

# РАЗМЕН ЭНЕРГИИ ВОЗБУЖДЕННОГО СОСТОЯНИЯ

# ***ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭЛЕКТРОННО-ВОЗБУЖДЕННЫХ СОСТОЯНИЙ***

- ОПРЕДЕЛЕННАЯ ЭНЕРГИЯ
- ВРЕМЯ ЖИЗНИ
- СТРУКТУРНЫЕ СВОЙСТВА

## ПОЛНАЯ ЭНЕРГИЯ МОЛЕКУЛЫ

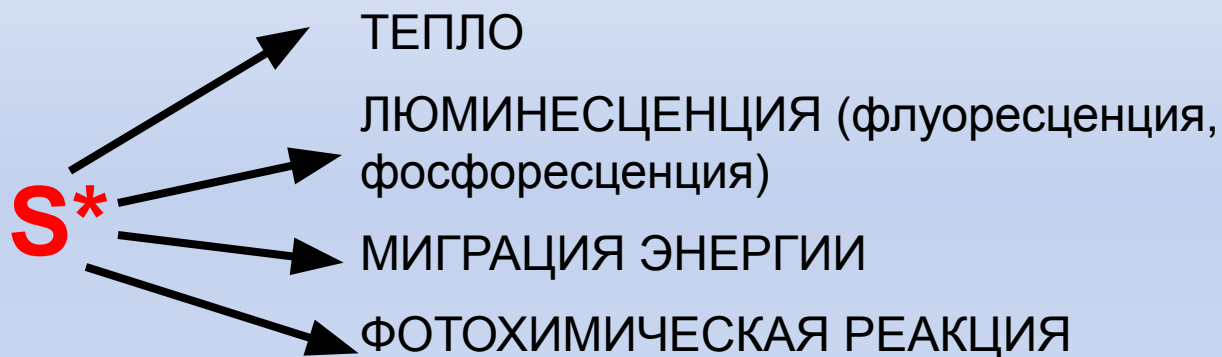
$$E = E_{\text{эл}} + E_{\text{кол}} + E_{\text{вр}}$$

ПРИ ПОГЛОЩЕНИИ КВАНТА СВЕТА МОЛЕКУЛОЙ ПРОИСХОДИТ ПЕРЕХОД ЭЛЕКТРОНОВ С **ОСНОВНОГО** **СИНГЛЕТНОГО**  $S_0$  УРОВНЯ НА ВОЗБУЖДЕННЫЕ УРОВНИ  $S^*$

**ВОЗБУЖДЕННОЕ СОСТОЯНИЕ** С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ ТЕРМОДИНАМИКИ – НЕРАВНОВЕСНОЕ СОСТОЯНИЕ.

ИЗБЫТОЧНАЯ ЭНЕРГИЯ ДОЛЖНА РАСТРАТИТЬСЯ НА РАЗЛИЧНЫЕ ПРОЦЕССЫ.

# РАЗМЕН ЭНЕРГИИ ВОЗБУЖДЕННОГО СОСТОЯНИЯ

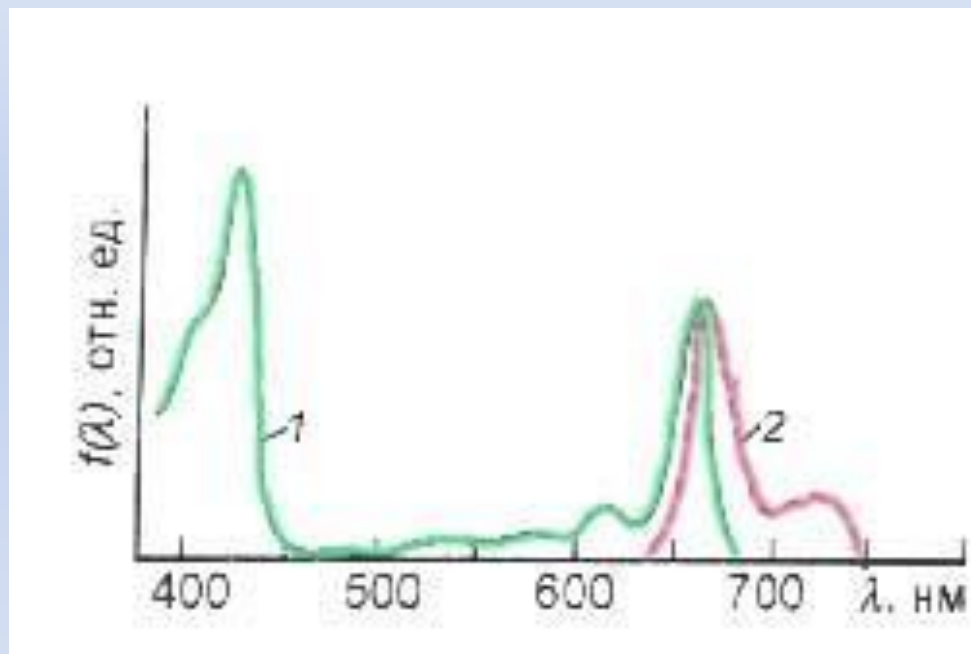


# ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ: ХАРАКТЕРИСТИКИ И ЗАКОНЫ



# **ХАРАКТЕРИСТИКИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ**

**Спектр флуоресценции** – зависимость интенсивности флуоресценции от длины волны испускаемого света



1 – спектр поглощения; 2 – спектр флуоресценции

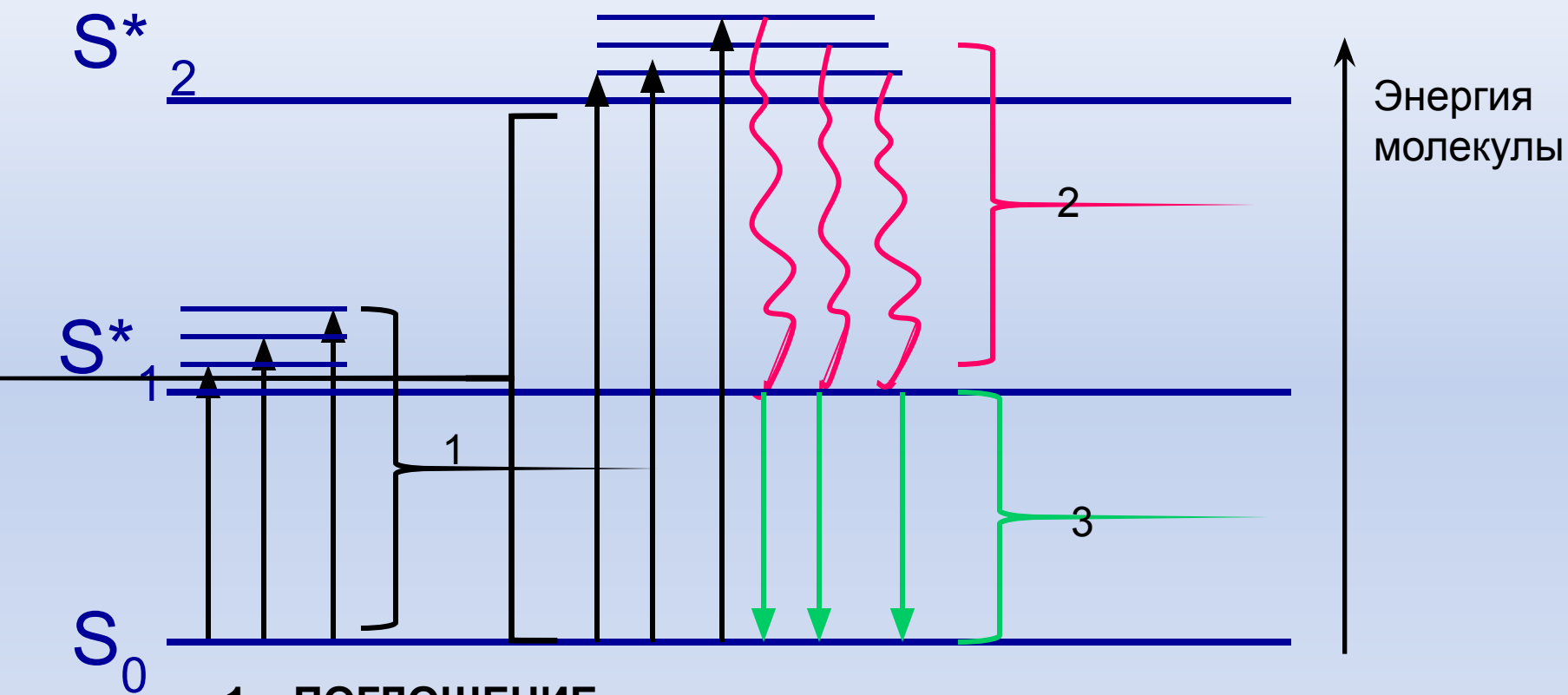
***Спектр возбуждения флуоресценции*** – зависимость интенсивности флуоресценции от длины волны возбуждающего света

***Квантовый выход флуоресценции*** – отношение количества испускаемых квантов к количеству поглощенных.

При возбуждении молекул линейно поляризованным светом наблюдается частичная поляризация флуоресценции. В этом случае измеряют ***степень поляризации флуоресценции***



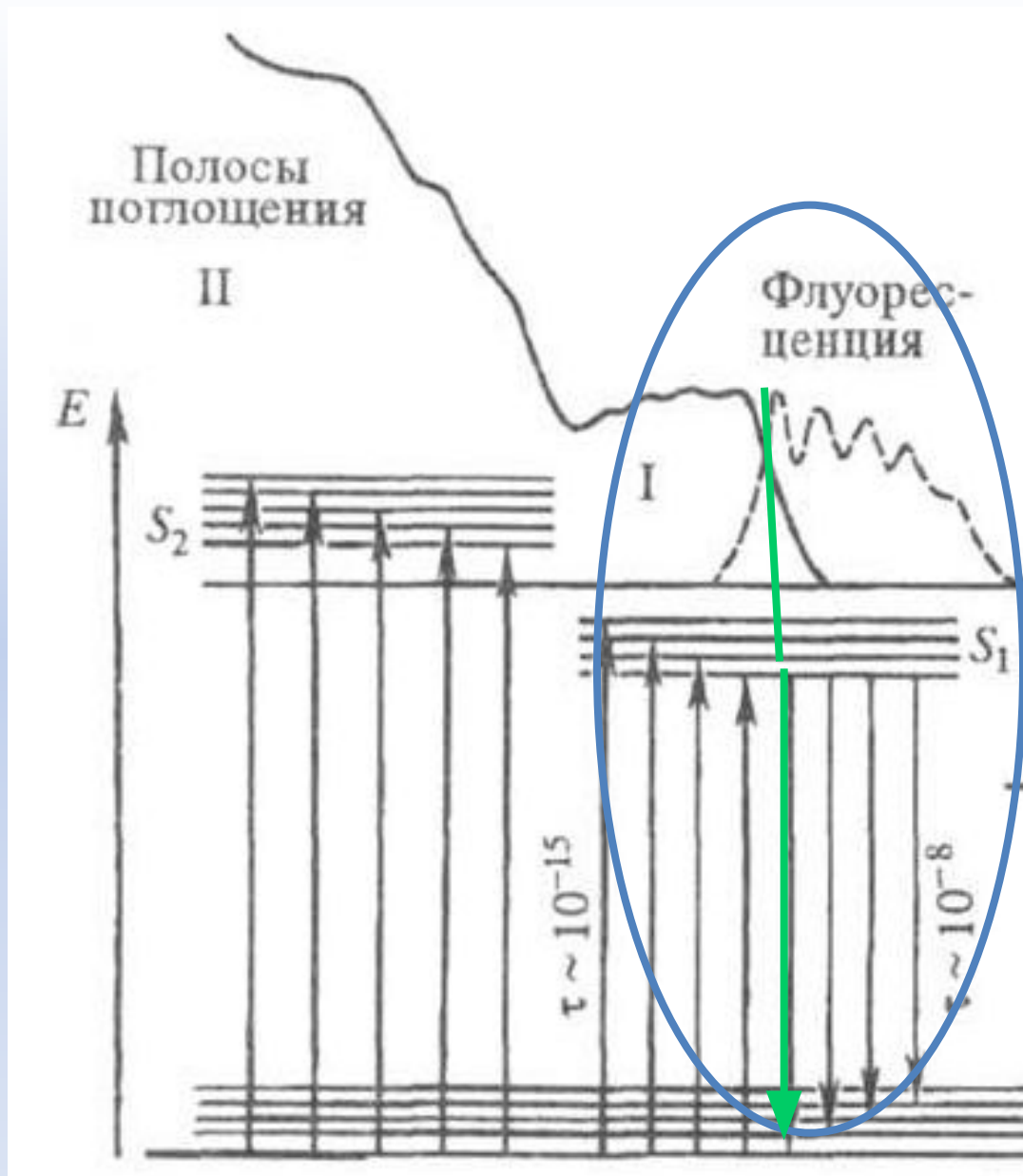
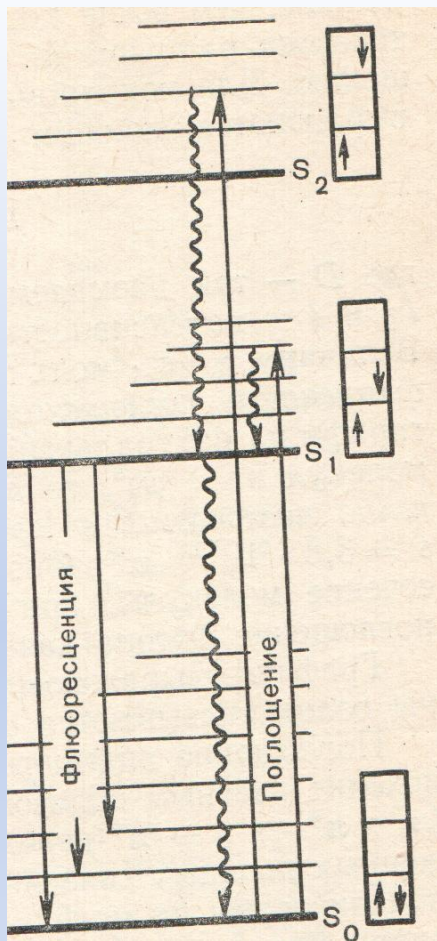
# ЭЛЕКТРОННЫЕ ПЕРЕХОДЫ ПРИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ



1 – ПОГЛОЩЕНИЕ

2 – **ВНУТРЕННЯЯ КОНВЕРСИЯ** (время  $10^{-13}$  с)

3 – **ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ** (время  $10^{-9}$  -  $10^{-8}$  с)



# ЗАКОНЫ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

ЗАКОН СТОКСА

ПРАВИЛО ЛЕВШИНА

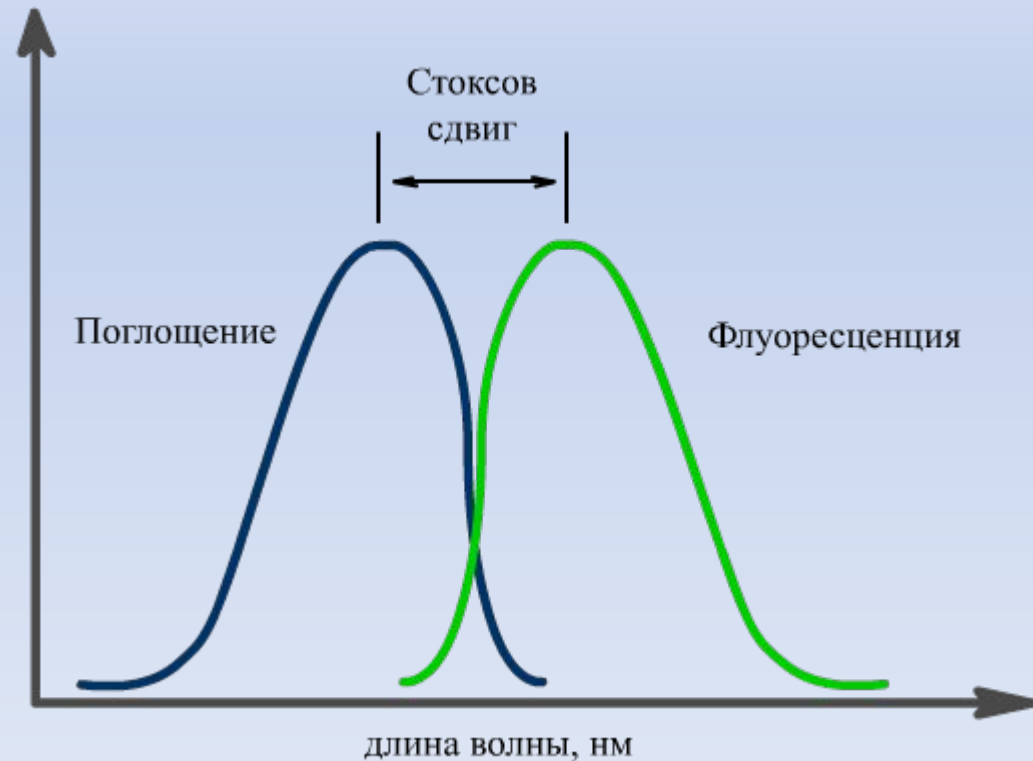
ПРАВИЛО КАША

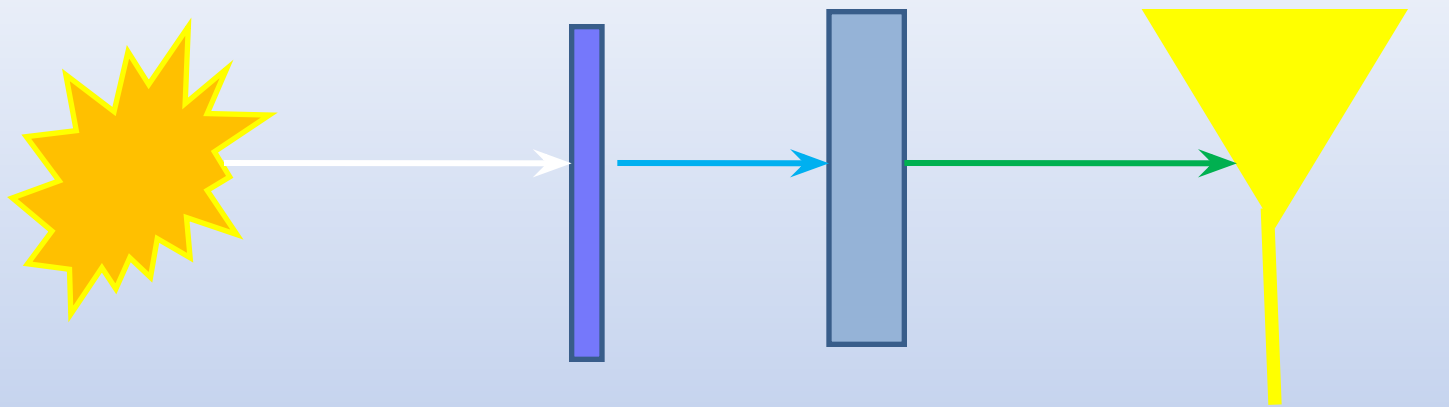
ЗАКОН ВАВИЛОВА



Сэр Джорж Габриэль **СТОКС**  
1819 - 1903

**ЗАКОН СТОКСА:** СПЕКТР  
ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ СДВИНУТ В  
ДЛИННОВОЛНОВУЮ ОБЛАСТЬ  
ОТНОСИТЕЛЬНО СПЕКТРА  
ПОГЛОЩЕНИЯ





Источник света

фильтр

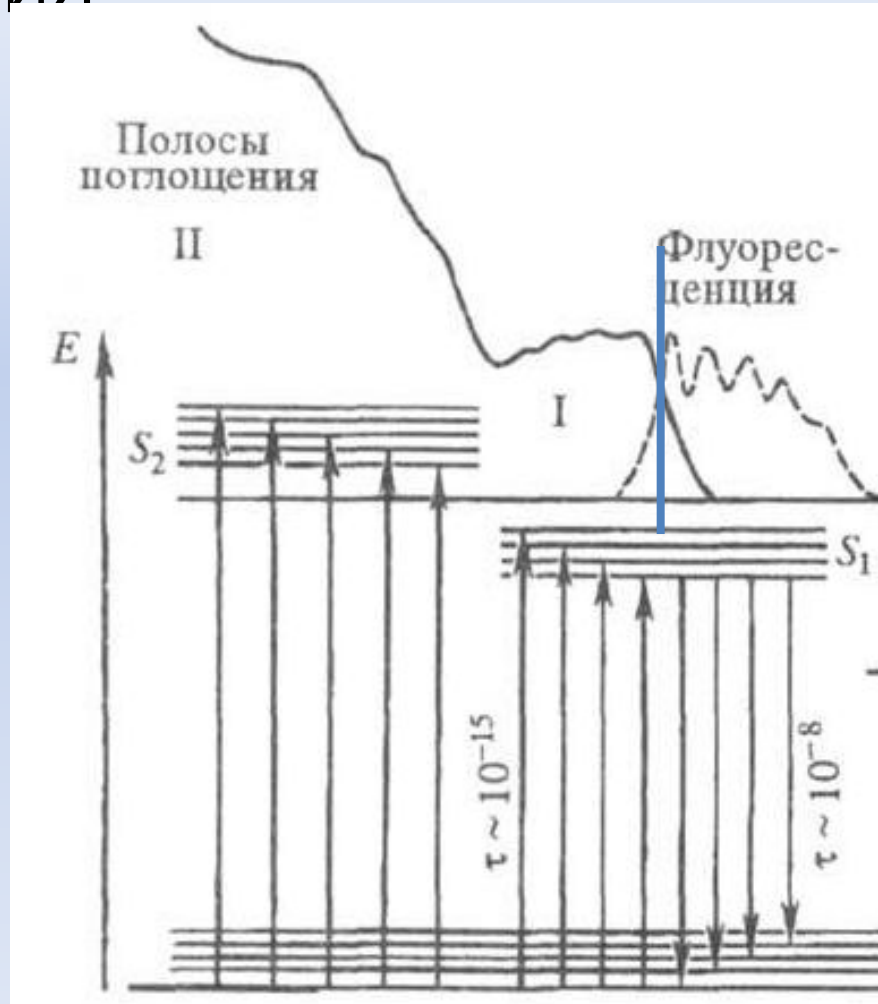
образец

фильтр



В.Л.Левшин  
(1896 -1969)

**ПРАВИЛО ЛЕВШИНА:** СПЕКТР  
ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ СИММЕТРИЧЕН  
ДЛИННОВОЛНОВОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА  
ПОГЛОЩЕНИЯ



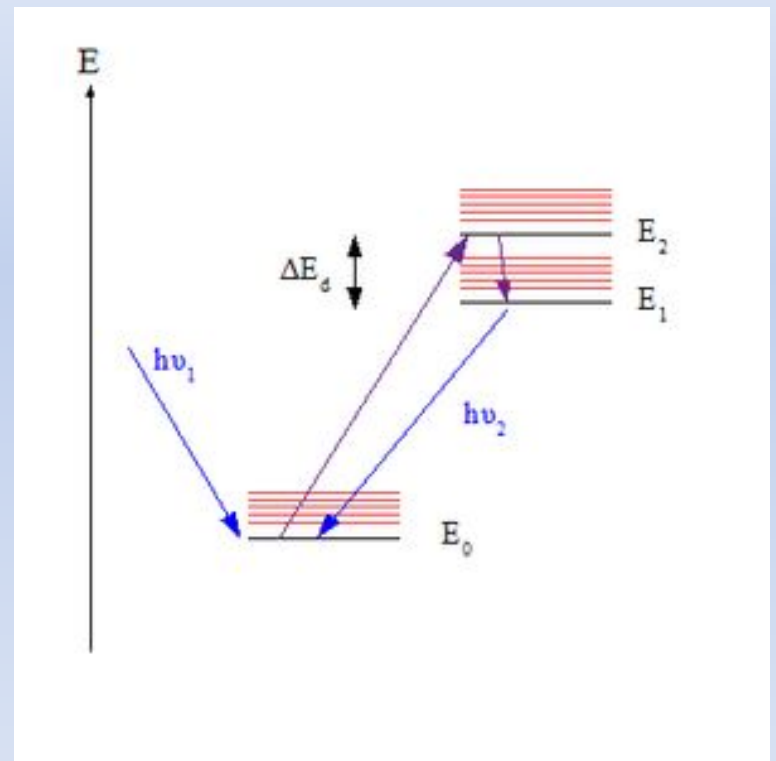


Майкл КАША  
р.1920

# ПРАВИЛО КАША

Предложено химиком **Майклом Каша** (Michael Kasha) в 1950.

**Правило Каша:** при облучении молекула будет излучать только за счет **низшего** по энергии возбужденного состояния.





С.И.Вавилов

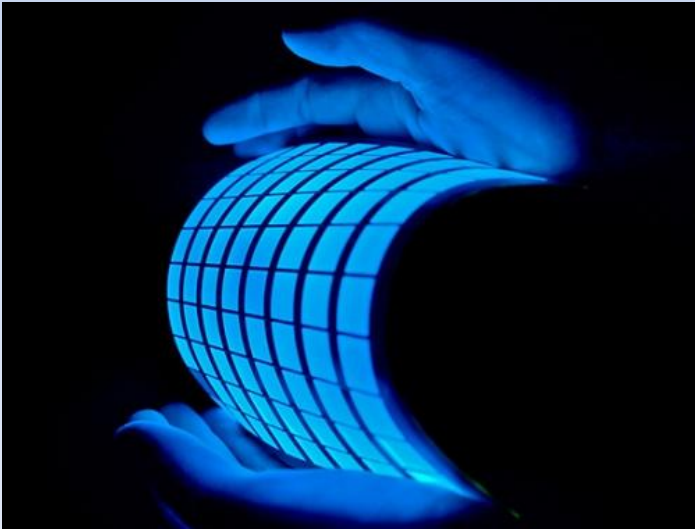
**ПРАВИЛО ВАВИЛОВА:** НЕЗАВИСИМОСТЬ КВАНТОВОГО  
ВЫХОДА  $\Phi$  ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ОТ ДЛИНЫ ВОЛНЫ  
ВОЗБУЖДАЮЩЕГО СВЕТА

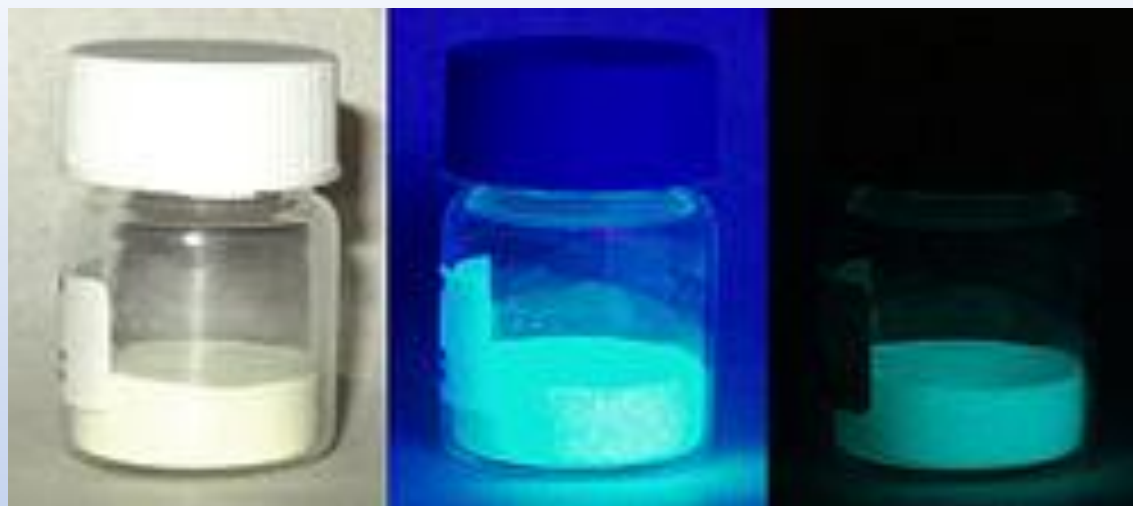
$$\varphi = \frac{n_{\text{исп}}}{n_{\text{погл}}}$$





# ФЛОУОРЕСЦЕНЦИЯ





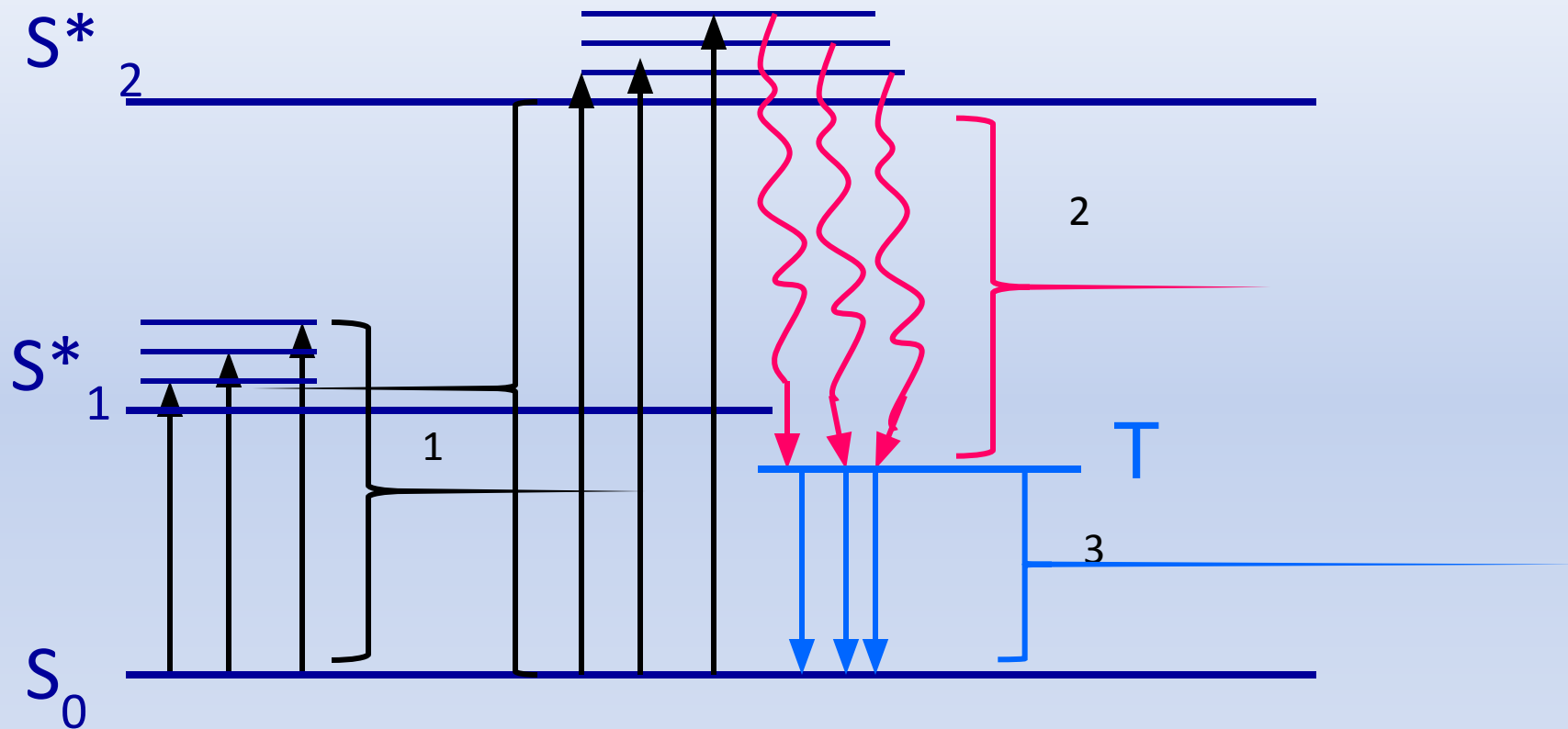
1

2

3

**Фосфоресцентный порошок при  
облучении видимым светом (1),  
ультрафиолетовым светом (2) и в  
полной темноте (3).**

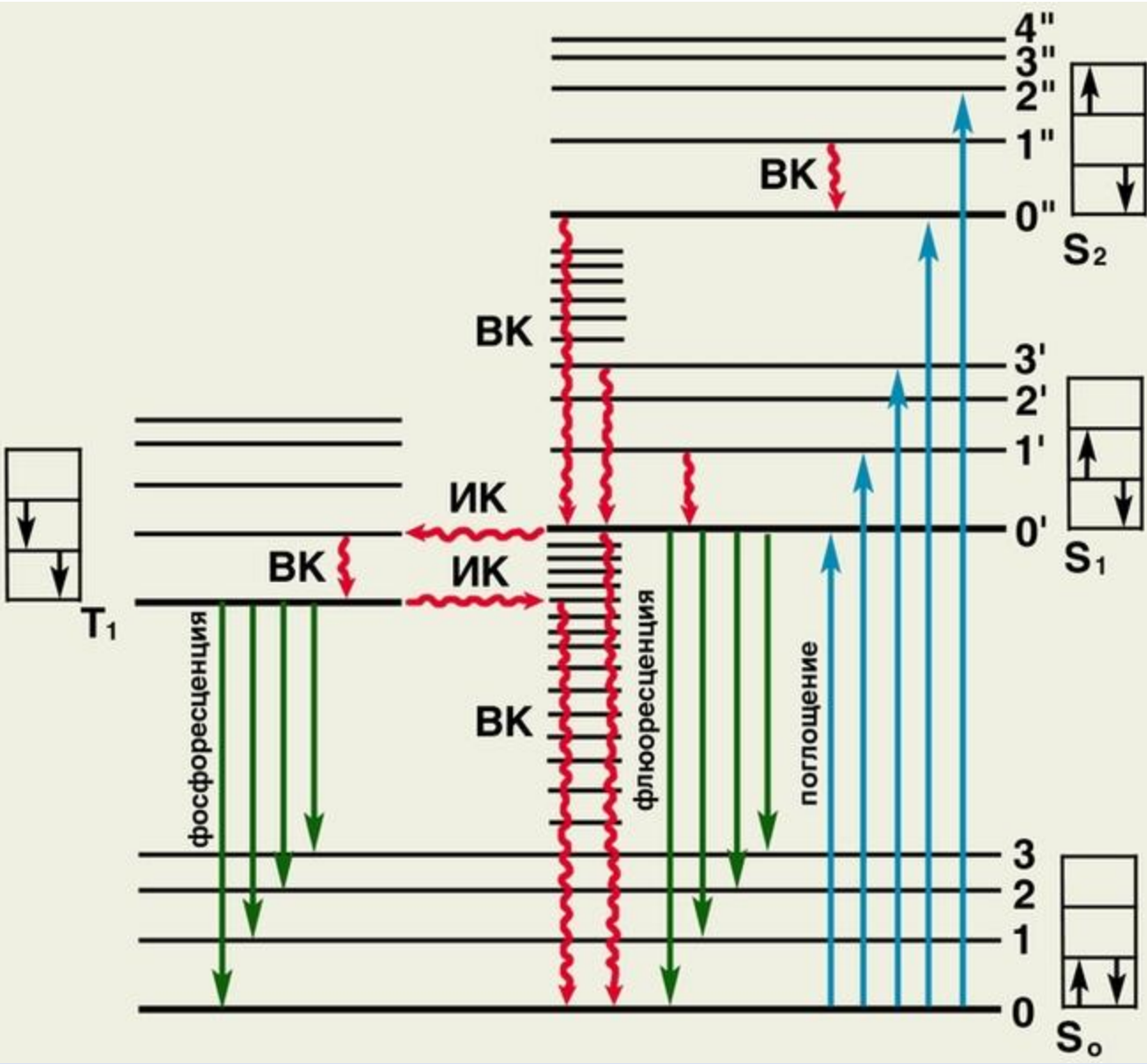
# ЭЛЕКТРОННЫЕ ПЕРЕХОДЫ ПРИ ФОСФОРЕСЦЕНЦИИ



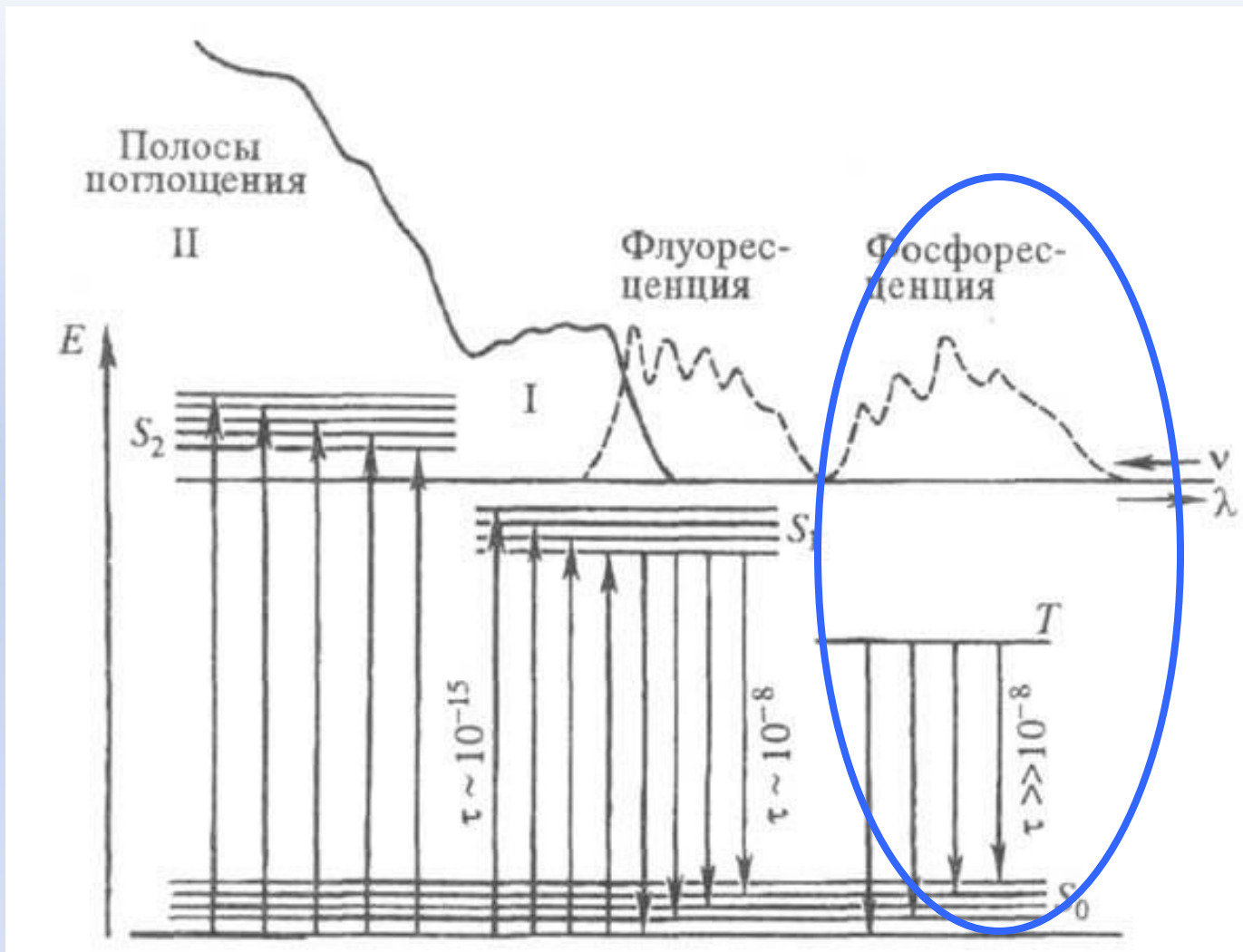
1 – ПОГЛОЩЕНИЕ

2 – ИНТЕРКОМБИНАЦИОННАЯ КОНВЕРСИЯ

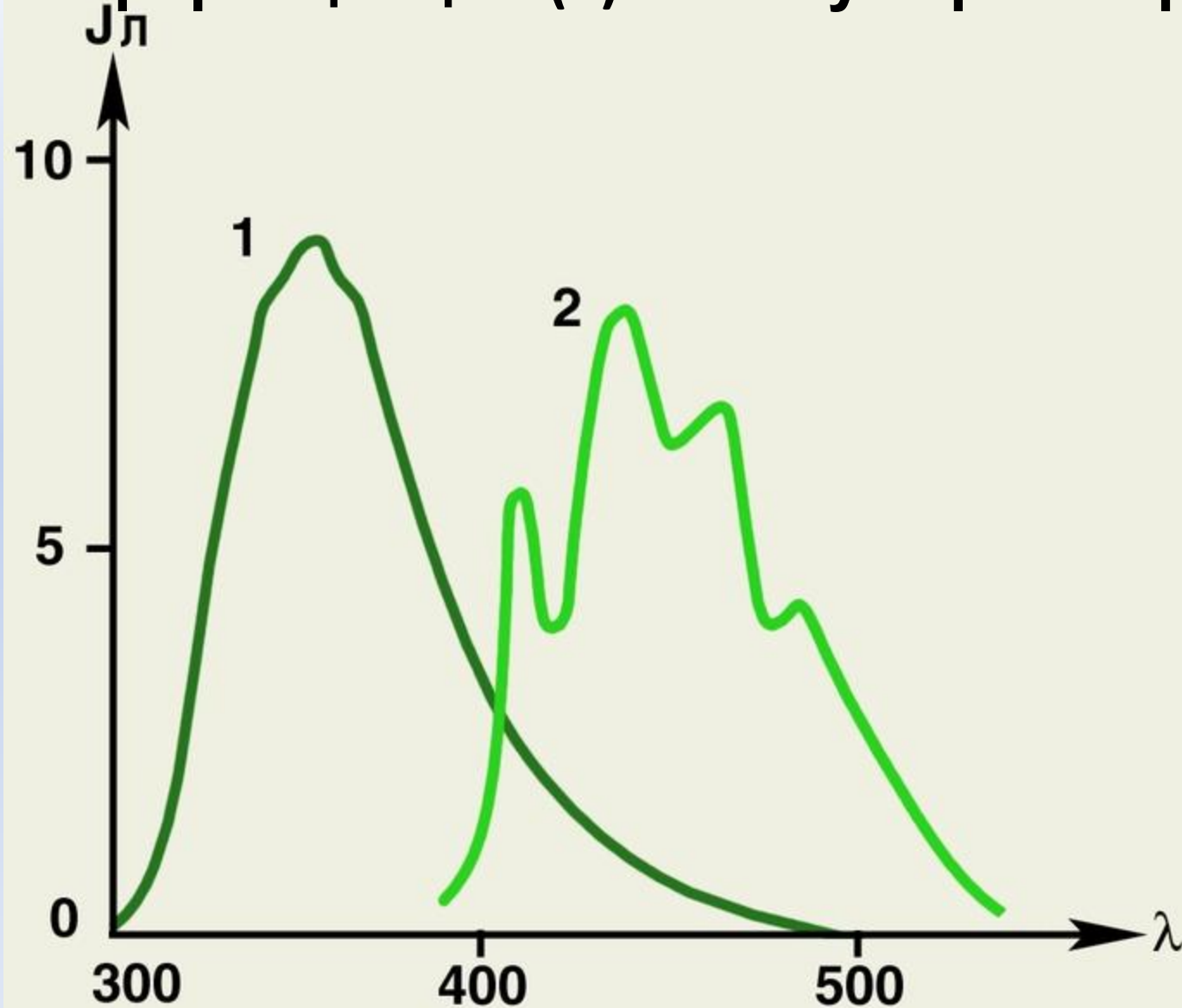
3 - ФОСФОРЕСЦЕНЦИЯ



**ИК –**  
**интеркомбинационна**  
**я конверсия**  
**ВК – внутренняя**  
**конверсия**



# Спектры флуоресценции (1) и фосфоресценции (2) молекул триптофана



# МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ ТРИПЛЕТНЫХ УРОВНЕЙ

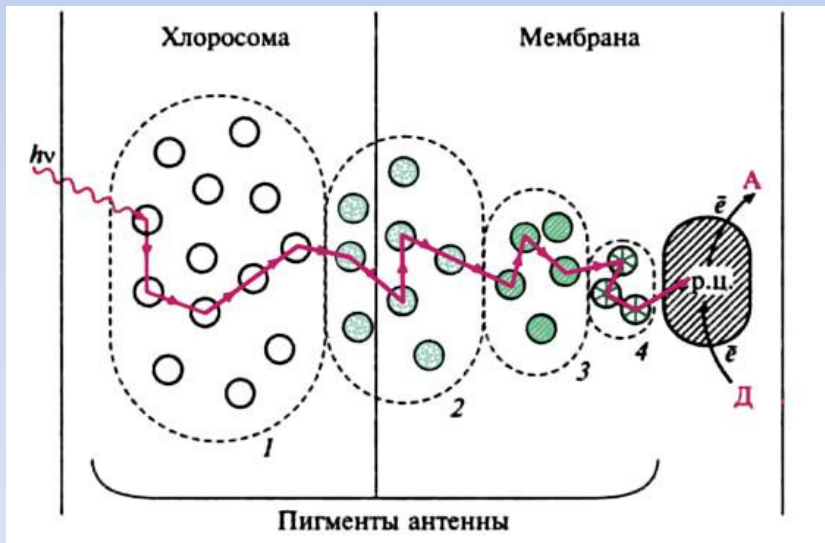
□ЭПР

□ИМПУЛЬСНЫЙ ФОТОЛИЗ

□ТЕРМОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ

□ИНФРАКРАСНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ

# МИГРАЦИЯ ЭНЕРГИИ





**МИГРАЦИЯ ЭНЕРГИИ - ЭТО**

**БЕЗИЗЛУЧАТЕЛЬНЫЙ ПЕРЕНОС ЭНЕРГИИ**

**НА РАССТОЯНИЯ, ПРЕВЫШАЮЩИЕ  
МЕЖАТОМНЫЕ,**

**БЕЗ СОУДАРЕНИЯ ДОНОРА И АКЦЕПТОРА**

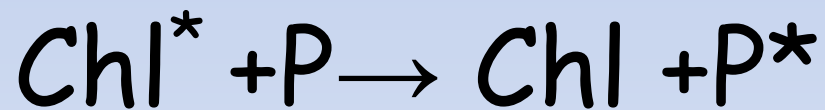
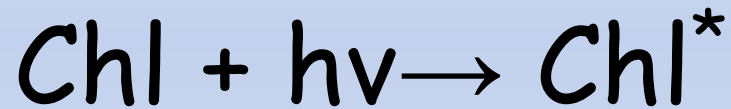


# МИГРАЦИЯ ЭНЕРГИИ В БИОСИСТЕМАХ



МЕЖМОЛЕКУЛЯРНАЯ

ФОТОСИНТЕЗ:

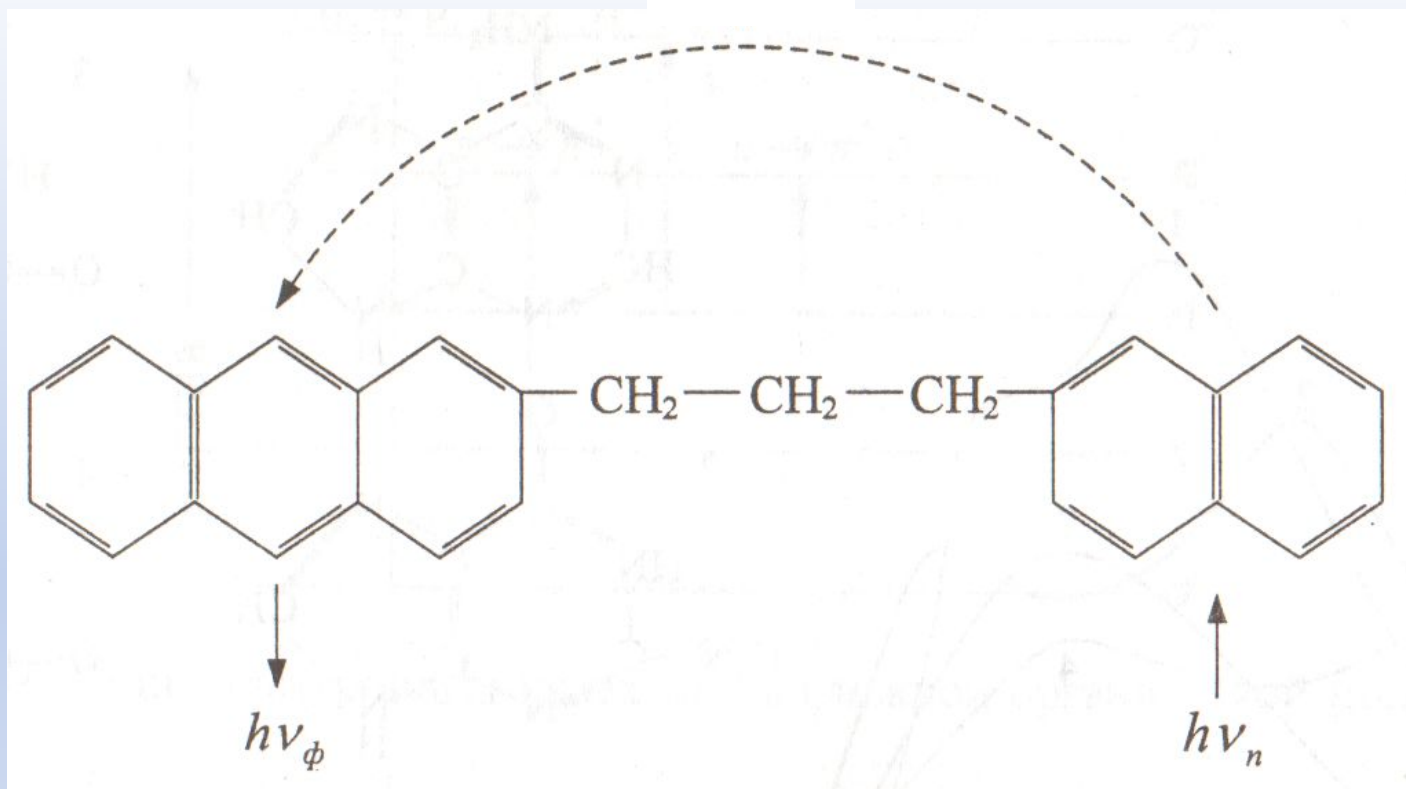


ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНАЯ

М.Э. МЕЖДУ АЗОТИСТЫМИ  
ОСНОВАНИЯМИ В ДНК ПОСЛЕ  
ПОГЛОЩЕНИЯ КВАНТА УФ.

М.Э. ВНУТРИ НАД ОТ  
АДЕНИЛОВОЙ ГРУППЫ К  
НИКОТИНОВОЙ

W



Люминесценция  
антрацена

Возбуждение  
нафталина

Гибридная молекула антрацена и нафталина: внутримолекулярная миграция энергии

# МЕХАНИЗМЫ МИГРАЦИИ ЭНЕРГИИ

# ИНДУКТИВНО-РЕЗОНАНСНАЯ МИГРАЦИЯ ЭНЕРГИИ

# **УСЛОВИЯ ИНДУКТИВНО-РЕЗОНАНСНОЙ МИГРАЦИИ**

**(Правила Ферстера)**

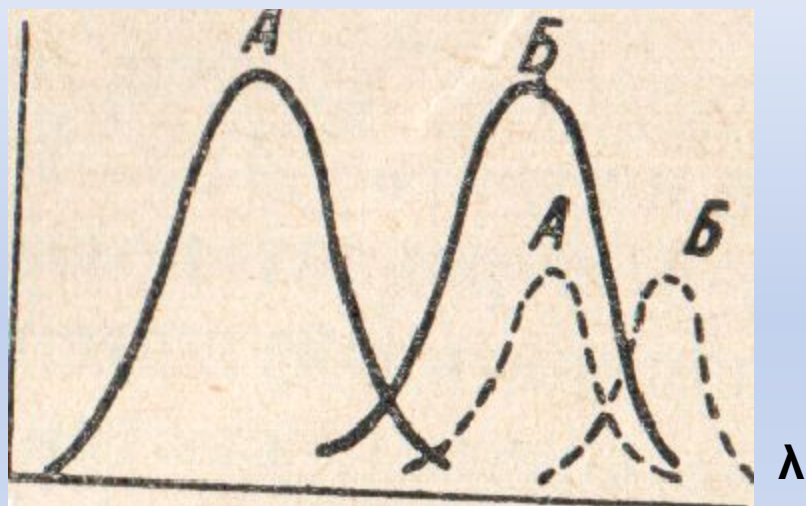
**1. ДОНОР СПОСОБЕН К ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ**

**2. СПЕКТР ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ  
ДОНОРА ДОЛЖЕН ПЕРЕКРЫВАТЬСЯ  
СО СПЕКТРОМ ПОГЛОЩЕНИЯ  
АКЦЕПТОРА**

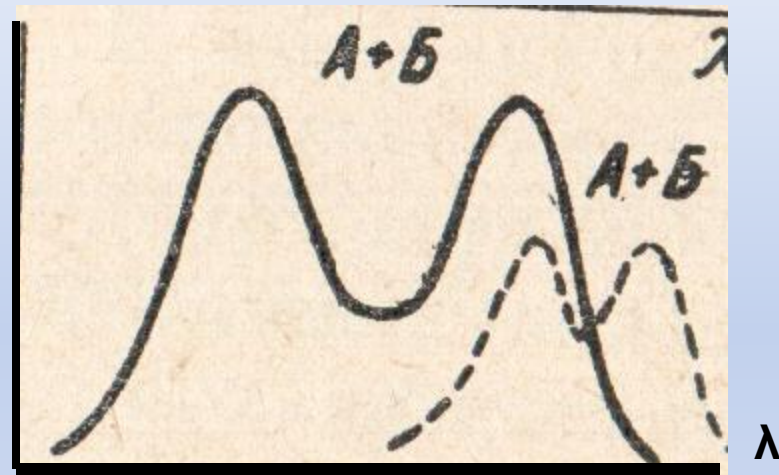


**3. ДОНОР И АКЦЕПТОР  
РАСПОЛОЖЕНЫ НА  
ОПРЕДЕЛЕННОМ РАССТОЯНИИ (2 –  
10 нм)**

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ МИГРАЦИИ ЭНЕРГИИ:  
**СЕНСИБИЛИЗИРОВАННАЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ**

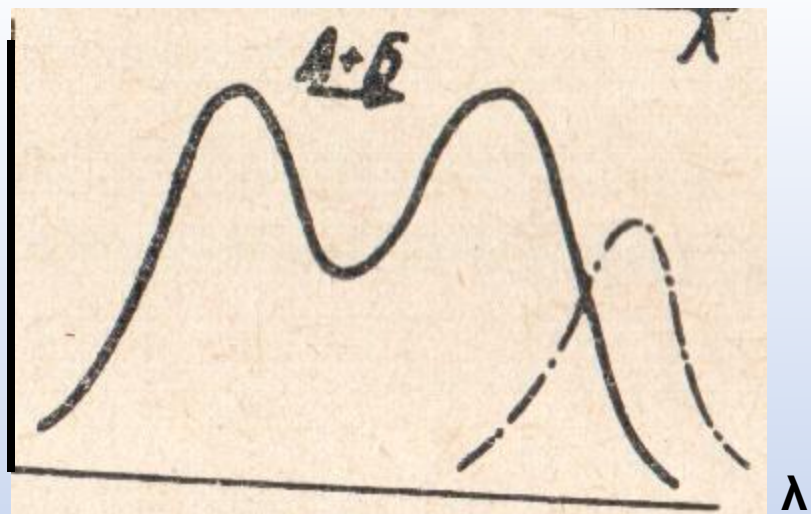


СПЕКТРЫ ПОГЛОЩЕНИЯ  
И ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ  
ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ **А**  
и **Б**



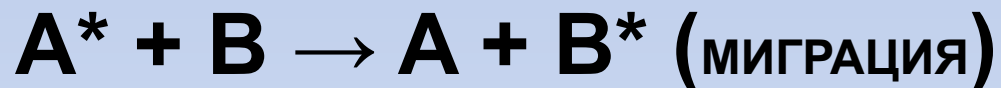
СПЕКТРЫ ПОГЛОЩЕНИЯ  
И ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

СМЕСИ ВЕЩЕСТВ **А** и **Б** В  
ОТСУТСТВИИ МИГРАЦИИ  
ЭНЕРГИИ



СПЕКТРЫ ПОГЛОЩЕНИЯ И ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ СИСТЕМЫ **A+B**  
ПРИ ПОЛНОЙ МИГРАЦИИ ЭНЕРГИИ ОТ **A** К **B** (ФЛУОРЕСЦИРУЕТ  
ТОЛЬКО ВЕЩЕСТВО **B**)

ДРУГИМ ДОКАЗАТЕЛЬСТВОМ МИГРАЦИИ ЭНЕРГИИ СЛУЖИТ  
***СЕНСИБИЛИЗИРОВАННАЯ ФОТОХИМИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ***

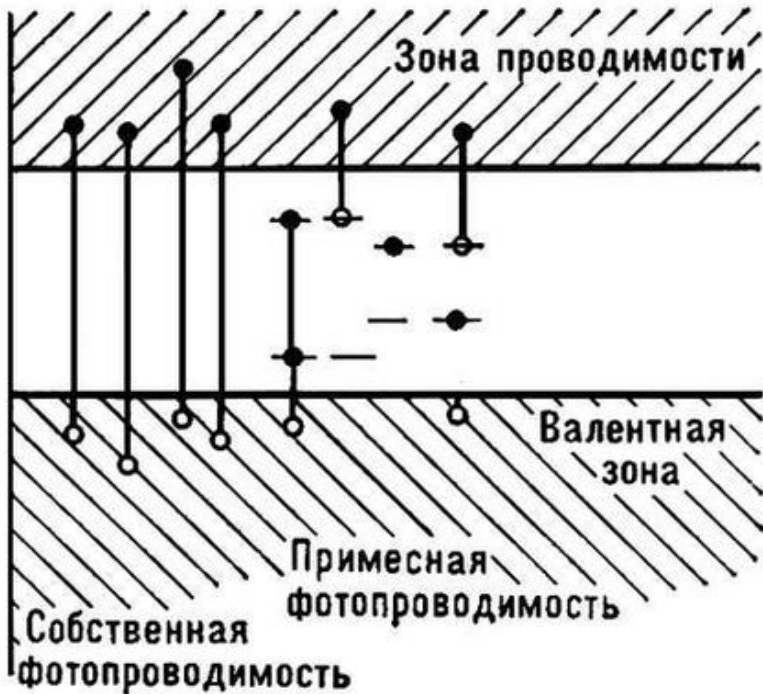


# ОБМЕННО-РЕЗОНАНСНАЯ МИГРАЦИЯ ЭНЕРГИИ

ПЕРЕНОС ЭНЕРГИИ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ С  $T$ -УРОВНЯ  
ДОНОРА НА  $T$ -УРОВЕНЬ АКЦЕПТОРА ПРИ ПРЯМОМ  
ПЕРЕКРЫВАНИИ ТРИПЛЕТНЫХ УРОВНЕЙ ЗА СЧЕТ  
ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ  
ЭЛЕКТРОНОВ ДОНОРА И АКЦЕПТОРА.

ОБНАРУЖЕНИЕ: ***СЕНСИБИЛИЗИРОВАННАЯ ФОСФОРЕСЦЕНЦИЯ***

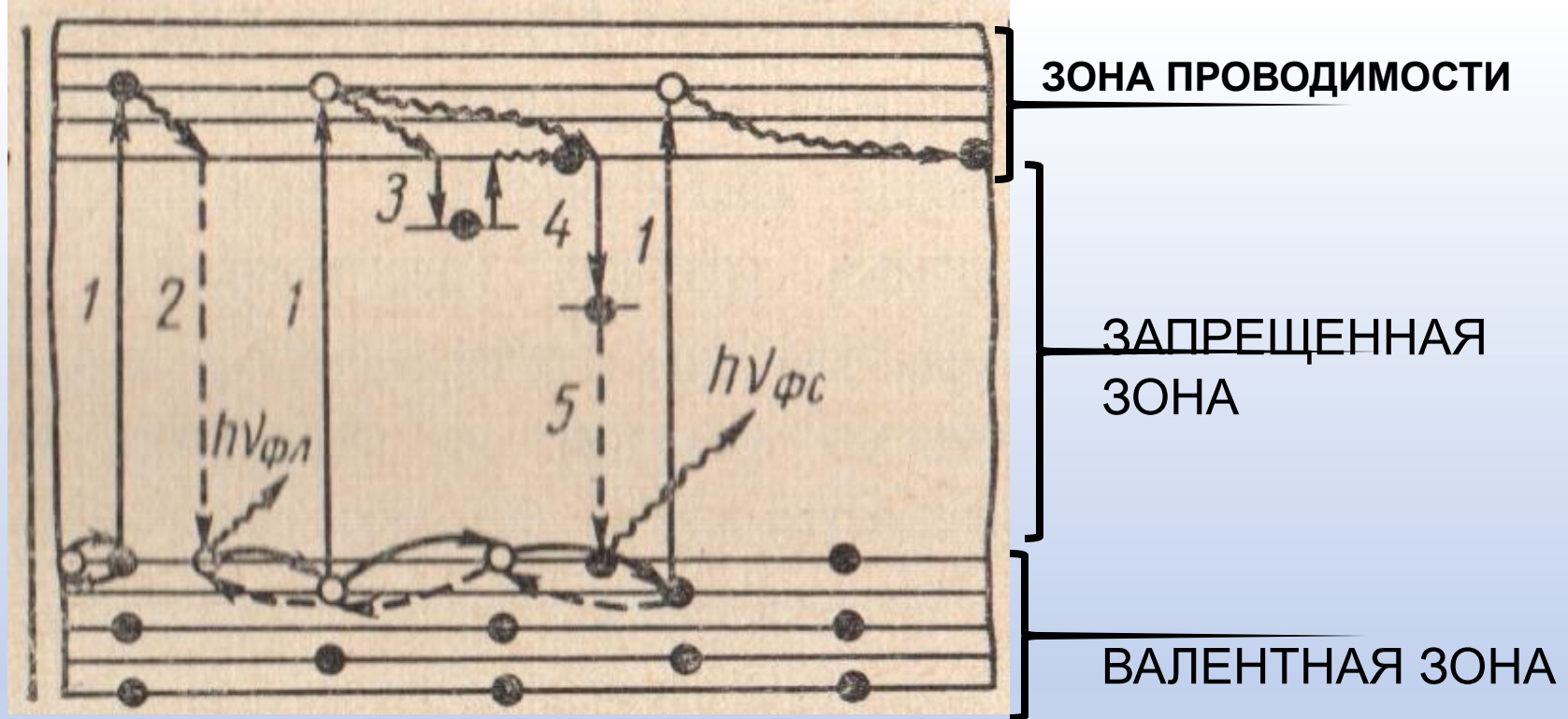
## ПОЛУПРОВОДНИКОВАЯ МИГРАЦИЯ ЭНЕРГИИ



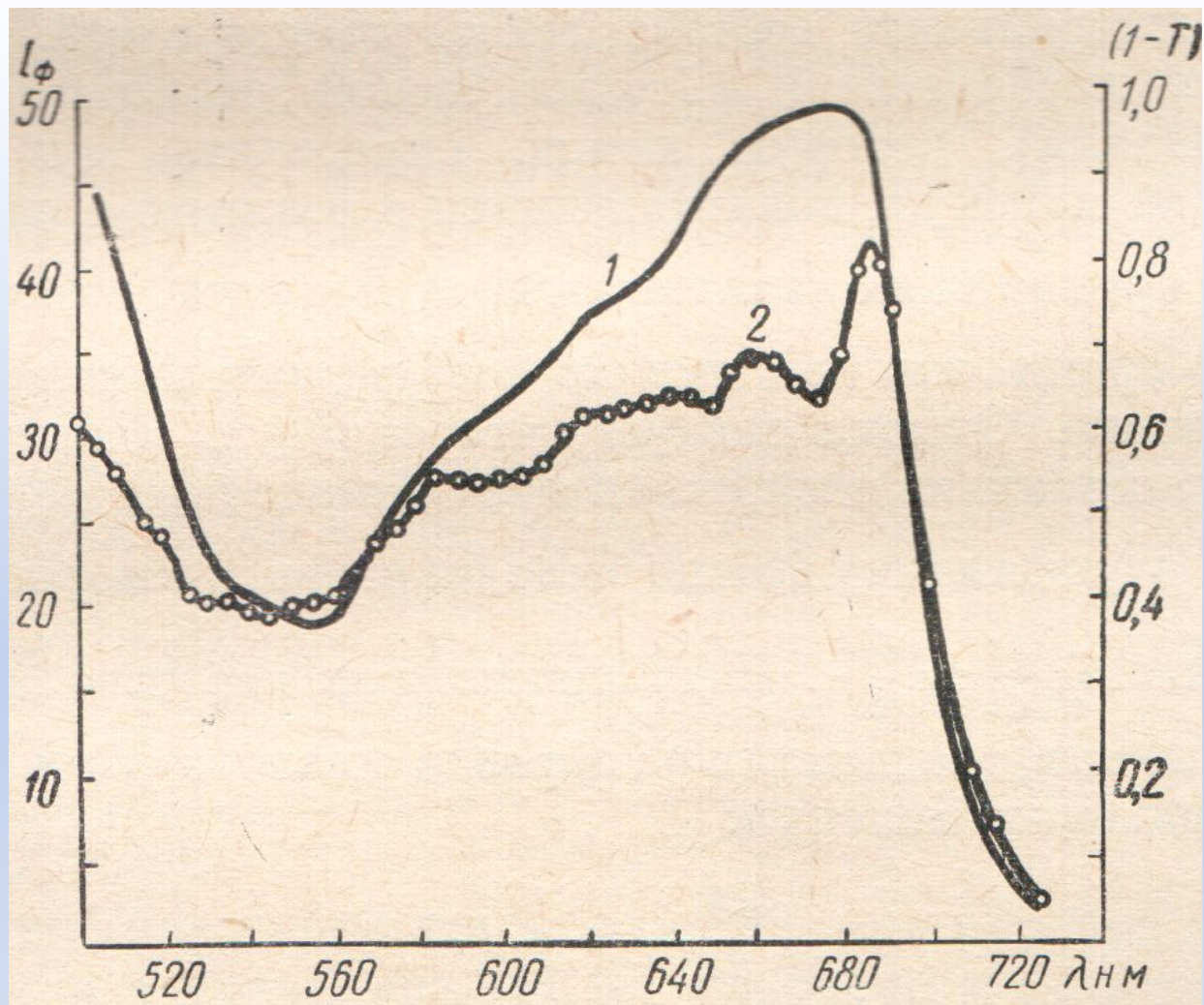
### Примесная проводимость:

электроны из заполненной зоны забрасываются на свободные примесные уровни – возрастает число дырок (дырочная примесная  $\Phi$ .); электроны забрасываются с примесных уровней в зону проводимости (электронная примесная  $\Phi$ .)

фотоны «вырывают» электроны из валентной зоны и «забрасывают» их в зону проводимости, при этом одновременно возрастает число электронов проводимости и дырок



- 1 – переход электрона из валентной зоны в зону проводимости
- 2 – межзонная рекомбинация (переход выделенной энергии в излучение или тепло)
- 3 – захват электрона ловушкой и возвращение его в зону проводимости
- 4 – безизлучательный переход на более глубокий примесный уровень
- 5 – рекомбинация с примесного уровня (сенсibilизированная люминесценция)



Сопоставление спектра поглощения (1) и спектра фотопроводимости пленки хлоропластов



# ЭКСИТОННАЯ МИГРАЦИЯ ЭНЕРГИИ

**ЭКСИТОН** (от лат. excito - возбуждать)-  
мигрирующее в кристалле электронное  
возбуждение, не связанное с переносом  
электрического заряда и массы.

Представление об **ЭКСИТОНЕ** введено в 1931  
Я. И. Френкелем

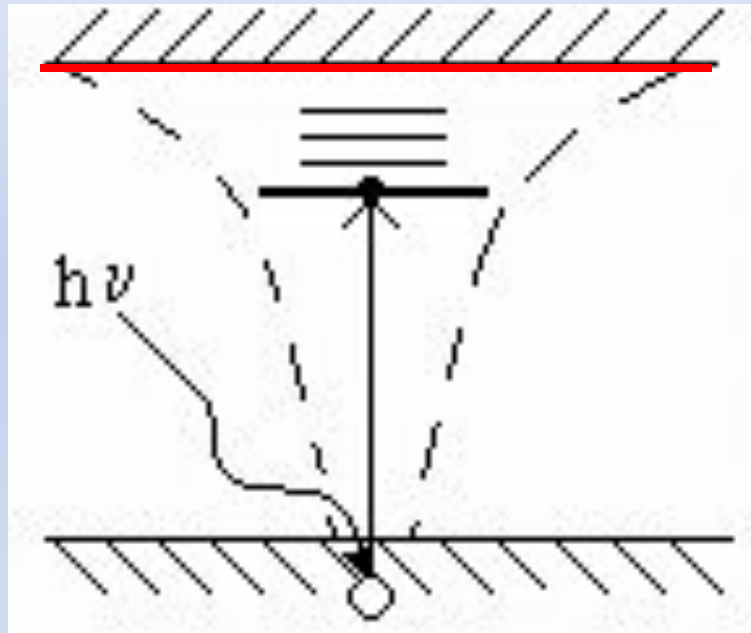


**Яков Ильич Френкель**  
1894— 1952

В 1937-38 **Дж. Ванье** (G. Wannier) и **Н. Мотт** (N. Mott) ввели представление об **ЭКСИТОНЕ** как о перемещающихся по кристаллу связанных состояниях электрона и дырки, которые могут находиться на различных узлах кристаллической решётки (Э. большого радиуса),

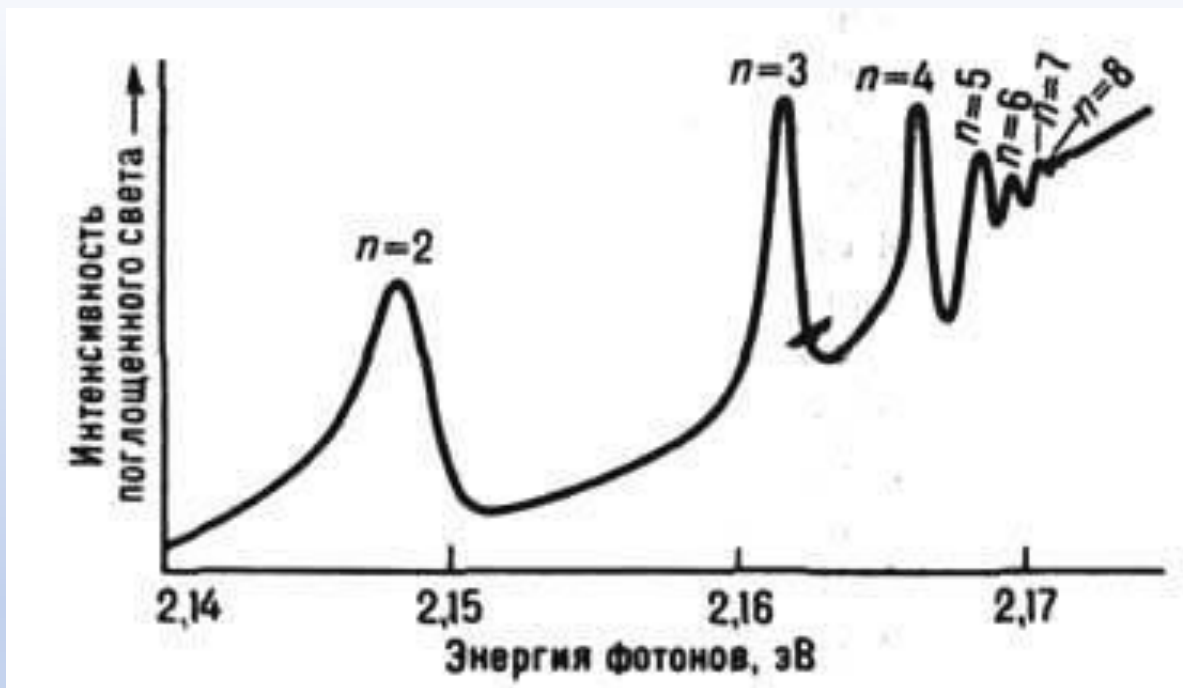
**Экситон Френкеля** можно представить как предельный случай, когда связанные электрон и дырка сидят на одном и том же узле (Э. малого радиуса).

**ЭКСИТОН** – ЧАСТИЦА, ВОЗНИКАЮЩАЯ ВСЛЕДСТВИЕ КУЛОНОВСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ ЭЛЕКТРОНОМ И ДЫРКОЙ



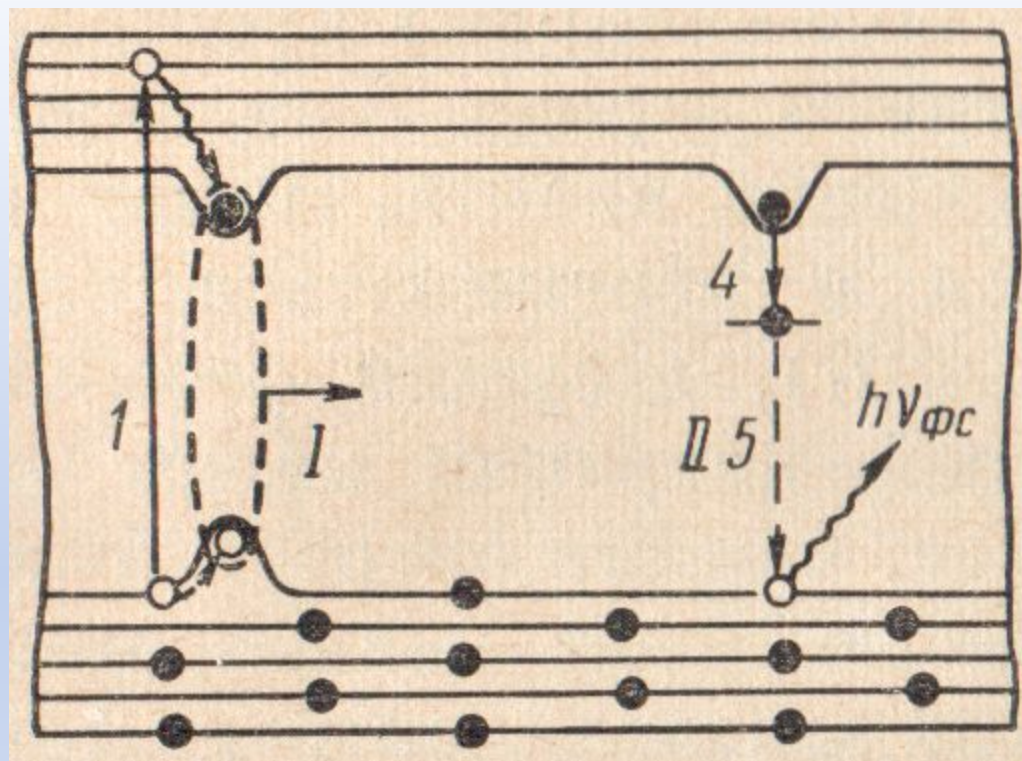
Энергетические уровни возбуждённого электрона, входящего в состав экситона и находящегося в центральном электростатическом поле дырки, лежат несколько ниже края зоны проводимости.

Энергия образования экситона меньше ширины запрещённой зоны.



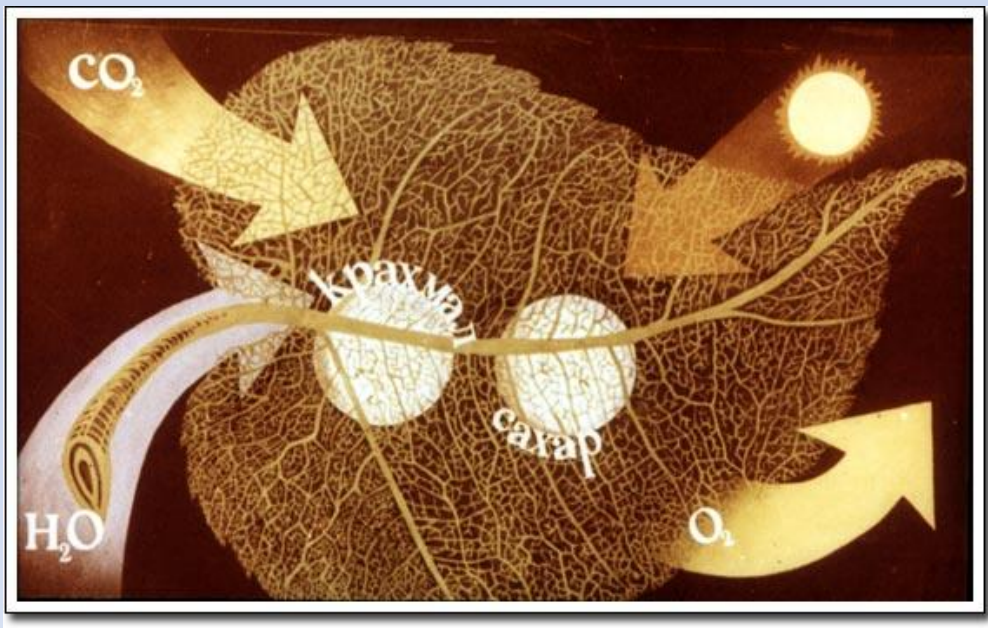
## Спектр поглощения кристаллической закиси меди

Пики соответствуют энергетическим уровням экситонов, возникающих при поглощении фотонов резонансной энергии полупроводников



Возникновение экситона (I) и его разрушение на примесном уровне

# ФОТОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ



## **ФОТОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ** –

реакции, которые происходят только под действием светового излучения.

Для возбуждения таких реакций обычно используют видимое или УФ излучение (длина волны  $\lambda$  от 200 до 700 нм).

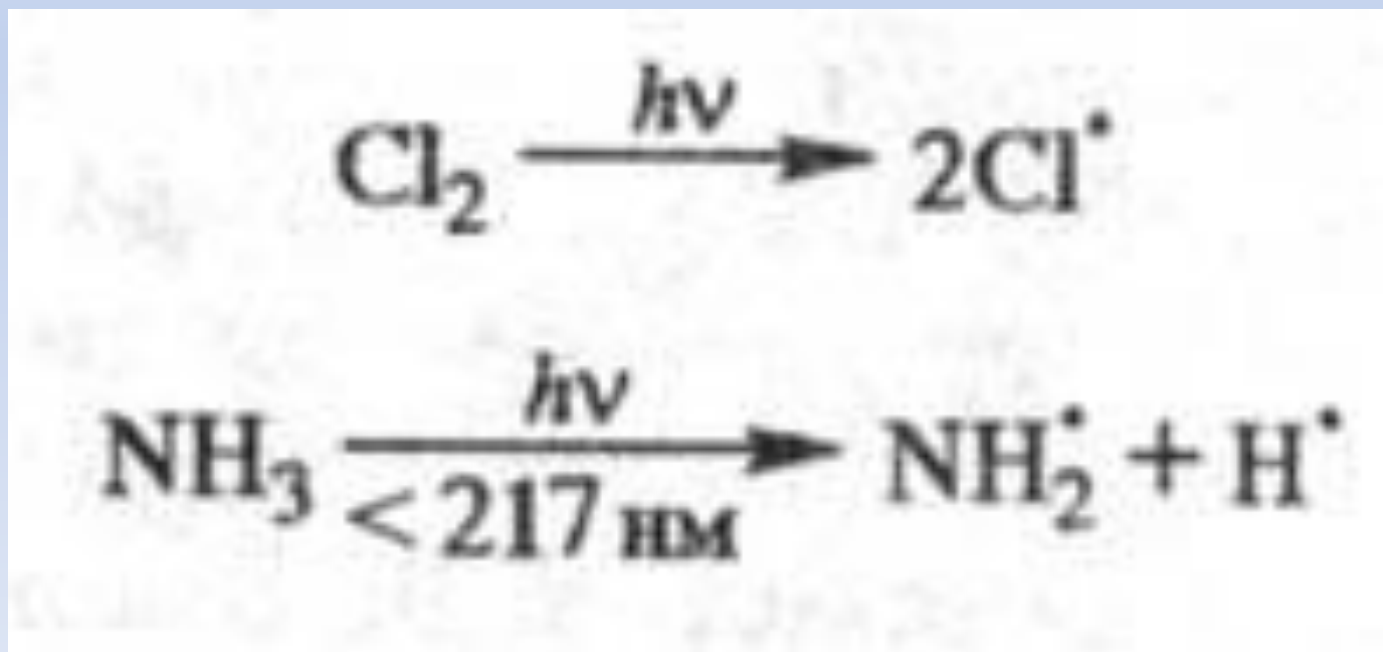


При поглощении света происходит ***первичная реакция*** (фотохимическая активация) и молекула переходит в возбужденное электронное состояние:



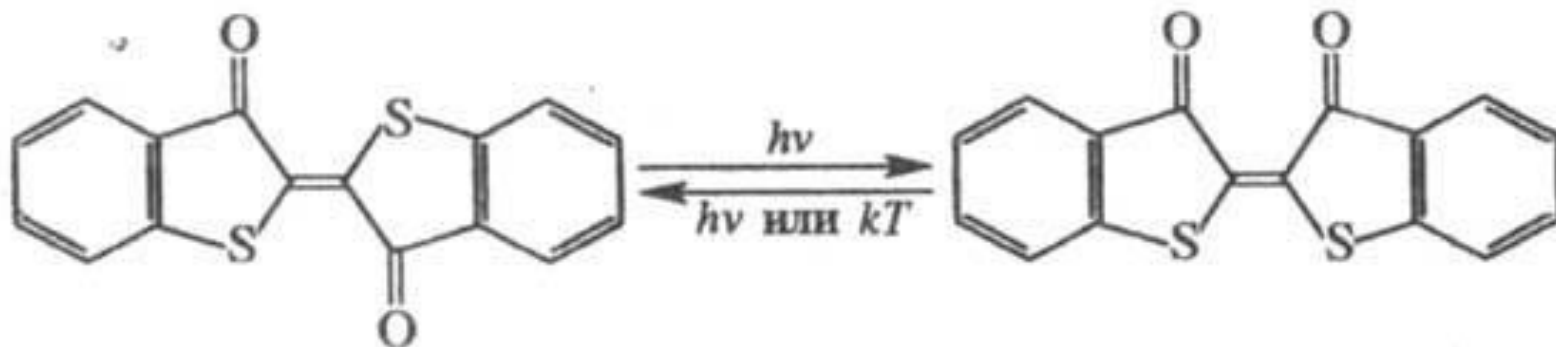
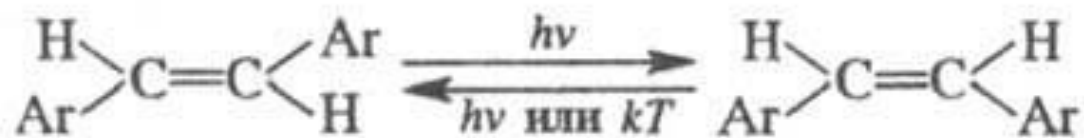
Возбужденная молекула может испытывать последующие превращения (***вторичные реакции***):

**Фотодиссоциация**- распад молекулы по какой-либо связи на радикалы, атомы или ионы



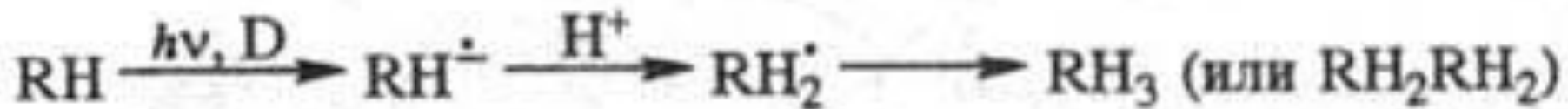
# Фотоизомеризация

Широко распространены процессы цис-транс- и транс-цис-фотоизомеризации непредельных соединений.



( $T$  – абс. т-ра,  $k$  – постоянная Больцмана)

**Окислительно-восстановительные фотохимические реакции.** В основе большинства из них лежит фотоперенос электрона. В основе большинства из них лежит фотоперенос электрона. Образующиеся в первичной стадии ион-радикалы вступают в дальнейшие превращения, давая продукты окисления. В основе большинства из них лежит



первичной стадии ион-радикалы вступают в дальнейшие превращения, давая продукты окисления или восстановления.

Характеристика фотохимической реакции - **квантовый выход  $\phi$**  .

**Квантовый выход** фотохимической реакции равен отношению числа прореагировавших молекул к числу поглощенных фотонов .

Если каждый поглощенный фотон вызывает фотохимический акт, то  **$\phi = 1$**  .

В действительности  **$\phi < 1$**  за счет вторичных процессов.

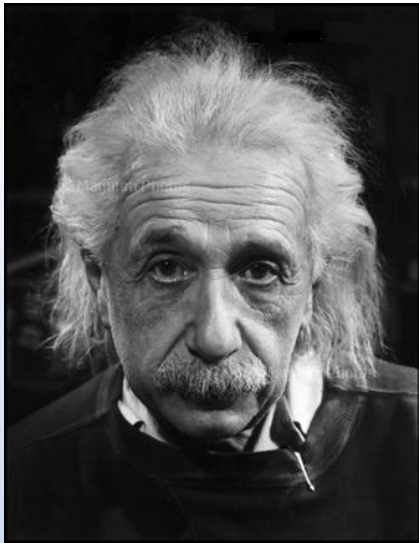
# ЗАКОНЫ ФОТОХИМИИ



Теодор фон  
ГРОТГУС  
1785 – 1822

## ЗАКОН ГРОТГУСА

ФОТОХИМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ  
ОКАЗЫВАЕТ ТОЛЬКО  
ПОГЛОЩЕННЫЙ СВЕТ.



АЛЬБЕРТ  
ЭЙНШТЕЙН  
(1879-1955)

# ЗАКОН ЭЙНШТЕЙНА

(ЗАКОН ЭКВИВАЛЕНТНОСТИ):

КАЖДЫЙ ПОГЛОЩЕННЫЙ  
КВАНТ СВЕТА  $h\nu$  ВЫЗЫВАЕТ  
ИЗМЕНЕНИЕ ОДНОЙ МОЛЕКУЛЫ





## ЗАКОН БУНЗЕНА – РОСКО:

КОЛИЧЕСТВО ФОТОПРОДУКТА ЗАВИСИТ ОТ  
ДОЗЫ ОБЛУЧЕНИЯ ( $It$ )

**Роберт Вильгельм**

**БУНЗЕН**  
**1811 – 1899**

Концентрация продуктов фотохимической реакции пропорциональна общему количеству энергии излучения, поглощённого светочувствительным веществом. Это количество равно произведению мощности излучения на время его действия. Иными словами, увеличение времени и увеличение мощности излучения *взаимозаместимы*

*Кинетика* фотохимических реакций описывается обычными *дифференциальными уравнениями*, выражающими закон действующих масс.

Единственное **ОТЛИЧИЕ** от обычных реакций в том, что скорость фотохимических процессов определяется *интенсивностью* поглощенного света.

# СКОРОСТЬ ФОТОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

Скорость фотохимических реакций  
пропорциональна количеству квантов,  
поглощенных в единицу времени:

$$\frac{dc}{dt} \approx \frac{dN}{dt}$$

Не все поглощенные кванты вызывают фотохимическую реакцию, поэтому следует учесть квантовый выход реакции –  $\phi$  .

$$\frac{dc}{dt} = \phi \frac{dN}{dt}$$

**Скорость поглощения квантов** зависит от

□ интенсивности падающего света ( $I$ ),

□ концентрации вещества ( $c$ ), участвующего в поглощении.

Коэффициент пропорциональности  $S$  - эффективное поперечное сечение молекулы - площадь ( $S$ ), при попадании в которую, квант поглощается:

$$\frac{dN}{dt} = S I c$$

С учетом квантового выхода реакции,  
уравнение примет вид:

$$\frac{dc}{dt} = -\varphi S I c$$

Решая это дифференциальное уравнения  
имеем

$$c = c_0 e^{-\varphi S I t}$$

Часто вводят величину  $\sigma$  - **поперечное сечение фотореакции**,

Площадь, при попадании в которую квант не только поглощается, но и вызывает фотохимическую реакцию:

$$\sigma = \varphi S$$



Тогда уравнение примет вид:

$$C = C_0 e^{-\sigma I t}$$

Таким образом, концентрация реагирующего вещества убывает по экспоненциальному закону в зависимости от дозы облучения  **$I t$** .

## **ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ БЕЛКОВ**

Используется для изучения конформационных свойств белка в растворе.

Белки содержат три собственных флуоресцирующих хромофора – **триптофан, тирозин и фенилаланин**.

Наиболее интенсивную ФЛ дают триптофан и тирозин.

Флуоресценцию изучают на спектрофлуориметрах

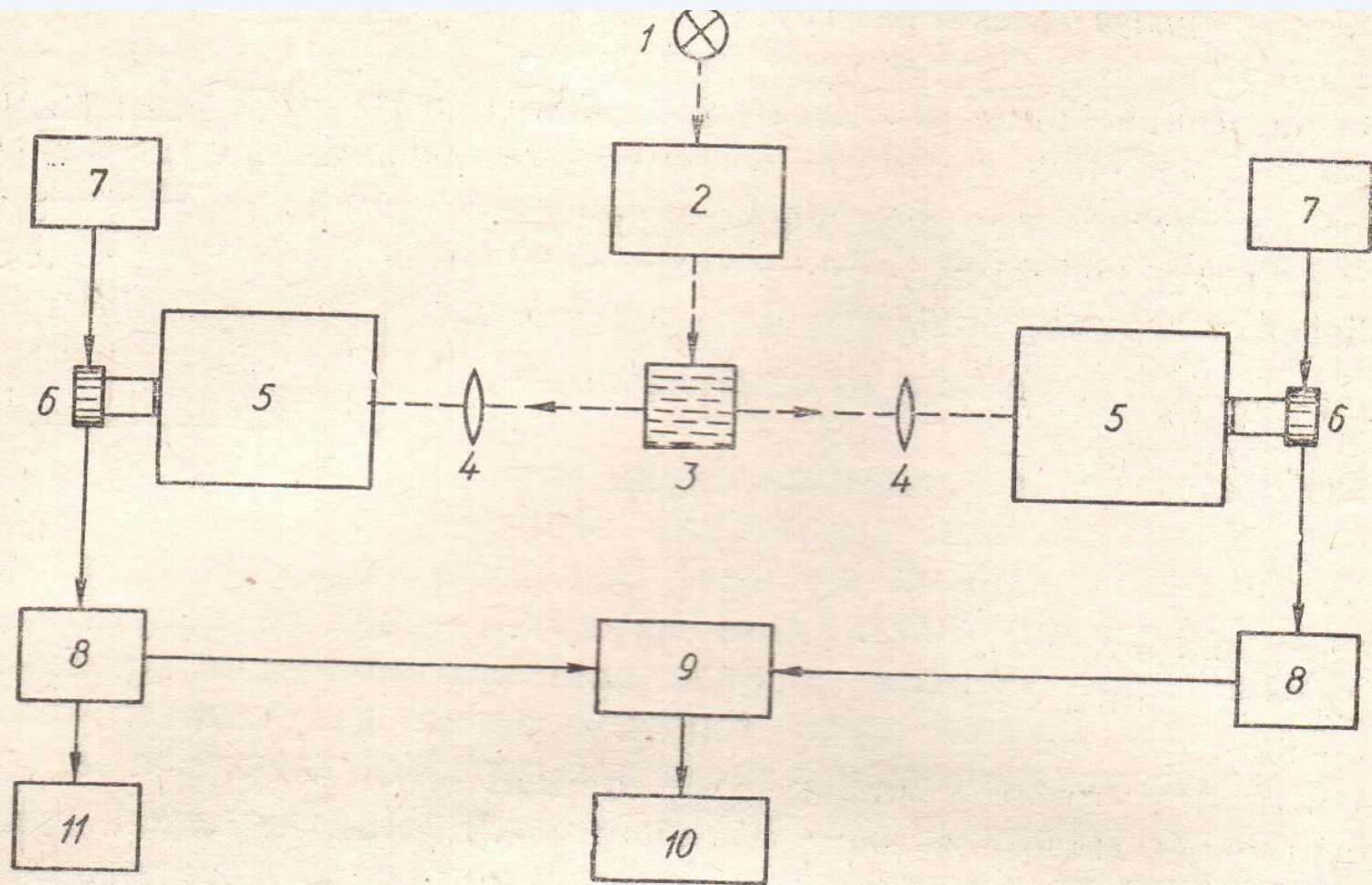


Рис. 34. Блок-схема спектрофлуориметра:

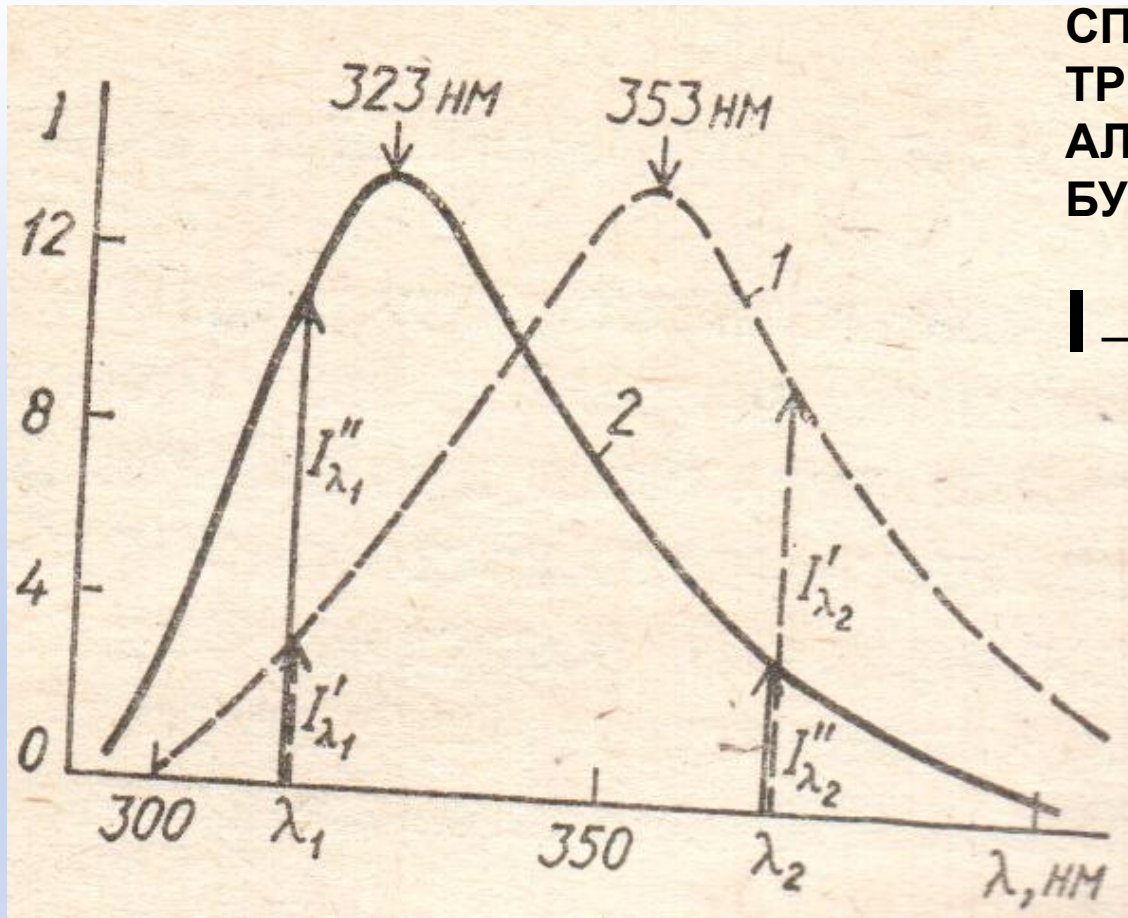
1 — источник УФ-света; 2 — монохроматор возбуждения; 3 — кювета с исследуемым веществом; 4 — фокусирующие линзы; 5 — монохроматоры флуоресценции; 6 — ФЭУ; 7 — высоковольтные стабилизаторы напряжения; 8 — усилители; 9 — частотомер; 10 — цифropечатающее устройство; 11 — самописец

Наиболее чувствительной к изменению конформации белка является ФЛ **триптофановых** остатков. Положение максимума спектра ФЛ триптофановых остатков зависит от свойств **микроокружения**.

Триптофановые остатки находятся на **поверхности глобулы** в полярном окружении, или в денатурированном белке: **их спектр подобен спектру триптофана в воде**.

Спектр остатков триптофана **внутри глобулы** смещен **в более коротковолновую** область, а его максимум варьирует в широких пределах (от 442 до 320 нм).

## СПЕКТРЫ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ТРИПТОФАНА В ВОДЕ (1) И АЛЬДОЛАЗЫ (2) В ФОСФАТНОМ БУФЕРЕ



I – интенсивность флуоресценции

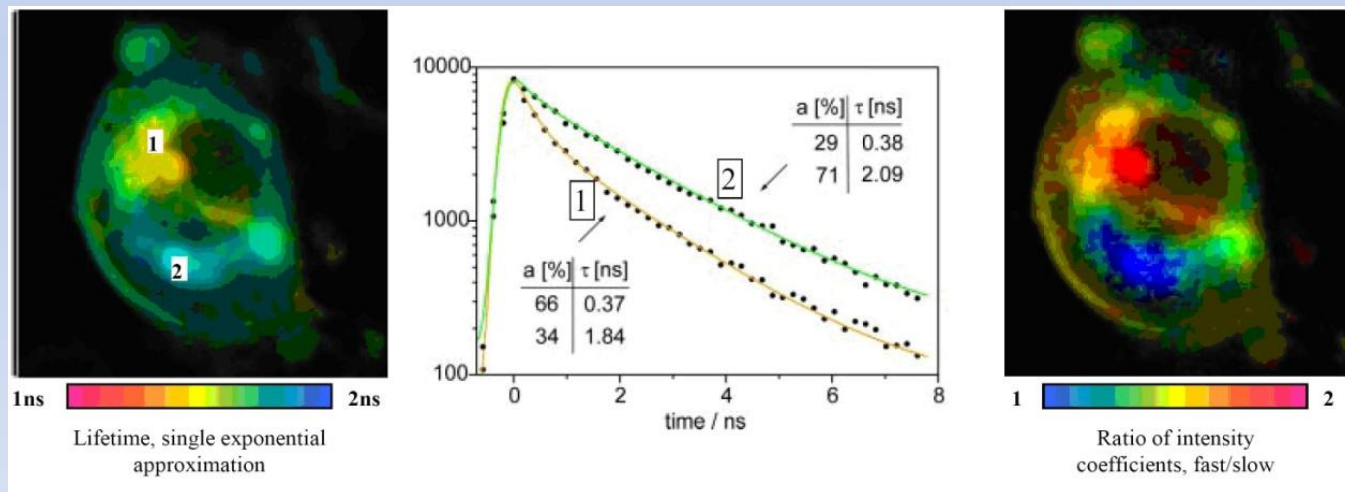
СДВИГ СПЕКТРА **2** В КОРОТКОВОЛНОВУЮ ОБЛАСТЬ СВИДЕТЕЛЬСТВУЕТ О ВЫСОКОГИДРОФОБНОМ МИКРООКРУЖЕНИИ ТРИПТОФАНОВЫХ ОСТАТКОВ В МОЛЕКУЛЕ АЛЬДОЛАЗЫ

Измеряя спектры триптофановой ФЛ белка, можно оценить конформационные перестройки в белке при действии факторов среды или в процессе функционирования белка (ферментный катализ, транспорт ионов и др.)

Кроме изучения собственной ФЛ широко используют **флуоресцентные зонды**.

# ПРИМЕНЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ЗОНДОВ

- оценка микровязкости клеточных мембран
- вращательная диффузия белков
- реакции ассоциации (связывания) соединений с белками, ДНК, мембранами
- определение pH и концентрации  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  с помощью подходящих флуоресцентных зондов



*Двумерное картирование биологической клетки по эффективности флуоресцентного переноса энергии между двумя флуоресцентными метками, введенными в разные белковые субъединицы кальциевого канала*