płaszczyzny polaryzacji fali propagującej się we włóknie.

3. ŚWIATŁOWODY WŁÓKNISTE

Światłowody włókniste są wykorzystywane w telekomunikacji już od lat 70. XX w., chociaż początki teorii prowadzenia światła w ośrodkach cylindrycznych były znane w XIX wieku. Rozwój techniki światłowodowej był w początkowym okresie przede wszystkim nastawiony na zastosowania telekomunikacyjne. Szybki rozwój technologii wytwarzania włókien doprowadził do znacznego obniżenia ich tłumienności. W 1970 r. firma Corning produkowała światłowody o tłumienności 20 dB/km. Obecnie wytwarzane są na skalę przemysłową światłowody o tłumienności poniżej 0,2 dB/km dla długości fali 1,55 μm [30].

Światłowody włókniste wypierają starą infrastrukturę telekomunikacyjną opartą na przewodach miedzianych, gdyż są małe (ok. 0,25 mm średnicy), lekkie (1 km bez pokrycia waży ok. 27 g), elastyczne (min. prom. zgięcia 4,5 cm), niewrażliwe na zakłócenia elektromagnetyczne, nie powodują iskrzenia oraz są odporne chemicznie. Najważniejsze są jednak ich zalety transmisyjne. Tłumienie sygnału w światłowodzie jest znacznie niższe niż w kablach miedzianych (ok. 2 dB/km dla 1 MHz) [31]. Mają znacznie szersze pasmo przenoszenia – teoretycznie do 1 THz. W praktyce do około kilkudziesięciu GHz. Tłumienność włókien jednomodowych dla długości fali 1,55 μm jest praktycznie stała i wynosi mniej niż 0,2 dB/km. (Kable miedziane w tej częstotliwości mają tłumienność na poziomie 10^2 dB/km.)

Równocześnie z rozwojem światłowodów telekomunikacyjnych zaczyna się również rozwój technik światłowodowych w sensoryce. Ze względu na odporność włókna szklanego na czynniki zewnętrzne (pola elektromagnetyczne, zakłócenia mechaniczne, substancje chemiczne) zarówno czujniki wielkości fizycznych, jak i czujniki chemiczne coraz częściej wykonywane są z wykorzystaniem światłowodów. Wśród tych czujników są również czujniki magnetooptyczne [3, 32–38].

Ze względu na budowę, światłowody włókniste można podzielić na szklane, polimerowe, szklane pokryte polimerami oraz ftoniczne [28, 30, 39]. Ze względu na właściwości transmisyjne ważny jest rozkład współczynnika załamania w przekroju poprzecznym włókna. Wyróżnia się tutaj:

- światłowody o skokowym rozkładzie współczynnika załamania (tzw. światłowody typu *step-index*),
- światłowody o ciągłym rozkładzie współczynnika załamania rdzenia (tzw. światłowody gradientowe).

Kolejnym ważnym transmisyjnym kryterium podziału jest liczba prowadzonych modów. Wyróżnia się tutaj światłowody:

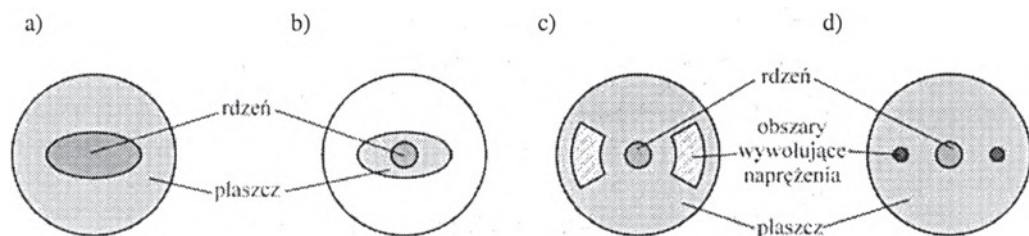
- jednomodowe,
- wielomodowe.

3.1. ŚWIATŁOWODY DWÓJŁOMNE

Badanie magnetoptycznego efektu Faradaya możliwe jest tylko w światłowodzie jednomodowym o skokowym profilu współczynnika załamania rdzenia i płaszcza.

Dyspersja międzymodowa światłowodów wielomodowych powoduje nie tylko „rozmycie” sygnału natężeniowego, ale również „rozmycie” polaryzacji światła. Powoduje ono przypadkową fazę sygnałów na wyjściu, przypadkowe sprzężenia modów oraz to, że każdy mod wychodzi pod innym kątem. Uniemożliwia to detekcję stanu polaryzacji.

We włóknie jednomodowym typu „step-index” w rzeczywistości propagują się dwa mody polaryzacyjne z tą samą prędkością. Niejednorodności geometryczne, naturalna anizotropia optyczna lub anizotropia wymuszona powodują, że efektywne współczynniki załamania modów polaryzacyjnych $n_{\text{eff},x}$ i $n_{\text{eff},y}$ przestają być sobie równe. Światłowod staje się zatem dwójłomny. Przypadkowa dwójłomność indukowana lub spowodowana optycznymi niejednorodnościami we włóknie jest efektem niepożądanym, pasożytniczym. Odpowiada ona za dyspersję polaryzacyjną [29, 31]



Rys. 3.1. Światłowod dwójłomne: a) z eliptycznym rdzeniem, b) z eliptycznym płaszczem, c) typu „Bow-Tie”, d) typu „Panda”

Fig. 3.1 The birefringent optical fibres: a) with the elliptical core, b) with the elliptical cover, c) the „Bow-Tie” type, d) the „Panda” type

Duża dwójłomność włókien, wynikająca z asymetrii rozkładu współczynnika załamania lub z istniejących we włóknie wewnętrznych naprężeń, jest wykorzystywana do utrzymywania stanu polaryzacji w światłowodzie (rys. 3.1). Światłowod te nazywa się światłowodami utrzymującymi polaryzację (PMF – *Polarisation Maintaining Fiber*) lub światłowodami o dużej dwójłomności (HB – *High Birefringence*). Zjawisko utrzymywania stanu polaryzacji wynika z tego, iż duża dwójłomność wewnętrzna włókna powoduje dużą różnicę efektywnych współczynników załamania modów polaryzacyjnych. Znacząco utrudnia to sprzęganie się modów [28, 30].

Światłowod dwójłomne można podzielić na dwie podstawowe grupy [11, 37, 38]:

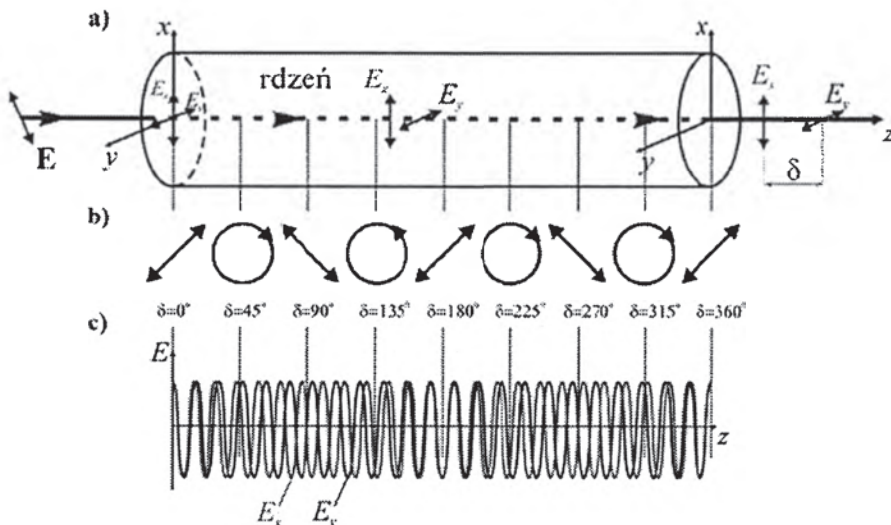
- światłowod z dwójłomnością kształtu,
- światłowod z dwójłomnością naprężeniową.

Dla światłowodów jednomodowych wprowadza się tzw. względną dwójłomność, zdefiniowaną następująco [29]:

$$B = \frac{\beta_y - \beta_x}{\beta} = \frac{\delta\beta}{\beta} \quad (3.1)$$

gdzie: $\beta = (\beta_y + \beta_x)/2$, $\delta\beta = \beta_y - \beta_x$; β_x , β_y – stałe propagacji odpowiednich modów polaryzacyjnych. (Stała propagacji określa rzut wektora falowego $\mathbf{k}$ na kierunek osi włókna „z”.) Stała propagacji jest powiązana z efektywnym współczynnikiem załamania w następujący sposób:

$$B = k_0 n_{\text{eff}}, \quad \text{gdzie: } k_0 = \frac{2\pi}{\lambda} \quad (3.2)$$



Rys. 3.2. Ilustracja zjawiska zdudnienia ortogonalnych modów polaryzacyjnych światła propagującego się w dwójłomnym światłowodzie włóknistym: a) rdzeń włókna, b) stan polaryzacji światła w danym miejscu rdzenia, c) przebieg natężenia pola elektrycznego ortogonalnych modów polaryzacyjnych

Fig. 3.2. Presentation of the beat effect of the orthogonal polarimetric modes propagated into the birefringent optical fiber

Wprowadzenie do włókna światła spolaryzowanego liniowo o polaryzacji zgodnej z technologicznie wprowadzoną asymetrią (rys. 3.1) spowoduje zachowanie stanu polaryzacji i na wyjściu rejestruje się również polaryzację liniową. Jednak gdy stan polaryzacji wejściowej nie pokrywa się z osią asymetrii, wówczas jedną część światła prowadzi mod polaryzacyjny β_x , a drugą część mod polaryzacyjny β_y . Różnica stałych propagacji $\delta\beta = \beta_y - \beta_x$ za pomocą rozchodzenia się światła we włóknie skutkuje róż-

nicą faz między modami β_x i β_y , która zmienia się w sposób ciągły od 0 do 2π . Powstaje tzw. **zdudnienie**, gdy fazy modów polaryzacyjnych są zgodne (rys. 3.2). Odległość przestrzenna między jednym i drugim zdudnieniem nazywa się **drogą zdudnień** L_b i wyraża się zależnością:

$$L_b = \frac{2\pi}{\delta\beta} = \frac{\lambda}{\delta n_{\text{eff}}}, \quad \text{gdzie: } \delta n_{\text{eff}} = n_{\text{eff}_y} - n_{\text{eff}_x} \quad (3.3)$$

Jest to jeden z najważniejszych parametrów charakterystycznych dla światłowodów dwójłomnych, który wyznacza się eksperymentalnie. W praktyce światłowody dwójłomne z dwójłomnością naprężeniową mają drogę zdudnień na poziomie $L_b \approx 1$ mm.

3.2. DWÓJŁOMNOŚĆ INDUKOWANA W JEDNOMODOWYCH ŚWIATŁOWODACH WŁÓKNISTYCH

Podobnie jak dla fali płaskiej w ośrodku nieograniczonym [1], wymuszona dwójłomność w światłowodach włóknistych o skokowym profilu współczynnika załamania jest wywoływana podobnymi czynnikami: naprężeniami (lub deformacją), polem elektrycznym oraz polem magnetycznym.

Efekt fotosprężysty, polegający na powstawaniu dwójłomności włókna pod wpływem naprężeń (efekt piezooptyczny) lub deformacji (efekt elastoptyczny), opisują zależności [39–41]. Włókno optyczne w praktyce podlega różnego rodzaju deformacjom, które mogą występować pojedynczo lub kolektywnie. Typowymi deformacjami, na jakie jest narażony światłowód, to: zginanie, zgniatanie, skręcanie i rozciąganie [41–43].

W przypadku efektów magnetoptycznych i elektroptycznych, takich jak efekt Faradaya i efekt Kerra [42, 43], dwójłomność wynikająca z obecności pól magnetycznych lub elektrycznych jest związana z właściwościami materiałowymi włókna. Opis tych zjawisk we włóknie światłowodowym jest podobny do opisu w ośrodkach nieograniczonych [10, 29–32].

Podsumowując, można stwierdzić, że w światłowodach mogą pojawiać się różnego rodzaju efekty wymuszonej dwójłomności (efekty polaryzacyjne), które mogą występować jednocześnie.

Autorzy w niniejszej pracy starali koncentrować się na właściwościach magnetoptycznych włókna specjalnego typu D [36–38]. Propagacja światła we włóknie typu D może być zakłócona przez inne efekty wymuszonej dwójłomności. Każdy z tych efektów jest (mniej lub bardziej) zależny od warunków zewnętrznych, w tym przede wszystkim od temperatury.

Należy także podkreślić, że w pracy pominięto problem dyspersji efektów wymuszonej dwójłomności, a więc również dyspersji stałej Verdet w efekcie Faradaya. Jest to złożony problem. Problem ten był szczególnie trudny w badanych w niniejszej pracy światłowodach specjalnych typu D.

W analizie dwójłomności indukowanej autorzy nie mogli odnieść się do rozważań przedstawionych w innych publikacjach, gdyż nie ma doniesień w literaturze o propagacji światła we włóknach typu D.

3.3. PRZEGLĄD WYKORZYSTANIA ZJAWISK MAGNETOOPTYCZNYCH W SENSORYCE

Najpopularniejszym efektem magnetoptycznym jest odkryty w połowie XIX w. efekt Faradaya [1, 44]. Dokładnie 13. września 1845 r. genialny angielski fizyk Michael Faraday odkrył zjawisko magnetoptyczne, które później nazwano jego imieniem. Faraday zaobserwował to zjawisko w płytce ze szkła borokrzemowego [22]. Wprowadził do płytki światło spolaryzowane liniowo i obserwował jego natężenie na wyjściu, po przejściu przez pryzmat Nikoła. Zauważył, że wprowadzenie pola magnetycznego wzdłuż kierunku promieni świetlnych powoduje zmianę natężenia na wyjściu, natomiast wprowadzenie pola magnetycznego prostopadle nie powoduje tego efektu. Tym samym Faraday sformułował zależność (patrz wzór (2.8)) na skrócenie polaryzacji światła w funkcji pola magnetycznego (Faraday nigdy nie podał zależności $\alpha = f(B)$ w postaci analitycznej).

Badania efektu Faradaya w różnych ośrodkach materialnych prowadzone są już od ponad 150 lat. Literatura tego problemu jest bardzo bogata. Otrzymane wyniki są powszechnie znane, mają już najczęściej charakter podręcznikowy.

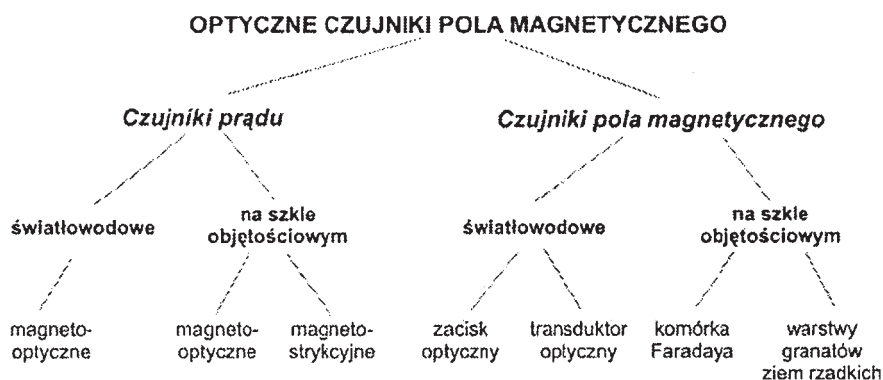
Celem prezentowanych badań było rozeznanie możliwości opracowania sensora pola magnetycznego, opierając się na zaproponowanych światłowodach specjalnych, który mógłby znaleźć zastosowanie w monitorowaniu zmian pola magnetycznego w urządzeniach elektroenergetycznych.

Z tego powodu dokonano przeglądu możliwości wykorzystania efektów magnetoptycznych w światłowodowych sensorach zarówno pola magnetycznego, jak również sensorach prądu elektrycznego. Zastosowanie światłowodów w sensorach optoelektronicznych stanowią podstawowy kierunek badań prowadzonych w katedrze optoelektroniki, wcześniej – w Zakładzie Optoelektroniki Instytutu Fizyki Politechniki Śląskiej.

Wykorzystanie efektu Faradaya w konstrukcji tzw. magnetoptycznych przekładników prądowych sięga lat pięćdziesiątych dwudziestego stulecia. Wówczas firma Merlin–Gerin [2] wykonała prototyp takiego urządzenia na szkłe flintowym. Kolejny ważny etap rozwoju czujników magnetoptycznych wiąże się z okresem dynamicznego rozwoju techniki światłowodów włóknistych. Światłowody włókniste otworzyły nowe możliwości wykorzystania zjawisk magnetoptycznych, w tym w szczególności zjawiska Faradaya (pomijając ogromną grupę izolatorów i modulatorów magnetoptycznych wykorzystywanych w telekomunikacji). W tej grupie wyróżnić można przede wszystkim czujniki pola magnetycznego oraz czujniki prądu, w większości wykorzystywane w elektroenergetyce jako tzw. magnetoptyczne przekładniki prą-

dowe [2]. Dynamiczny rozwój magnetoptycznych przekładników prądowych [7] jest datowany od początku lat 80. XX wieku. W późniejszych latach pojawiają się również czujniki pola magnetycznego wykorzystujące światłowody włókniste [4, 43–46].

Z doniesień literatury wynika, że czujniki magnetoptyczne można podzielić na dwie podstawowe grupy: czujniki pola magnetycznego i czujniki prądu. Śledząc literaturę można zauważyć różne rozwiązania i konfiguracje czujników wykorzystujących oddziaływania optyczne w detekcji pola magnetycznego i prądu. Z tego powodu zaproponowany podział czujników magnetoptycznych i przyjęte kryteria tego podziału będą jedną z wielu możliwości. Są subiektywną próbą usystematyzowania optycznych czujników pola magnetycznego (rys. 3.3).



Rys. 3.3. Podział optycznych czujników pola magnetycznego

Fig. 3.3. Classification of the optical magnetic field sensors

Ze względu na zainteresowanie autorów metrologią pól magnetycznych z wykorzystaniem struktur światłowodowych, szczególnie włókien optycznych, w pracy skupiono się przede wszystkim na czujnikach światłowodowych. Będą to również czujniki wykorzystujące inne efekty, jak np. magnetostrykcja, czy przemieszczenie wpływające na parametry prowadzonej w czujniku fali świetlnej [47].

Ze względu na konfigurację czujnika można wyróżnić czujniki interferencyjne, polarymetryczne oraz natężeniowe. W literaturze przeważają czujniki polarymetryczne oraz interferencyjne, oparte w głównej mierze na interferometrze Macha–Zhendera [43, 48] oraz interferometrze Sagnaca [49].

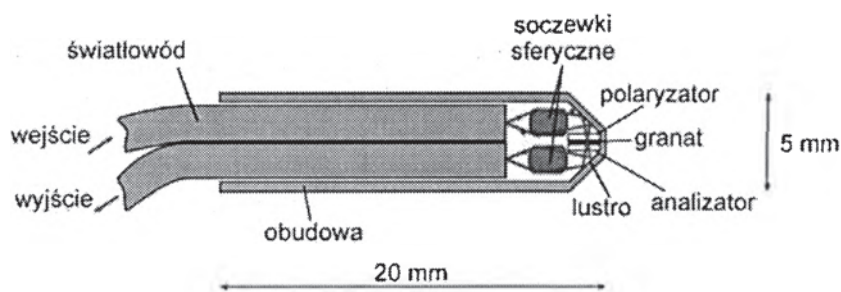
Najważniejszym elementem czujnika jest jego głowica. Można wyróżnić dwa podstawowe typy głowic: światłowodowe i objętościowe [7]. Termin „objętościowe” oznacza ośrodki, których wymiary poprzeczne względem propagującej się wiązki światła są wielokrotnie większe od drogi geometrycznej światła w ośrodku. Do czujników światłowodowych autor zalicza zarówno rozwiązania, w których głowica czujnika zbudowana jest z włókna optycznego oraz te, w których głowicę umieszczono na końcówce włókna optycznego.

Ważnym kryterium podziału jest zjawisko fizyczne wykorzystane w czujniku. Jak już wspomniano, w sensorach magnetoptycznych przede wszystkim wykorzystywany jest efekt Faradaya [3, 50, 51], dalej efekt magnetostrykcyjny [5, 48, 52]. W dziedzinie światłowodowych czujników pola magnetycznego pojawiły się (według doniesień z literatury) również rozwiązania wykorzystujące układy mikromechaniczne [47].

Śledząc literaturę, można dostrzec, że intensywnie poszukuje się nowych materiałów do zastosowania w czujnikach magnetoptycznych. Jak już wspomniano, wśród materiałów czułych magnetoptycznie największym zainteresowaniem cieszą się granaty żelazowe ziem rzadkich [53–58] oraz szkło flintowe z różnymi domieszkami [59–61]. W przypadku granatów podstawowym problemem jest wpływ temperatury na wartość stałej Verdetta [56, 57]. Natomiast w sensorach opartych na włóknie światłowodowym dodatkowo dochodzi problem wpływu zaburzeń w postaci deformacji i naprężeń wywołanych warunkami zewnętrznymi [9, 62–64].

3.3.1. OPTYCZNE CZUJNIKI POLA MAGNETYCZNEGO Z WYKORZYSTANIEM GRANATÓW ŻELAZOWYCH ZIEM RZADKICH

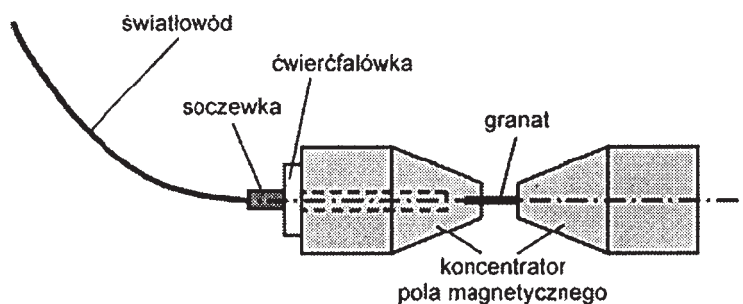
Granaty żelazowe ziem rzadkich są materiałami ferromagnetycznymi transparentnymi dla światła widzialnego. Jak wynika z tabeli 2.1, charakteryzują się one stałą Verdetta o bardzo dużej wartości (na poziomie 10^3 [rad/T·m]). Dzięki temu mierzalne są skręcenia płaszczyzny polaryzacji światła dla geometrycznej drogi optycznej na poziomie jednego milimetra. Jest to niezwykle atrakcyjny materiał do zastosowania w czujnikach pola magnetycznego i prądu. Niestety, pozostaje problem niestabilności chemicznej oraz wpływu temperatury na ich właściwości [56]. Technologie produkcji tych materiałów są stale rozwijane i udoskonalane ze względu na wysoką wartość stałej Verdetta. Ważną zaletą tych materiałów jest krótki czas odpowiedzi, sięgający 10^{-8} sekundy [46, 54, 55].



Rys. 3.4. Światłowodowy czujnik pola magnetycznego zaproponowany w pracy [55]
Fig. 3.4. The optical fibre sensor of magnetic field, presented in [55]

Opierając się na tych materiałach, zostały zbudowane magnetoptyczne przekładniki prądowe oraz czujniki pola magnetycznego. Przekładniki prądowe realizuje się

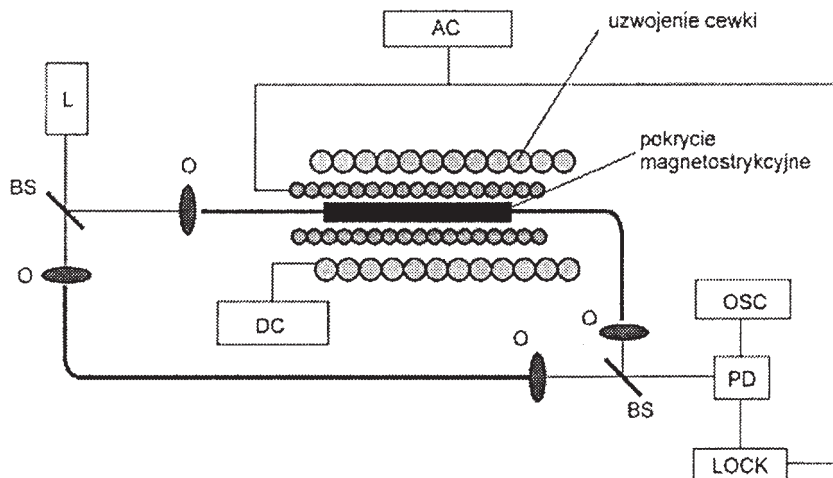
przez umieszczenie granatu w pobliżu przewodnika z prądem elektrycznym. Najczęściej wiązkę światła do głowicy czujnika doprowadza się światłowodem wielomodowym. Wówczas w głowicy umieszcza się polaryzator i analizator [57]. Również czujniki pola magnetycznego często mają doprowadzenia światłowodowe do głowicy sensora [46, 55]. Typowym przykładem realizacji czujnika pola magnetycznego jest sensor przedstawiony w pracy [55], który poglądowo przedstawia rysunek 3.4. Czujnik ten właściwie ma wymiary zbliżone do czujników półprzewodnikowych wykorzystujących zjawisko Halla. Niewielkie rozmiary stosowanych granatów w optycznych czujnikach pola magnetycznego umożliwiają zwiększenie czułości pomiaru, na przykład przez zastosowanie koncentratora pola magnetycznego (rys. 3.5) [46].



Rys. 3.5. Światłowodowy czujnik pola magnetycznego wykorzystujący koncentrator pola magnetycznego zaproponowany w pracy [46]
Fig. 3.5. The optical fibre sensor of magnetic field with the concentrator, presented in [46]

3.3.2. CZUJNIKI ŚWIATŁOWODOWE Z POKRYCIEM MAGNETOSTRYKCYJNYM

Wśród czujników magnetoptycznych w miernictwie pola magnetycznego pojawiają się też czujniki wykorzystujące efekty, w których pole magnetyczne pośrednio wpływa na wiązkę światła. Najpopularniejszym takim efektem pośrednim jest efekt magnetostrykcyjny [65]. Polega on na deformacjach (oraz powstawaniu wewnętrznych naprężeń) materiału, wywołanych zewnętrznym polem magnetycznym. Materiał magnetostrykcyjny, umieszczony bezpośrednio na włóknie światłowodowym, wywołuje naprężenie we włóknie. Jeżeli można założyć, że światłowod jest ściskany izotropowo (symetrycznie), wówczas naprężenia, przez efekt elastooptyczny, wywołują zmianę współczynnika załamania. Zmianie ulega zatem efektywna wartość drogi optycznej. W wyniku tego faza fali świetlnej na wyjściu również ulega przesunięciu o kąt δ . W praktyce, światłowod pokrywa się materiałem magnetostrykcyjnym w procesie naparowania próżniowego lub nanoszenia pokrycia metodą „sol-gel”. Znane są rozwiązania, w których umieszcza się włókno na cylindrze wykonanym z materiału magnetostrykcyjnego [44, 66, 67]. Czułość sensora wynika z właściwości magnetostrykcyjnych pokrycia [5] oraz od geometrii i sposobu nawinięcia włókna na cylinder [52].



Rys. 3.6. Światłowodowy czujnik pola magnetycznego w układzie interferometru Macha-Zehndera wykorzystujący warstwy magnetostrykcyjne (na podstawie pracy [43])

Fig. 3.6. The optical fibre sensor of magnetic field in configuration of the Mach-Zehnder interferometer, presented in [43]

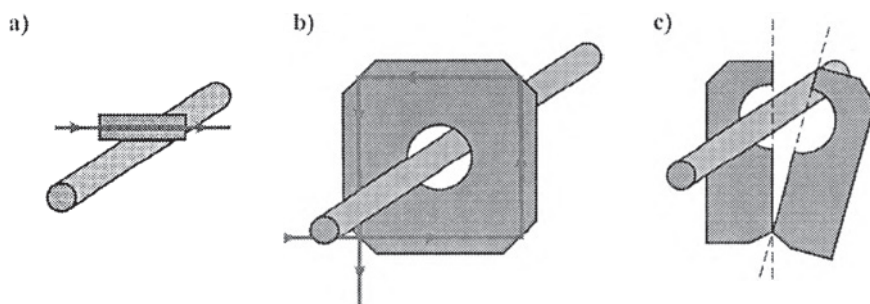
Architektura interferencyjnego światłowodowego czujnika pola magnetycznego oparta jest na interferometriach Macha-Zehndera i Michelsona [48, 68]. Najczęściej stosowany jest interferometr Macha-Zehndera (rys. 3.6) [43]. W układzie tym światło pochodzące ze źródła koherentnego, jakim jest laser L, rozdzielone równomiernie w kostce światłodzielnicy KS1, wprowadza się do dwóch światłowodów jednomodowych S, będących tzw. ramionami interferometru Macha-Zehndera. Część wiązki propaguje się w tzw. ramieniu referencyjnym, a część w ramieniu pomiarowym, którym jest włókno S pokryte materiałem magnetostrykcyjnym M. Następnie wiązki interferują ze sobą po przejściu przez kostkę światłodzielnicy KS2. Wynik interferencji rejestrowany jest przez detektor D. W wyniku oddziaływania pola magnetycznego przez efekt magnetostrykcyjny zmienia się faza wiązki propagującej się w ramieniu pomiarowym. Zmiana fazy wpływa na efekt interferencji rejestrowany w postaci zmiany sygnału w detektorze D. Układ charakteryzuje się bardzo dużą czułością i jest niewrażliwy na zakłócenia zewnętrzne (takie jak np. zmiany temperatury). Wynika to z tego, iż zakłócenie, jakim jest np. zmiana temperatury, wywołuje te same efekty w ramieniu pomiarowym, jak i referencyjnym. Nie powinno to powodować zmiany różnicy faz na wyjściu. Czujniki te mogą rejestrować zmienne pola magnetyczne o częstotliwościach od kilku Hz do kilku kHz. Ograniczenia częstotliwościowe wynikają z właściwości efektu magnetostrykcyjnego.

3.3.3. OPTYCZNE CZUJNIKI PRĄDU W UKŁADZIE OBJĘTOŚCIOWYM

Pierwsze optyczne czujniki prądu, działające według efekty Faradaya, zaczęto budować ze szkła w układzie objętościowym ukształtowanym tak, aby wiązka światła

była równoległa do linii sił pola magnetycznego, wytwarzanego przez przewodnik z prądem. Czujniki te wykonywano ze szkła o dużej wartości stałej Verdet. Najczęściej jest to szkło flintowe [2, 69–72]. Warunkiem poprawnego działania czujnika jest zapewnienie całkowitego wewnętrznego odbicia dla wiązki świetlnej propagującej się wokół przewodnika z prądem. Z tej przyczyny głowice czujnika przyjmują specyficzny kształt (rys. 3.7). Główną zaletą optycznych czujników prądu jest ich niewrażliwość na zakłócenia elektromagnetyczne, dobre właściwości izolacyjne, brak konieczności chłodzenia, niewielkie rozmiary i stosunkowo małe koszty produkcji (w porównaniu do konwencjonalnych przekładników prądowych stosowanych powszechnie w elektroenergetyce).

Warto zwrócić uwagę na czujnik przedstawiony na rysunku 3.7c) zwany optycznym zaciskiem prądowym. Głowica tego czujnika składa się z dwóch rozłączalnych części. Dzięki takiemu rozwiązaniu istnieje możliwość zainstalowania go na linii wysokiego napięcia bez konieczności rozłączania przewodu wysokiego napięcia i odłączanie obciążenia. Urządzenie to jest alternatywą dla tzw. szczypiec Dietza [2], przy czym jest ono w pełni izolacyjne i nie stwarza dla personelu obsługi niebezpieczeństwa porażenia prądem elektrycznym.



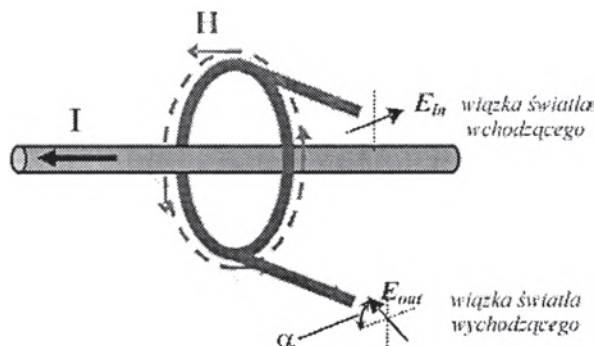
Rys. 3.7. Przykłady głowic optycznych czujników prądu
Fig. 3.7. Examples of the heads of electrical current sensors

W elektroenergetyce podstawowymi wielkościami mierzonymi jest prąd i napięcie. Pomiar prądu realizują przedstawione wcześniej czujniki oparte na efekcie Faradaya. Natomiast napięcie elektryczne można mierzyć czujnikami działającymi na podstawie elektrooptycznego efektu Pockelsa [6]. Pomiar prądu i napięcia można zrealizować w jednym torze światłowodowym. Takie rozwiązanie zaproponowali autorzy pracy [73], wykorzystując dwie komórki objętościowe ustawione szeregowo tak, że światło przechodzi najpierw przez komórkę Faradaya, a następnie przez komórkę Pockelsa. Komórkę Faradaya wykonano ze szkła terbowego, natomiast komórkę Pockelsa z niobianu litu LiNbO_3 . Liniowy stan polaryzacji światła ulega skręceniu (efekt Faradaya), a następnie dwójłomności liniowej wywołanej efektem Pockelsa. Rozwiązanie takie ułatwia mierzenie jednocześnie prądu i napięcia, a stąd również przesunięcie

w fazie między prądem a napięciem. W rezultacie staje się możliwy pomiar tzw. mocy czynnej i biernej – wielkości bardzo ważnej w miernictwie elektroenergetycznym.

3.3.4. ŚWIATŁOWODOWE CZUJNIKI PRĄDU

Wadą optycznych czujników prądu, zbudowanych z wykorzystaniem szkła objętościowego, jest ich niewielka czułość wynikająca z krótkiej drogi oddziaływania oraz trudności w zapewnieniu równoległości wiązki światła do linii sił pola magnetycznego. Z tego powodu głowice te są często realizowane w postaci pętli z włókna światłowodowego. Celowe staje się wykonanie systemu pomiarowego z wykorzystaniem światłowodów włóknistych, bez konieczności sprzęgania i łączenia z innymi strukturami światłowodowymi [74]. Jest to rozwiązanie prostsze w realizacji i tańsze. Konfiguracja światłowodowego czujnika prądu została przedstawiona na rysunku 3.8.



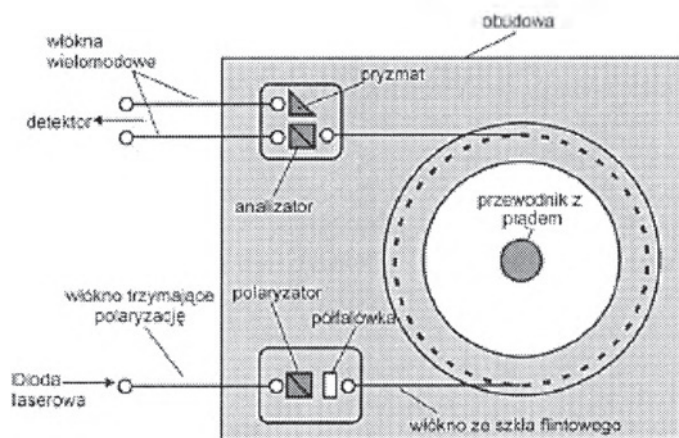
Rys. 3.8. Budowa głowicy światłowodowego czujnika prądu
Fig. 3.8. The idea of the optical fibre current sensor

Światłowodowe czujniki prądu mają wszystkie zalety czujników optycznych na szkło objętościowym z wyjątkiem możliwości realizacji czujnika rozłączalnego, jak to jest w przypadku optycznego zacisku prądowego (rys. 3.7c). Dodatkową zaletą światłowodowych czujników prądu jest ich większa czułość uzyskiwana przez zwielokrotnienie liczby zwojów w pętli pomiarowej, a więc zwiększenie drogi oddziaływania pola magnetycznego ze światłem.

Światłowodowe czujniki prądu wykorzystują najczęściej włókna jednomodowe typu „step-index” wykonane ze szkła krzemionkowego. Spotyka się również włókna optyczne wykonane ze szkła flintowego, które ma większą wartość stałej Verdetta [59, 60]. W celu zwiększenia czułości, czujniki te realizuje się w różnych układach interferometrycznych i polarymetrycznych. Często wykorzystywany jest interferometr Sagnaca [49, 75]. Zwiększenie czułości w układach polarymetrycznych uzyskuje się przez: użycie włókna o wysokiej dwójłomności jako doprowadzenia tzw. włókna HB (ang. *High Birefringence*), zastosowanie lustra na końcu włókna [60] lub zwierciadła-

nego rotatora Faradaya [63], skrócenie włókna w celu wprowadzenia dwójłomności kołowej [62] itp. Układy te mają na celu wyeliminowanie zakłóceń związanych ze zmianą temperatury otoczenia oraz naprężeniami wewnętrznymi i zewnętrznymi indukującymi dwójłomność liniową przez efekty elastooptyczne. Wewnętrzne naprężenia można dodatkowo zmniejszyć przez wygrzewanie włókna [8, 76]. Lokalne naprężenia powstałe w procesie produkcji mogą się zmieniać w funkcji temperatury, ich eliminacja zatem przez wtórne wygrzewanie powoduje również zmniejszenie wpływu fluktuacji temperatury na zakłócenia sygnału pomiarowego z czujnika.

Wykorzystanie włókna ze szkła flintowego, zaprezentowane w pracy [59] i [60], ma na celu eliminację wpływu naprężeń ze względu na bardzo niskie wartości stałych elastooptycznych tego włókna. Szkło flintowe dodatkowo ma dużą wartość stałej Verdetta (tab. 2.1). Opierając się na tym włóknie, autorzy pracy [59] wykonali bardzo prosty model czujnika, który przedstawiono na rysunku 3.9.

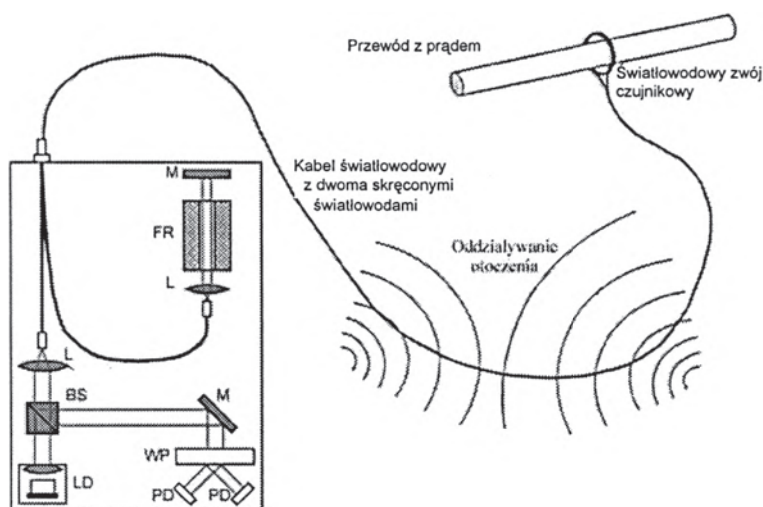


Rys. 3.9. Światłowodowy czujnik prądu zaprezentowany w pracy [59]

Fig. 3.9 The optical fibre current sensor, presented in [59]

Jest to najprostszy układ polarymetryczny. Zaletą takiej konfiguracji, poza prostotą, jest umieszczenie polaryzatora i analizatora stanu polaryzacji w głowicy czujnika. Światło wstępnie spolaryzowane jest doprowadzane do czujnika włóknem dwójłomnym, utrzymującym stan polaryzacji. W głowicy następuje zmiana polaryzacji światła i ustawienie azymutu polaryzacji na półfalówce. Po przejściu przez pętlę światłowodu czujnikowego światło przechodzi przez polaryzującą kostkę światłodziącą, pełniącą rolę analizatora. Powstałe za kostką dwie wiązki o ortogonalnych płaszczyznach polaryzacji wprowadzane są do światłowodów wielomodowych i transmitowane do miejsca detekcji. Dzięki takiemu rozwiązaniu z czujnika transmitowany jest już sygnał, w którym informacja o polaryzacji jest ukryta w wartości natężenia światła w wiązkach prowadzonych przez światłowody wielomodowe.

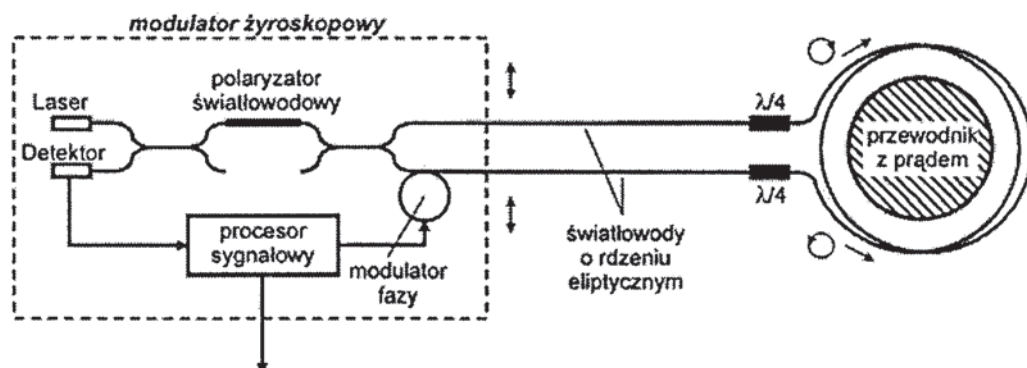
W rozwiązaniach, w których detekcja polaryzacji odbywa się poza głowicą czujnika, bardzo istotny jest problem przeniesienia stanu polaryzacji z głowicy do miejsca detekcji. Często używa się wówczas systemów w konfiguracji odbiciowej [60]. Do głowicy jest doprowadzone światło spolaryzowane. Po przebyciu pętli światłowodowej na końcu włókna (jeszcze w samej głowicy) sygnał świetlny odbija się od lustra i powtórnie wraca tą samą drogą. Ze względu na parzystość (odwracalność) efektu Faradaya (punkt 2.2) wartość kąta skręcenia Faradaya wzrasta. Natomiast indukowana efektem elastooptycznym i naprężeniami wewnętrznymi dwójłomność liniowa ze względu na swoją nieparzystość (nieodwracalność) ulega częściowej kompensacji.



Rys. 3.10. System pomiarowy ze światłowodowym czujnikiem prądu wykorzystujący zwierciadlany rotator Faradaya [62]

Fig. 3.10. The electric current measuring system with sensor based on the Faraday rotator [62]

W celu lepszej kompensacji wpływu temperatury i naprężeń wykonuje się na końcu włókna tzw. zwierciadlany rotator Faradaya [42, 54]. Ma on na celu odpowiednie ustawienie polaryzacji po odbiciu. Rotator ten znajduje się poza głowicą w module detekcji i obróbki sygnału (który znajduje poza obszarem zagrożenia porażeniem prądem elektrycznym). W tym rozwiązaniu do głowicy dochodzą dwa światłowody. Rozwiązanie takie prezentują autorzy pracy [62], które przedstawiono schematycznie na rysunku 3.10. W koncepcji tej dodatkowo włókna dochodzące do głowicy czujnika skręcono ze sobą (jak warkocz), w celu wprowadzenia dwójłomności kołowej. Dzięki temu zabiegowi jeszcze bardziej zmniejsza się wpływ dwójłomności liniowej indukowanej czynnikami zewnętrznymi.



Rys. 3.11. Światłowodowy czujnik prądu w układzie interferometru Sagnaca [75]
 Fig.3.11. The optical fibre current sensor in the Sagnac's configuration, presented in [75]

Kolejnym bardzo ciekawym rozwiązaniem jest wykorzystanie interferometru Sagnaca (rys. 3.11) [75, 77]. Do pętli światłowodowej wprowadza się dwie wiązki światła spolaryzowanego kołowo. Wiązki te są wprowadzane z dwóch różnych końców pętli. W zewnętrznym polu magnetycznym przewodnika z prądem w wyniku efektu Faradaya następuje przesunięcie w fazie kołowych polaryzacji wiązek propagujących się w przeciwnych kierunkach. Po zamianie tych polaryzacji kołowych na polaryzacje liniową na wyjściu pętli (przez płytkę ćwierćfalową) wiązki te są przesunięte w fazie. W sprzęgaczu światłowodowym następuje interferencja częściowo destruktywna i natężenie wiązki maleje, co rejestruje fotodetektor. Czujnik został zaprojektowany tak, aby go utrzymać w stanie zrównoważonym, to znaczy każda zmiana sygnału jest korygowana, tak aby utrzymać stały poziom sygnału dochodzącego do fotodetektora. Dzieje się to dzięki pętli sprzężenia zwrotnego, której elementem wykonawczym jest modulator piezoelektryczny. Modulatorem jest cylinder z piezoceramiki, na który nawinięty jest światłowód z jednego z ramion dochodzących do pętli czujnikowej. Procesor sygnałowy, wykrywając zmianę sygnału na fotodetektorze, zmienia napięcie na modulatorze tak, aby przywrócić poziom sygnału rejestrowanego przez fotodetektor. Modulator piezoelektryczny w ujęciu fizycznym, jest modulatorem fazy. Wprowadza on naprężenie i przez efekt elastooptyczny zmienia efektywny współczynnik załamania, co pociąga za sobą zmianę drogi optycznej propagującej się we włóknie wiązki światła. Wartość sygnału modulatora fazy jest proporcjonalna do wartości płynącego prądu przez przewodnik.

Ważną zaletą takiego systemu pomiarowego jest fakt, iż obie wiązki przechodzą przez to samo włókno, napotykając te same warunki propagacji, które mogą być zaburzane czynnikami zewnętrznymi, takimi jak temperatura i naprężenia. Dzięki temu różnica faz sygnałów jest związana tylko z efektem Faradaya. Jest tak dlatego, że efekty dwójłomności wymuszonej naprężeniami (elastooptyczne) są nieparzyste ze względu na kierunek propagacji wiązki, natomiast efekt Faradaya jest efektem parzy-

stym. Z tego właśnie powodu, dla poprawnego działania czujnika w układzie interferometru Sagnaca, jest istotne, aby wiązki wprowadzane do obu końców włókna czujnikowego były spolaryzowane kołowo, ale o przeciwnych skrętnościach. Konfiguracja ta charakteryzuje się dużą czułością, dzięki zmniejszeniu stosunku sygnał–szum przez kompensację wpływu czynników zewnętrznych.

Podobnie jak dla czujników, na szkle objętościowym również w przypadku światłowodów włóknistych istnieje możliwość jednoczesnego mierzenia prądu i napięcia. Przykład takiej głowicy czujnikowej jest przedstawiony w pracy [78], w której zastosowano standardową światłowodową pętlę do pomiaru prądu. Wewnątrz pętli znajduje się przewodzący dysk, przez który przepuszcza się mierzony prąd. Na zewnątrz pętli znajduje się pierścień, do którego z kolei przykłada się mierzone napięcie. Między dyskiem a pierścieniem znajduje się niewielka szczelina (2,5 mm), w której umieszczona jest pętla światłowodu czujnikowego. W pracy przedstawiono również możliwość wykorzystania w światłowodowych czujnikach prądu elektrooptycznego efektu Kerra do pomiaru napięcia elektrycznego.

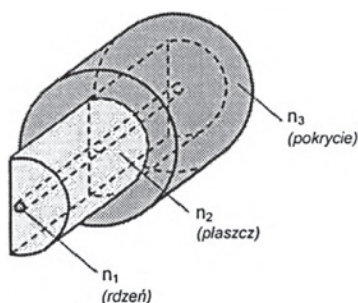
3.4. POLARYZACYJNE SENSORY POLA MAGNETYCZNEGO – PODSUMOWANIE

Z przedstawionego przeglądu literatury wynika, że jest duże zainteresowanie optycznymi czujnikami pola magnetycznego w elektroenergetyce. W technice światłowodów włóknistych zainteresowanie to koncentruje się na światłowodowych czujnikach prądu, działających w zdecydowanej większości według efektu Faradaya. Wspomniany efekt Faradaya dla szkła, które jest podstawowym materiałem na światłowodów włókniste, jest niewielki i wymaga wydłużenia drogi oddziaływania. Występujące w światłowodach włóknistych naprężenia wewnętrzne, powstałe w trakcie produkcji lub indukowane przez zewnętrzne deformowanie światłowodu, wprowadzają dwójłomność liniową, która niejednokrotnie jest znacznie większa od rejestrowanej dwójłomności kołowej wywołanej efektem Faradaya. Taki stan rzeczy implikuje konieczność poszukiwania nowych rozwiązań, zwiększających czułość i kompensujących zarazem niepożądane efekty indukowanej dwójłomności liniowej oraz wpływ czynników zewnętrznych, w tym również zmian temperatury otoczenia. Badania te można podzielić na dwa kierunki: poszukiwanie nowych układów i systemów pomiarowych oraz poszukiwanie nowych, lepszych struktur światłowodowych oraz materiałów na te struktury. Potwierdzeniem wzmożonego zainteresowania optycznymi czujnikami prądu jest zaangażowanie się w badania takich firm, jak Siemens [3, 50, 51, 79], NxtPhase [80] oraz koncernu ABB [75].

4. ŚWIATŁOWODY SPECJALNE TYPU D

4.1. POLARYZACYJNE ŚWIATŁOWODY SPECJALNE

Zainteresowania autorów skoncentrowały się na poszukiwaniu nowych specjalnych włókien światłowodowych i na badaniu ich właściwości magnetoptycznych. Analizując współczesne osiągnięcia w dziedzinie światłowodowych czujników prądu i pola magnetycznego, wypracowano kilka koncepcji włókien o dobrych właściwościach magnetoptycznych. Poszukiwanie nowych rozwiązań koncentrowało się na światłowodach polaryzacyjnych, które zmieniałyby swoje właściwości polaryzacyjne w funkcji pola magnetycznego. Dwójłomność włókien można uzyskać często przez wprowadzenie do płaszcza obszarów, które wywoływałyby naprężenia w całej strukturze światłowodu. W takim przypadku oddziaływanie tych obszarów na strukturę światłowodu musiałoby zależeć od pola magnetycznego. W praktyce w tym celu możliwy do wykorzystania byłby efekt magnetostrykcyjny. Rozważano początkowo możliwości wykorzystania światłowodów typu „Panda” i „Bow-Tie”. W tego typu światłowodach właściwości polaryzacyjne wywołane są naprężeniami będącymi efektem wprowadzenia w procesie wyciągania światłowodu obszarów ze szkła borokrzemianowego Br_2O_3 , które charakteryzuje duży współczynnik rozszerzalności cieplnej w stosunku do SiO_2 [30]. W światłowodach tych obszary wprowadzające naprężenia nie prowadzą światła ze względu na dużą tłumienność szkieł borokrzemianowych, lecz w wyniku wprowadzonych naprężeń, wpływają na propagację światła w rdzeniu i płaszczu włókna optycznego.



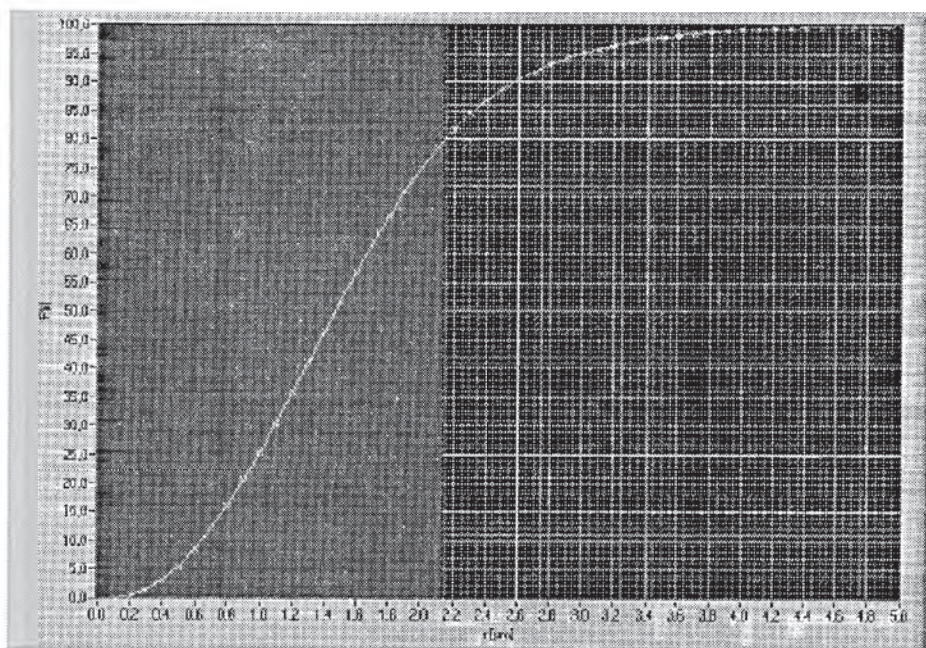
Rys. 4.1. Geometria włókna typu D

Fig. 4.1. The cross-section of the D-type optical fibre

W wyniku przeprowadzonych analiz skoncentrowano się na zaprojektowaniu włókna polaryzacyjnego, w którym pole zanikające, propagujące się poza rdzeniem, wnikałoby w obszar czuły magnetycznie. Ostatecznie, zdecydowano się na strukturę typu D. Światłowod typu D przedstawiono na rysunku 4.1. Światłowod specjalne typu D – badane w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej, jak już wcześniej zaznaczono – zostały wykonane w pracowni Technologii Światłowodów Uniwersytetu Marii Curie

Skłodowskiej przez zespół Pana dr. Jana Wójcika. Opis teoretyczny tego typu struktur jest złożony. Dlatego wstępnie przeprowadzono analizę dla standardowego światłowodu cylindrycznego o skokowym profilu współczynnika załamania typu „step-index”, w celu ustalenia szacunkowych parametrów geometrycznych włókna (a także parametrów materiałowych). Analizowano wpływ tych parametrów na głębokość zanikania fali świetlnej w płaszczu światłowodu. Wykres z rysunku 4.2 przedstawia wyniki obliczeń rozkładu mocy we włóknie typu „step-index” o średnicy rdzenia $s = 4 \mu\text{m}$ oraz o wartości współczynników załamania rdzenia $n_1 = 1,463$ i płaszczu $n_2 = 1,458$.

Wstępna i praktycznie jakościowa analiza miała na celu zaproponowanie odległości, w jakiej miałyby się znajdować ścięcia płaszczu tak, aby pole fali świetlnej wnikało do niej w stopniu zapewniającym wpływ pola w płaszczu i pokryciu na zmiany płaszczyzny polaryzacji światła w funkcji zewnętrznego pola magnetycznego. Fizycznie światłowód typu „D”, ze względu na brak symetrii walcowej w pokryciu, jest inną strukturą niż cylindryczny światłowód typu „step-index”. Jest układem charakteryzującym się odmiennym rozkładem pola elektrycznego fali świetlnej, opisywanym przez inną postać warunków brzegowych.



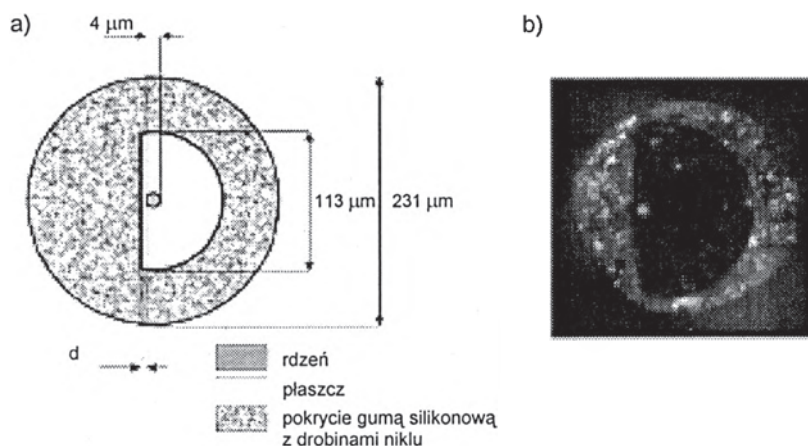
Rys. 4.2. Rozkład pola w światłowodzie typu „step-index”. Na osi odciętych zaznaczono odległość od środka rdzenia, na osi rzędnych zaś podano moc prowadzoną w obszarze od środka rdzenia do danej wartości promienia r

Fig. 4.2. Distribution of optical power transmitted in optical fibre of step-index type in the function of r -distance from the fibre axis

Jednak, aby mogła nastąpić modyfikacja pola wskutek np. ścięcia płaszcza w światłowodzie typu „D”, propagujące się pole musi niejako „widzieć” to ścięcie. Pole elektryczne musi dochodzić do granicy rozdziału ośrodków (np. płaszcza–warstwa pokrycia czuła magnetycznie) i propagować się w płaszczu i pokryciu. Poczynione zatem obliczenia dla standardowego światłowodu typu „step-index” umożliwiły na ustalenie geometrii światłowodu czujnikowego. Na podstawie wstępnych analiz ustalono, że należy opracować światłowody, w których odległość d między rdzeniem i pokryciem będzie zmieniała się w zakresie wartości od 4 do 10 μm .

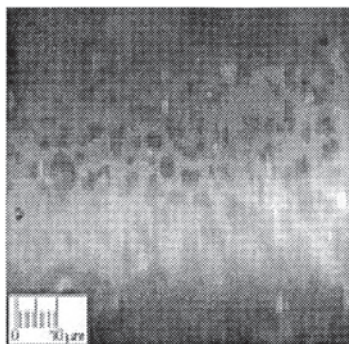
4.2. MATERIAŁ BADAWCZY – ŚWIATŁOWÓD TYPU D

Światłowód typu D bazuje na standardowym włóknie jednomodowym o długości fali odcięcia $\lambda_{\text{odc}} = 630 \text{ nm}$, współczynniku załamania rdzenia $n_1 = 1,463$ i płaszcza $n_2 = 1,458$ oraz średnicy rdzenia $\phi = 2a = 4 \mu\text{m}$. Kształt płaszcza tego włókna został zmodyfikowany tak, aby zbliżyć granicę podziału ośrodków płaszcza–pokrycie do założonych wartości $d = 4$ do 10 μm (rys. 4.3).



Rys. 4.3. Włókno typu D: a) parametry geometryczne; b) obraz czola włókna typu D
Fig. 4.3. The optical fibre of D-type: a) geometrical parameters;
b) the cross-section of the D-type fibre

Płaską granicę podziału płaszcza–pokrycie nazwano „ścięciem”. Proces kształtowania płaszcza został wykonany przed wyciąganiem włókna w tzw. preformie w postaci odpowiednio ukształtowanego pręta szklanego, którego współczynnik załamania był uprzednio modyfikowany techniką osadzania z fazy gazowej MCVD (ang. *Modified Chemical Vapour Deposition*) [80, 81].



Rys. 4.4. Obraz drobin niklu w pokryciu włókna typu D
Fig. 4.4. Nickel particles inside the cover of D-type optical fibre

Tabela 4.1. Zestawienie parametrów wykonanych światłowodów specjalnych typu D:

n_1 – współczynnik załamania rdzenia, n_2 – współczynnik załamania płaszczu,

n_3 – współczynnik załamania pokrycia

Table 4.1. Parameters of the investigated D-type optical fibres:

n_1 – refractive index of core; n_2 – refractive index of coat, n_3 – refractive index of cover

Typ/nazwa	Przekrój	Opis	
Step-index z pokryciem magnetycznym i standardowym		$n_1 = 1,463$; $n_2 = 1,458$; $n_3 = 1,408$ śr. rdzenia – 4 μm śr. płaszczu – 113 μm śr. pokrycia mag. – 136 μm śr. pokrycia – 231 μm dł. fali odcięcia $\lambda_{\text{ode}} = 630 \text{ nm}$	
Step-index z pokryciem podwójnym: lakier miękki i twardy		$n_1 = 1,463$; $n_2 = 1,458$; $n_3 = 1,408$ śr. rdzenia – 4 μm śr. płaszczu – 113 μm śr. pokrycia mag. – 136 μm śr. pokrycia – 231 μm dł. fali odcięcia $\lambda_{\text{ode}} = 630 \text{ nm}$	
Typ „D” z pokryciem magnetycznym		$n_1 = 1,463$; $n_2 = 1,458$; $n_3 = 1,408$; śr. rdzenia – 4 μm . śr. płaszczu – 113 μm śr. pokrycia – 231 μm dł. Fali odcięcia $\lambda_{\text{ode}} = 630 \text{ nm}$ pokrycie – guma silikonowa z drobinami niklu	$d [\mu\text{m}]$ 4 5,6 6,4 10,4
Typ „D” z pokryciem z gumy silikonowej		$n_1 = 1,463$; $n_2 = 1,458$; $n_3 = 1,408$; śr. rdzenia – 4 μm . śr. płaszczu – 113 μm . śr. pokrycia – 231 μm . dł. fali odcięcia $\lambda_{\text{ode}} = 630 \text{ nm}$ $d = 4 \mu\text{m}$	

Oprócz klasycznych światłowodów typu D, zostały zaproponowane światłowody, w których w materiale pokrycia umieszczono magnetyczne drobiny niklu o rozmiarach do kilku μm . Oddziaływanie zewnętrznego pola magnetycznego z drobinami niklu ma na celu indukowanie w światłowodzie dodatkowych efektów dwójłomnych. Na rysunku 4.4 przedstawiono fotografię drobin niklu we włóknie. Wykonano kilka światłowodów o różnej odległości d z pokryciem zawierającym drobiny niklu. Wykonano również światłowod typu D, bez pokrycia magnetycznego, oraz światłowod cylindryczny typu „step-index” z pokryciem magnetycznym oraz światłowod bez pokrycia magnetycznego, lecz z dwoma warstwami pokrycia o różnej twardości. Włókna te miały pomóc w weryfikacji wpływu geometrii i pokrycia magnetycznego na czułość światłowodu na zewnętrzne pole magnetyczne. Parametry wykonanych światłowodów zestawiono w tabeli 4.1.

4.3. ANALIZA TEORETYCZNA PROPAGACJI ŚWIATŁA WE WŁÓKNACH SPECJALNYCH TYPU „D”

Światłowod specjalny typu D ze względu na swoją geometrię płaszcza nie może być rozważany z wykorzystaniem metod analizy stosowanej dla standardowych światłowodów typu „step-index” przy założeniu słabego prowadzenia [1, 28, 31]. Nie istnieją analityczne rozwiązania dla ograniczonych struktur światłowodowych niemających symetrii cylindrycznej. Z tej to przyczyny w analizie światłowodów typu D użyto metod przybliżonych.

4.3.1. METODA EFEKTYWNEGO WSPÓŁCZYNNIKA ZAŁAMANIA

Profil współczynnika załamania światłowodu typu D (rys. 4.3) wykazuje podobieństwo do zagrzebanego gradientowego światłowodu paskowego, wytwarzanego w technologii wymiany jonowej [41, 82]. Ze względu na to podobieństwo geometryczne rozkładu współczynnika załamania zdecydowano się wykorzystać metodę efektywnego współczynnika załamania do opisu propagacji światła w światłowodach typu D [42, 83, 84]. Tę przybliżoną metodę z powodzeniem stosuje się w opisie światłowodów paskowych (rys. 4.5) [83].

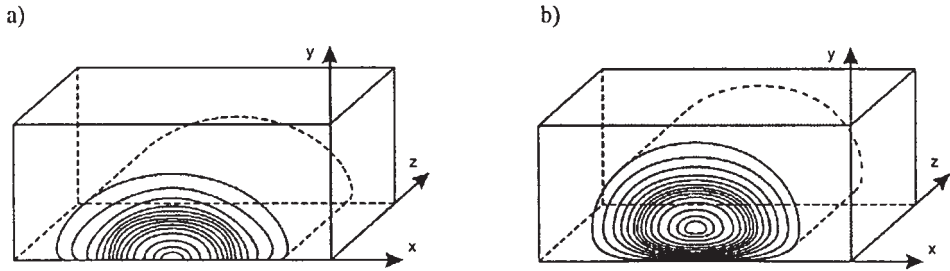
Metoda efektywnego współczynnika załamania polega na rozwiązaniu problemu propagacji w strukturze o dwuwymiarowym profilu współczynnika załamania przez rozwiązanie w kierunku x i y dwóch zagadnień dla struktury planarnej, tzn. o jednowymiarowym profilu współczynnika załamania. Dla falowodów płaskich o dwuwymiarowym rozkładzie współczynnika załamania z równań Maxwella otrzymuje się równania Helmholtza dla dwóch stanów polaryzacji reprezentowanych przez tzw. mody TE oraz TM. Mod TE ma składowe pola: elektrycznego – $(E_x, 0, 0)$ i magnetycznego – $(0, H_y, H_z)$; natomiast mod TM składowe pola: elektrycznego – $(0, E_y, E_z)$ i magnetycznego – $(H_x, 0, 0)$. Stąd mod TE nazywa się „poprzecznym modem elektrycznym” (ang. *Transverse Electric mode*), mod TM zaś „poprzecznym modem ma-

gnetycznym” (ang. *Transverse Magnetic mode*), gdyż TE ma tylko składową poprzeczną pola elektrycznego, a TM tylko składową poprzeczną pola magnetycznego. Zakładając, że pole w kierunku propagacji z musi zmieniać się harmonicznym, otrzymuje się następujące wyrażenia na równania Helmholtza [83]:
dla modu TE

$$\left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} \right) E_x + (k_0^2 n^2(x, y) - \beta^2) E_x = 0 \quad (4.1)$$

oraz dla modu TM

$$\left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} \right) H_x + (k_0^2 n^2(x, y) - \beta^2) H_x = \frac{2}{n(x, y)} \frac{\partial n}{\partial y} \frac{\partial H_x}{\partial y} \quad (4.2)$$



Rys. 4.5. Rozkłady współczynnika załamania w światłowodach paskowych wykonywanych techniką wymiany jonowej w szkło: a) światłowod paskowy, b) światłowod paskowy zagrzebany

Fig. 4.5. Distributions of refractive indices in strip optical waveguides produced by means of the ion-exchange method

Rozwiązaniem równań (4.1) i (4.2) są liniowe kombinacje funkcji postaci [83]

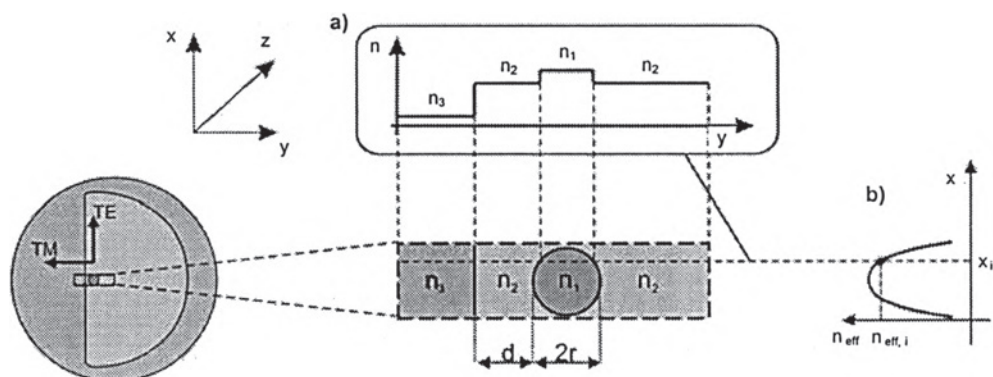
$$E_x(x, y), H_x(x, y) = \sum_{n,m=0}^{N-1, M-1} c_{nm} \varphi_{nm}(x, y) e^{j\beta_{nm}z} \quad (4.3)$$

gdzie czynnik $\varphi_{nm}(x, y)$ jest funkcją falową odpowiadającą za poprzeczny rozkład pola, natomiast $\exp(j\beta_{nm}z)$ harmoniczną zmianą na kierunku propagacji. Metoda efektywnego współczynnika załamania opiera się na założeniu, że funkcję $\varphi_{nm}(x, y)$ można przedstawić w postaci

$$\varphi_{nm}(x, y) = \varphi_m^y(x, y) \varphi_{nm}^x(x) \quad (4.4)$$

Światłowod paskowe wytwarzane metodą wymiany jonowej mają rozkłady współczynnika załamania takie jak na rysunku 4.5. Dla takich profili można założyć,

że funkcja $\varphi_{nm}^y(x, y)$ na kierunku x zmienia się nieznacznie. Postać (4.4) funkcji falowej umożliwi rozwiązywanie zagadnienia dla kierunku x i y oddzielnie. W praktyce metoda ta polega na wyznaczeniu efektywnego współczynnika załamania dla jednowymiarowego rozkładu współczynnika załamania w kierunku y przy ustalonej wartości $x = x_0$. Dokonanie obliczeń dla ustalonych x z całego przedziału zadaną gęstością podziału prowadzi do funkcji $n_{\text{eff}}(x)$. Z jednowymiarowej funkcji $n_{\text{eff}}(x)$ wyznacza się ostateczną wartość efektywnego współczynnika załamania. Obliczenia prowadzone są dla zadanego rzędu modu m oraz zadanego stanu polaryzacji TE lub TM. Należy zwrócić uwagę na związki wektorowe. Obliczenie np. modu TE będzie polegało na wyznaczaniu dla jednowymiarowego rozkładu współczynnika załamania w kierunku y przy ustalonej wartości $x = x_0$ dla polaryzacji TE, natomiast z rozkładu $n_{\text{eff}}(x)$ należy wyznaczyć dla polaryzacji TM efektywny współczynnik załamania, który w rzeczywistości jest efektywnym współczynnikiem załamania falowodu dla polaryzacji TE. Jest tak, dlatego że rozkład $n_{\text{eff}}(x)$ zmienia się w kierunku równoległym do płaszczyzny światłowodu. Pole fali zatem liczonej z $n_{\text{eff}}(x)$ również rozciąga się równoległe do płaszczyzny światłowodu (a nie prostopadle).



Rys. 4.6. Idea metody efektywnego współczynnika załamania w odniesieniu do światłowodów specjalnych typu D: a) przykładowy rozkład jednowymiarowy dla ustalonego x_i , b) rozkład $n_{\text{eff}}(x)$

Fig. 4.6. The idea of using the refractive index method for analyze the D-type optical fibres

W dalszej części zostaną wyznaczone metodą efektywnego współczynnika załamania efektywne współczynniki modów TE i TM zerowego rzędu. W tym celu do obliczeń ograniczono profil i wybrano prostokątny obszar rozkładu współczynnika załamania pokazany na rysunku 4.6. Dla tak wybranego obszaru rozkłady w kierunku y dla ustalonego x mają charakter czterowarstwowego światłowodu planarnego (rys. 4.6a). Zagadnienie to opisuje równanie Helmholtza w postaci:

dla modu TE

$$\frac{\partial^2 E_x}{\partial y^2} + k_0^2(n^2(x, y) - n_{\text{eff}}^2)E_x = 0 \quad (4.5)$$

oraz dla modu TM

$$\frac{\partial^2 H_x}{\partial y^2} + k_0^2(n^2(x, y) - n_{\text{eff}}^2)H_x = 0 \quad (4.6)$$

Stosując warunki brzegowe i odpowiednie typy rozwiązań w poszczególnych obszarach, wyznaczono równanie charakterystyczne dla modów zerowego rzędu [85]:

dla modu TE

$$\begin{aligned} 2r\sqrt{n_1^2 - n_{\text{eff}}^2} &= \arctg\left(\frac{\sqrt{n_{\text{eff}}^2 - n_2^2}}{\sqrt{n_1^2 - n_{\text{eff}}^2}}\right) \\ &+ \arctg\left\{\frac{\sqrt{n_{\text{eff}}^2 - n_2^2}}{\sqrt{n_1^2 - n_{\text{eff}}^2}} \text{th}\left[\text{arcth}\left(\frac{\sqrt{n_{\text{eff}}^2 - n_3^2}}{\sqrt{n_{\text{eff}}^2 - n_2^2}}\right) + dk_0\sqrt{n_{\text{eff}}^2 - n_2^2}\right]\right\} \end{aligned} \quad (4.7)$$

dla modu TM

$$\begin{aligned} 2r\sqrt{n_1^2 - n_{\text{eff}}^2} &= \arctg\left(\frac{n_1\sqrt{n_{\text{eff}}^2 - n_2^2}}{n_2\sqrt{n_1^2 - n_{\text{eff}}^2}}\right) \\ &+ \arctg\left\{\frac{n_1\sqrt{n_{\text{eff}}^2 - n_2^2}}{n_2\sqrt{n_1^2 - n_{\text{eff}}^2}} \text{th}\left[\text{arcth}\left(\frac{n_2\sqrt{n_{\text{eff}}^2 - n_3^2}}{n_3\sqrt{n_{\text{eff}}^2 - n_2^2}}\right) + dk_0\sqrt{n_{\text{eff}}^2 - n_2^2}\right]\right\} \end{aligned} \quad (4.8)$$

Dla zadanego x_0 podane równania autor rozwiązuje numerycznie metodą bisekcji [86], otrzymując n_{effTE} i n_{effTM} . Wykonanie obliczeń dla poszczególnych wartości x_0 z przedziału od 0 do $2r$ prowadzi do rozkładów $n_{\text{effTE}}(x)$ i $n_{\text{effTM}}(x)$ (rys. 4.6b), gdzie r jest promieniem rdzenia światłowodu typu D.

Kolejnym etapem jest wyznaczenie ostatecznych efektywnych współczynników załamania dla rozkładów $n_{\text{effTE}}(x)$ oraz $n_{\text{effTM}}(x)$. Ze względu na ciągły charakter tych rozkładów rozwiązuje się je przybliżoną metodą WKB (*Wentzela–Kramersa–Brillouina*) [41]. W metodzie WKB formułuje się równanie charakterystyczne dla modu zerowego rzędu w następujący sposób [13, 41, 48]:

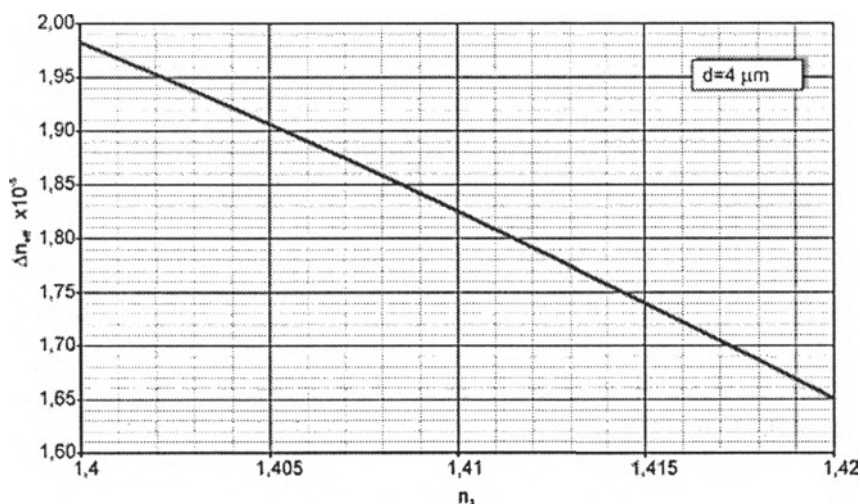
$$k_0^2 \int_{x_{r1}}^{x_{r2}} \sqrt{n^2(x) - n_{\text{eff}}^2} dx - \frac{\pi}{2} = 0 \quad (4.9)$$

gdzie: x_{r1} i x_{r2} są tzw. punktami zwrotnymi; $n(x)$ – jest odpowiednim rozkładem $n_{\text{effTE}}(x)$ lub $n_{\text{effTM}}(x)$. Między tymi punktami następuje propagacja fali w kierunku poprzecznym. Na tej drodze więc musi być spełniony warunek rezonansu poprzecznego wyrażony równaniem (4.9). Równanie to zostało rozwiązane numerycznie, wykorzystując metodę bisekcji [13, 42].

Przedstawione metody obliczeń zostały zaimplementowane w środowisku języka programowania Python, z wykorzystaniem bibliotek numerycznych projektu SciPy [86], wspierających obliczenia numeryczne. W rezultacie stworzono skrypty napisane w języku Python, które posłużyły do wykonania zaplanowanych obliczeń.

4.3.2. WYNIKI ANALIZ NUMERYCZNYCH EFEKTYWNYCH WSPÓŁCZYNNIKÓW ZAŁAMANIA

W pierwszej kolejności obliczenia koncentrowały się na wyznaczaniu różnicy efektywnych współczynników załamania modów TE i TM dla różnych wartości współczynnika pokrycia n_3 , z przedziału wokół wartości $n_3 = 1,408$, odpowiadającej gumie silikonowej.



Rys. 4.7. Wyznaczone metodą efektywnego współczynnika załamania zależności różnicy efektywnych współczynników modów TE i TM zerowego rzędu od współczynnika załamania pokrycia n_3 . Dla odległości ścięcia płaszcza od granicy rdzeń–płaszcz: $d = 4 \mu\text{m}$

Fig. 4.7. Numerically determined characteristics of the difference of effective refractive indices of TE and TM modes in the function of values of refractive index of the coat n_3 , for the D-type optical fibre: $d = 4 \mu\text{m}$

Wyniki obliczeń, różnicy efektywnych współczynników załamania modów TE oraz TM dla odległości ścięcia $d = 4 \mu\text{m}$ przedstawiono na rysunku 4.7. Przeprowadzone obliczenia wykazują, iż zależności różnicy efektywnych współczynników załamania modów TE i TM w funkcji współczynnika załamania pokrycia n_3 są niemal identyczne z odległościami $d = 5,6$ do $10,4 \mu\text{m}$ ścięcia od granicy rdzeń–płaszcz. Jest tak dlatego, iż dla d powyżej $4 \mu\text{m}$ różnica współczynników załamania modów TE i TM zaczyna się ustalać.

4.3.3. DROGA ZDUDNIENI

Z różnicy efektywnych współczynników załamania modów TE i TM można wyznaczyć drogę zdudnień z zależności (3.3)

$$L_b = \frac{\lambda}{n_{\text{effTM}} - n_{\text{effTE}}} \quad (4.10)$$

gdzie λ jest długością fali, która wynosiła 670 nm . Można zatem przedstawić poprzednie wyniki w postaci zależności drogi zdudnień L_b w funkcji współczynnika załamania pokrycia n_3 (rys. 4.11). Najbardziej interesująca jest wartość drogi zdudnień dla $n_3 = 1,408$ odpowiadającej gumie silikonowej. Wyniki analiz świadczą o naturalnej dwójłomności włókien niepoddanych działaniu czynników zewnętrznych (tab. 4.2).

Tabela 4.2. Droga zdudnień L_b dla współczynnika załamania pokrycia $n_3 = 1,408$
Table 4.2. The beat of length L_b for the value of the refractive index cover $n_3 = 1.408$

	$d = 4 \mu\text{m}$	$d = 5,6 \mu\text{m}$	$d = 6,4 \mu\text{m}$	$d = 10,4 \mu\text{m}$
$L_b [\text{mm}]$	36,05	36,09	36,09	36,10

W praktyce pomiarowej dwójłomność liniowa objawia się zmianą stanu polaryzacji detekowanego światła, na podstawie której można wyznaczyć przesunięcie fazowe δ ortogonalnych stanów polaryzacji z równania elipsy stanu polaryzacji (równanie (2.2)). Interesująca staje się zależność przesunięcia fazowego w funkcji zmian współczynnika załamania pokrycia n_3 . Przesunięcie fazowe, wynikające z dwójłomności liniowej ośrodka, wyraża się zależnością

$$\delta = \frac{2\pi}{\lambda} l (n_{\text{effTM}} - n_{\text{effTE}}) \quad (4.11)$$

gdzie l oznacza drogę światła w ośrodku. W celu uniezależnienia się od długości włókna, będzie prościej posługiwać się wartością właściwego przesunięcia fazowego, odniesionego do jednego metra długości światłowodu, i tak

$$\delta_w = \frac{\delta}{l} = \frac{2\pi}{\lambda}(n_{\text{effTM}} - n_{\text{effTE}}) \quad (4.12)$$

Zakładając zmiany współczynnika załamania pokrycia n_3 na poziomie 10^{-3} zawężono n_3 do przedziału od 1,407 do 1,409 oraz podano wartości różnicy właściwego przesunięcia fazowego $\Delta\delta_w$ obliczonego dla granic tego przedziału (tab. 4.3). Wartości te są bliskie 180° (z wyjątkiem światłowodu o ścięciu $d = 10,4 \mu\text{m}$), dla długości zatem włókna rzędu jednego metra otrzymuje się właśnie takie zmiany przesunięcia fazowego δ . Wynika stąd, że istnieje możliwość rejestrowania takich zmian przy odpowiednio ustalonej polaryzacji początkowej. W tabeli 4.3 przedstawiono zmiany fazy $\Delta\delta_w$ dla analizowanych światłowodów.

Tabela 4.3. Zmiana właściwego przesunięcia fazowego $\Delta\delta_w$ obliczonego dla wartości

$n_3 = 1,407$ i $n_3 = 1,409$, $\Delta\delta_w = \delta_w(n_3 = 1,407) - \delta_w(n_3 = 1,409)$

Table 4.3. The numerically determined phase shifts $\Delta\delta_w$ for

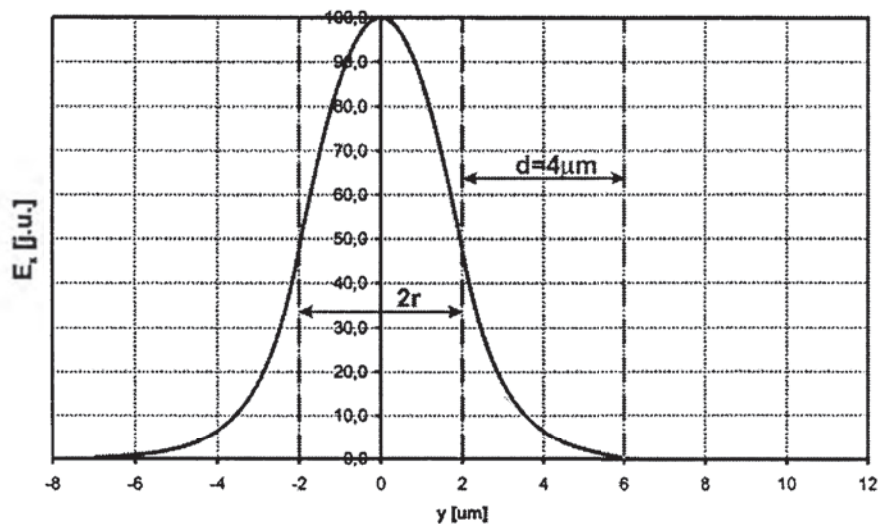
$n_3 = 1,407$ and $n_3 = 1,409$, $\Delta\delta_w = \delta_w(n_3 = 1,407) - \delta_w(n_3 = 1,409)$

	$d = 4 \mu\text{m}$	$d = 5,6 \mu\text{m}$	$d = 6,4 \mu\text{m}$	$d = 10,4 \mu\text{m}$
L_b [mm]	174,78	174,21	174,19	153,29

Wszystkie obliczenia zostały przeprowadzone dla pierwszego modu (czyli tzw. modu zerowego rzędu). Dla zadanych parametrów (tab. 4.1) dla pewności sprawdzono czy istnieją warunki dla prowadzenia modów wyższego rzędu. Wyniki tych obliczeń potwierdziły jednomodowość analizowanych struktur typu D.

4.3.4. ROZKŁAD POLA MODU

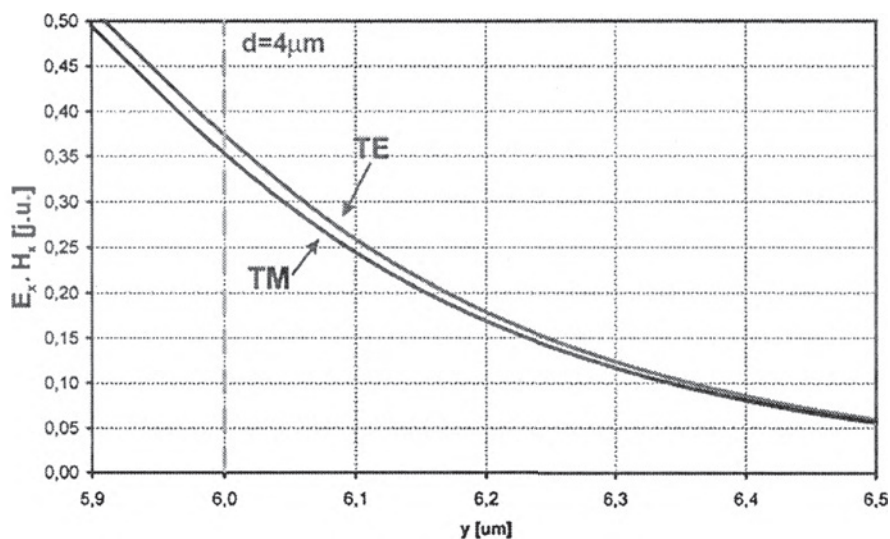
Na podstawie równań charakterystycznych (4.7) i (4.8) można wyznaczyć rozkład pola dla modu zerowego rzędu dla modów TE i TM. Sporządzono rozkłady dla wszystkich typów światłowodów (tzn. dla $d = 4; 5,6; 6,4; 10,4 \mu\text{m}$). Ze względu na nieznaczne różnice współczynników załamania poszczególnych warstw rozkłady pól dla modów TE i TM dla danego światłowodu wykazują również niewielkie różnice. Zdecydowano się zatem przedstawić rozkład pola modu TE dla światłowodu o ścięciu $d = 4 \mu\text{m}$ (rys. 4.3). Na uwagę zasługuje przede wszystkim obszar w otoczeniu ścięcia (tzn. granicy płaszcz–pokrycie). Obszar ten przedstawiono na rysunkach 4.8 oraz 4.9. Na wykresach zamieszczono wyniki dla światłowodów o ścięciu $d = 4 \mu\text{m}$ oraz $d = 5,6 \mu\text{m}$. Dla włókien o ścięciu $d = 6,4 \mu\text{m}$ i $d = 10,4 \mu\text{m}$ wartość pola (w jednostkach unormowanych do 100) w otoczeniu ścięcia wyniosła poniżej 0,1.



Rys. 4.8. Rozkład na kierunku prostopadłym do ścięcia płaszcza.

Pole modu TE zerowego rzędu dla włókna o ścięciu $d = 4 \mu\text{m}$

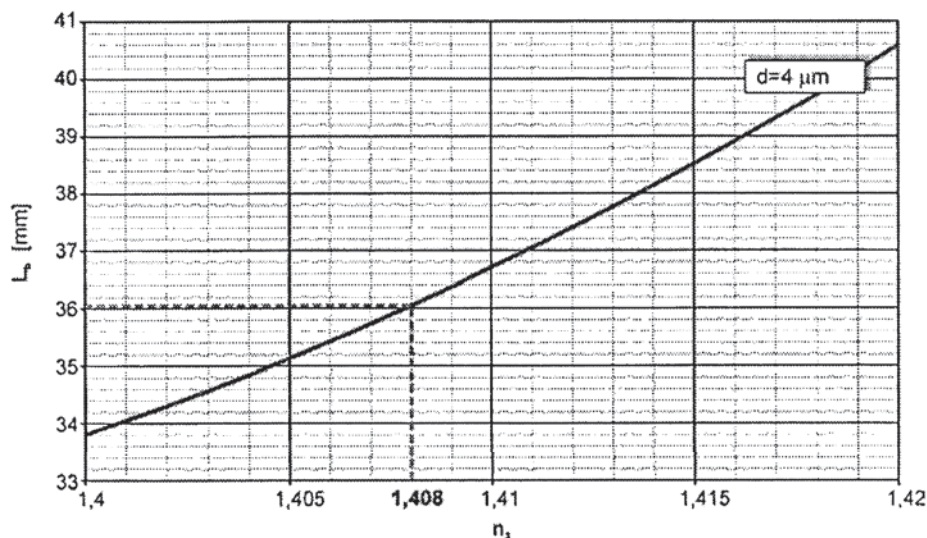
Fig. 4.8. Distribution of electrical field of the TE mode on the perpendicular direction for the cross-section of the D-type fibre; $d = 4 \mu\text{m}$



Rys. 4.9. Rozkład na kierunku prostopadłym do ścięcia płaszcza – obszar w otoczeniu ścięcia.

Pole modu TE i TM zerowego rzędu dla włókna o ścięciu $d = 4 \mu\text{m}$

Fig. 4.9. Distribution of electrical and magnetical fields of the TE and TM modes on the perpendicular direction for the cross-section of the D-type fibre; $d = 4 \mu\text{m}$



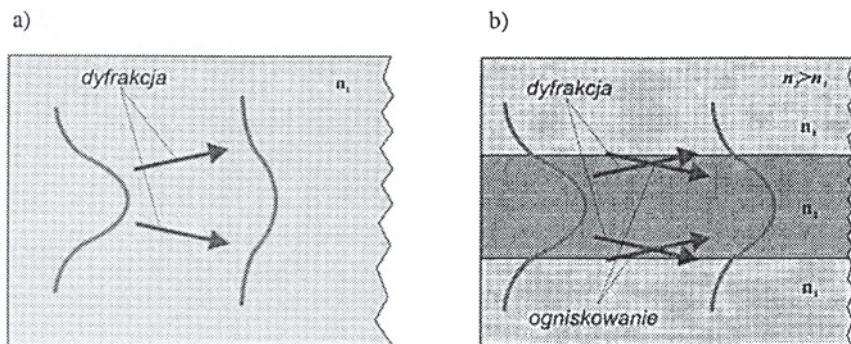
Rys. 4.10. Teoretyczna zależność drogi zdudnień L_b od współczynnika załamania pokrycia n_3 , dla odległości ścięcia płaszcza od granicy rdzeń–płaszcz; $d = 4 \mu\text{m}$

Fig. 4.10. Theoretical characteristics of the beat-length L_b in the function of cover refractive index n_3 , for $d = 4 \mu\text{m}$

W rzeczywistości można mierzyć jedynie zmiany natężenia wiązki światła, która uprzednio została poddana „obróbce optycznej”, tzn. po przejściu przez polaryzatory i płytki fazowe o odpowiednio zorientowanych osiach optycznych. Faza sygnału nie jest zatem parametrem mierzonym bezpośrednio. Można ją wyznaczyć z równania elipsy stanu polaryzacji (2.2). Istnieje również możliwość pomiaru kąta przesunięcia fazowego w układzie ze sprzężeniem zwrotnym [31, 41]. Przykładem jest układ płytek fazowych o grubości powodującej przesunięcie fazowe ortogonalnych składowych wiązki tak, aby skompensować powstałą różnicę faz. Układ tych płytek fazowych o regulowanej grubości nazywa się kompensatorem (najbardziej znanym kompensatorem jest kompensator Babinet [17, 22]). Rozwiązanie to jest stosowane głównie w objętościowych układach optycznych do badania właściwości elementów polaryzacyjnych dla konkretnej długości fali [22].

4.3.5. METODA PROPAGACJI WIĄZKI

Sposobem analizy propagacji światła stosowanym do analizy struktur paskowych jest tzw. metoda propagacji wiązki w skrócie BPM (ang. *Beam Propagation Method*) [88–90]. Metoda ta polega na wyznaczaniu rozkładu pola w kolejnych fragmentach struktury wzdłuż kierunku propagacji [87]. Zakładając skończony rozmiar źródła światła, należy w analizie ewolucji frontu falowego uwzględnić dwa zjawiska: dyfrakcję i ogniskowanie.



Rys. 4.11. Zjawiska dyfrakcji i ogniskowania wiązki światła ograniczonej geometrycznie dla:

- a) ośrodka nieskończonego o stałej wartości współczynnika załamania,
- b) falowody paskowego o skokowym rozkładzie współczynnika załamania [82]

Fig. 4.11. Diffraction and focusing of the optical beam propagating in geometrically restricted medium, on the base of [82]

Dyfrakcja jest konsekwencją skończonego rozmiaru wiązki pierwotnej (rys. 4.11a). Ogniskowanie natomiast wynika z profilu współczynnika załamania ośrodka oraz jego parametrów geometrycznych (rys. 4.11b). Jak można zauważyć z rysunku 4.11 ogniskowanie wynika wprost z przesunięcia fazy w obszarach o różnych wartościach współczynnika załamania na danym odcinku. Przyjmuje się, że dyfrakcja jest wynikiem propagacji ograniczonej geometrycznie wiązki w nieograniczonej przestrzeni o stałej wartości współczynnika załamania światła. W praktyce wartość współczynnika załamania przyjmuje się jako wartość pośrednią między falowodem i otoczeniem. Idea metody polega na wyznaczeniu zmiany frontu falowego, wynikającego z dyfrakcji po przebyciu odcinka Δz , a następnie uwzględnieniu przesunięcia fazowego wynikającego z efektu ogniskowania [82]. W kolejnym kroku powtarza się algorytm, analizujący dyfrakcję na kolejnym fragmencie Δz . W ten sposób dwa przebiegające równocześnie efekty mogą być rozpatrywane kolejno jeden po drugim.

Punktem wyjścia opisu formalnego metody BPM jest równanie Helmholtza. Amplitudę pola elektrycznego można przedstawić w postaci

$$E(x, y, z) = m(x, y, z)e^{-ik_0 n_0 z} \quad (4.13)$$

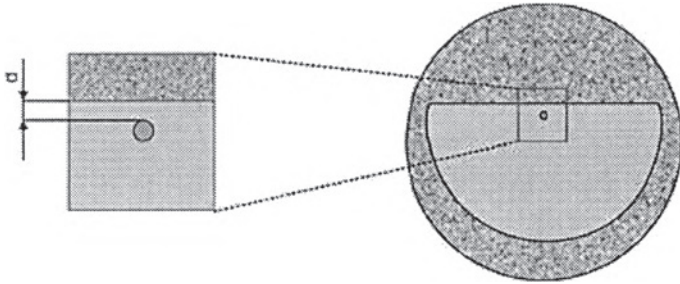
gdzie $m(x, y, z)$ jest wolnozmienną amplitudą pola elektrycznego. Zakładając, że amplituda składowej poprzecznej pola zmienia się wolno na kierunku propagacji z i, wstawiając równanie (4.13) do równania Helmholtza, otrzymuje się postać paraboliczną tego równania:

$$2ik_0 \frac{\partial E}{\partial z} = \left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} \right) E + k_0^2 (n^2 - n_0^2) E \quad (4.14)$$

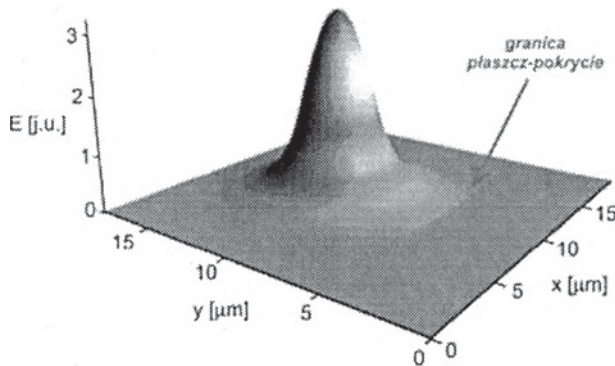
Z tego równania można wyznaczyć rozkład składowej poprzecznej pola $E(x, y, z_0 + \Delta z)$, znając poprzedni rozkład $E(x, y, z_0)$, w następujący sposób:

$$E(x, y, z_0 + \Delta z) = E(x, y, z_0) e^{\left[\frac{-i}{2k_0 n_0} \left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} \right) \frac{\Delta z}{2} \right]} e^{\left[\frac{-ik_0}{2k_0 n_0} (n^2 - n_0^2) \Delta z \right]} e^{\left[\frac{-i}{2k_0 n_0} \left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} \right) \frac{\Delta z}{2} \right]} \quad (4.15)$$

Autorzy zastosowali również tę metodę do wyznaczenia rozkładu pola modu zerowego rzędu w światłowodzie włóknistym typu D. W tym celu do obliczeń przygotowano dane rozkładu współczynnika załamania w postaci siatki punktów, zawężonej do obszaru jak na rysunku 4.12.



Rys. 4.12. Obszar struktury włókna typu D wzięty do obliczeń metodą BPM
Fig. 4.12. Are of the D-type optical fibre analyzed by means of BPM method



Rys. 4.13. Rozkład pola modu TE zerowego rzędu na wyjściu struktury o ścięciu $d = 4 \mu\text{m}$
Fig. 4.13. Distribution of electrical field of the TE zero-order mode, $d = 4 \mu\text{m}$

Obliczenia zrealizowano według oprogramowania napisanego przez prof. Marka Błahutę [41]. Wyniki analiz przedstawiono na rysunku 4.13. Jest to rozkład pola fali TE dla struktury o odległości ścięcia od granicy rdzeń–płaszcz $d = 4 \mu\text{m}$, po przebyciu drogi propagacji 50 mm. Ze względu na nieznaczne wnikanie pola fali w obszar płaszcza dla większych odległości d , rozkłady pól są mało czytelne i zde-

cydowano nie zamieszczać ich w niniejszej pracy. Przedstawione natomiast wyniki obrazują, że pole fali elektromagnetycznej ze względu na granicę płaszcz–pokrycie staje się asymetryczne. Oczywiście, we wszystkich obliczeniach jako pokrycie uwzględniano gumę silikonową o współczynniku załamania 1,408 (bez drobin niklu). Biorąc pod uwagę rozmiar i właściwości drobin, można uznać, że nie mają one większego bezpośredniego wpływu na propagację modów rdzeniowych we włóknie, poza stratami wynikającymi z rozpraszania pola zanikającego fali. Przedstawione wyniki obliczeń są zgodne z uzyskanymi z równań charakterystycznych (4.7) i (4.8), przedstawionych na rysunku 4.8.

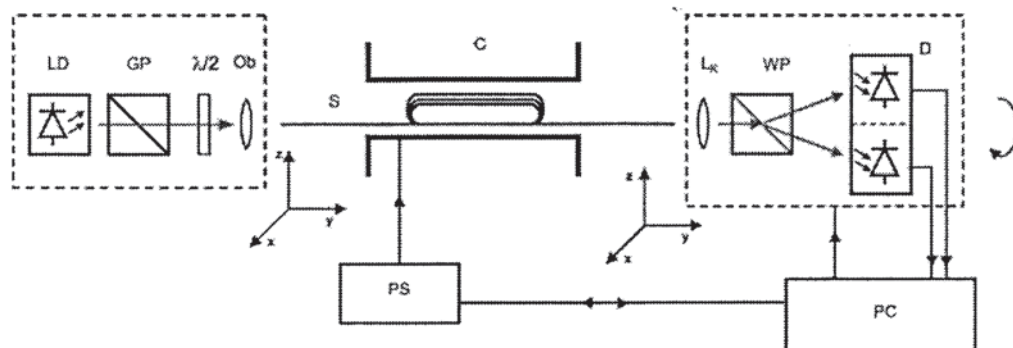
Wyniki prezentowanych w tym podpunkcie analiz numerycznych autor opublikował w pracy [88].

5. STANOWISKA BADAWCZE

5.1. STANOWISKO DO BADAŃ EFEKTU FARADAY'A

W badanych strukturach światłowodowych pole magnetyczne może oddziaływać na falę świetlną propagującą się w rdzeniu włókna na dwa sposoby. Bezpośrednio przez zjawisko Faradaya, polegające na skręceniu płaszczyzny polaryzacji światła oraz pośrednio, przez efekt elastooptyczny. W opisie fizycznym oba efekty wiążą się z tzw. dwójłomnością indukowaną: kołową w przypadku efektu Faradaya, liniową (rzadziej kołową) w przypadku efektu elastooptycznego. Dwójłomność jest efektem polaryzacyjnym, w jej wyniku zatem zmienia się stan polaryzacji światła na wyjściu światłowodu. Pomiar efektu magnetoptycznego opiera się na wyznaczeniu parametrów stanu polaryzacji światła w funkcji pola magnetycznego. Podstawowe (bazowe) stanowisko pomiarowe do badań efektu magnetoptycznego przedstawiono schematycznie na rysunku 5.1.

Światło o długości 670 nm, emitowane przez diodę laserową LD, jest wprowadzane do badanego włókna przez obiektyw Ob. Przed samym obiektywem znajduje się polaryzator GL i płytką półfalowa $\lambda/2$ w celu spolaryzowania liniowego wiązki światła oraz ustawienia azymutu polaryzacji. Badane włókno jest wprowadzone do cewki długiej C, pełniącej rolę źródła pola magnetycznego. Na wyjściu, po uformowaniu wiązki przez soczewkę typu SELFOC, wiązka światła zostaje poddana analizie. Analizatorem jest pryzmat Wollastona WP, który wchodzącą wiązkę rozdziela kątowo na dwie wiązki o ortogonalnych stanach polaryzacji. Wiązki te są rejestrowane przez dwa niezależne fotodetektory D. Układ pryzmatu Wollastona i fotodetektorów jest umieszczony na ruchomej części stolika obrotowego o wysokiej rozdzielczości kątowej ($0,01^\circ$). Konfiguracja taka umożliwia rejestrowanie składowych stanu polaryzacji pod dowolnym kątem.



Rys. 5.1. Schemat stanowiska do badań efektu magnetoptycznego w światłowodach:

LD – dioda laserowa; GP – polaryzator (pryzmat Glana); $\lambda/2$ – płytka półfalowa; Ob – obiektyw;

S – światłowod badany; C – cewka; Lk – soczewka kolimująca (typu SELFOC);

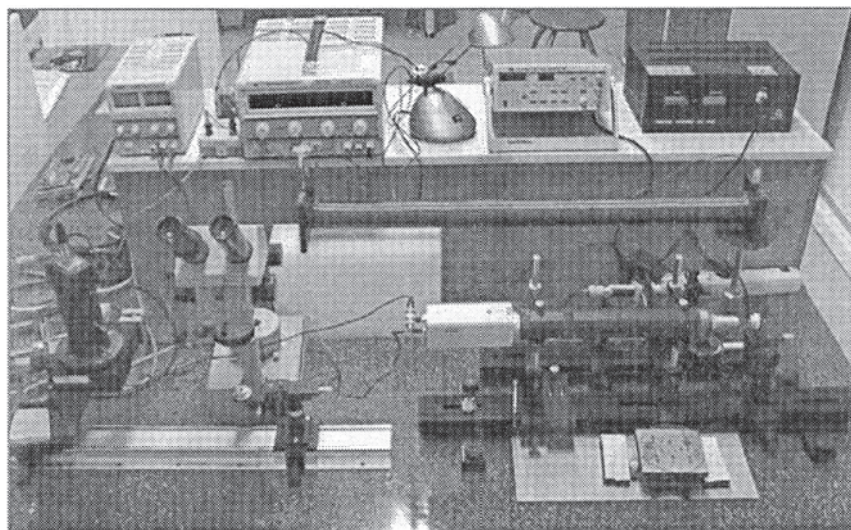
WP – analizator (pryzmat Wollastona) D – detektory; PC – komputer pomiarowy; PS – zasilacz cewki

Fig. 5.1. The scheme of measuring stand for investigation of magnetooptic effects in optical fibres:

LD – laser diode; GP – polarizer (Glan's prism); $\lambda/2$ – half-wave plate; Ob – objective;

S – tested optical fibre; C – magnetic coil; Lk – colimative lense (SELFOC type);

WP – analyzer (Wollaston' prism); D – detectors; PC – computer; PS – power of coil



Rys. 5.2. Fotografia stanowiska do badań efektu magnetoptycznego w światłowodach

Fig. 5.2. Photo of the measuring stand for invistgation of magneto-optic effects in optical fibres

Pomiar stanu polaryzacji światła odbywa się przez pomiar natężenia składowych polaryzacji dla trzech kierunków: dwóch ortogonalnych 0° i 90° oraz trzeciego pod zadany kąt φ zawierającym się w przedziale kątowym pomiędzy 0° a 90° . Umożliwia to wyznaczenie równania prostej „a” (rys. 5.3) stycznej do elipsy stanu

polaryzacji i tworzącej z osią „0x” kąt: $90^\circ + \varphi$. Współczynnik kierunkowy tej prostej jest tangensem kąta, czyli $\text{tg}(90^\circ + \varphi)$, natomiast współczynnik przesunięcia wyznacza się na podstawie sinusa kąta φ . Ostatecznie prosta „a” opisana jest równaniem:

$$E_y = -E_x \text{ctg} \varphi + \frac{m'}{\sin \varphi} \quad (5.1.)$$

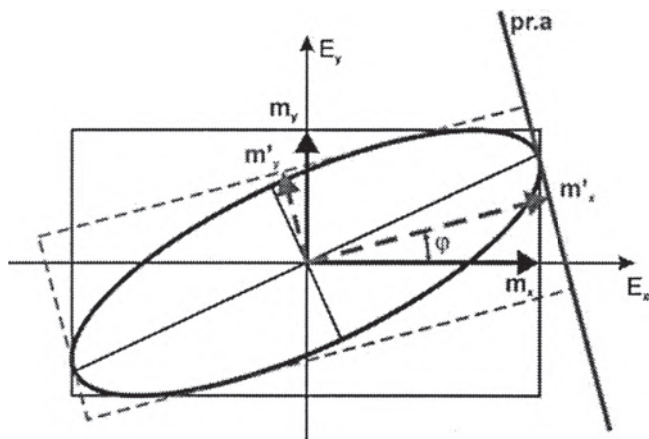
Wstawiając wyrażenie (5.1) do równania elipsy stanu polaryzacji (2.2), otrzymuje się równanie kwadratowe

$$\frac{1}{m_x^2 m_y^2 \sin^2 \varphi} (m_y^2 \sin^2 \varphi + 2m_x m_y \sin \varphi \cos \varphi \cos \delta + m_x^2 \cos^2 \varphi + m'^2) \quad (5.2.)$$

Równanie to musi mieć jedno rozwiązanie rzeczywiste, tak aby prosta „a” miała tylko jeden punkt wspólny z elipsą stanu polaryzacji. Stąd wyróżnik poprzedniego równania musi wynosić zero ($\Delta = 0$). Warunek zerowania wyróżnika równania (5.2) prowadzi do zależności

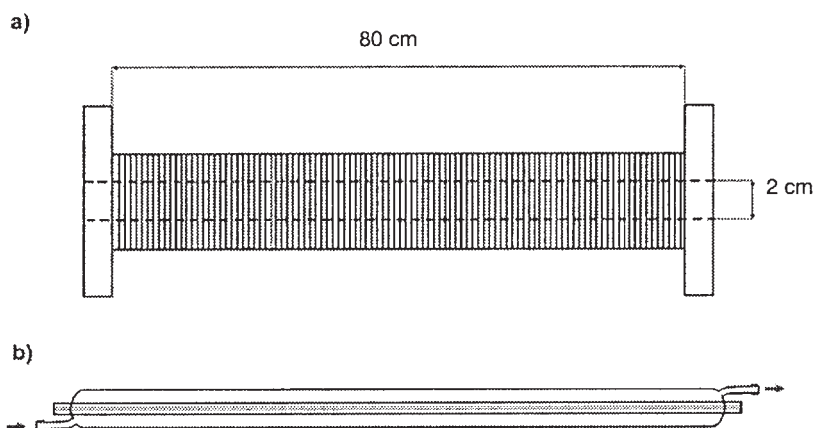
$$\cos \delta = \frac{m_x'^2 - m_x^2 \cos^2 \varphi - m_y^2 \sin^2 \varphi}{m_x m_y \sin 2\varphi} \quad (5.3)$$

Wartość przesunięcia fazowego δ między składowymi x i y oraz amplitudy m_x i m_y ułatwiają, za pomocą zależności (2.3) i (2.4), wyznaczyć azymut i eliptyczność stanu polaryzacji. Podsumowując, idea wyznaczania stanu polaryzacji polega na pomiarze wartości amplitud m_x , m_y oraz amplitudy m'_x przy skróceniu osi optycznej polaryzatora względem kierunku osi x o zadany kąt φ .



Rys. 5.3. Idea wyznaczania stanu polaryzacji światła
Fig. 5.3. The idea of determination of the stage of light polarization

Jako źródła pola magnetycznego użyto cewki długiej z rdzeniem powietrznym, wewnątrz której umieszczono tzw. chłodnicę kapilarną, umożliwiającą stabilizację temperatury badanego włókna (rys. 5.4). Chłodnica składa się z kapilary o średnicy wewnętrznej 0,5 mm oraz zewnętrznej rury szklanej o średnicy zewnętrznej 20 mm, dopasowanej do otworu cewki. Rurę z umieszczoną osiowo kapilarą zamknięto szczelnie, umieszczając dwa doprowadzenia (króćce) na przeciwległych jej końcach. Przepływająca przez chłodnicę woda z ultratermostatu stabilizuje temperaturę włókna umieszczonego w kapilarze. Dodatkowo chłodnica zapewnia osiowe prowadzenie włókna wewnątrz cewki.



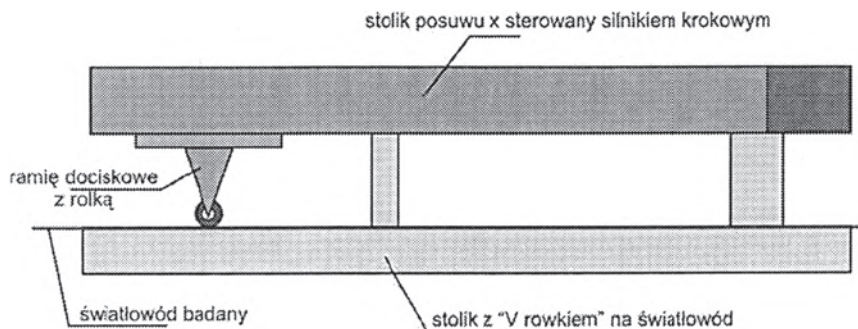
Rys. 5.4. Cewka długa (a) oraz chłodnica kapilarna (b)
Fig. 5.4. The coil (long coil) (a) and the capillary radiator (b)

5.2. STANOWISKO DO POMIARU DROGI ZDUDNIEN

Do pomiarów drogi zdudnień w stanowisku zastąpiono cewkę układem punktowego nacisku. Zaprojektowano stolik z „V-rowkiem” na światłowód, nad którym znajduje się stolik posuwu „x” z ramieniem dociskowym zakończonym rolką (rys. 5.5). Układ ten umożliwia wywieranie na włókno punktowego nacisku, który może się przesuwać wzdłuż światłowodu. Światłowód umieszczony jest w rowku w kształcie litery „V” i umocowany taśmą klejącą. Ramię dociskowe zakończone rolką wywiera punktowy nacisk na włókno. Ramię to jest umocowane do stolika posuwu „x”, który jest wyposażony w silnik krokowy.

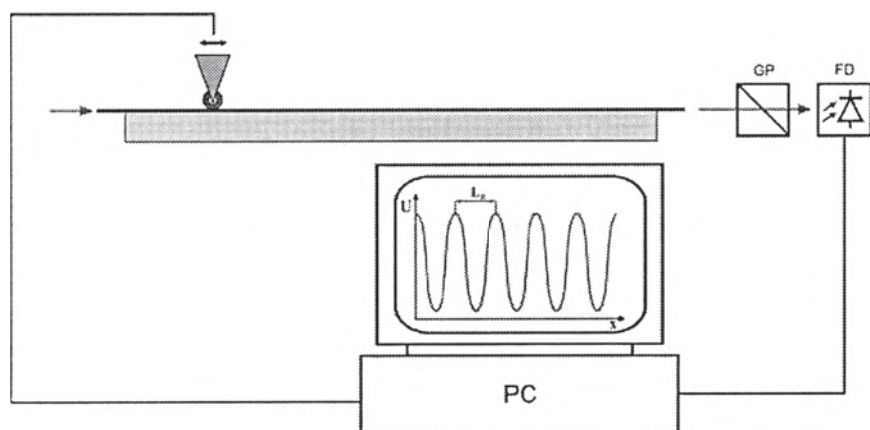
Pomiar jest realizowany w następujący sposób. Stan polaryzacji na wejściu ustawia się płytką półfalową, tak aby pobudzić tylko jeden mod polaryzacyjny. Analizator (pryzmat Wollastona) WP ustawia się natomiast pod kątem 45° względem osi włókna. Umożliwia to interferencję modów polaryzacyjnych. Następnie zakłada się ramię dociskowe i włącza posuw ze stałą prędkością, jednocześnie rejestrując sygnały na foto-

detektorach, uzyskując tym samym zależność natężenia światła w funkcji położenia punktu dociskowego do światłowodu. Idea pomiaru polega na tym, że punktowy nacisk wywołuje sprzężenie między modami polaryzacyjnymi włókna. Prowadzi to do



Rys. 5.5. Układ wywierania punkowego nacisku do pomiaru drogi zdudnień

Fig. 5.5. System for the beat-rate determination in optical fibres



Rys. 5.6. Idea pomiaru drogi zdudnień światłowodów włókniстых:

GP – polaryzator (pryzmat Giana); FD – fotodetektor; PC – komputer pomiarowy

Fig. 5.6. Idea of the system of beat-rate measurements in optical fibres:

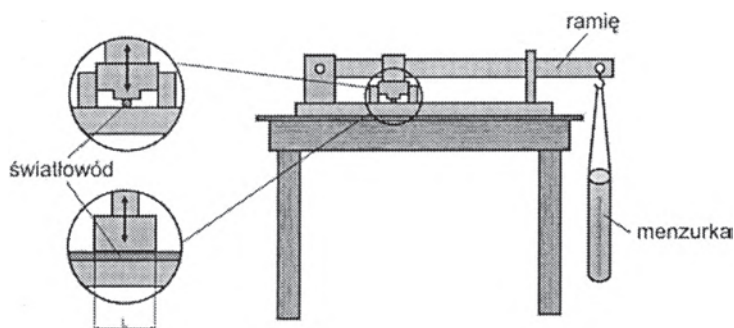
GP – polarizer (Glan's prism); FD – photodetector; PC – computer

przepływu energii do modu początkowo niepobudzonego. Na wyjściu oba mody interferują. Wynik interferencji zależy od długości między punktowym zaburzeniem (dociskiem) a końcem włókna. Jeśli na wyjściu rejestrujemy maksimum, to mody interferowały w zgodnej fazie, a jeśli minimum, to w przeciwfazie [89]. Maksimum świadczy zatem o tzw. zdudnieniu modów polaryzacyjnych. Dwa kolejne maksima („zdudnienia”) uzyskane w trakcie przesunięcia docisku wyznaczają drogę zdudnień

L_b , będącą różnicą odległości przesunięcia docisku, dla których otrzymano maksimum („zdużnienie”). Schematycznie ideę tę przedstawiono na rysunku 5.6. W przeprowadzonych badaniach zastosowano jedynie samo ramię dociskowe, które przesuwano ręcznie. Wzbogacenie układu o stolik posuwu „x” z silnikiem krokowym nastąpiło z pewnym opóźnieniem i na tym etapie badań było w trakcie projektowania i realizacji.

5.3. STANOWISKO DO BADAŃ EFEKTÓW ELASTOOPTYCZNYCH

Stanowisko badawcze przystosowano także do pomiaru wpływu ściskania anizotropowego na właściwości polaryzacyjne włókien. W tym celu cewkę zastąpiono układem dociskowym przedstawionym na rysunku 5.7. Dźwignia tego układu wywołuje siłę nacisku proporcjonalną do obciążenia. Menzurka z wodą umożliwia regulację obciążenia włókna. Pomiar polega na wyznaczaniu stanu polaryzacji (jak dla efektu magnetoptycznego) w funkcji siły nacisku. Podobnie jak w poprzednich przypadkach, proces pomiarowy przebiegał automatycznie (z wyjątkiem napełniania menzurki) z wykorzystaniem odpowiednio oprogramowanego komputera. Warto nadmienić, że stanowisko wyposażono w obrotowe uchwyty, które miały zapewnić odpowiednie ułożenie włókna na stoliku dociskowym przez obrót włókna względem jego osi.

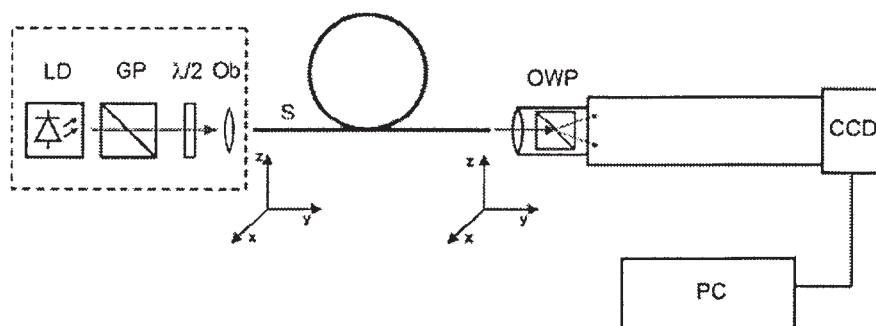


Rys. 5.7. Układ dociskowy do badań efektów elastoptycznych w anizotropowym ściskaniu włókien optycznych

Fig. 5.7. Idea of the system for investigations of elastoptyc effects in optical fibres

5.4. STANOWISKO DO WYZNACZANIA ROZKŁADU PÓŁ MODOWYCH

Oddzielnym układem było stanowisko do wyznaczania rozkładu pól modowych. W tym stanowisku wykorzystano diodę laserową do pobudzenia włókna z zastosowaniem tych samych elementów optycznych i polaryzacyjnych jak poprzednio. Na wyjściu zastosowano kamerę CCD z obiektywem wyposażonym w pryzmat Wollastona. Obiektyw ten umożliwił jednoczesną rejestrację obu ortogonalnych modów polaryzacyjnych. Schemat tego układu przedstawiono na rysunku 5.8.



Rys. 5.8. Stanowisko do rejestracji rozkładu pól modowych: LD – dioda laserowa; GP – polaryzator (pryzmat Glana); $\lambda/2$ – płytka półfalowa; Ob – obiektyw; S – światłowód badany; OWP – obiektyw z pryzmatem Wollastona; CCD – kamera CCD; PC – komputer pomiarowy

Fig. 5.8. System for determination of mode fields in optical fibres: LD – laser diode; GP – polarizer; $\lambda/2$ – half-wave plate; Ob – objective; S – testing optical fibre; OWP – objective with Wollaston's prism; CCD – camera; PC – computer

6. WYNIKI BADAŃ

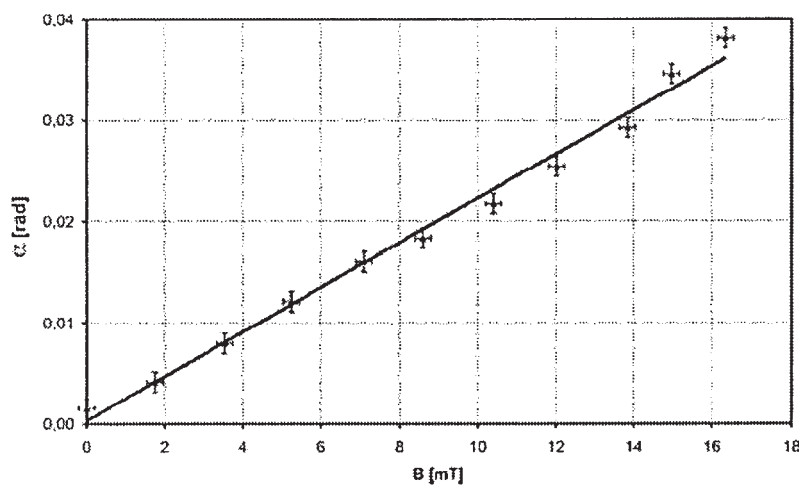
W tej części zostały przedstawione wyniki badań eksperymentalnych wybranych światłowodów specjalnych. Prowadzono badania właściwości magnetoptycznych światłowodów typu D o różnej konfiguracji geometrycznej. Badano światłowody z pokryciem wykonanym z gumy silikonowej, a także światłowody, w których w pokryciu znajdowały się drobiny niklu. Wnioski wynikające z przeprowadzonych badań eksperymentalnych umożliwiają zaprojektowanie światłowodu typu D o założonej czułości magnetoptycznej.

6.1. ŚWIATŁOWODY SPECJALNE TYPU D Z POKRYCIEM ZWYKŁYM

W podrozdziale tym zostaną zaprezentowane wyniki pomiarów światłowodów specjalnych typu D z pokryciem (niemagnetycznym) z gumy silikonowej.

Parametry geometryczne i materiałowe zostały umieszczone w tabeli 4.1. W pierwszej kolejności światłowód ten został poddany badaniom na stanowisku do pomiaru efektu magnetoptycznego (rys. 5.1 i rys. 5.2). Podczas przeprowadzania eksperymentu kontrolowano orientację włókna typu D, ustawiając płaszczyznę ścięcia płaszcza (granicę płaszczyzn-pokrycie) poziomo do stolika, na którym mocowano uchwyt światłowodu. W trakcie pomiarów stan polaryzacji wejściowej był ustawiany pod kątem 45° do płaszczyzny ścięcia płaszcza światłowodu tak, aby pobudzić oba tryby polaryzacyjne równomiernie. Na rysunku 6.1 przedstawiono wyniki badania efektu magnetoptycznego w temperaturze 10°C oraz zmiany kąta $\Delta\alpha$ (azymutu) skręcenia stanu

polaryzacji w funkcji indukcji B zewnętrznego pola magnetycznego. W światłowodzie tym, przy równoległej konfiguracji pola magnetycznego względem osi włókna, dominującym zjawiskiem magnetoptycznym jest efekt Faradaya. Dlatego wyniki pomiarów przedstawiono w postaci zależności skręcenia płaszczyzny polaryzacji $\Delta\alpha$ w funkcji indukcji pola magnetycznego B . Jak to przedstawiono w części 2.3 we wzorze (2.8), efekt Faradaya można zapisać w postaci $\Delta\alpha = VIB$.



Rys. 6.1. Zależność skręcenia płaszczyzny polaryzacji w funkcji indukcji pola magnetycznego ($T = 10^\circ\text{C}$) dla światłowodu typu D o ścięciu $d = 4\ \mu\text{m}$ (z pokryciem niemagnetycznym)

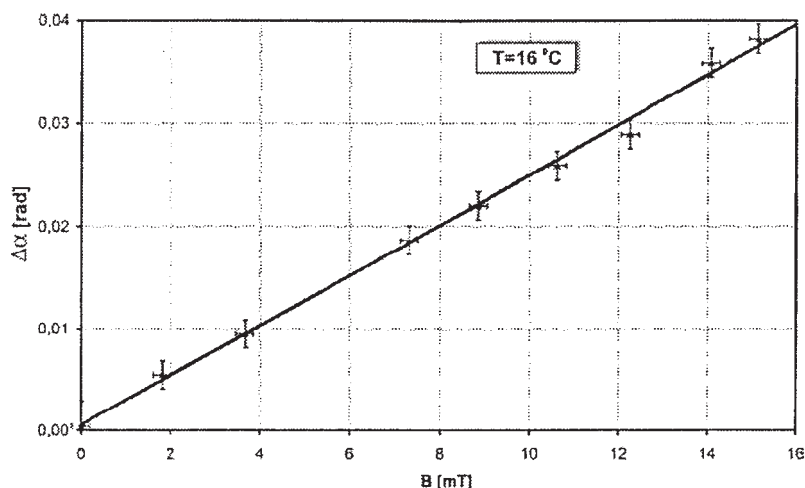
Fig. 6.1. Characteristics of twisting plate of polarization in external magnetic field (in temperature $T = 10^\circ\text{C}$) for the D-type optical fibre with cutting $d = 4\ \mu\text{m}$ (the optical fibre with unmagnetic cover)

Taka reprezentacja danych pomiarowych ułatwia aproksymowanie punktów pomiarowych linią prostą (tzw. metodą regresji liniowej). Współczynnik kierunkowy tej prostej podzielony przez długość światłowodu poddanego oddziaływaniu pola magnetycznego l wyraża tzw. stałą Verdetu materiału włókna, w którym propaguje się światło. Po wykonaniu stosownych obliczeń stała Verdetu światłowodu wyniosła

$$V = 2,375\ \text{rad}/(\text{T}\cdot\text{m})$$

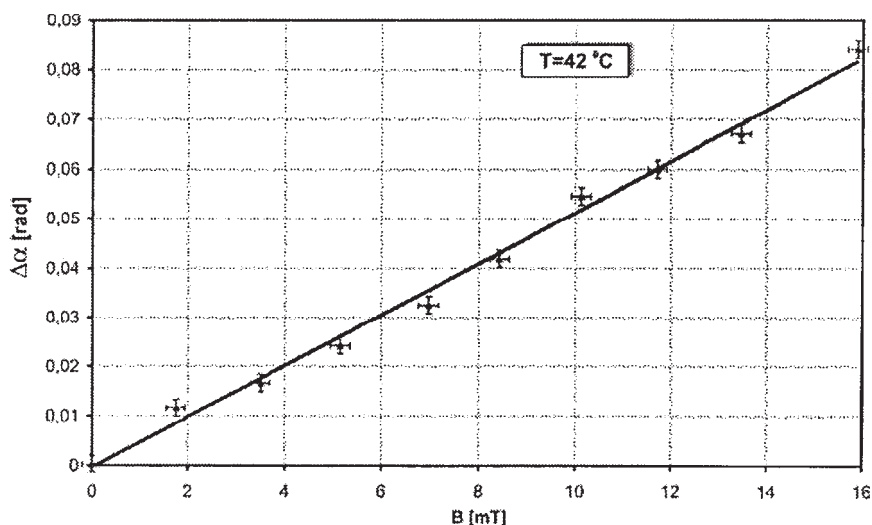
Z literatury dotyczącej efektu magnetoptycznego w światłowodach włóknistych wiadomo, że stała Verdetu włókien zależy od temperatury [7, 49, 62, 74, 76]. Jest to, poza indukowanymi efektami elastooptycznymi dwójłomnością, najpoważniejszy czynnik niepożądany w pomiarach magnetoptycznych. Korzystając z układu stabilizacji temperatury z chłodnicą kapilarną (rys. 5.4b) podłączonego do ultratermostatu, wykonano również badania efektu magnetoptycznego dla różnych temperatur. Wyniki tych eksperymentów dla światłowodu typu D z pokryciem niemagnetycznym o odległości ścięcia $d = 4\ \mu\text{m}$ przedstawiono na rysunkach (rys. 6.2, rys. 6.3, rys. 6.4,

rys. 6.5). Z przedstawionych wyników wyznaczono stałe Verdet i przedstawiono je w funkcji temperatury na rysunku 6.6.



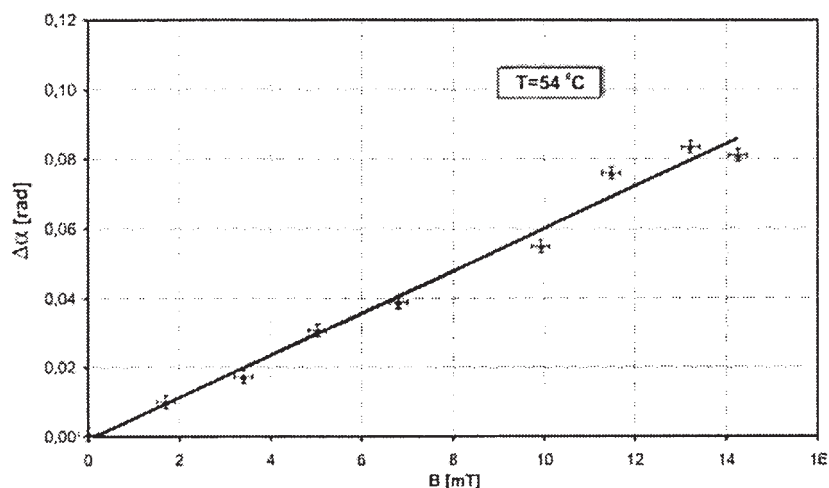
Rys. 6.2. Zależność skręcenia płaszczyzny polaryzacji w funkcji indukcji pola magnetycznego ($T = 16\text{ }^{\circ}\text{C}$) dla światłowodu typu D o ścięciu $d = 4\text{ }\mu\text{m}$ (z pokryciem niemagnetycznym)

Fig. 6.2. Characteristics of twisting plate of polarization in external magnetic field (in temperature $T = 16\text{ }^{\circ}\text{C}$) for the D-type optical fibre with cutting $d = 4\text{ }\mu\text{m}$ (the optical fibre with unmagnetic cover)



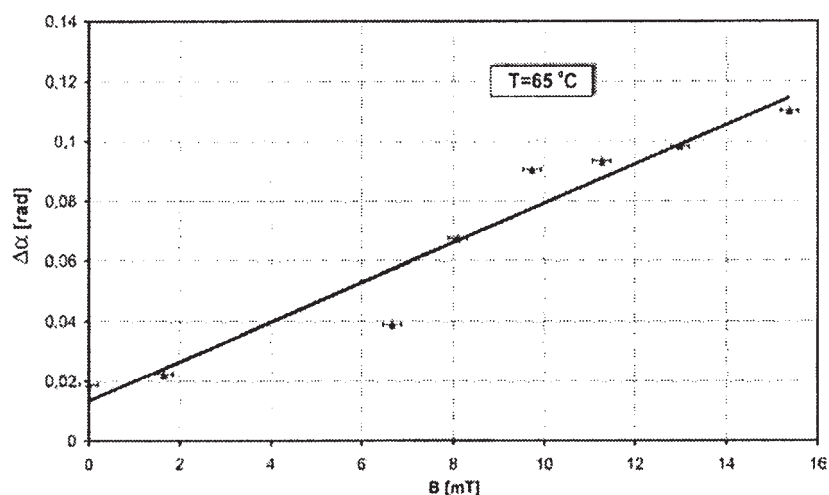
Rys. 6.3. Zależność skręcenia płaszczyzny polaryzacji w funkcji indukcji pola magnetycznego ($T = 42\text{ }^{\circ}\text{C}$) dla światłowodu typu D o ścięciu $d = 4\text{ }\mu\text{m}$ (z pokryciem niemagnetycznym)

Fig. 6.3. Characteristics of twisting plate of polarization in external magnetic field (in temperature $T = 42\text{ }^{\circ}\text{C}$) for the D-type optical fibre with cutting $d = 4\text{ }\mu\text{m}$ (the optical fibre with unmagnetic cover)



Rys. 6.4. Zależność skręcenia płaszczyzny polaryzacji w funkcji indukcji pola magnetycznego ($T = 54\text{ }^{\circ}\text{C}$) dla światłowodu typu D o ścięciu $d = 4\text{ }\mu\text{m}$ (z pokryciem niemagnetycznym)

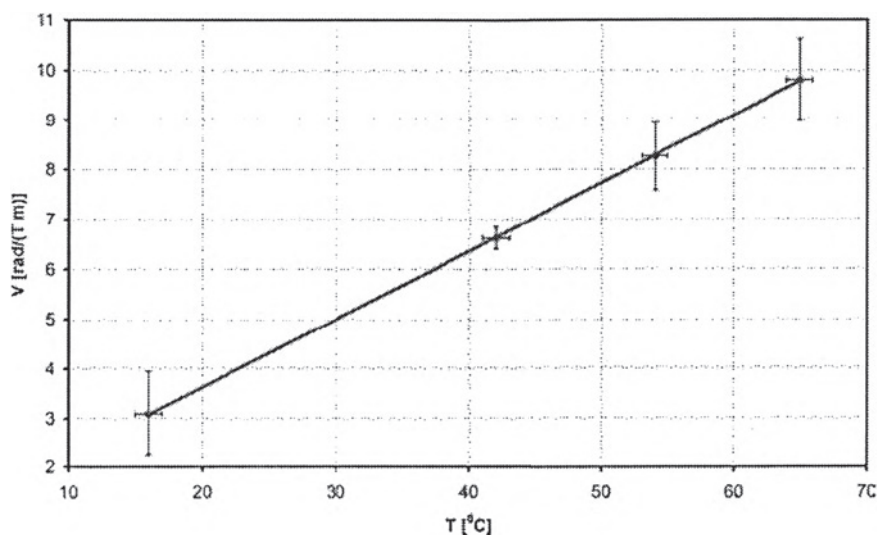
Fig. 6.4. Characteristics of twisting plate of polarization in external magnetic field (in temperature $T = 54\text{ }^{\circ}\text{C}$) for the D-type optical fibre with cutting $d = 4\text{ }\mu\text{m}$ (the optical fibre with unmagnetic cover)



Rys. 6.5. Zależność skręcenia płaszczyzny polaryzacji w funkcji indukcji pola magnetycznego ($T = 65\text{ }^{\circ}\text{C}$) dla światłowodu typu D o ścięciu $d = 4\text{ }\mu\text{m}$ (z pokryciem niemagnetycznym)

Fig. 6.5. Characteristics of twisting plate of polarization in external magnetic field (in temperature $T = 65\text{ }^{\circ}\text{C}$) for the D-type optical fibre with cutting $d = 4\text{ }\mu\text{m}$ (the optical fibre with unmagnetic cover)

Na podstawie przedstawionych na rysunkach 6.2, 6.3, 6.4 oraz 6.5 została wyznaczona zależność stałej Verdet w funkcji temperatury. Zależność tę przedstawiono na rysunku 6.6.



Rys. 6.6. Zależność stałej Verdet w funkcji temperatury dla światłowodu typu D o ścięciu $d = 4 \mu\text{m}$ z pokryciem niemagnetycznym

Fig. 6.6. Dependence of the Verdet parameter on temperature for the D-type optical fibre with cutting $d = 4 \mu\text{m}$ (the optical fibre with unmagnetic cover)

Tabela 6.1. Stała Verdet V światłowodu typu D o ścięciu $d = 4 \mu\text{m}$ z pokryciem niemagnetycznym dla kilku temperatur

Table 6.1. The Verdet's parameter V for the D-type optical fibre with cutting $d = 4 \mu\text{m}$ (the optical fibre with unmagnetic cover) in some temperatures

	$T = 16^\circ\text{C}$	$T = 42^\circ\text{C}$	$T = 54^\circ\text{C}$	$T = 65^\circ\text{C}$
$V [\text{rad T}^{-1} \text{m}^{-1}]$	3,09	6,62	8,26	9,80

Na uwagę zasługuje zbieżność otrzymanych wyników (tab. 6.1) z danymi z literatury [90–92], gdzie podana wartość stałej Verdet dla szkła krzemionkowych wynosi od 2 do 3,5 rad/Tm w zależności od składu szkła.

Światłowod typu D, jak pokazują analizy teoretyczne zaprezentowane w rozdziale 4, jest światłowodem mającym dwójłomność wynikającą z asymetrycznej geometrii struktury (tab. 4.1). Parametrem charakteryzującym dwójłomność jest tzw. droga zdudnień opisana zależnością (4.10). Eksperymentalnie parametr ten wyznaczono z wykorzystaniem metody i stanowiska opisanego w poprzednim punkcie (rys. 5.5 i rys. 5.6). Wartość drogi zdudnień dla tego włókna optycznego wyniosła

$$L_b = 54,4 (25) \text{ mm}$$

Starano się również określić współczynnik tłumienia tych światłowodów. Tłumienie włókien zmierzono tzw. metodą odcięcia włókna. Metoda ta polega na zmierzeniu

natężenia światła transmitowanego przez długi i krótki odcinek włókna z zachowaniem warunków pobudzenia (po wykonaniu pomiaru natężenia na końcu długiego fragmentu włókna odcina się część włókna, pozostawiając krótki fragment, który następnie jest mierzony). Otrzymane wyniki umożliwiły określenie tłumienia na poziomie 2,4 dB/km. Można przyjąć, że tłumienność tych włókien zawiera się w tym przedziale. Z informacji uzyskanej od producenta wynika, że tłumienność tych światłowodów jest większa od 1 dB/km.

6.2. ŚWIATŁOWODY Z POKRYCIEM MAGNETYCZNYM

W ramach przeprowadzonych badań starano się wyjaśnić wpływ magnetycznych pokryw światłowodów na ich właściwości magnetoptyczne. W tym celu zostały wykonane światłowodów typu D oraz światłowodów cylindryczne, które w procesie produkcji pokryto warstwą gumy silikonowej z drobinami magnetycznego niklu (Producenem światłowodów jest Pracownia Technologii Światłowodów UMCS w Lublinie).

W zewnętrznym polu magnetycznym drobiny niklu podlegają oddziaływaniu, które wywołuje zmiany właściwości pokrycia (guma silikonowa). W rezultacie, jak wykazano w części teoretycznej, zmienia się dwójłomność liniowa włókna (którą w światłowodach charakteryzuje np. droga zdudnień). Celem tych badań było wyznaczenie zmian właściwości polaryzacyjnych włókna pokrytego gumą silikonową z drobinami niklu w funkcji zewnętrznego pola magnetycznego.

6.2.1. POKRYCIE ŚWIATŁOWODU Z GUMY SILIKONOWEJ Z DROBINAMI NIKLU

Nikiel jest jednym z trzech podstawowych pierwiastków, które w postaci krystalicznej wykazują właściwości ferromagnetyczne w temperaturze pokojowej. Temperatura Curie niklu wynosi $T_C = 358\text{ }^{\circ}\text{C}$. Krystalizuje on w układzie regularnym płasko centrowanym o stałej sieci $3,53\text{ }\text{\AA}$. Nikiel w formie litej jest materiałem ferromagnetycznie miękkim, tzn. że ma wąską pętlę histerezy. Ma zatem niewielkie pole koercji $H_K = 1,4 \cdot 10^2\text{ A/m}$.

Nikiel podobnie jak i inne ferromagnetyki ma właściwości magnetostrykcyjne. Magnetostrykcja jest zjawiskiem zmian rozmiarów liniowych (a co za tym idzie również zmian objętości) ciała w zewnętrznym polu magnetycznym. Zjawisko to jest ściśle związane ze strukturą domenową materiału i ulega nasyceniu przy bardzo dużych polach magnetycznych (podobnie jak w ferromagnetyzmie). W wartościach pól odpowiadających nasyceniu tego efektu, względne zmiany rozmiarów liniowych wynoszą $\Delta l/l = 10^{-6} - 10^{-4}$. W niklu nasycenie jest osiągane dla zmian rozmiarów na poziomie $\Delta l/l \sim 4 \cdot 10^{-5}$. Fizyczny mechanizm zjawiska magnetostrykcji przedstawiono w pracach [93] (i nie będzie tu analizowany).

Sproszkowany materiał ferromagnetyczny ma inne właściwości magnetyczne niż materiał objętościowy. Wynika to z faktu, iż procesy magnesowania zależą od wielkości cząstek. Podczas zmniejszania rozmiarów drobin procesy te zachodzą coraz

trudniej. Skutkiem jest wzrost pola koercji H_K , a co za tym idzie również pola remanencji B_R . Zmniejszanie rozmiarów drobin poniżej 10 μm powoduje wzrost pola koercji H_K o kilka rzędów [94]. Pole remanencji rośnie wówczas kilkakrotnie. Przyczyną takiego zachowania się coraz mniejszych drobin jest wzrost gęstości energii ścian Blocha [65]. Przemieszczanie się tych ścian w procesie magnesowania jest utrudnione. Dla rozmiarów od 1 do 10 μm drobin mogą wykazywać strukturę jednodomenową. Pole remanencji pojedynczej drobin jest wówczas zbliżone do wartości B_N odpowiadającej nasyceniu H_N [95]. Z tej przyczyny w zewnętrznym polu magnetycznym następuje obrót drobin jednodomenowej, na którą działa moment siły [99]. Jeśli takie drobin zostanę umieszczone w gumie silikonowej, to działające na nie momenty sił ze strony zewnętrznego pola, usiłujące drobin obrócić, wywołują naprężenia i deformacje gumy silikonowej. Naprężona guma zmienia swoje właściwości optyczne w wyniku tzw. efektu elastooptycznego. W elastooptyce stosuje się tzw. stałą elastooptyczną C [96]:

$$\Delta n = C(\tau_1 - \tau_2) \quad (6.1)$$

gdzie τ_1 i τ_2 są odkształceniami głównymi. Powstałe odkształcenia i naprężenia w gumie silikonowej wywołują dwójłomność opisaną zależnością (6.1). Jak wykazał Kerr [24], oba współczynniki załamania fal własnych ośrodka poddanego odkształceniom są większe od współczynnika załamania ośrodka nieobciążonego. Dotyczy to ośrodków izotropowych optycznie. Współczynnik elastooptyczny gumy silikonowej (wg literatury [97]) zawiera się w granicach $C = (0,34-2,23) \cdot 10^{-9} \text{ Pa}^{-1}$ (Dla porównania szkło krzemionkowe ma stałą elastooptyczną równą $C = 4,19 \cdot 10^{-12} \text{ Pa}^{-1}$). Niestety nie udało się wyznaczyć współczynnika elastooptycznego gumy silikonowej eksperymentalnie. (Autorzy nie mieli odpowiedniej ilości gumy silikonowej, tak aby można było wytworzyć próbkę o rozmiarach umożliwiających pomiar stałej elastooptycznej na komercyjnym stanowisku do pomiarów elastooptycznych [24, 96].

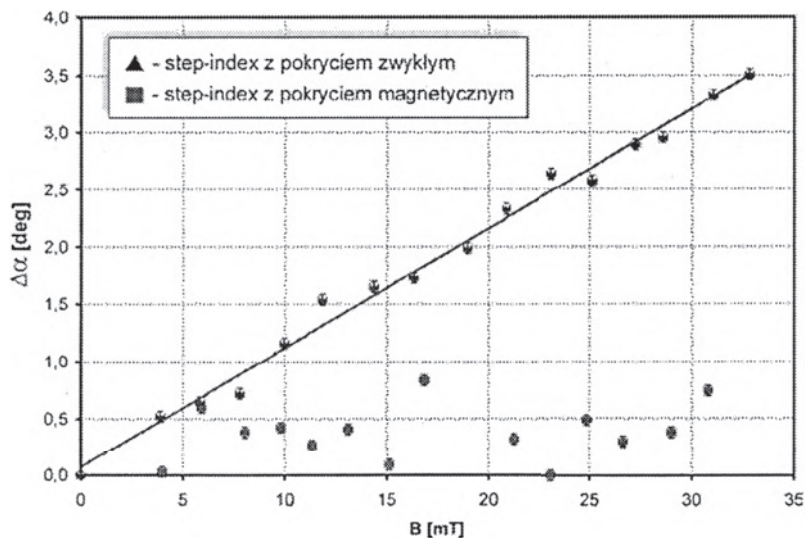
6.3. WYNIKI EKSPERYMENTALNE BADAŃ ŚWIATŁOWODÓW Z POKRYCIEM MAGNETYCZNYM

Światłowodowy typu D z pokryciem w postaci gumy silikonowej z drobinami niklu poddano badaniom magnetoptycznym na stanowisku z rysunku 5.1.

W pierwszej kolejności przeprowadzono eksperymenty na tych samych światłowodach typu „step-index” o pełnej symetrii cylindrycznej, lecz z pokryciem magnetycznym (guma silikonowa z drobinami niklu) oraz z pokryciem zwykłym (guma silikonowa). Zgodnie z informacją podaną przez producenta światłowodów, koncentracja objętościowa drobin niklu w gumie silikonowej wynosi mniej niż $\Delta V_M/V_{gs} = 10^{-3}$. Wyniki tych badań wykazały niewrażliwość światłowodów typu „step-index” z po-

kryciem magnetycznym na zewnętrzne pole magnetyczne (rys. 6.7). Przebieg charakterystyki przedstawionej na tym rysunku świadczy o ekranowaniu pola magnetycznego przez pokrycie magnetyczne. Światłowód o takiej samej strukturze typu D pozbawiony drobin niklu wykazywał bardzo wyraźnie skręcenie płaszczyzny polaryzacji w skutek efektu Faradaya.

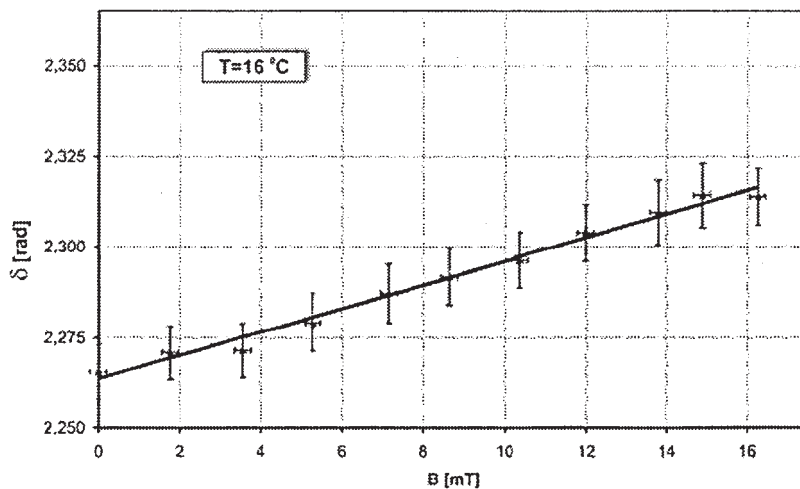
Na podstawie tych wyników eksperymentalnych założono niewrażliwość struktur typu D z pokryciem magnetycznym na tzw. efekt Faradaya. Pozostaje do wyjaśnienia udział efektu elastooptycznego w gumie silikonowej na zmianę dwójłomności liniowej włókna. Dwójłomność liniowa wywołuje przesunięcie w fazie między ortogonalnymi modami polaryzacyjnymi ośrodka. Uzasadnione jest zatem przedstawienie wyników pomiarów jako różnicy fazy δ między ortogonalnymi modami polaryzacyjnymi w funkcji zewnętrznego pola magnetycznego B . Wartość kąta δ została wyznaczona na podstawie wyrażenia (5.3) z wykorzystaniem opracowanego programu numerycznego.



Rys. 6.7. Skręcenie płaszczyzny polaryzacji w funkcji zewnętrznego pola magnetycznego B dla światłowodów cylindrycznych typu „step-index” z pokryciem z gumy silikonowej oraz „step-index” z pokryciem z gumy silikonowej z drobinami niklu

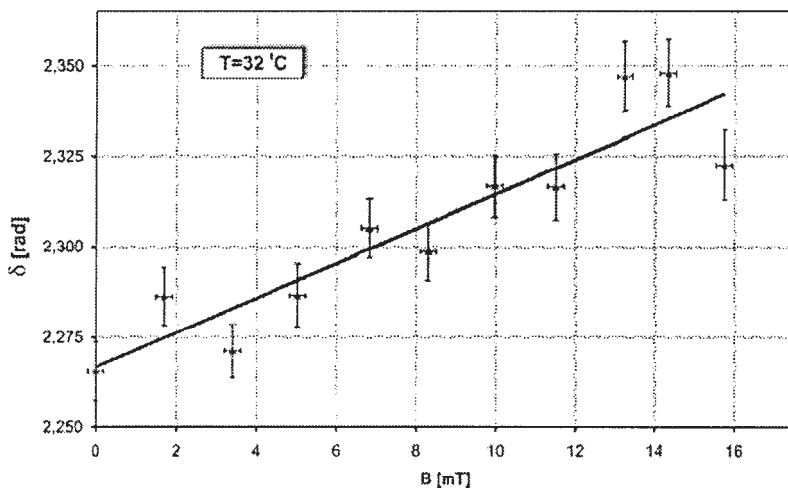
Fig. 6.7. Twisting of the plate of polarization as a function of external magnetic field B : the cylindrical optical fibre of step-index type with organo-silicon cover and for the optical fibre of step-index type where in the organo-silicon cover nickel particles are located

Na rysunkach (6.8–6.10) przedstawiono wyniki pomiarów magnetoptycznych dla kilku różnych temperatur światłowodów specjalnych typu D z pokryciem magnetycznym o odległości ścięcia $d = 4 \mu\text{m}$.



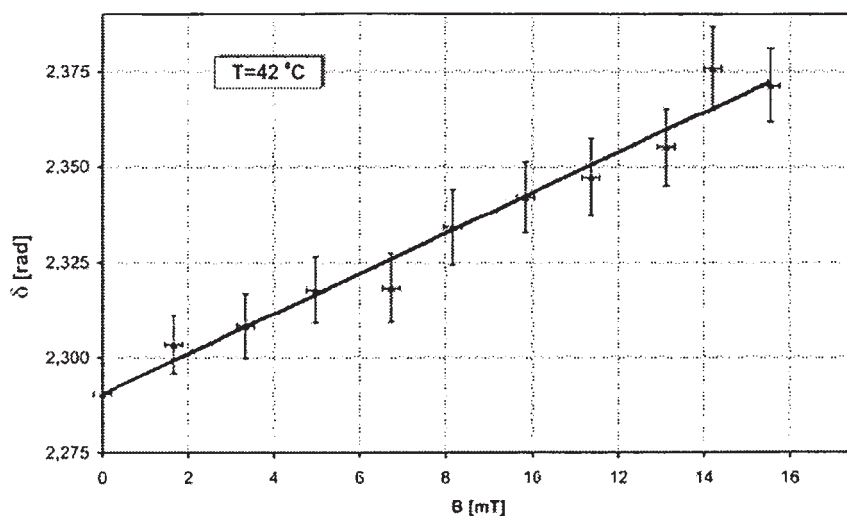
Rys. 6.8. Zależność różnicy fazy między ortogonalnymi modami polaryzacyjnymi w funkcji indukcji pola magnetycznego przy $T = 16\text{ }^{\circ}\text{C}$ dla światłowodu typu D z pokryciem magnetycznym o ścięciu $d = 4\text{ }\mu\text{m}$

Fig. 6.8. Dependence of the phase difference of the orthogonal modes between external magnetic field (in temp. $T = 16\text{ }^{\circ}\text{C}$) for the D-type optical fibre with cutting $d = 4\text{ }\mu\text{m}$ (the optical fibre with magnetic cover)



Rys. 6.9. Zależność różnicy fazy między ortogonalnymi modami polaryzacyjnymi w funkcji indukcji pola magnetycznego przy $T = 32\text{ }^{\circ}\text{C}$ dla światłowodu typu D z pokryciem magnetycznym o ścięciu $d = 4\text{ }\mu\text{m}$

Fig. 6.9. Dependence of the phase difference between the orthogonal modes in external magnetic field (in temp. $T = 32\text{ }^{\circ}\text{C}$) for the D-type optical fibre with cutting $d = 4\text{ }\mu\text{m}$ (the optical fibre with magnetic cover)



Rys. 6.10. Zależność różnicy fazy między ortogonalnymi modami polaryzacyjnymi w funkcji indukcji pola magnetycznego przy $T = 42\text{ }^{\circ}\text{C}$ dla światłowodu typu D z pokryciem magnetycznym o ścięciu $d = 4\text{ }\mu\text{m}$

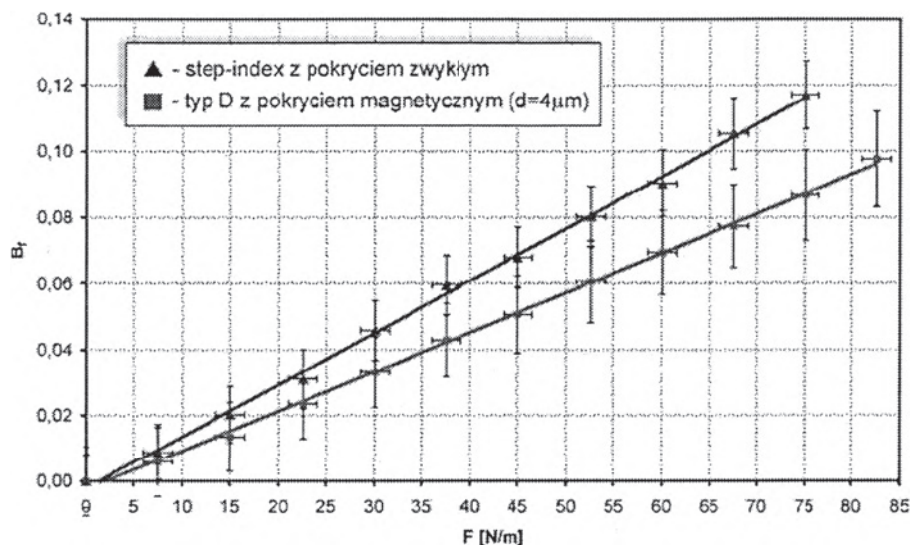
Fig. 6.10. Dependence of the phase difference between the orthogonal modes in external magnetic field (in temp. $T = 42\text{ }^{\circ}\text{C}$) for the D-type optical fibre with cutting $d = 4\text{ }\mu\text{m}$ (the optical fibre with magnetic cover)

Wyniki te wskazują wzrost czułości włókna na działanie zewnętrznego pola magnetycznego wraz ze wzrostem temperatury. Warto również zauważyć, że dla $B = 0$ wartość różnicy fazy δ rośnie wraz ze wzrostem temperatury. Świadczy to o wzroście współczynnika załamania pokrycia wskutek efektu elastooptycznego. Stan naprężenia w gumie silikonowej oraz jej deformacja zmienia się w funkcji temperatury. Zachowanie takie można tłumaczyć temperaturową zmianą właściwości elastycznych gumy silikonowej, a także różnicą rozszerzalności cieplnej niklu i gumy silikonowej, co wszystko w rezultacie prowadzi do powstania naprężeń wewnątrz gumy silikonowej. Nie bez znaczenia na przebieg tych zjawisk ma również zależność namagnesowania drobin niklu od temperatury.

Światłowody włókniste standardowe (niedwójłomne) są wrażliwe nawet na niewielkie naprężenia mechaniczne, powodujące indukowaną dwójłomność liniową (zginanie, ściskanie, rozciąganie), a także kołową (skręcanie) [11, 29].

Analizowane struktury typu D mają niewielką dwójłomność liniową, jak wynika z analiz teoretycznych (tab. 4.2) i wyników eksperymentalnych (punkt 6.1). Istotne zatem staje się pytanie, w jakim stopniu są wrażliwe na zewnętrzne naprężenie. W związku z tym światłowody te poddano badaniom anizotropowego ściskania na stanowisku z rysunków 5.7 i 5.8. Otrzymane wyniki wykazały niższą wrażliwość na naprężenia mechaniczne światłowodów specjalnych typu D z pokryciem magne-

tycznym od wrażliwości światłowodów typu „step-index”, które również badano na tym stanowisku (rys. 6.11).



Rys. 6.11. Anizotropowe ściskanie włókna typu D z pokryciem magnetycznym ($d = 4 \mu\text{m}$) oraz włókna standardowego typu „step-index” (F – siła na jednostkę długości włókna; B_f – dwójłomność)

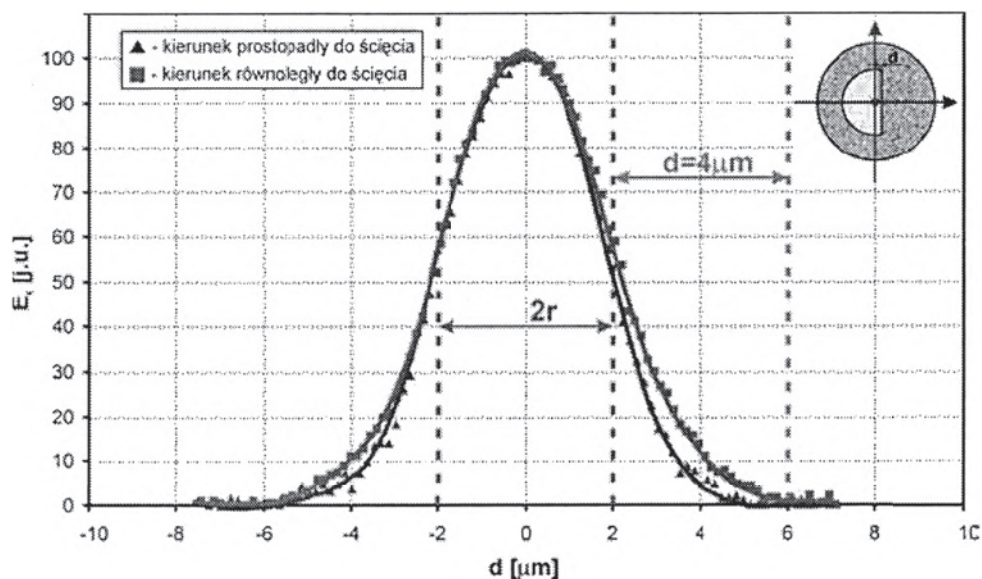
Fig. 6.11. Anisotropic compression of: the D-type optical fibres with magnetic cover ($d = 4 \mu\text{m}$) and the standard optical fibre of step-index type (F – force on unity of the fiber; B_f – birefringence of the fibres)

6.4. BADANIE ROZKŁADU PÓŁ MODOWYCH ŚWIATŁOWODÓW SPECJALNYCH TYPU D

Na etapie projektowania struktury typu D założono, że pole zanikające fali świetlnej będzie penetrowało obszar pokrycia włókna od strony ścięcia. Wstępne analizy przedstawione w rozdziale czwartym wykazały, że właściwości pokrycia wpływają na propagację wiązki w światłowodzie typu D. Wyznaczony rozkład pola potwierdza wyraźnie wnikanie pola fali do pokrycia (rys. 4.8–4.10, 4.14). Eksperymentalnie wyznaczony rozkład pola prezentuje rysunek 6.12 oraz 6.13. Na rysunku 6.13 dla porównania przedstawiono również rozkład pola modu dla włókna o ścięciu $d = 10,4 \mu\text{m}$. Na wykresie tym widać, że pole zanikające fali świetlnej nie penetruje pokrycia, które znajduje się za daleko od płaszczyzny ścięcia włókna.

Na wykresie (rys. 6.12) przedstawiono rozkłady pola modu TE światłowodu o ścięciu $d = 4 \mu\text{m}$ dla dwóch kierunków. Pierwszy dla kierunku równoległego do ścięcia płaszcza i przechodzącego przez środek rdzenia (punkty zaznaczone kwadratami); drugi rozkład jest wykonany dla kierunku prostopadłego do ścięcia płaszcza i również przechodzącego przez środek rdzenia (punkty zaznaczone trójkątami). Roz-

kład pola w kierunku równoległym do ścieżki jest symetryczny względem osi włókna, natomiast rozkład w kierunku prostopadłym odbiega od symetrii osiowej. Pole w tym kierunku wyraźnie szybciej zanika od strony ścieżki. Jest to spowodowane obecnością granicy ścieżki płaszcz–pokrycie. Ilościowe porównanie wyników eksperymentalnych z obliczeniami nie jest możliwe. Ze względu na różnicę twardości gumy silikonowej i szkła krzemionkowego czoło, przyciętego do pomiarów włókna, charakteryzuje się dużą liczbą defektów w obszarze pokrycia.



Rys. 6.12. Rozkład pola modu TE zerowego rzędu dla włókna z pokryciem magnetycznym o ścieżki $d = 4 \mu\text{m}$

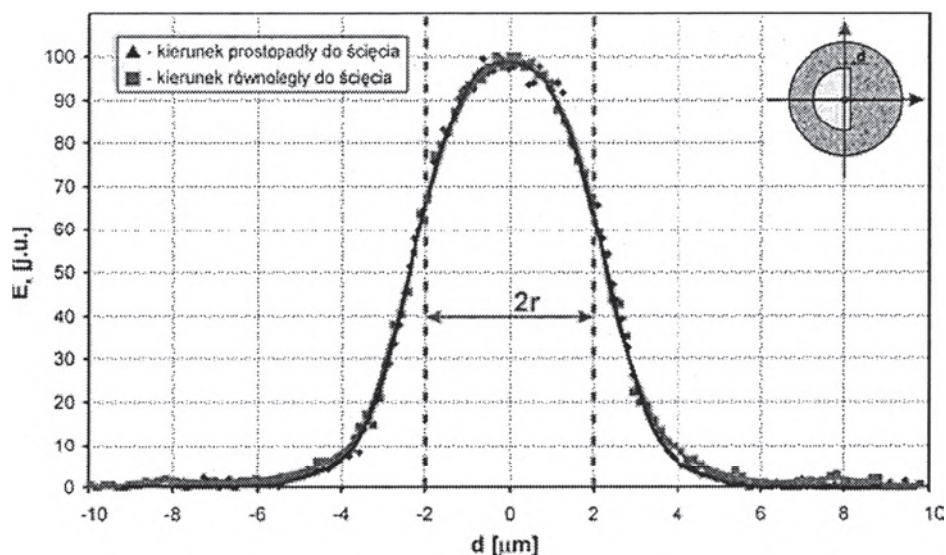
Fig. 6.12. Distribution of field of the zero-order TE mode for the D-type optical fibre with magnetic cover ($d = 4 \mu\text{m}$)

W procesie cięcia na końcówce włókna pokrycie silikonowe ulega zniszczeniu i odklejeniu od płaszcza. Z tych powodów nie wykonano również pomiarów rozkładu pola w funkcji pola magnetycznego B.

Z przeprowadzonych badań wynika, że światłowody typu D miałyby znacznie lepsze właściwości magnetoptyczne, gdyby odległość d ścieżki była mniejsza od $4 \mu\text{m}$.

W ramach pracy doktorskiej przeprowadzono pomiary drogi zdudnień oraz tłumienia światłowodów typu D z pokryciem magnetycznym. Droga zdudnień dla włókna o ścieżki $d = 4 \mu\text{m}$ wyniosła

$$L_b = 41,0 \text{ (25) mm}$$



Rys. 6.13. Rozkład pola modu TE zerowego rzędu dla włókna z pokryciem magnetycznym o ścieżki $d = 10,4 \mu\text{m}$

Fig. 6.13. Distribution of field of the zero-order TE mode for the D-type optical fibre with magnetic cover ($d = 10,4 \mu\text{m}$)

Porównując z analizami teoretycznymi (tab. 4.2) wynik ten jest nieznacznie większy, wartość obliczona bowiem wyniosła $L_b = 36,05 \text{ mm}$.

Do wyznaczenia tłumienia dysponowano włóknem o długości 20 m. Długość ta okazała się wystarczająca do wyznaczenia tłumienia światłowodu metodą odcięcia (w trakcie pomiaru odcięto 18 m włókna). Współczynnik tłumienia światłowodu typu D z pokryciem magnetycznym o ścieżki $d = 4 \mu\text{m}$ wyniósł

$$A(\lambda = 670 \text{ nm}) = 14,5 \text{ (23) dB/km}$$

Dla światłowodów specjalnych jest to wielkość stosunkowo nieduża. Współczesne światłowody telekomunikacyjne mają tłumienie na poziomie ułamków dB/km (przy długości fali $1,55 \mu\text{m}$). Światłowody specjalne, dwójłomne, fotoniczne itp. charakteryzują się tłumiennościami na poziomie kilku dB/km [97–99]. Dla zastosowań czujnikowych, gdzie włókno sensorowe ma długości pojedynczych metrów, otrzymana wartość współczynnika tłumienia jest zadowalająca.

6.5. ANALIZA NIEPEWNOŚCI POMIAROWYCH

Przedstawione wyniki badań eksperymentalnych zostały otrzymane z wykorzystaniem opracowanych na potrzeby realizacji niniejszych stanowisk pomiarowych. Sta-

nowiska te były w pełni zautomatyzowane, co między innymi miało ograniczyć subiektywny udział obserwatora w otrzymanych wynikach. Proces pomiarowy był sterowany przez komputer pomiarowy, z wykorzystaniem odpowiedniego programu numerycznego.

Zaznaczone na wykresach z rysunków 6.1–6.15 niepewności wyznaczenia indukcji magnetycznej wynikały z dokładności pomiaru prądu zasilającego cewkę. Dokładność ta wynosiła $\pm 2\%$ w stosunku do zakresu 20 A. Punkty pomiarowe zostały programowo wyznaczone jako wartości średnie z kilkunastu pomiarów. Cykl pomiarowy najczęściej prowadzony był kilkakrotnie, a punkty były wyznaczone zarówno dla wzrastających wartości indukcji pola magnetycznego, jak również następnie, po osiągnięciu wartości maksymalnych, dla malejących. Zaznaczona na wykresach wartość skrócenia płaszczyzny polaryzacji $\Delta\alpha$ jest wyznaczona jako wartość średnia. Jej niepewność jest odchyleniem standardowym tej wartości. Tak wyznaczona niepewność nie przekraczała $\pm 3\%$ wyznaczonej wartości kąta $\Delta\alpha$ skrócenia płaszczyzny polaryzacji. Zdarzało się w trakcie badań, że w ramach danej serii pomiarowej otrzymany punkt odbiegał istotnie od wartości spodziewanej. Zdaniem autora, wynikało to z wrażliwości efektów polaryzacyjnych w światłowodach o niskiej dwójłomności od przypadkowych, zewnętrznych czynników (np. przypadkowych, niekontrolowanych zgięć i naprężeń) występujących w trakcie procesu pomiarowego. Uwaga ta przede wszystkim dotyczy światłowodów typu D z pokryciem magnetycznym.

Zaznaczone na wykresach charakterystyk $\delta = f(B)$ (rys. 6.8–6.10) wartości różnicy faz δ zostały również wyznaczone jako wartość średnia z kilkunastu pomiarów. Jej niepewność jest odchyleniem standardowym tej wartości.

Szczególnie w pomiarach światłowodów typu D z pokryciem magnetycznym na charakterystykach $\delta = f(B)$ pojawiły się punkty istotnie różniące się od wartości oczekiwanych.

Zgodnie z teorią, magnetoptyczny efekt Faraday'a ma charakter liniowy. Charakterystyki eksperymentalne zostały wyznaczone metodą regresji liniowej. Wyznaczone w pracy wartości stałej Verdet (tab. 6.1) były wyznaczone jako wartości średnie wielu pomiarów. Jako miarę ich niepewności stosowano odchylenie standardowe wartości średniej. Wyznaczone w ten sposób niepewności (odniesione do wartości średniej) nie przekraczały $\pm 3\%$.

Droga zdudnień L_b , badanych w ramach rozprawy, światłowodów wynosiła około 50 mm. Podane w pracy wartości były również wyznaczane na podstawie wielu pomiarów i mają charakter wartości średnich. Ich niepewność jest wyznaczona jako odchylenie standardowe i nie przekraczała $\pm 3\%$.

Wartości tłumienia światła w badanych światłowodach specjalnych mają charakter jedynie wielkości orientacyjnych. Autorzy nie dysponowali specjalistycznymi urządzeniami pomiarowymi do wyznaczenia tłumienia we włóknach światłowodowych. Tłumienie było wyznaczone przez pomiar natężenia światła w tym samym światłowodzie dla różnych jego długości. Badane w pracy włókna specjalne typu D miały od-

ćinki rzędu 20 m. Badano tłumienie w odcinkach różniących się od siebie o kilkanaście metrów. Różnice natężenia światła były niewielkie. Stąd podane wartości tłumienia w światłowodach są jedynie wielkościami szacunkowymi. Są jednak w przybliżeniu zgodne z wartościami podawanymi przez ich producenta.

6.6. WNIOSKI Z PRZEPROWADZONYCH BADAŃ

W wyniku przeprowadzonych badań można stwierdzić, że światłowody typu D (bez pokrycia magnetycznego) charakteryzują się dobrą czułością na działanie zewnętrznego pola magnetycznego. Skręcenie płaszczyzny polaryzacji w zewnętrznym polu magnetycznym, charakteryzowane stałą Verdet, wynosi około $5 \text{ rad T}^{-1} \text{ m}^{-1}$. Czułość ta jest wyższa niż dla światłowodów cylindrycznych (typu „step-index”) oraz wyższa niż dla szkła krzemionkowego (tab. 2.1). Można oczekiwać, że czułość magnetoptyczna byłaby jeszcze większa dla ścięcia płaszcza bliższego rdzeniu światłowodu. W badanych światłowodach najmniejsza odległość od rdzenia wynosiła $d = 4 \text{ }\mu\text{m}$. Szacunkowe analizy wykazują, że włókno miałoby większą wrażliwość magnetoptyczną dla $d \approx 2 \text{ }\mu\text{m}$. Na światłowody typu D w znacznie mniejszym stopniu działają przypadkowe zakłócenia zewnętrzne związane z przypadkowymi naprężeniami i deformacjami włókien. Jest to bardzo ważna i bardzo wartościowa właściwość badanych włókien typu D. Światłowody te jednak są wrażliwe na działanie temperatury. W zakresie temperatur $16\text{--}65 \text{ }^{\circ}\text{C}$ wartość stałej Verdet zmieniała się ponadtrzykrotnie. W kontekście przyszłych praktycznych zastosowań jest to właściwość niekorzystna, konieczna wymagająca uwzględnienia. Światłowody typu D z pokryciem magnetycznym przy względnej koncentracji objętościowej drobin niklu na poziomie $\delta V = 10^{-3}$ w pokryciu wykazywały niezwykle małą wrażliwość magnetoptyczną. Równocześnie były bardzo wrażliwe na działanie czynników zewnętrznych.

Zewnętrzne pole magnetyczne w światłowodach typu D z pokryciem magnetycznym, w wyniku działania na drobiny Ni, wywoływało dodatkową dwójłomność powodowaną naprężeniami we włóknie (efekt elastooptyczny). Efekty te miały jednak charakter przypadkowy, ponadto zmienny w czasie.

Na podstawie przeprowadzonych pomiarów wydaje się, że domieszkowanie gumy silikonowej pokrycia światłowodowego materiałami ferromagnetycznymi nie umożliwi otrzymania światłowodu o satysfakcjonujących właściwościach magnetoptycznych.

W podsumowaniu badań eksperymentalnych można stwierdzić, że światłowody typu D (bez pokrycia magnetycznego) są atrakcyjne dla zastosowań w badaniach pól magnetycznych o dużym natężeniu. Aktualnie prowadzone są badania testujące opracowanego demonstratora na podstawie magnetoptycznego czujnika światłowodowego do pomiaru pól magnetycznych w maszynach elektrycznych średniej mocy.

LITERATURA

- [1] Pustelny T., *Physical and Technical Aspects of Optoelectronics Sensors*, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice, 2005.
- [2] Mościcka-Grzesiak H., *Inżynieria wysokich napięć w elektroenergetyce*, Wyd. Politech. Poznańskiej, Poznań, 1999.
- [3] Papp A., Harms H., *Magneto-optical current transformer*. 1: Principles, Applied Optics, Vol. 19, No. 22, 3729–3734, 1980.
- [4] Kersey A.D., Corke M., Jackson D.A., Jones J.D.C., *Detection of DC and low-frequency AC magnetic fields using an all single-mode fibre magnetometer*, Electronics Letter, Vol. 19, No. 13, 469–471, 1983.
- [5] Jarzyński J., Cole J.H., Bucaro J.A., Davis C.M. Jr., *Magnetic field sensitivity of an optical fiber with magnetostrictive jackets*, Applied Optics, Vol. 19, No. 22, 3746–3748, 1980.
- [6] Sobczyk L., *Metody elektrooptyczne i magneto-optyczne*, PWN, Warszawa, 1983.
- [7] Wang Z.P., Zhang S.Q., Zhang L.B., *Recent advances in optical current-sensing techniques*, Sensors and Actuators, A 50, 169–175, 1995.
- [8] Day G.W., Etzel S., *Annealing of bend induced birefringence in fiber current sensors*, Tech. Digest, Int. Conf. Integrated Optics Optical Fiber Commun. – European Conf. Optical Commun., Venice, 871–874, 1985.
- [9] Barmenkov Y.O., Mendoza-Santoyo F., *Faraday plasma current sensor with compensation for reciprocal birefringence induced by mechanical perturbations*, Journal of Applied Research and Technology, Vol. 1, No. 2, 157–163, 2003.
- [10] Cancellieri G., *Single-mode optical fiber measurement: characterization and sensing*, Artech House Inc., Norwood, 1993.
- [11] Woliński T.R., *Polarimetric optical fibers and sensors*, E. Wolf, Progres in Optics XL, Elsevier Science, 2000.
- [12] Roszko M., Auguściuk E., Tabędzka K., Uszyński M., *Detekcja drgań wibroakustycznych z wykorzystaniem światłowodowego czujnika polarymetrycznego*, Światłowody i ich zastosowanie Konf., Tal 2003, Krasnobród, 730–735, 2003.
- [13] Liu G., Chuang S., *Polarimetric optical fiber weight sensor*, Sensors and Actuators, A 69, 143–147, 1998.
- [14] Gafsi R., Malki A., Ahdad F., Lecoy P., Bures J., *Static stress optical-fiber sensor*, Sensors and Actuators, A 62, 501–505, 1997.
- [15] Domański A.W., Górecki A., Karpierz M., Sierakowski M., Świlło M., Woliński T.R., *Światłowodowy czujnik polarymetryczny w zastosowaniu do pomiaru dynamicznych naprężeń mechanicznych*, Światłowody i ich zastosowanie, Konf., Tal 2003, Krasnobród, 85–89, 2003.
- [16] Kawano K., Kitoh T., *Introduction to optical waveguide analysis*, John Wiley & Sons, 2001.
- [17] Shurcliff W.A., Ballard S.S., *Światło spolaryzowane*, PWN, Warszawa, 1968.
- [18] Ratajczyk F., *Dwójtność i polaryzacja optyczna*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław, 2000.
- [19] Kleszczewski Z., *Wybrane zagadnienia z optyki falowej*, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice, 2003.
- [20] Domański A.W., *Propagacja światła częściowo spolaryzowanego w ośrodkach dwójtnych*, Ofic. Wyd. Politechniki Warszawskiej, Warszawa, 2005.
- [21] Jones R.C., *New calculus for the treatment of optical systems I. Description and discussion of the calculus*, Journal of the Optical Society of America, Vol. 31, 488–493, 1941.
- [22] Szczeniowski Sz., *Fizyka doświadczalna. Tom IV. Optyka*, PWN, Warszawa, 1963.

- [23] Narasimhamurty T.S., *Photoelastic and Electrooptic properties of crystals*, Osmania University, Hyderabad India, Plenum Press, New York and London, 1981.
- [24] Pindera J.T., *Zarys elastooptyki*, PWT, Warszawa, 1953.
- [25] Born M., *Optik. Ein Lehrbuch der elektromagnetischen Lichttheorie*, Springer Verlag, Berlin, Heilderberg, New York, 1960.
- [26] Pustelny T., Barczak K., Tyszkiewicz C., *Magneto optic Effects and Possibility Their Aplication For Fiber Optic Sensor Technique*, Molecular and Quantum Acoustic, Vol. XXI, 2000.
- [27] *Encyklopedia fizyki współczesnej*, PWN, Warszawa, 1983.
- [28] Smoliński A., *Optoelektronika światłowodowa*, WKŁ, Warszawa, 1985.
- [29] Szustakowski M., *Elementy techniki światłowodowej*, WNT, Warszawa, 1992.
- [30] Majewski A., *Teoria i projektowanie światłowodów*, WNT, Warszawa, 1991.
- [31] Siuzdak J., *Wstęp do współczesnej telekomunikacji światłowodowej*, Wyd. Komunikacji i Łączności, Warszawa, 1997.
- [32] Pustelny T., Tyszkiewicz C., Barczak K., *Fiber Optic Magnetic Field Sensor*, Molecular and Quantum Acoustic, Vol. XXI, 2000.
- [33] Pustelny T., Barczak K., Tyszkiewicz C., *Światłowodowy czujnik pola magnetycznego*, COE'2002, Rzeszów, Vol. VI, 2002.
- [34] Pustelny T., Tyszkiewicz C., Barczak K., *Optical Fiber Sensors for Magnetic fidel Measurements*, Proc. of SPIE, COE'2002, Rzeszów, 2002.
- [35] Pustelny T., Tyszkiewicz C., Barczak K., *Optical Fiber Sensor of Magnetic Field Applaying Faraday's Effect*, Optica Applicata, 2003.
- [36] Pustelny T., Barczak K., Wójcik J., Gut K., *Special optical fiber type D applied in optical sensor of electric currents*, Optica Applicata, Vol. XXXIV, No. 4, 2004.
- [37] Barczak K., Pustelny T., *D-type fibers for magnetic field sensing – theoretical analysis*, Proc. of SPIE, Vol. 5956, 2005.
- [38] Barczak K., Pustelny T., Wójcik J., Gut K., *Światłowodowy specjalne typu D dla zastosowań w optycznych czujnikach prądu i pola magnetycznego*, Światłowodowy i ich zastosowanie, Konf. Tal 2003, Krasnobród, 279–286, 2003.
- [39] Midwinter J.E., *Światłowodowy telekomunikacyjne*, WNT, Warszawa, 1983.
- [40] Dorosz J., *Technologia światłowodów włóknistych*, Wydawnictwa Politechniki Białostockiej, 2005.
- [41] Opilski A., *Laboratorium optoelektroniki światłowodowej*, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice, 2002.
- [42] Petykiewicz J., *Podstawy fizyczne optyki scalonej*, PWN, Warszawa, 1998.
- [43] Sedlar M., Matejec V., Paulicka I., *Optical fiber magnetic filed sensors using ceramic magnetostrictive jackets*, Sensors and Actuators, Vol. 84, 297–302, 2000.
- [44] Bibby Y.W., Larson D.C., Tyagi S., Bobb L.C., *Fiber Optic Magnetic Fidel Sensors Using Matalic-Glass-Coated*, Optical Fibers, 8th Optical Fiber Sensors Conference, IEEE (New York), 161–164, 1991.
- [45] Dandridge A., Tveten A.B., Siegel G.H. Jr, West E.J., Giallorenzi T.G., *Optical fiber magnetic field sensors*, Electronics Letter, Vol. 16, No. 11, 408–409, 1980.
- [46] Deeter M.N., *Fiber-optic Faraday-effect magnetic-field sensor based on flux concentrators*, Applied Optics, Vol. 35, 154–157, 1996.
- [47] Heredero R.L., de Caley R.F., Guerrero H., Santos P.L., Cruz Acero M., Esteve J., *Micromachined optical fiber current sensor*, Applied Optics, Vol. 38, No. 25, 5298–5305, 1999.
- [48] Fabin L., Vohra T., Bucholtz F., *Multiplexed Low-Frequency Electric and Magnetic Field Fiber Optic Sensors*, Optical Fiber Technology, Vol. 2, 106–113, 1996.
- [49] Veaser L.R., Day G.W., *Faraday Effect Current Sensing Using a Sagnac Interferometer with a 3×3 Coupler*, 7th Optical Fibre Sensor Conference, Australia, 325–328, 1990.

- [50] Aulich H., Beck W., Douklias N., Harms H., Papp A., Schneider H., *Magneto-optical current transformer. 2: Components*, Applied Optics, Vol. 19, No. 22, 3735–3740, 1980.
- [51] Harms H., Papp A., *Magneto-optical current transformer. 3: Measurements*, Applied Optics, Vol. 19, No. 22, 3741–3745, 1980.
- [52] Jones R.E., Willson J.P., Pitt G.D., Pratt R.H., Foulds K.W.H., Batchelder D.N., *Detection techniques for measurement of DC magnetic fields using optical fiber sensors*, IEEE Conference, OFS, London, 33–37, 1983.
- [53] United States Patent Duncan et al., Patent No.: US 6,534,977 B1, Mar. 18, 2003.
- [54] Didosyan Y.S., Hauser H., Nicolics J., *Magneto-optical current sensors of high bandwidth*, Sensors and Actuators, Vol. 88, 263–267, 2000.
- [55] Itoh N., Rochford K.B., Minemoto H., Ishizuka S., *High frequency response of optical magnetic field sensors using rare-earth iron garnet films*, Tech. Digest, 13th OFS Conf., 370–373, 1998.
- [56] Zhang H., Kim H.J., *Magnetic and magneto-optical properties of sputtered high Bi-substituted Al/BiGaDyIG double layer thin films*, Vacuum, Vol. 47, No. 2, 201–204, 1996.
- [57] Zhao W., *Magneto-optic properties and sensing performance of garnet YbBi:YIG*, Sensors and Actuators, A 89, 250–254, 2001.
- [58] Didosyan Y.S., Hauser H., Haberl F., *Magneto-optical current transformer of high bandwidth and large temperature range*, Sensors and Actuators, A 92, 67–73, 2001.
- [59] Kurosawa K., Masuda I., *Faraday effect current sensor using flint glass fiber for the sensing element*, Tech. Digest, 9th OFS Conf., Florence, Italy, 415–418, 1993.
- [60] Kurosawa K., *Optical current transducer using flint glass fiber as the Faraday sensor element*, OFS-11, Japan, 134–139, 1996.
- [61] Kurosawa K., *Development and Field Tests of Optical Fiber Sensors for Electric Power Systems*, OFS-7, Australia, 67–72, 1990.
- [62] Pistoni N.C., Martinelli M., *Electric current measurement with a vibration insensitive optical fiber current sensor*, Tech. Digest, 9th OFS Conf., Florence, Italy, 423–426, 1993.
- [63] Pistoni N.C., Martinelli M., *Birefringence Effects Suppression in Optical Fiber Sensor Circuits*, 7th Optical Fibre Sensor Conference, Australia, 125–128, 1990.
- [64] Yamashita T., Watabe A., Masuda I., Sakamoto K., *Extremely Small Stress-Optic Coefficient Glass Single Mode Fibers for Current Sensor*, 11-th OFS Conference, Japan, 168–171, 1996.
- [65] Kittel C., *Wstęp do fizyki ciała stałego*, PWN, 1999.
- [66] Sedlar M., Pust L., *Preparation of Kobalt Doped Nickel Ferrite Thin Films on Optical Fibers by Dip-Coating Technique*, Ceramics International, Vol. 21, 21–27, 1995.
- [67] Sedlar M., Matejec V., Grygar T., Kadlecowa J., *Sol-gel processing and magnetic properties of nickel zinc ferrite thick films*, Ceramics International, 26, 507–512, 2000.
- [68] Kersey A.D., Davis M.A., *All-Fiber Faraday-Rotation Current Sensor with Remote Laser-FM Based Heterodyne Detection*, Springer Proceedings in Physics, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, Vol. 44, 285–290, 1989.
- [69] Ning Y.N., Jackson D.A., *A miniature optical current clamp*, Tech. Digest, 9th OFS Conf., Florence, Italy, 305–308, 1993.
- [70] Fisher N.E., Jackson D.A., Woolsey G.A., *Faraday current sensors and the significance of subtended angles*, Sensors and Actuators, A 63, 119–123, 1997.
- [71] Woolsey G.A., Fisher N.E., Jackson D.A., *Tuning a bulk-glass optical current sensor by controlling conditions external to its reflecting surfaces*, Sensors and Actuators, A 63, 27–32, 1997.
- [72] Li G.D., Aspey R.A., Jones G.R., *White LED based Faraday current sensor using a quartz wavelength encoder*, Optics Communications, 162, 44–48, 1999.
- [73] Zhi Y., Changsheng L., Weidong Z., Xiang C., *A novel multi-function optical fiber sensing system for simultaneous measurement of current and voltage*, SPIE, Vol. 3555, 57–62, 1998.

- [74] Lee B., *Review of the present status of optical fiber sensor*, Optical Fiber Techn., Vol. 9, 57–79, 2003.
- [75] Bohner K., Gabus T.P., Brandle H., *Temperature and Vibration Insensitive Fiber-Optic Current Sensor*, ABB Corporate Research, Baden-Dattwil, Switzerland, 2000.
- [76] Rose A.H., *Annealing Optical Fiber: Applications and Properties*, The American Ceramic Society Bulletin, Vol. 79(3), 40–43, 2000.
- [77] Short S.X., de Arruda J.U., Tselikov A.A., Blake J., *Stable Scale Factor Performance of an In-line Sagnac Interferometer Current Sensor*, 12-th OFS, OSA Technical Digets Series, Vol. 16, 100–103, 1997.
- [78] Rose A.H., Etzel S.M., Rochford K.B., *Electro-Optic Kerr effects in optical fiber current sensors*, 13-th OFS Conference, 354–357, 1998.
- [79] Ahlers H., Bosselmann T., *Complete Polarization Analysis of a Magneto-optic Current Transformer with a New Polarimeter*, 7th Optical Fibre Sensor Conference, Australia, 81–84, 1990.
- [80] Hrabliuk J.D.P., *Optical current sensors eliminate CT saturation*, IEEE PES Winter Power Meeting, Vancouver, 2002.
- [81] Wójcik J., *Możliwości krajowej technologii wytwarzania nieteletelekomunikacyjnych światłowodów jednomodowych o małej i dużej dwójłomności*, IV Konferencja Technologia i Zastosowanie Światłowodów, Krasnobród, 207–219, 1996.
- [82] Błahut M., Rogoziński R., *Application of two-stage thermal diffusion in the technology of buried channel waveguides*, Optica Applicata, Vol. 22, No. 2, 109–115, 1992.
- [83] Błahut M., *Wymiana jonowa w szkle i jej zastosowania w technologii wybranych elementów biernych optyki zintegrowanej*, Politechnika Śląska, Zeszyty Naukowe Nr 1552, Gliwice, 2002.
- [84] Yeh P., *Optical Waves in Layered Media*, John Wiley & Sons, New York, 1988.
- [85] Adams M.J., *An introduction to optical waveguides*, John Wiley & Sons, New York, 1981.
- [86] Jones E., Oliphant T., Peterson P., *SciPy: Open Source Scientific Tools for Python*, 2001.
- [87] Błahut M., *Application of the BPM method for the analysis of multimode interference structures made by K⁺ – Na⁺ ion exchange in glass*, Optica Applicata, Vol. 29, 11–125, 1999.
- [88] Barczak K., Pustelny T., Szpakowski A., Błahut M., *Experimental and theoretical investigations concerning the magneto-optic effects in special D-type fibres*, J. Phys. IV France, Vol. 129, 85–88, 2005.
- [89] Martynkien T., Urbańczyk W., *Spektralne właściwości wybranych włókien dwójłomnych*, V Konf. Światłowodowy i ich zastosowanie, Białowieża, 109–117, 1998.
- [90] Tan C.Z., Arndt J., *Wavelength dependence of the Faraday effect in glassy SiO₂*, Journal of Physics and Chemistry of Solids, Vol. 60, 1689–1692, 1999.
- [91] Tan C.Z., Arndt J., *Faraday effect in silica glasses*, Physica B, 233, 1–7, 1997.
- [92] Cruz J.L., Andres M.V., Hernandez M.A., *Faraday effect in standard optical fibers: dispersion of the effective Verdet constant*, Applied Optics, Vol. 35, No. 6, 922–927, 1996.
- [93] Szymczak H., Szymczak R., *Struktura domenowa i procesy magnesowania – Encyklopedia Fizyki Współczesnej*, PWN, Warszawa, 1983.
- [94] Majetich S.A., Scott J.H., Kirkpatrick E.M., Chowdry K., Gallagher K., McHenry M.E., *Magnetic nanoparticles and magnetocrystalline anisotropy*, NanoStructured Materials, Vol. 9, 291–300, 1997.
- [95] Doroszkievicz R.S., *Elastooptyka*, PWN, Warszawa, 1975.
- [96] Wolna M., *Materiały elastooptyczne*, PWN, Warszawa–Poznań, 1993.
- [97] Romaniuk R., *Manufacturing and characterization of ring-index optical fibers*, Optica Applicata, Vol. 31, 425–444, 2001.
- [98] Romaniuk R., Dorosz J., *Temperature sensor based on double core optical fibre*, Proceedings of SPIE, 2001.
- [99] Dorosz J., Romaniuk R., *Temperature sensor based on double core optical fiber*, SPIE, Vol. 4887, 55–66, 2002.

INVESTIGATIONS OF MAGNETOOPTIC PROPERTIES OF THE SPECIAL OPTICAL FIBRES OF THE D-TYPE

This paper deals with investigations concerning special fibres of the D-type. A structure of these fibres was designed for the purpose of making them sensitive to the magnetic field. The presented fibres are birefringent and their polarisation characteristics change in the magnetic field. The results of these investigations have confirmed that the sensitivity of these fibres is essential higher than sensitivity of typically used step-index fibres. The numerical analysis of the polarisation properties of the presented fibres has also been presented.



Wydawnictwa Politechniki Wrocławskiej
są do nabycia w księgarni „Tech”
plac Grunwaldzki 13, 50-377 Wrocław
budynek D-1 PWr., tel. 071 320 29 35
Prowadzimy sprzedaż wysyłkową

ISBN 978-83-7493-468-8