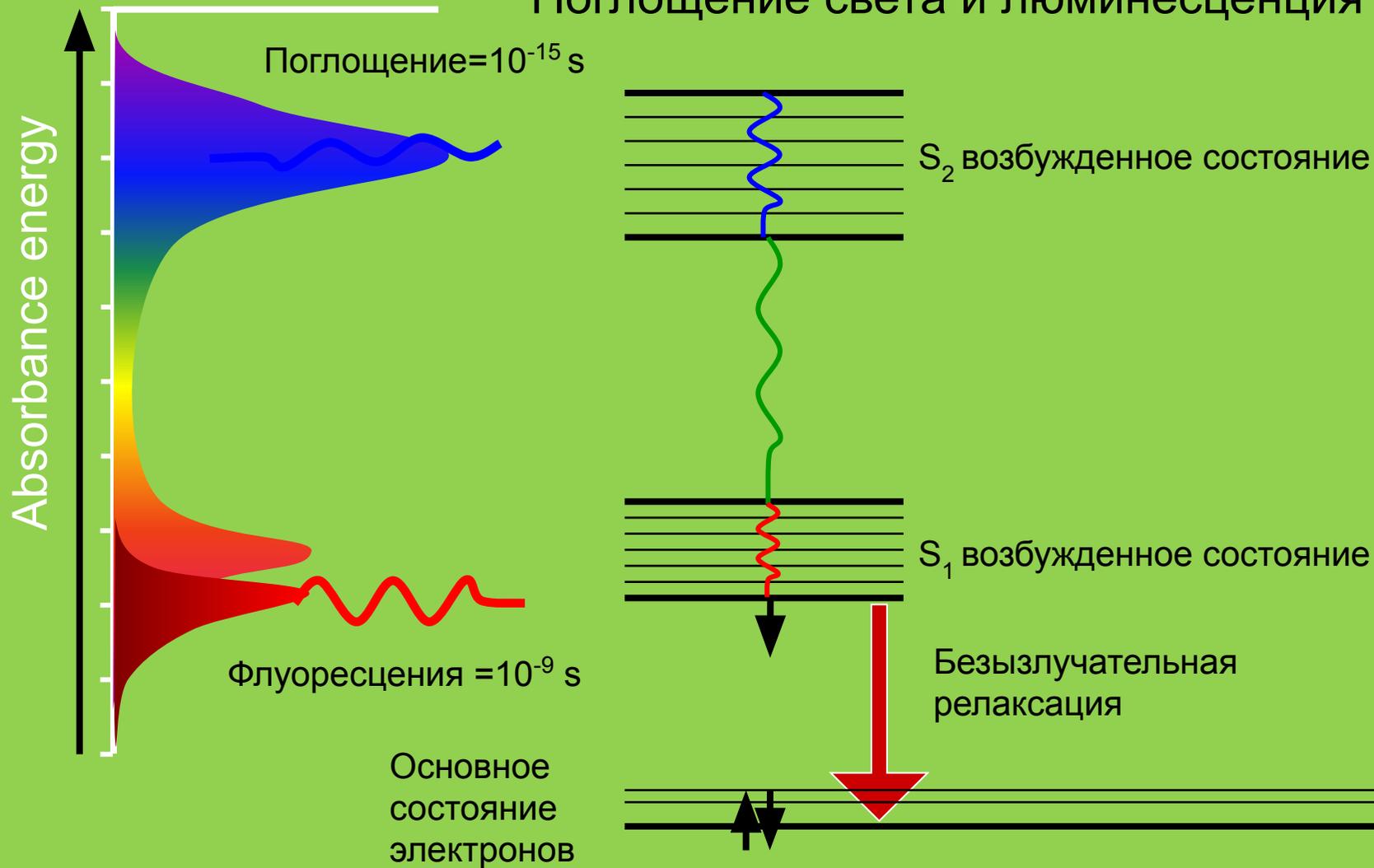


Лекция 6

Люминесценция – свечение атомов, молекул, ионов и других более сложных комплексов, возникающее в результате электронного перехода в этих частицах при их возвращении из возбужденного состояния в основное

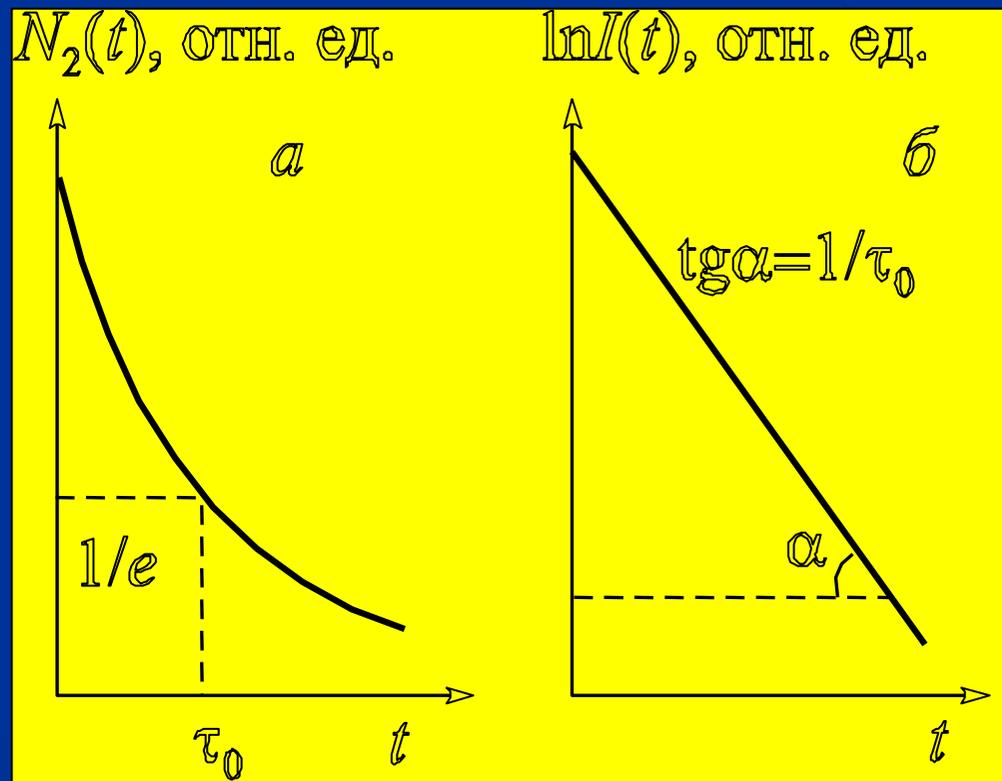
Поглощение света и люминесценция



$$\frac{dN_2(t)}{N_2(0)} = Ae^{-At} dt$$

Законы затухания люминесценции

$$\frac{dN_2(t)}{N_2(0)} = Ae^{-At} dt$$



$$\frac{dN_2(t)}{N_2(0)} = Ae^{-At} dt$$

Законы затухания люминесценции

$$\tau = \frac{1}{A}$$

$$\frac{dN_2(t)}{N_2(0)} = Ae^{-At} dt$$

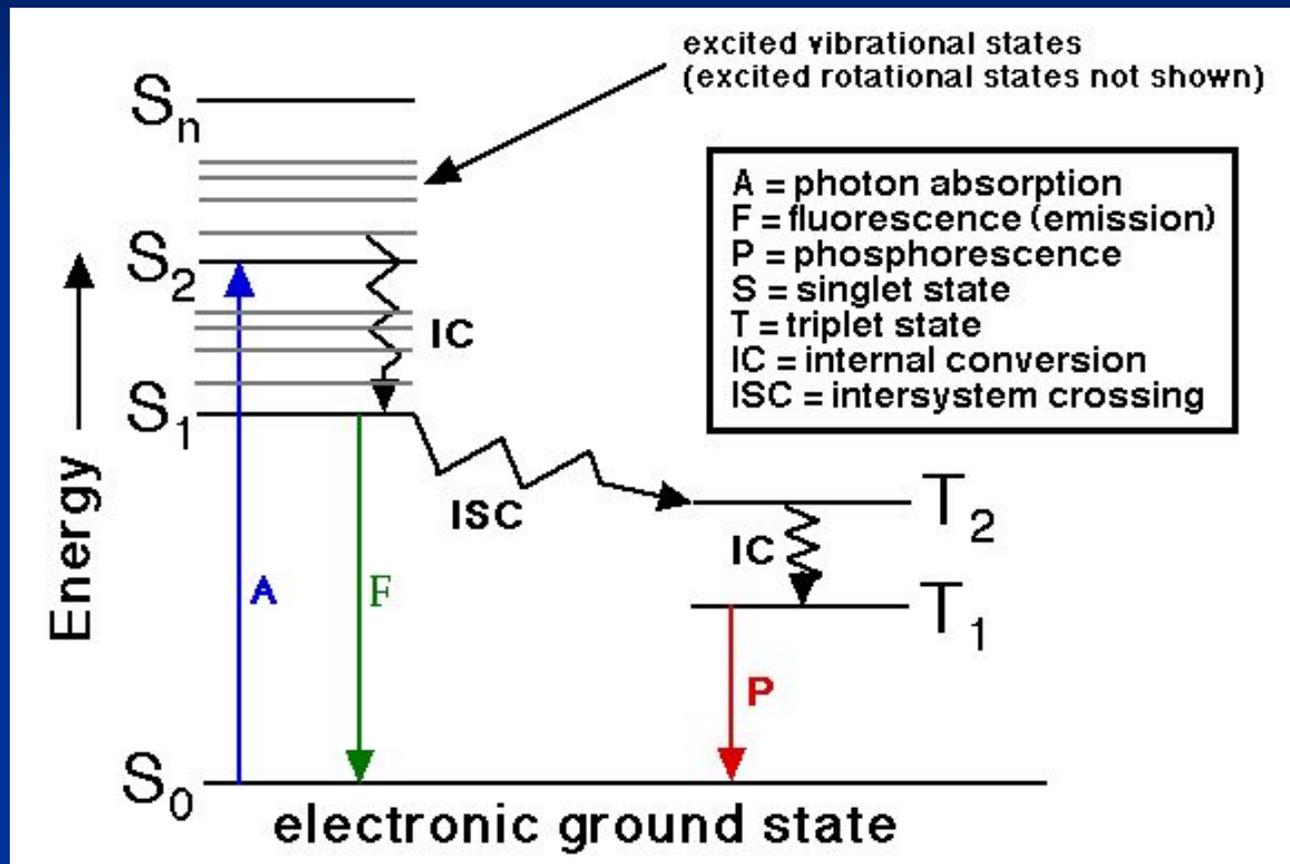
| <i>Соединение</i> | <i>Растворитель</i> | $\tau_{фл}, нс$ |
|----------------------------------|---------------------|-----------------|
| 9-Аминоакридин | этанол | 15,2 |
| Антрацен | гексан | 5,75 |
| Альбумин сыворотки | вода | 4,5 |
| Флуоресцеин | 0,1 н. NaOH | 4,5 |
| Профлавин | вода | 4,5 |
| Антрацен | бензол | 4,26 |
| Рибофлавин | вода | 4,2 |
| Родамин 6Ж | этанол | 4,2 |
| | вода | 3,9 |
| Индол | вода | 2,7 |
| Триптофан | вода | 2,6 |
| Акридиновый оранжевый | вода | 2,0 |

$$\frac{dN_2(t)}{N_2(0)} = Ae^{-At} dt$$

Значения квантового выхода $V_{\text{кв}}$ и среднего времени возбужденного состояния эритрозина в различных растворителях

| Растворитель | $V_{\text{кв}}$ | $\tau_{\text{фл}}$ (нс) |
|--------------|-----------------|-------------------------|
| Ацетонитрил | 0,33 | 1,68 |
| Изопропанол | 0,13 | 0,82 |
| Пропанол | 0,09 | 0,47 |
| Бутанол | 0,06 | 0,34 |
| Глицерин | 0,05 | 0,211 |

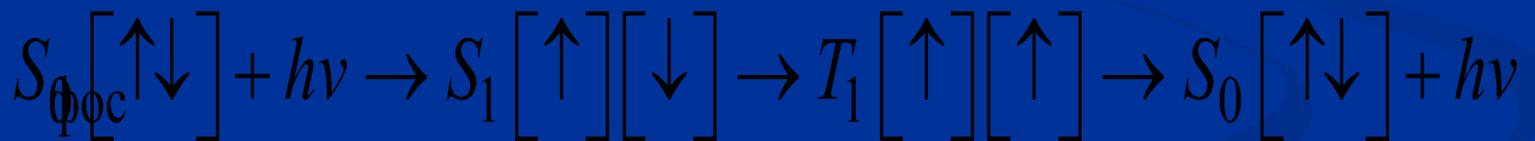
Диаграмма энергетических уровней (диаграмма Яблонского)

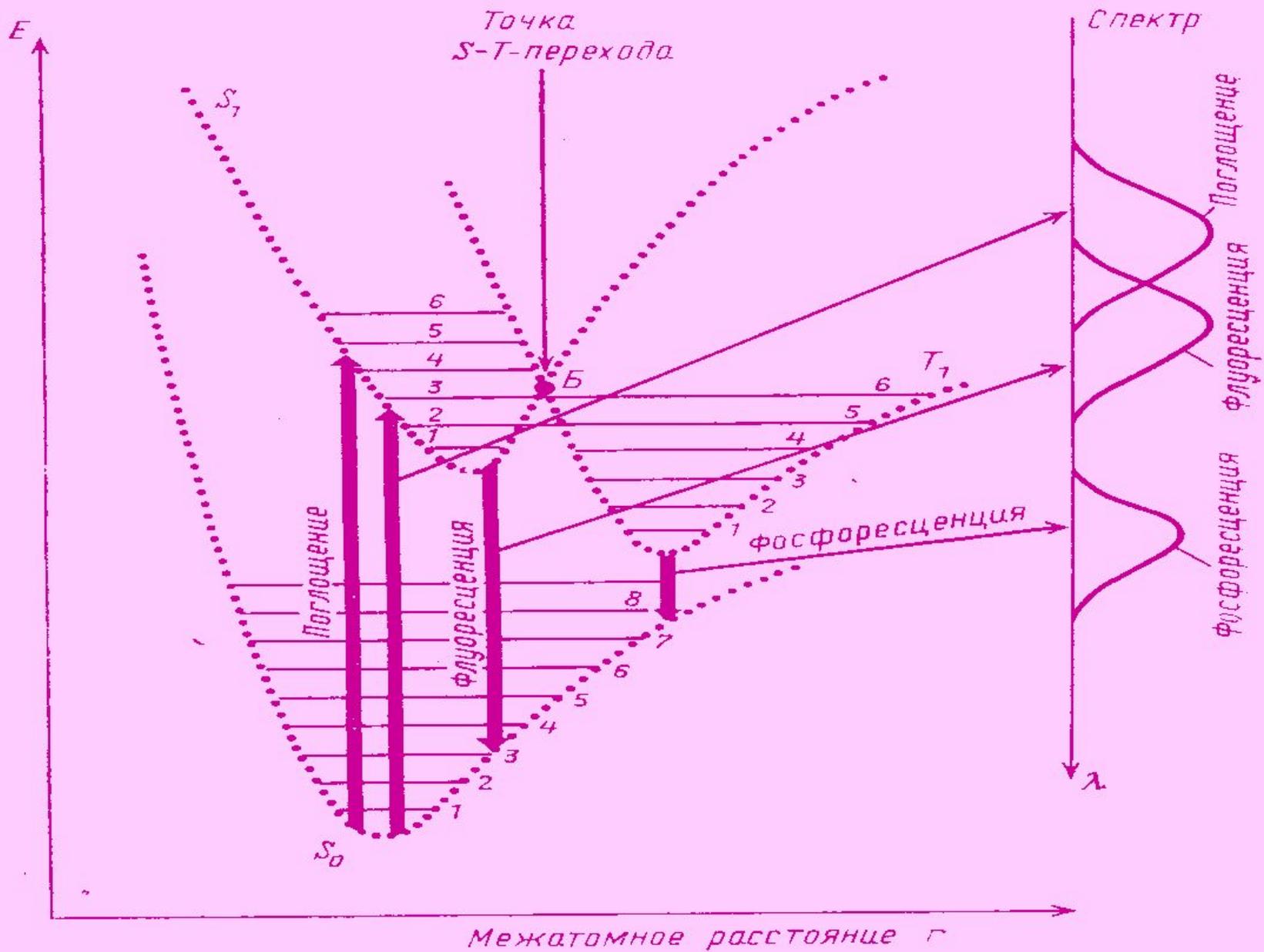


Длительные

процессы свечения

Фосфоресценция. Внутренняя и
интеркомбинационная конверсия

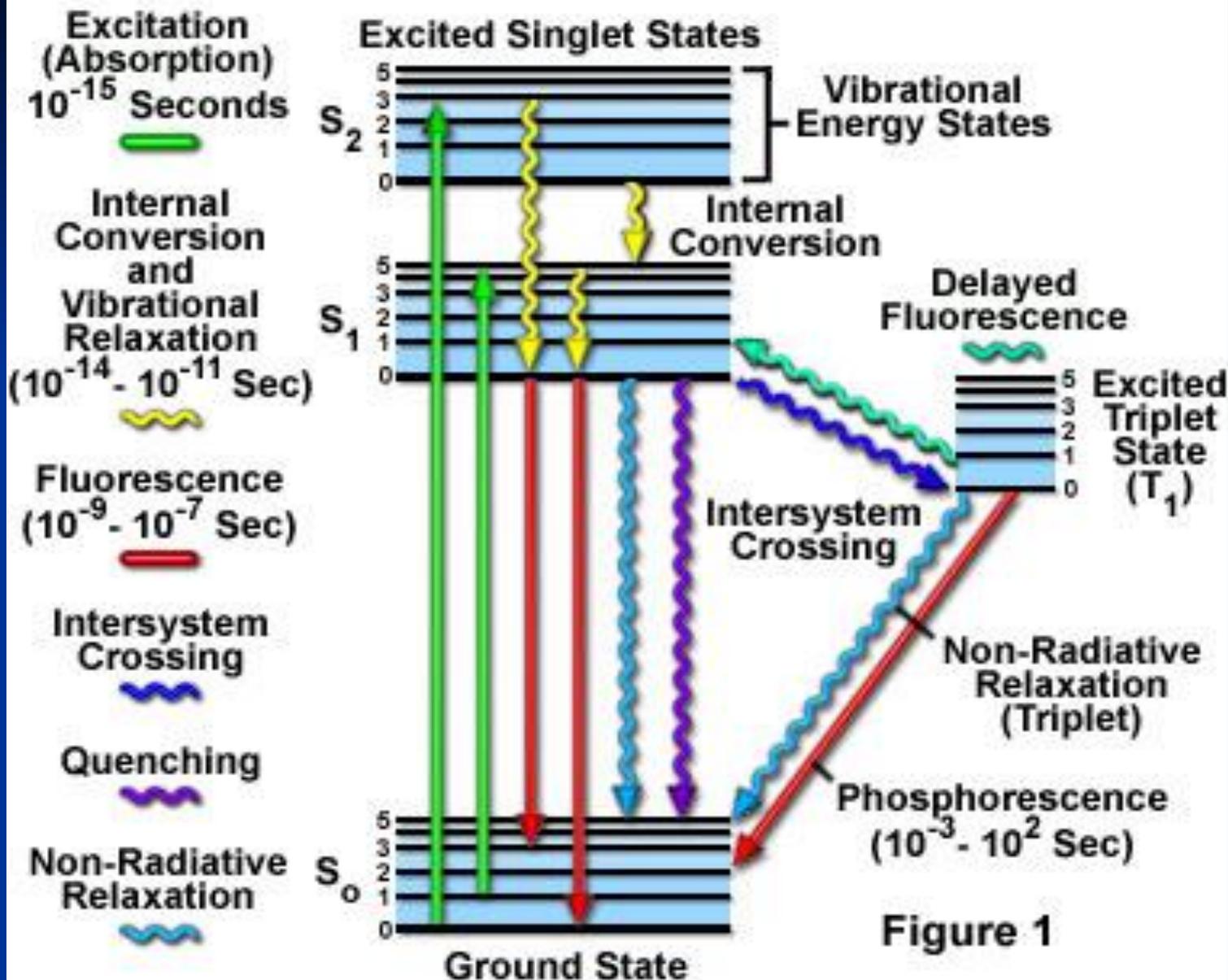




Процесс



Jablonski Energy Diagram



Квантовый выход флуоресценции

$$\varphi_F = \frac{\text{Число фотонов флуоресценции}}{\text{Число фотонов поглощенных}}$$

$$\varphi_F = \frac{k_F}{k_F + k_{ic} + k_{isc} + k_{pd} + k_d}$$

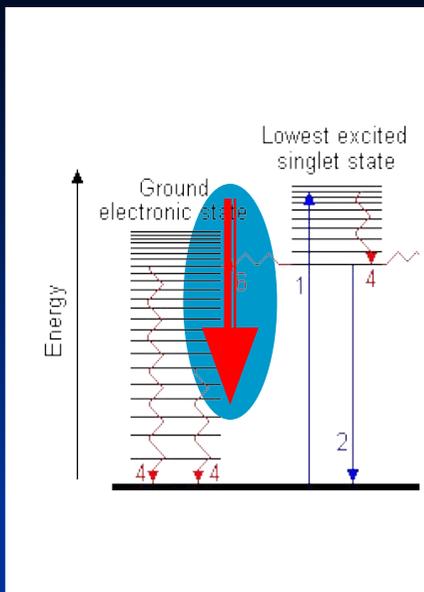
k_F = излучение ($S_1 \rightarrow S_0$)

k_{ic} = внутренняя конверсия
($S_1 \rightarrow S_0$)

k_{isc} = интеркомбинационная
конверсия ($S_1 \rightarrow T_1$)

k_{pd} = преддиссоциация

k_d = диссоциация



с) **Внешняя конверсия:**
 Дезактивация благодаря
 столкновению с растворителем
 (столкновительное тушение)

Уменьшение столкновений
 увеличивается флуоресценция или
 фосфоресценция
 Уменьшается температура и /или
 увеличивается вязкость
 Уменьшается концентрация



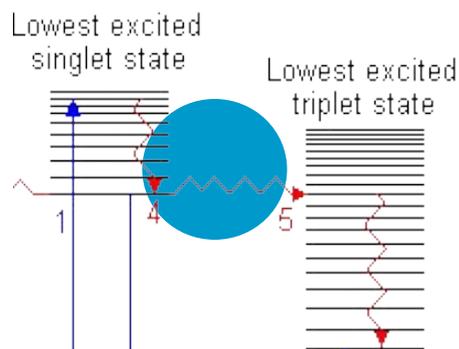
d) **Интеркомбинационные переходы:**

-Спин электрона «переворачивается»

- Изменение мультиплетности в молекуле
 (синглет на триплет)

- увеличиваются, если колебательные уровни
 перекрываются

- вероятен, если молекула содержит тяжелые
 атомы (I, Br)



e) **Фосфоресценция:**

переход с триплетного электронного
 состояния в основное с излучением
 фотона

Влияние внутри и
межмолекулярных
взаимодействий на
люминесценцию

Эффекты растворителя и окружающей среды на спектры флуоресценции

Полярность и вязкость растворителя

Скорость релаксации растворителя

Конформационные изменения в молекуле-активаторе

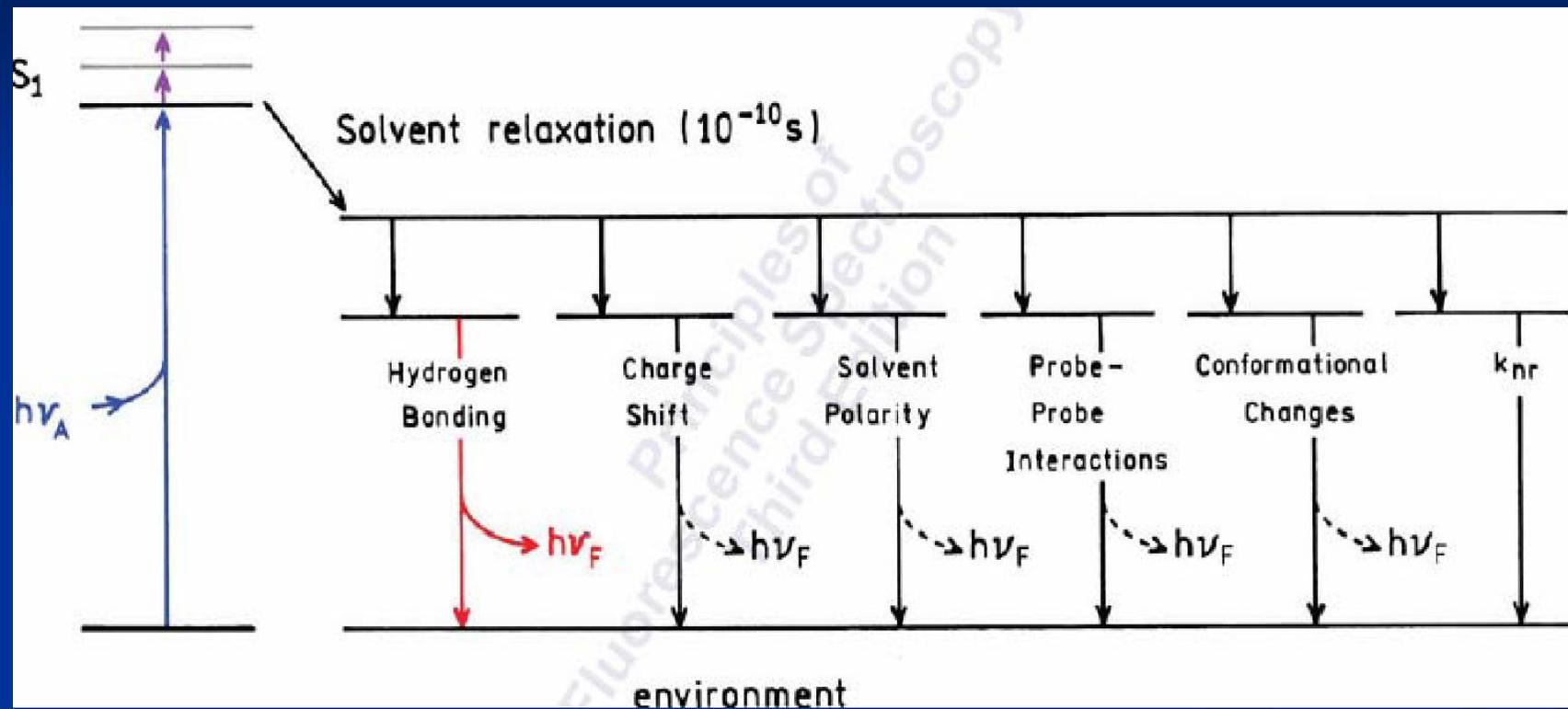
Жесткость локального окружения

Внутренний перенос заряда

Перенос протона и реакции в возбужденном состоянии

Взаимодействие между молекулами-активатора

Изменение скоростей излучательного и безызлучательного переходов



Молекулярные процессы в конденсированной фазе

- Диффузия
- Релаксация
- Сольватация
- Перенос заряда (электрон и протон)
- Растворитель: активный участник – энергия, трение, сольватация

Молекулярная временная шкала

Диффузия $D \sim 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$

Электронные $10^{-16} - 10^{-15} \text{ s}$

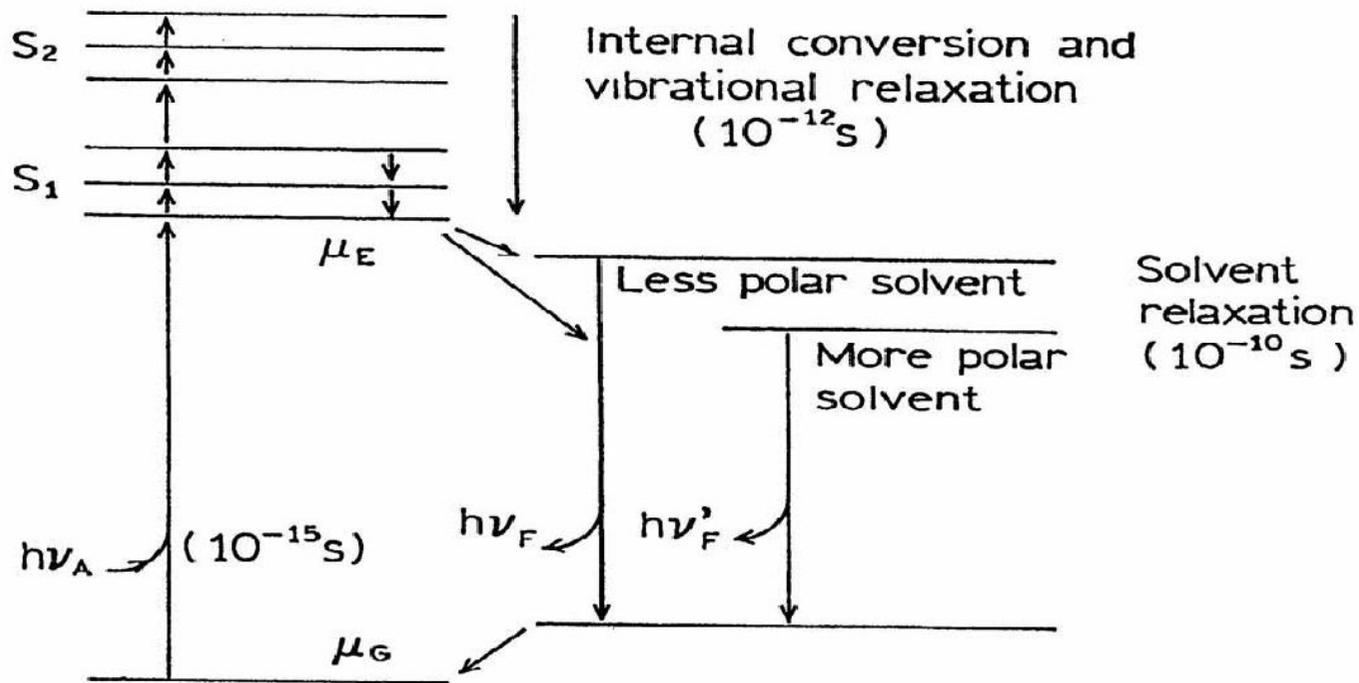
Колебания 10^{-14} s

Колебательная релаксация $1 - 10^{-12} \text{ s}$

Химические реакции $10^{12} - 10^{-12} \text{ s}$

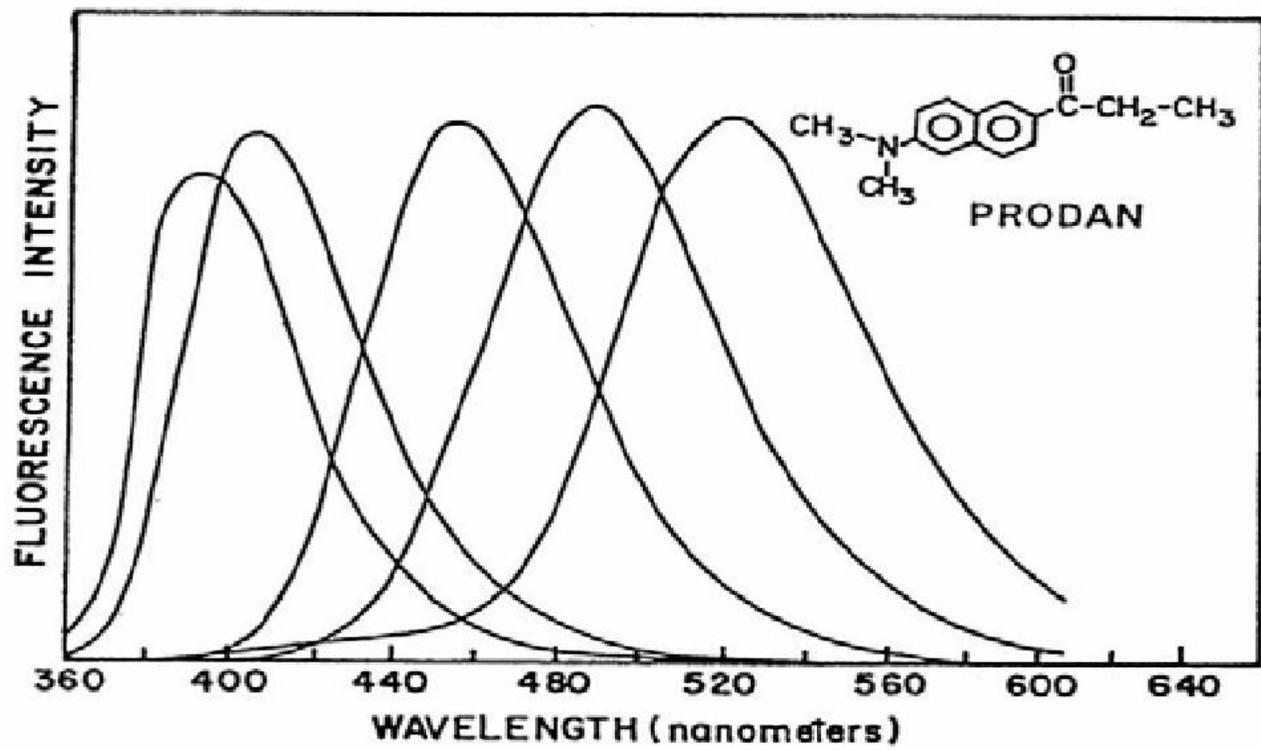
Вращения 10^{-12} s

Время столкновения 10^{-12} s

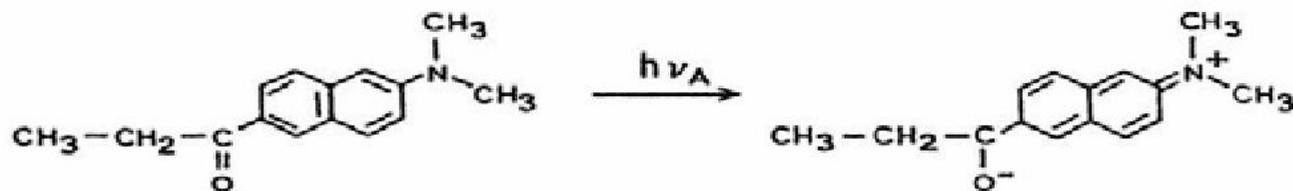


Jablonski diagram for fluorescence with solvent relaxation

In fluid solutions, solvent relaxation is typically fast relative to the rate of emission.



Fluorescence emission spectra of PRODAN. From left to right the solvents are cyclohexane, chlorobenzene, dimethylformamide, ethanol, and water.

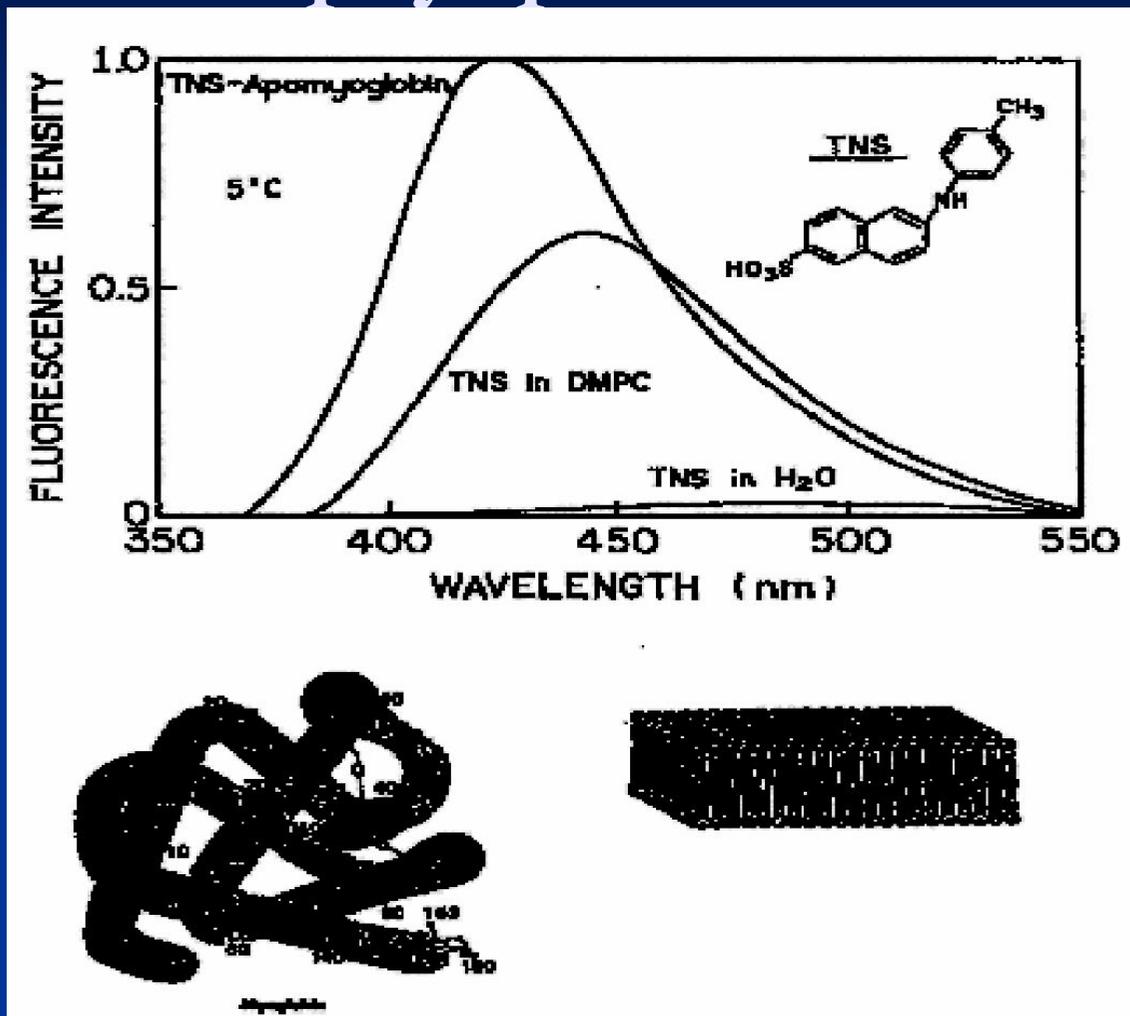


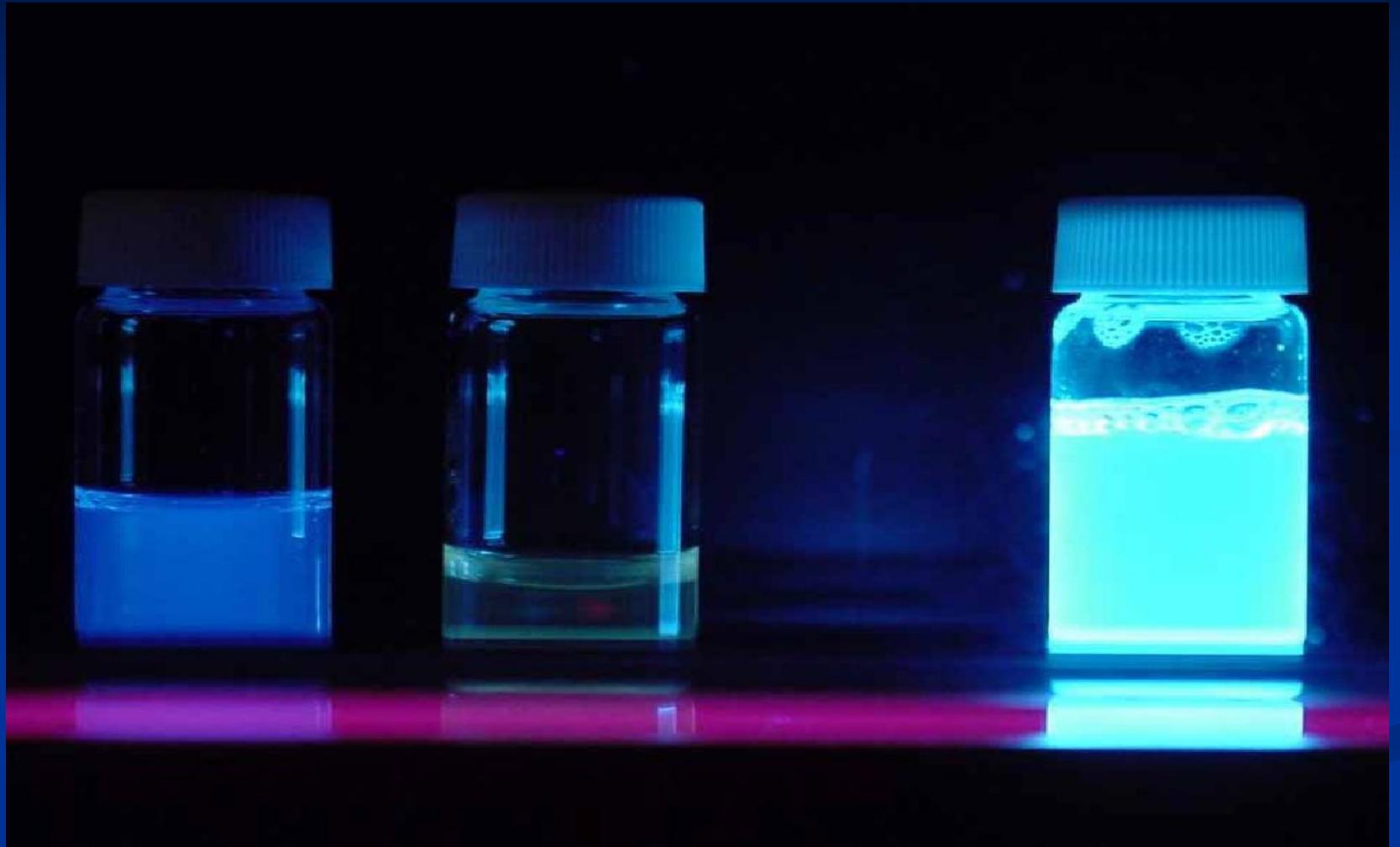


Полярность растворителя



Эффект связывания макромолекул на флуоресценцию





Существует три вида ван-дер-ваальсовых (универсальных) взаимодействий:

- Ориентационные $\Phi_{\text{ор}} = \sum_{i=1}^N \frac{1}{r_i^6} \cdot \left[\frac{2}{3} \cdot \frac{1}{kT} \mu^2 \right]$

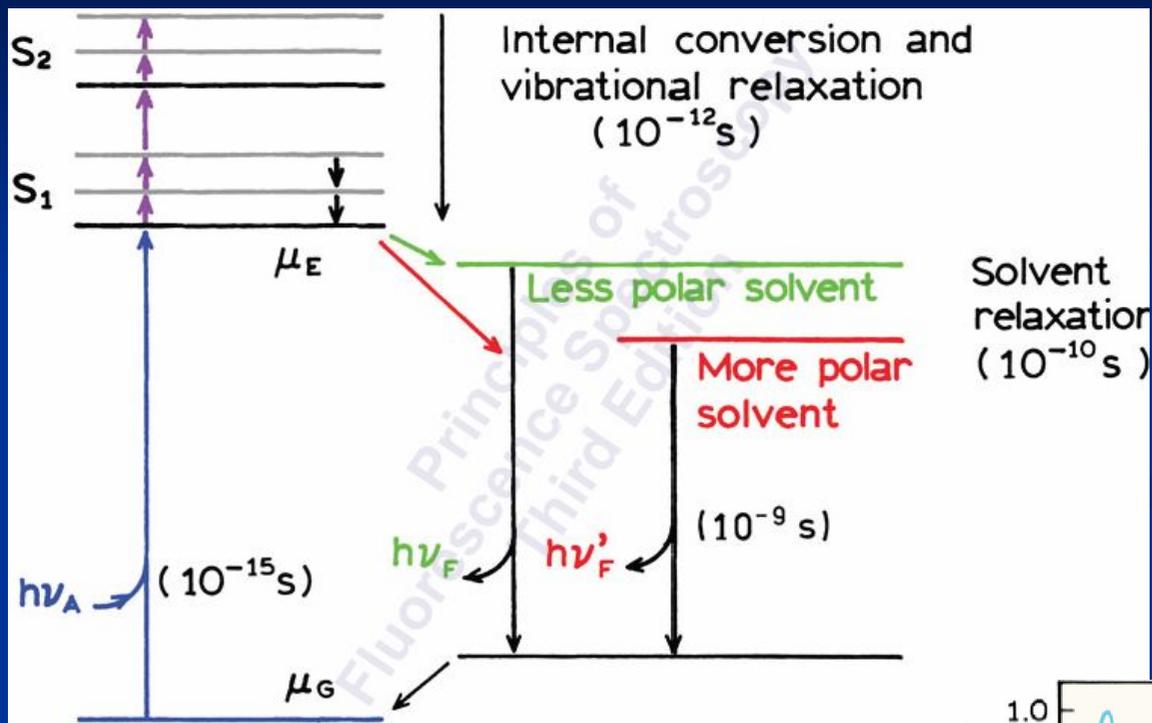
- Индукционные $\Phi_{\text{инд}} = \sum_{i=1}^N \frac{1}{r_i^6} \cdot \alpha$

- Дисперсионные $\Phi_{\text{дисп}}^g = \sum_{n=1}^N \frac{1}{r_i^6} \cdot \left[\frac{3I_u^0 I_v^0}{2(I_v^0 + I_u^0)} \cdot \alpha + \mu^2 \right]$

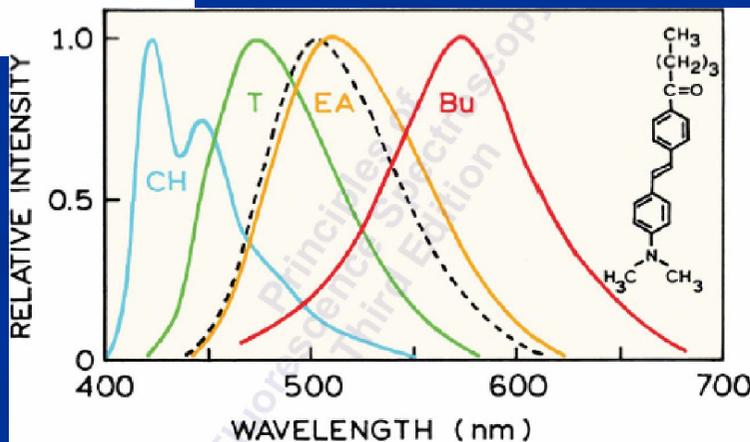
где r – расстояние между молекулами активатора и растворителя,
 α – поляризуемость молекул растворителя,

$I_{u(v)}^0$ – потенциал ионизации молекул активатора (растворителя).

Полярность растворителя



Объясняется уравнением Липперта



$$\xi = \frac{2\mu}{a^3} f = \frac{2}{hca^2} \left(\frac{\varepsilon - 1}{2\varepsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \right) (\mu_E - \mu_G)^2 + const$$

Уравнение Липперта

$$\nu_A - \nu_F = \frac{2}{hca^2} \left(\frac{\varepsilon - 1}{2\varepsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \right) (\mu_E - \mu_G)^2 + const$$



Ориентационная поляризуемость

Энергия диполя в электрическом поле

$$E_{dipole} = -\mu R$$

R- электрическое поле (реактивное)
индуцированное диполем



$$R = \frac{2\mu}{a^3} f$$

f- поляризуемость растворителя
a- радиус полости

Поляризуемость растворителя:

подвижность электронов растворителя
и дипольного момента молекул растворителя

Высокочастотная поляризуемость

$$f(n) = \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \quad \text{- перераспределения электронов растворителя}$$

Низкочастотная поляризуемость

$$f(\varepsilon) = \frac{\varepsilon - 1}{2\varepsilon + 1} \quad \text{- переориентация диполей растворителя}$$

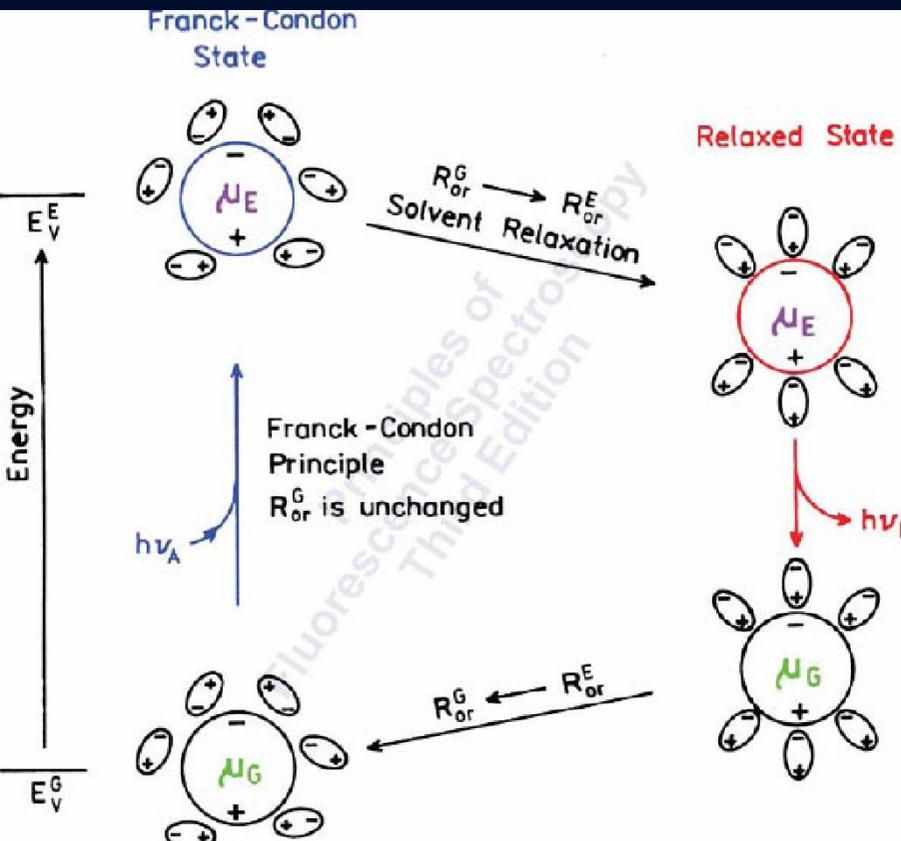
Ориентационная
поляризуемость



$$\Delta f = \frac{\varepsilon - 1}{2\varepsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1}$$

| | вода | этанол | гексан |
|---------------|------|--------|--------|
| ε | 78,3 | 24,3 | 1,89 |
| n | 1,33 | 1,35 | 1,37 |
| Δf | 0,32 | 0,30 | 0,001 |

$$R_{or}^G = \frac{2\mu_G}{a^3} f(n)$$



Реактивное поле

• Электронное движение

$$R_{el}^G = \frac{2\mu_G}{a^3} f(n) \quad R_{el}^E = \frac{2\mu_E}{a^3} f(n)$$

Переориентация

$$R_{or}^G = \frac{2\mu_G}{a^3} \Delta f \quad R_{or}^E = \frac{2\mu_E}{a^3} \Delta f$$

Поглощение энергии в основном и возбужденном состояниях

$$Energy^E (absorption) = E_V^E - \mu_E R_{or}^G - \mu_E R_{el}^E$$

$$Energy^G (absorption) = E_V^G - \mu_G R_{or}^G - \mu_G R_{el}^G$$

$$\nu = \frac{\Delta E}{hc}$$

■ Энергия поглощения

$$\nu = \frac{\Delta E}{hc}$$

$$hc\nu_A = hc(\nu_A)_V - (\mu_E - \mu_G)R_{or}^G - \mu_E R_{el}^E + \mu_G R_{el}^G$$

Энергии двух уровней для излучения

$$Energy^E (emission) = E_V^E - \mu_E R_{or}^E - \mu_E R_{el}^E$$

$$Energy^G (emission) = E_V^G - \mu_G R_{or}^E - \mu_G R_{el}^G$$

Энергия излучения

$$hc\nu_F = hc(\nu_F)_V - (\mu_E - \mu_G)R_{or}^E - \mu_E R_{el}^E + \mu_G R_{el}^G$$

$$\nu_A - \nu_F = -\frac{1}{hc}(\mu_E - \mu_G) + (R_{or}^G - R_{or}^E) + const$$

$$v_A - v_F = -\frac{2}{hca^2}(\mu_E - \mu_G) + (\mu_G \Delta f + \mu_E \Delta f) + const$$

$$v_A - v_F = -\frac{2}{hca^2}(\mu_E - \mu_G) + (\mu_G \Delta f - \mu_E \Delta f) + const$$

$$v_A - v_F = \frac{2\Delta f}{hca^2}(\mu_E - \mu_G)^2 + const$$

$$\Delta f = \frac{\varepsilon - 1}{2\varepsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1}$$

Уравнение
Липперта

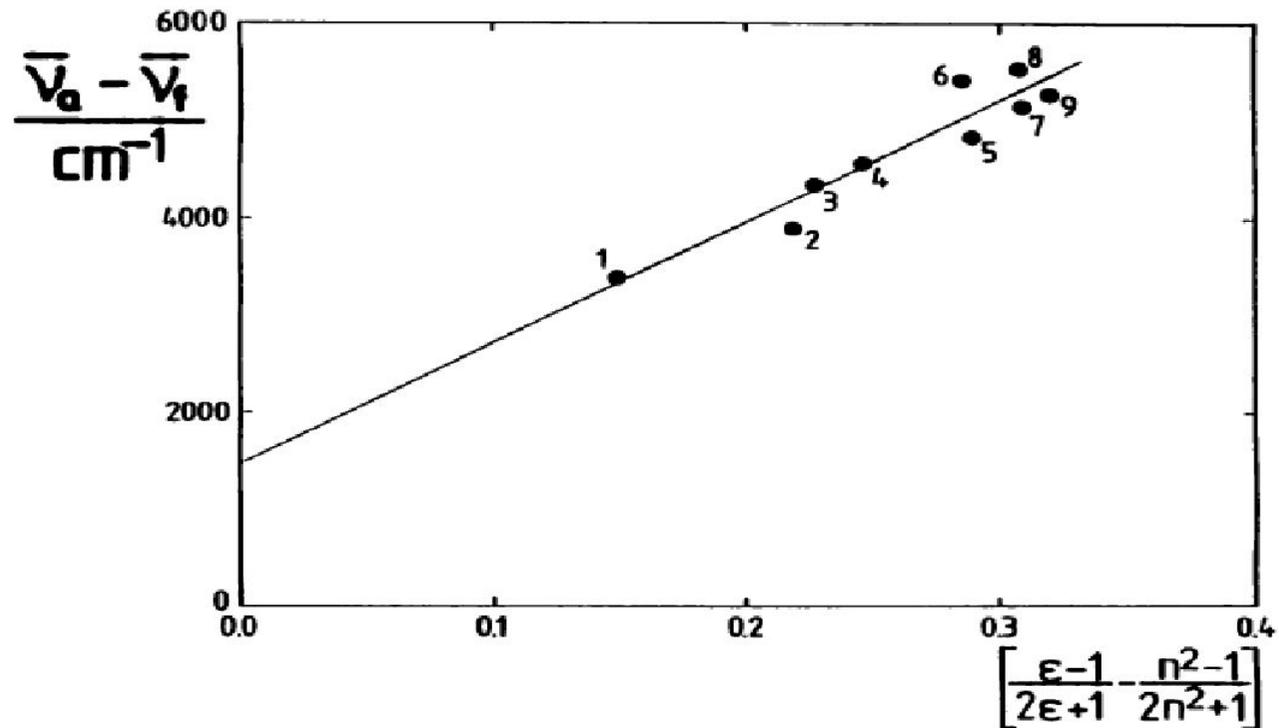
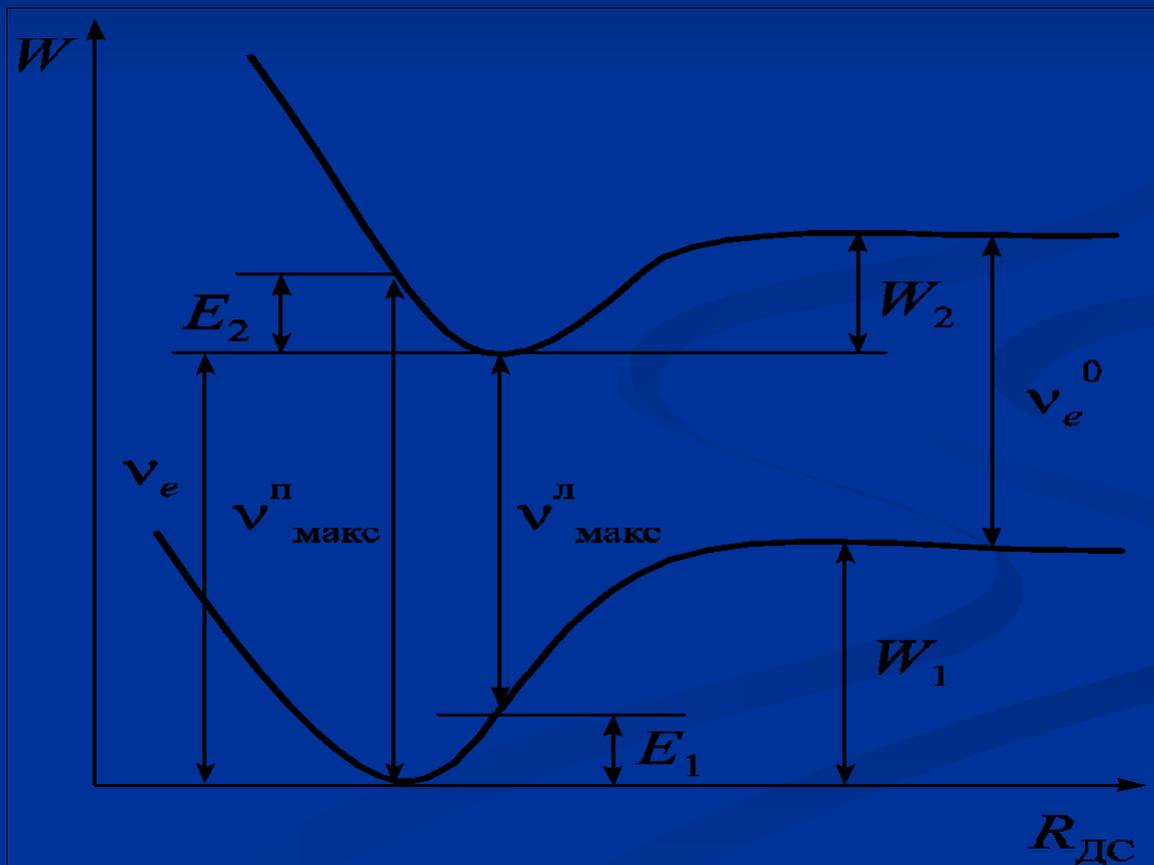
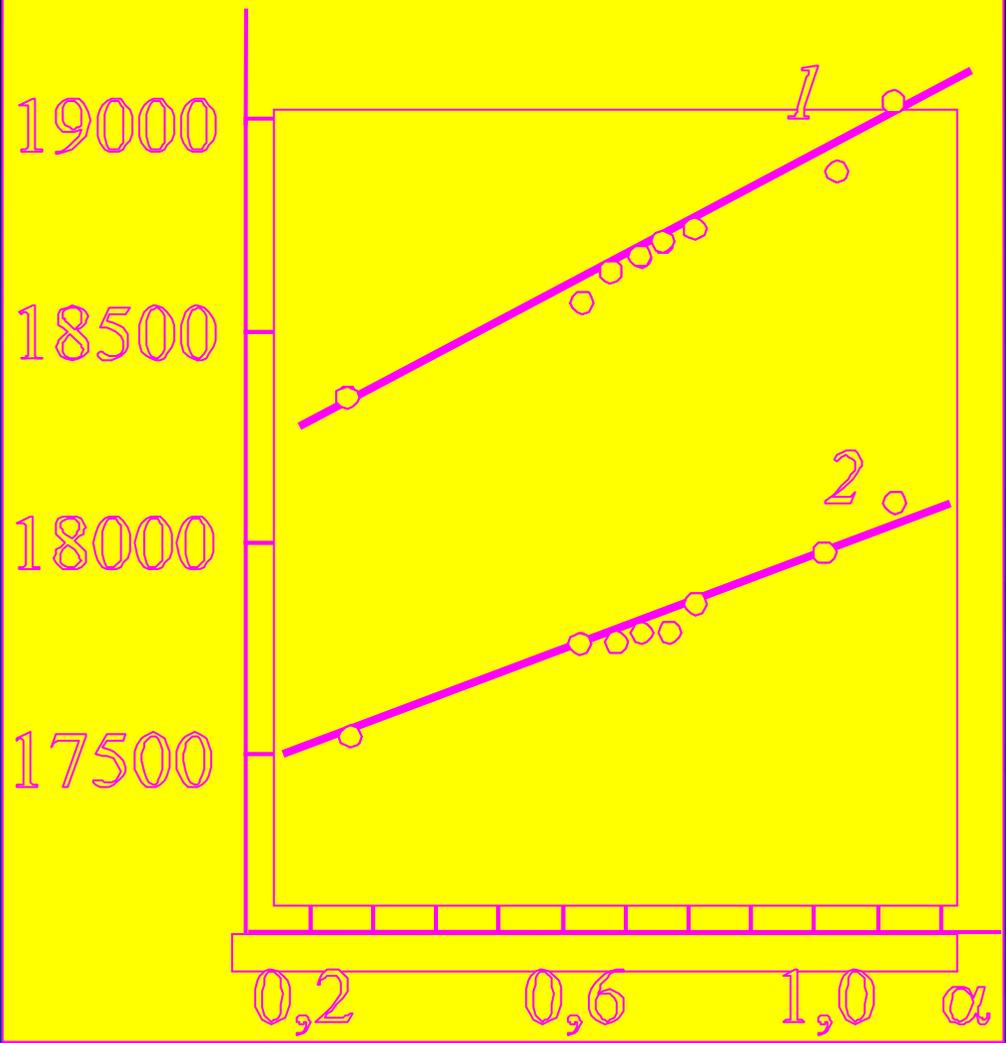


FIGURE 3 Lippert plot of the Stokes shift, $\bar{\nu}_a - \bar{\nu}_f$, of RH421 as a function of the solvent orientation polarizability, $[(\epsilon - 1)/(2\epsilon + 1) - (n^2 - 1)/(2n^2 + 1)]$. The points refer to the following solvents: (1)chloroform, (2) dichloromethane, (3) octanol, (4) hexanol, (5) ethanol, (6) acetone, (7) methanol, (8) acetonitrile, and (9) water.

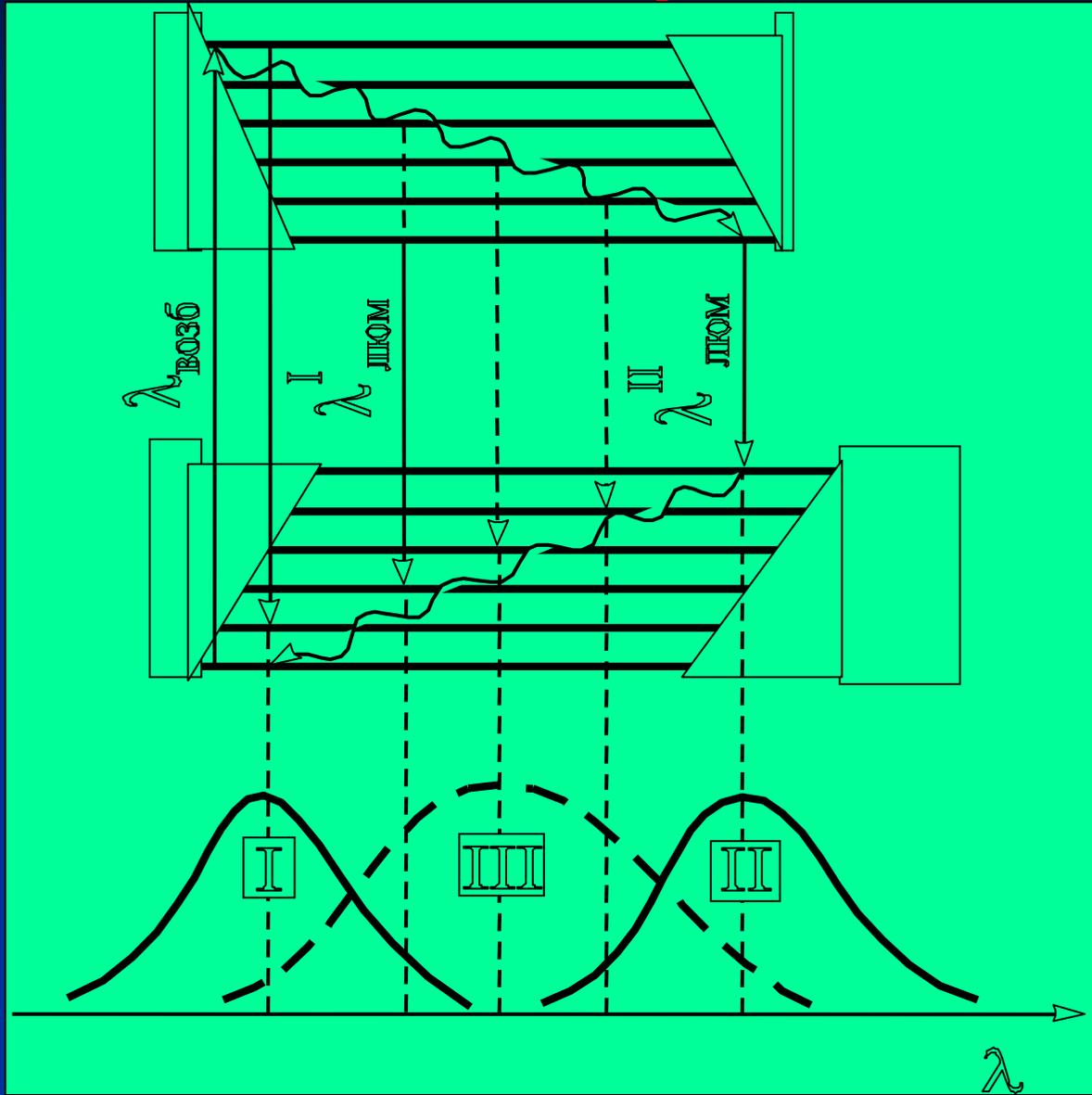
Специфические взаимодействия

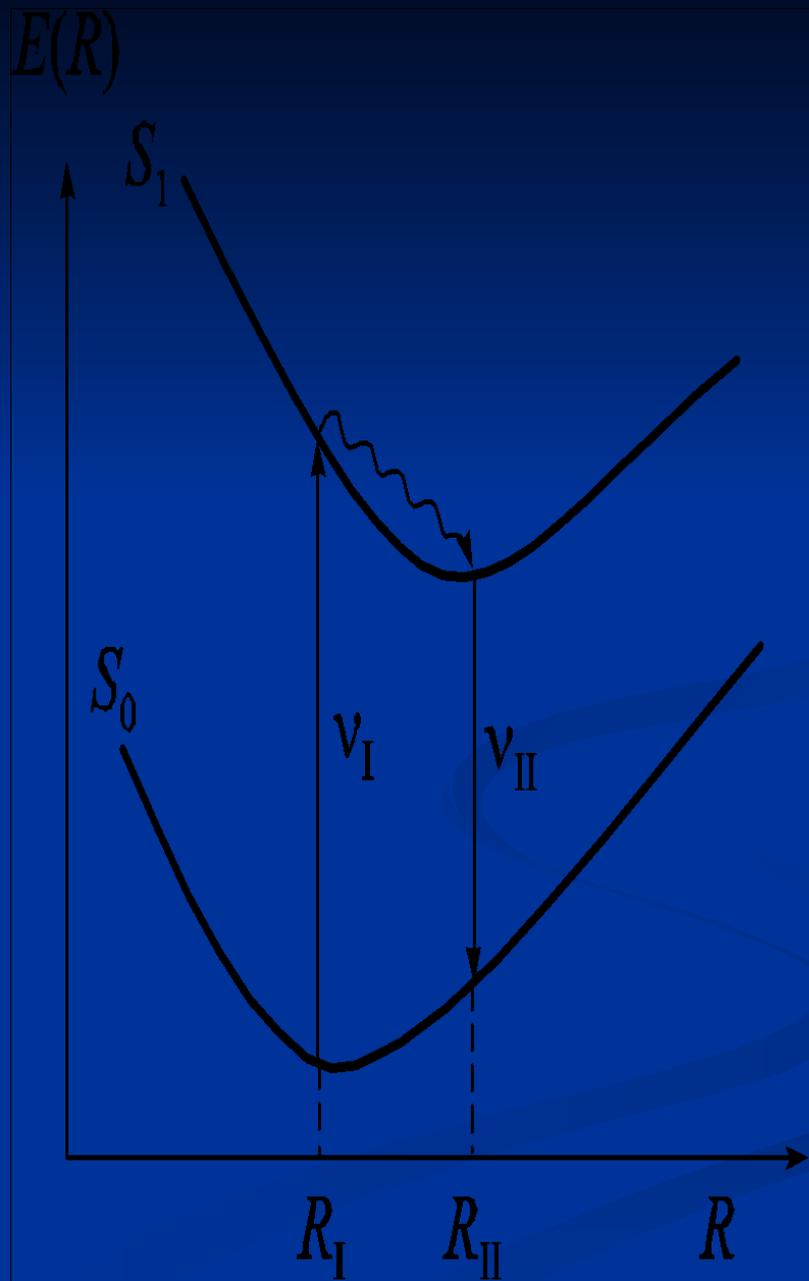


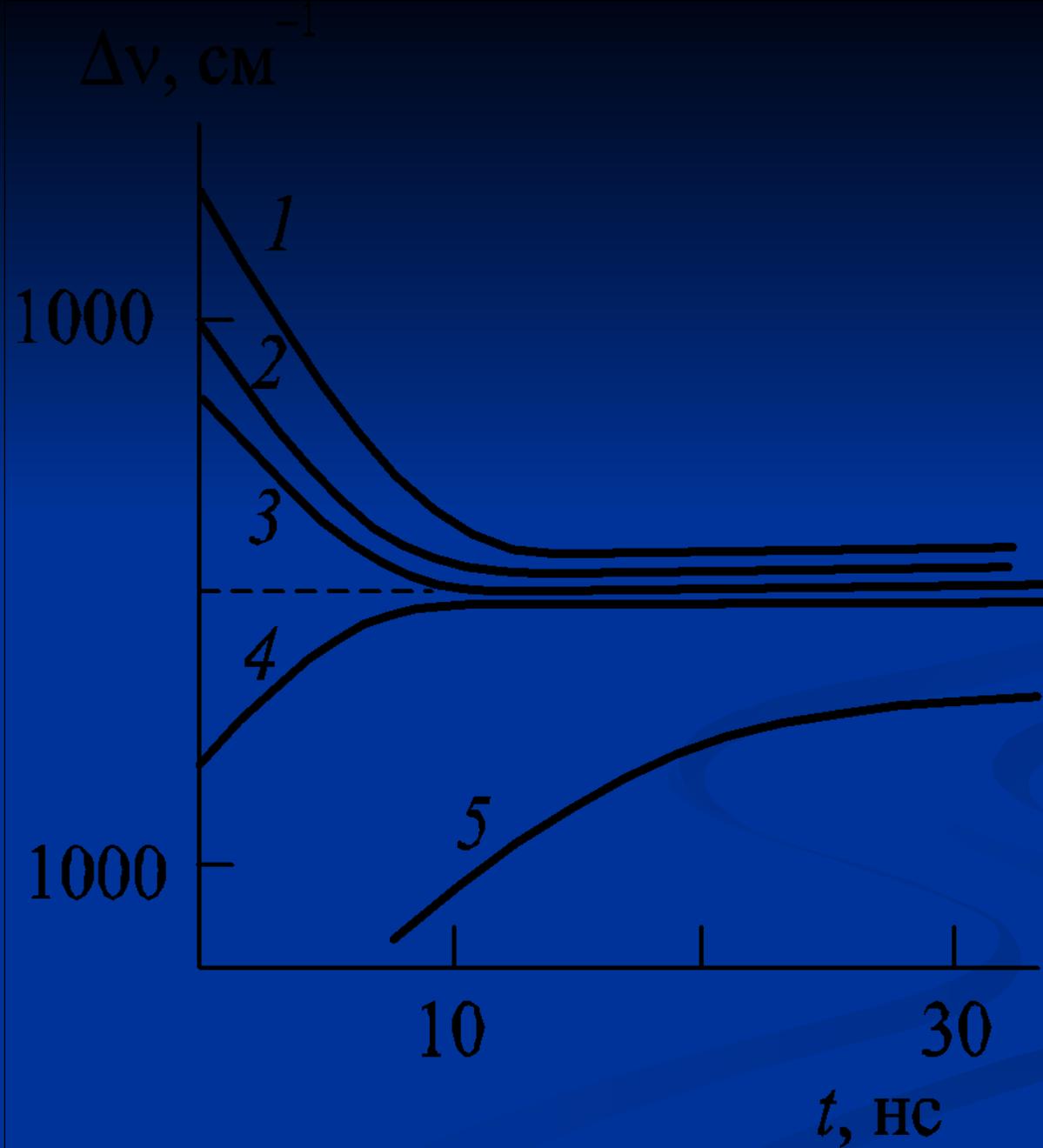
$\nu_{\text{макс}}^{\text{I}}$, $\nu_{\text{макс}}^{\text{II}}$, CM^{-1}

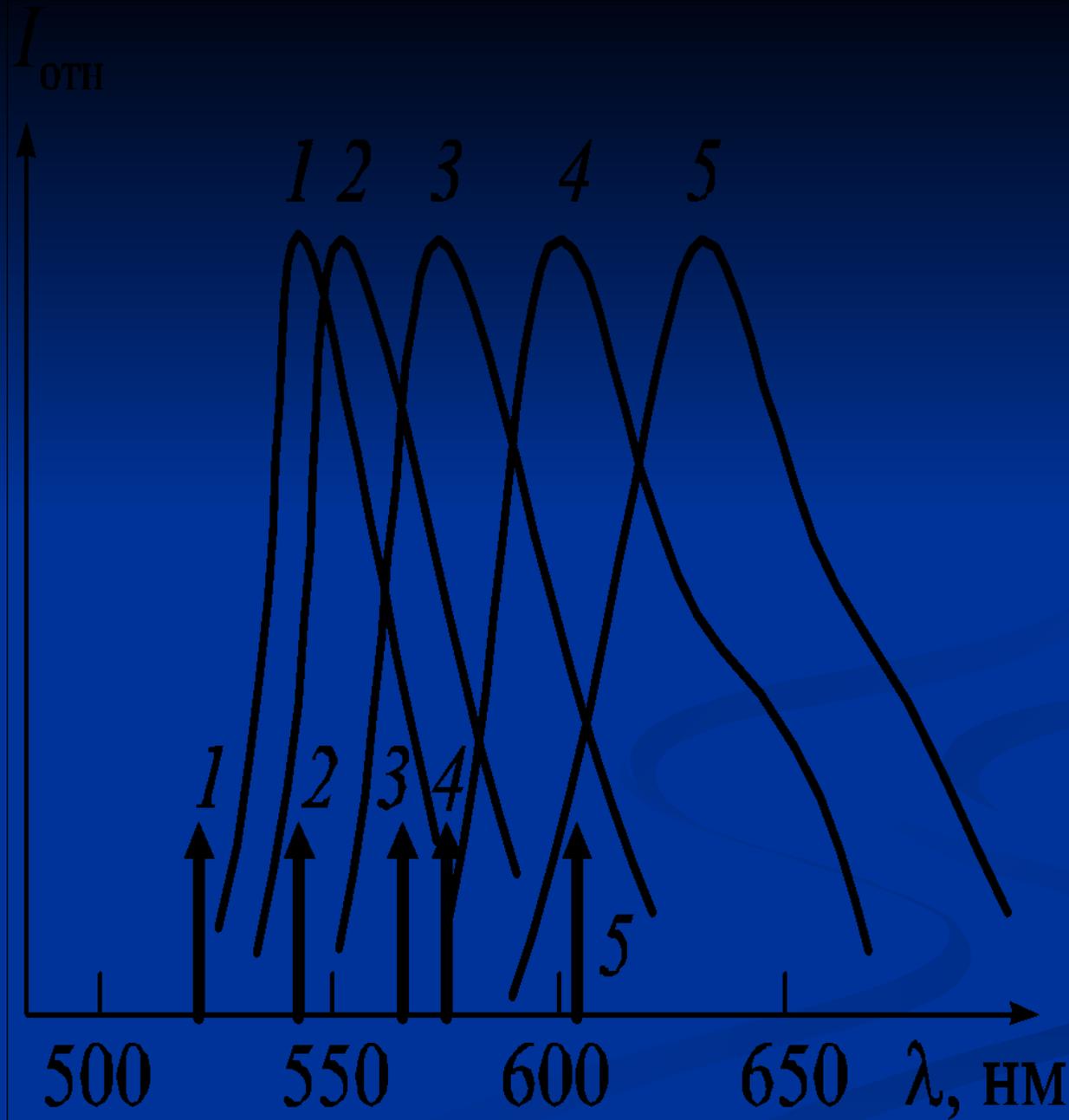


Неоднородное уширение спектров

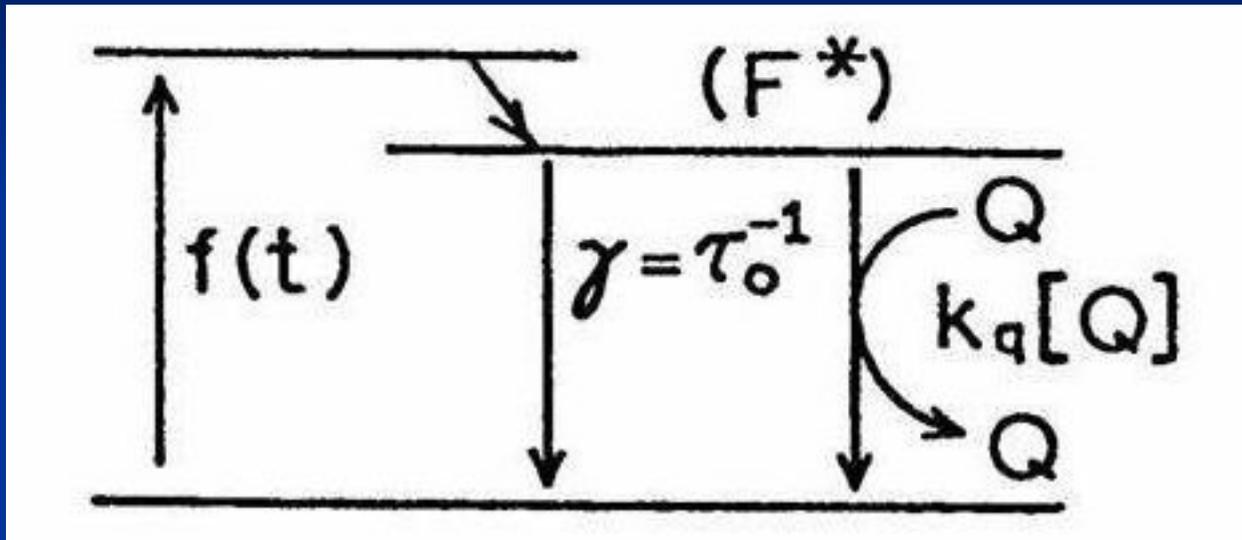




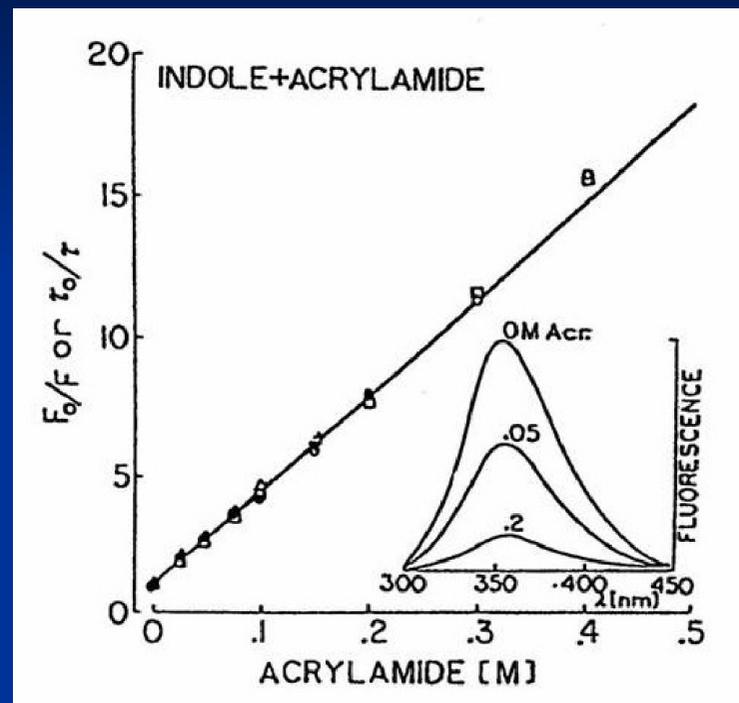
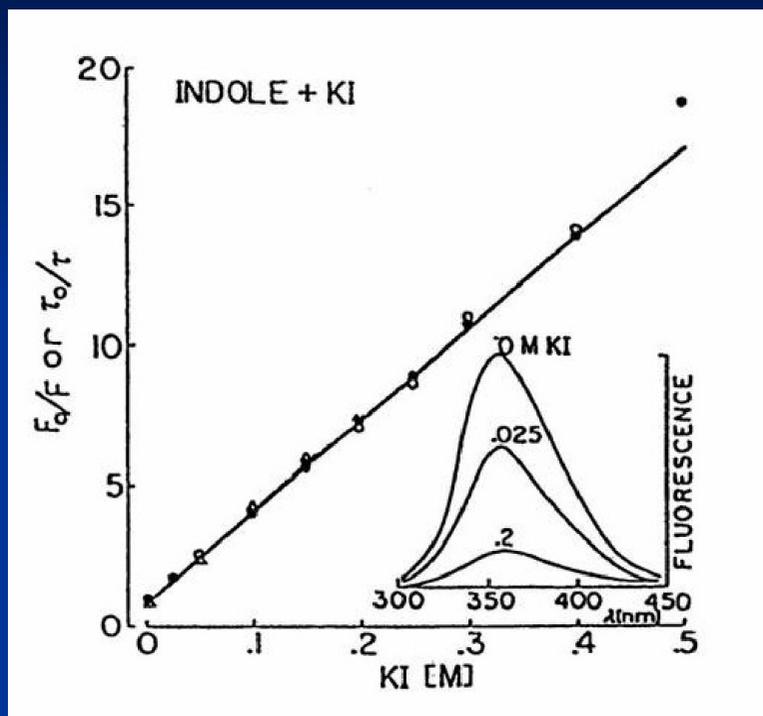




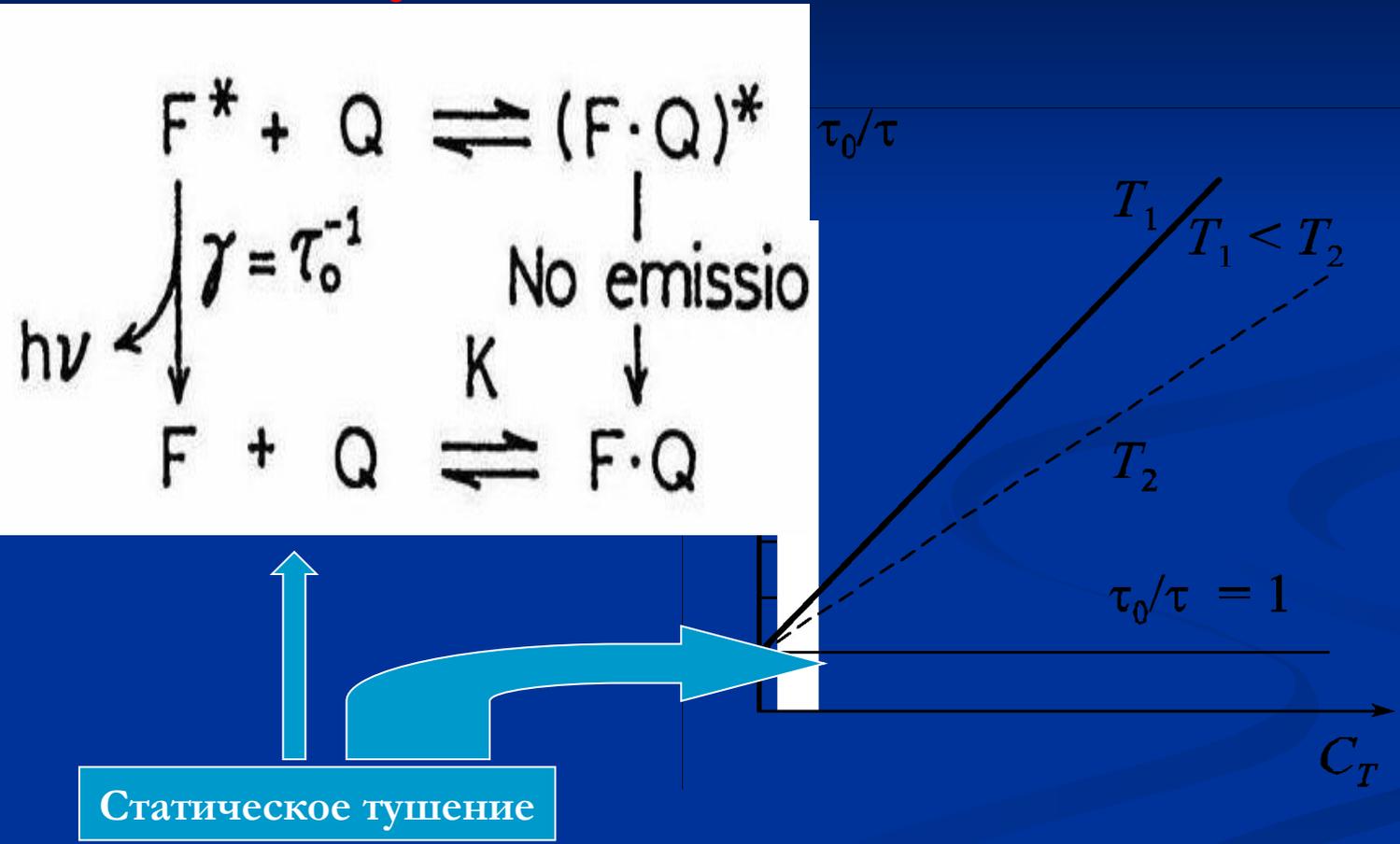
Динамическое и статическое тушение люминесценции



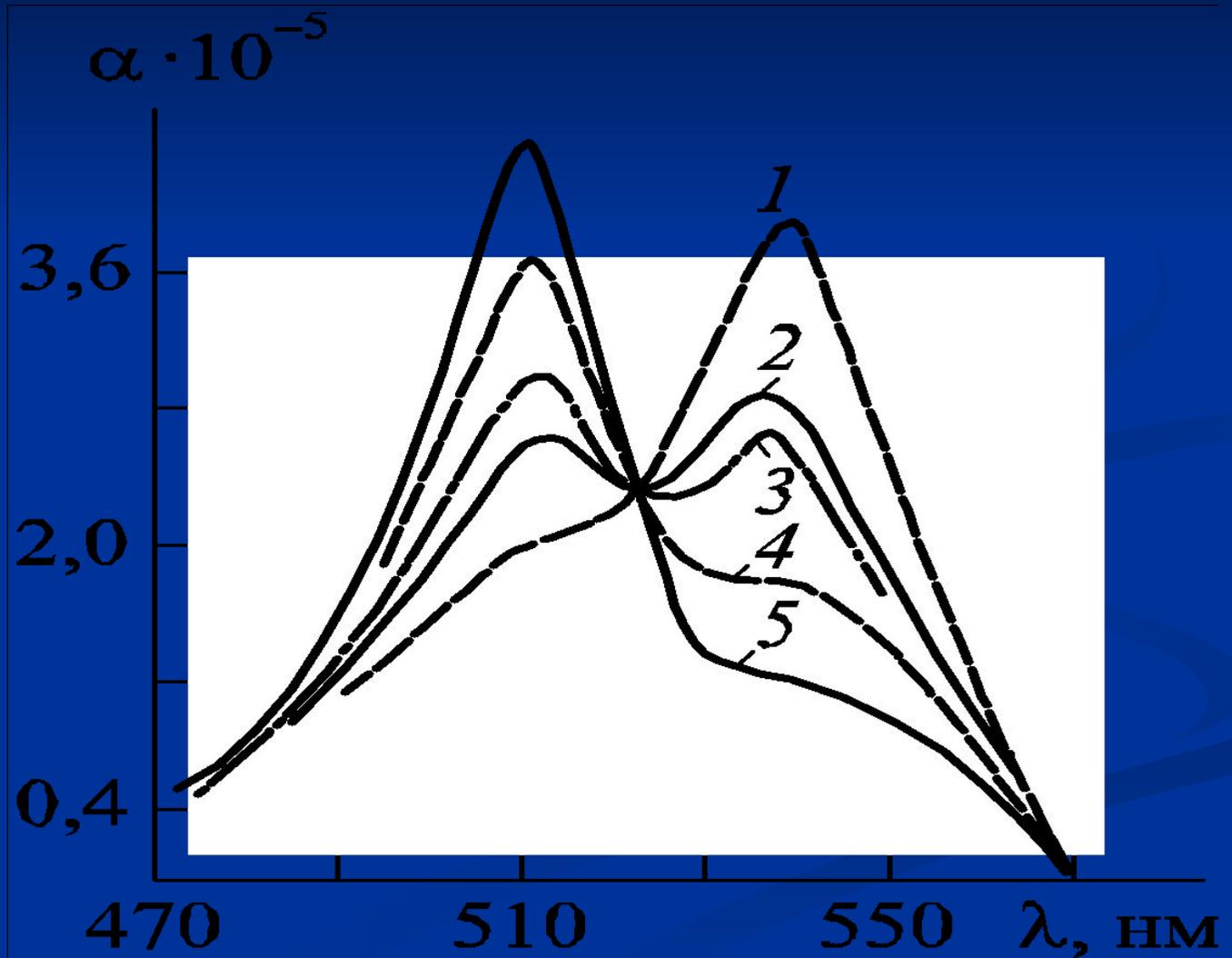
Динамическое тушение



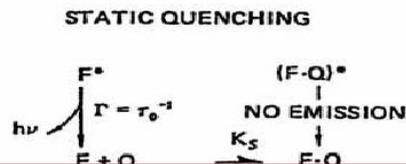
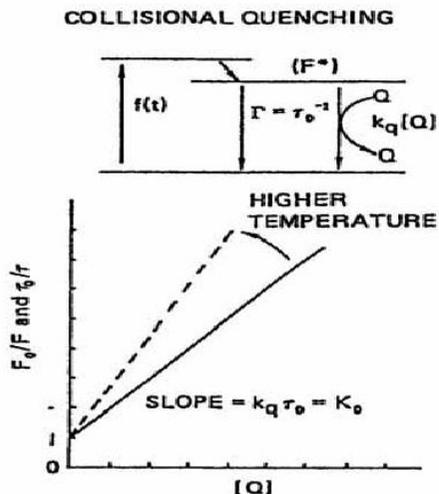
Динамическое и статическое тушение люминесценции



Ассоциация



Сравнение динамического и статического тушения



Для динамического и статического тушения флуоресценции наблюдается одинаковая зависимость от концентрации тушителя !!!

$$F = \frac{F_0}{1 + K[Q]}$$

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K[Q]$$

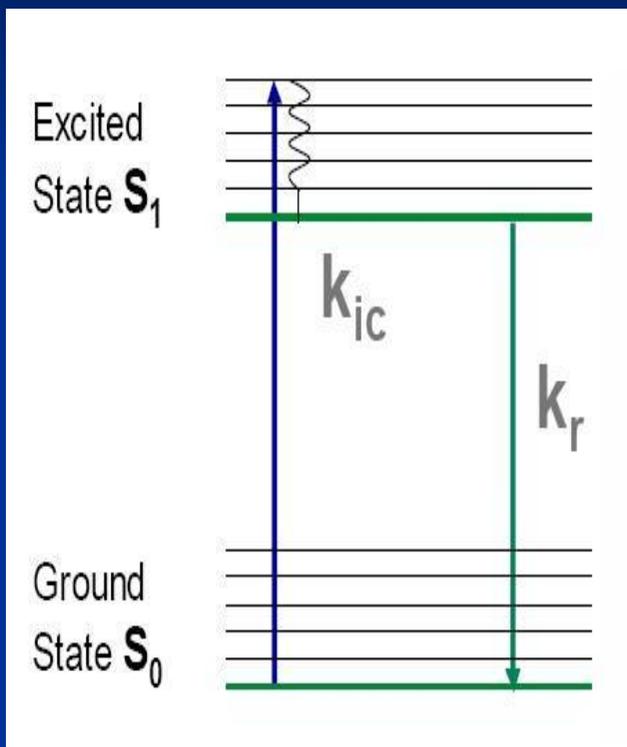
$$F = \frac{F_0}{1 + K_a[Q]}$$

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_a[Q]$$

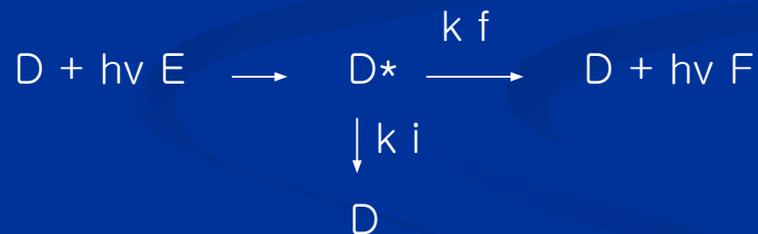
k_q = bimolecular quenching constant
 $K_q = K\tau_0$
 $F_0/F = \tau_0/\tau$

K_a = association constant
 $F_0/F \neq \tau_0/\tau = 1.0$

Флуоресценция



Молекулы могут излучать свет большей длины волны, чем длина волны возбуждающего света



- **Квантовый выход Q**
Отношение числа фотонов излучающих к числу фотонов поглощенных

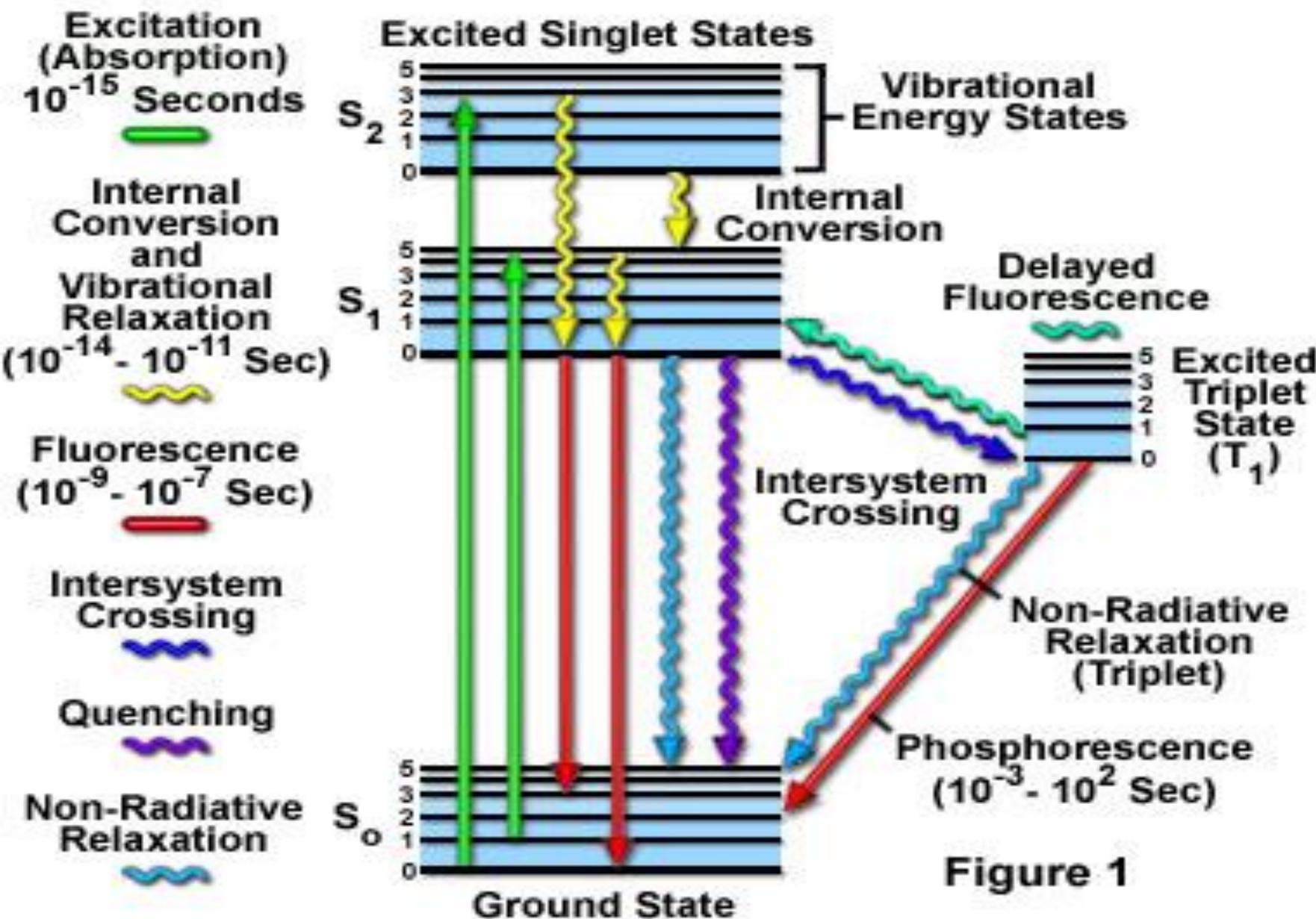
$$Q = \frac{k_f}{k_f + k_i}$$

- **Время жизни**
Среднее время между временем возбуждения и временем возвращения в основное состояние

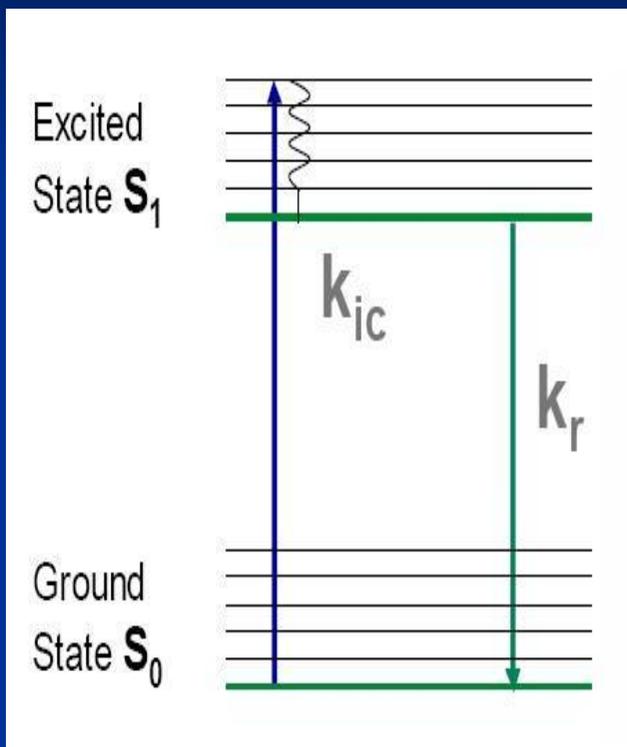
$$\tau = \frac{1}{k_f + k_i}$$

ПРОЦЕССЫ ПЕРЕНОСА ЭНЕРГИИ ЭЛЕКТРОННОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ

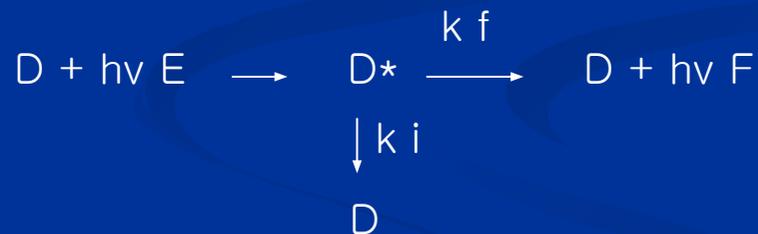
Jablonski Energy Diagram



Флуоресценция



Молекулы могут излучать свет большей длины волны, чем длина волны возбуждающего света



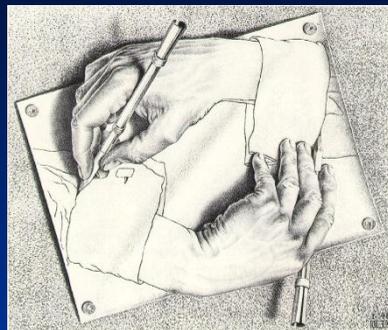
- **Квантовый выход Q**
Отношение числа фотонов излучающих к числу фотонов поглощенных

$$Q = \frac{k_f}{k_f + k_i}$$

- **Время жизни**
Среднее время между временем возбуждения и временем возвращения в основное состояние

$$\tau = \frac{1}{k_f + k_i}$$

Донор

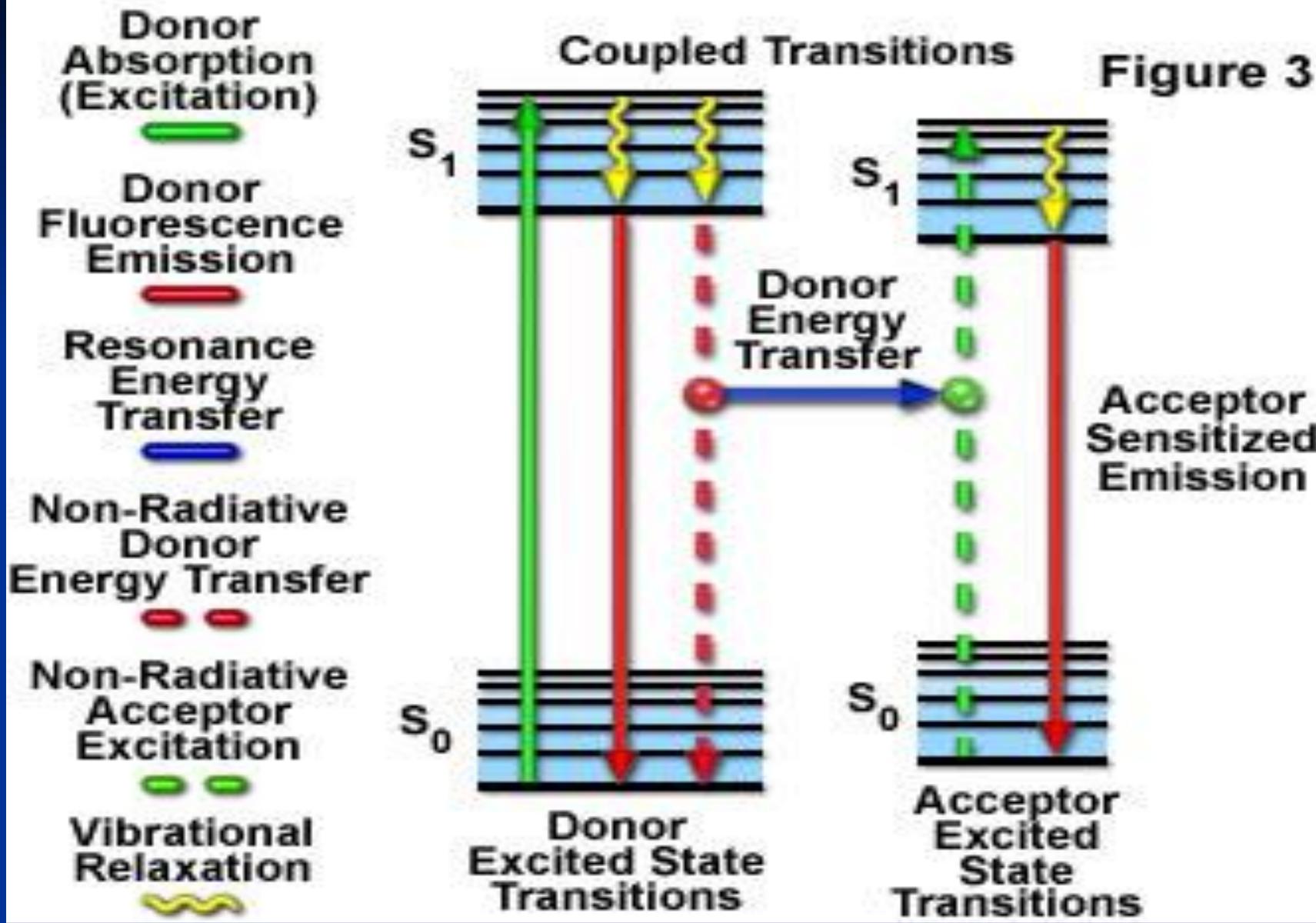


Акцептор(ы)



Resonance Energy Transfer Jablonski Diagram

Figure 3



НАЗВАНИЕ?

Флуоресцентный резонансный перенос энергии

ИЛИ

Ферстеровский резонансный перенос энергии E
(FRET - ПЭЭВ)

?? is it **resonance** ??

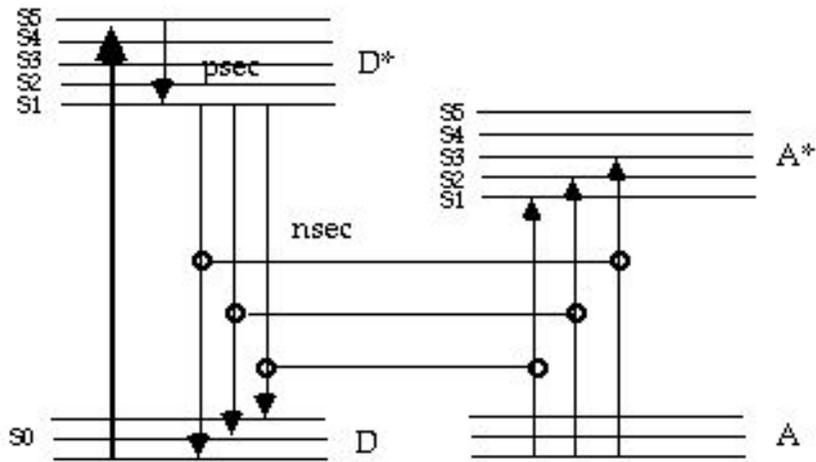
Fluorescence Energy Transfer (FET)

or

Förster Energy Transfer (FET)

$(D^*, A) \longrightarrow (D, A^*)$

Диаграмма энергетических уровней



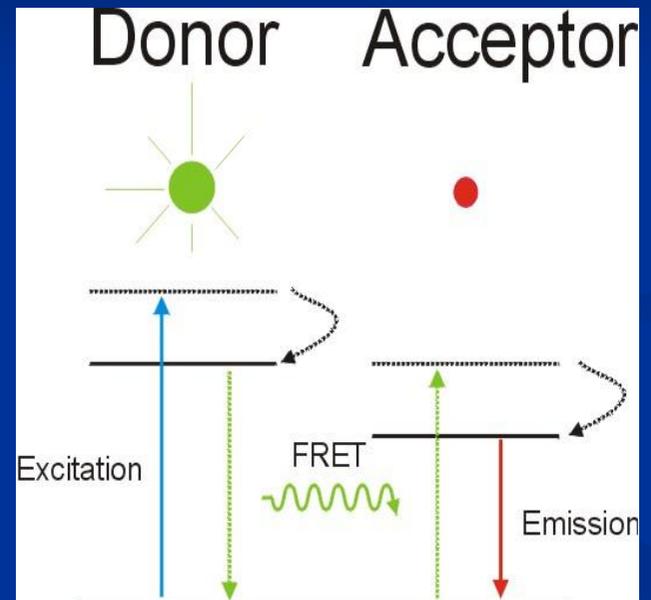
D = ground state donor; A = acceptor

* = excited state

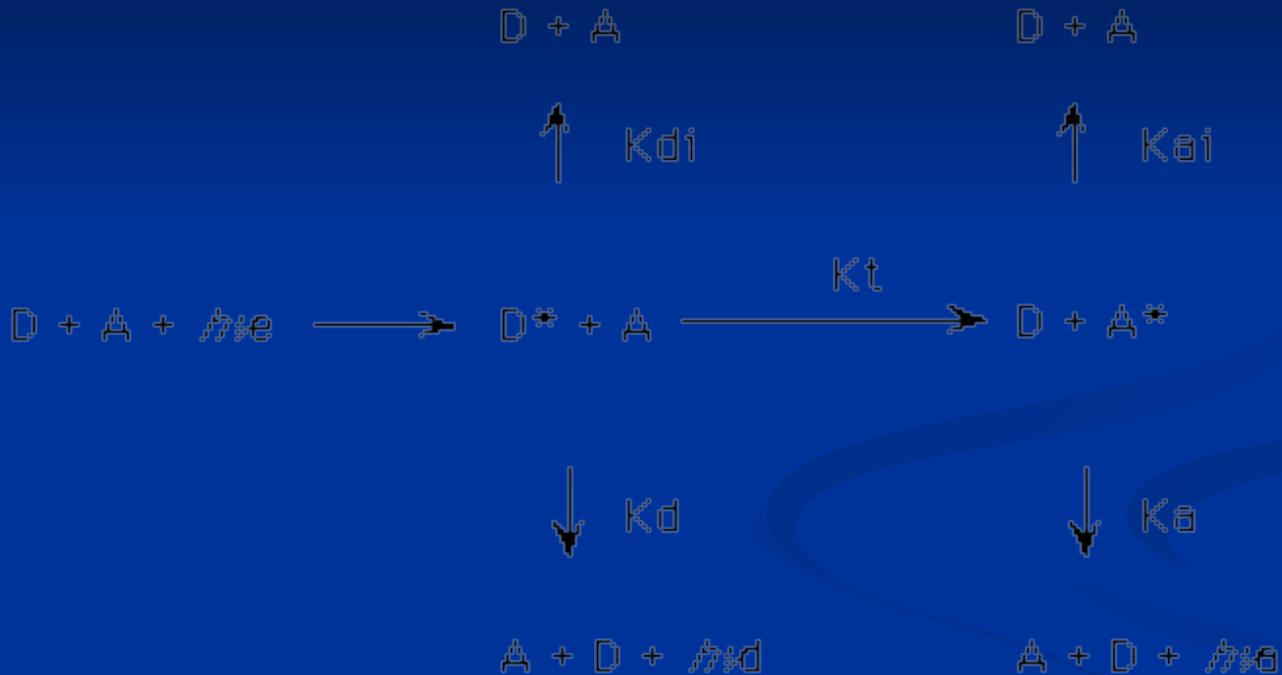
— radiative transition

— radiationless transition

○—○ = coupled transitions



Реакционная схема



D – донор A – акцептор

$h\nu_e, d, f$ – энергия фотона для процессов

K_{di}, ai – безызлучательные константы затухания

K_d – излучательная константа затухания для донора в отсутствие акцептора

K_a – излучательная константа затухания для акцептора

K_t – скорость передачи энергии

Квантовый выход донора в присутствии акцептора Q

- Квантовый выход донора Q в присутствии (Q_{da}) и отсутствии акцептора and (Q_d)

$$Q_{da} = \frac{k_d}{k_t + k_d + k_{di}} \quad (\text{eq. 1})$$

$$Q_d = \frac{k_d}{k_d + k_{di}} \quad (\text{eq. 2})$$

Эффективность ПЭЭВ E

- Измерение интенсивности флуоресценции донора с акцептором (Q_{da}) и без него (Q_d).

$$E = \frac{k_t}{k_t + k_d + k_{di}} = 1 - \frac{Q_{da}}{Q_d} \quad (\text{eq. 3})$$

- Используя время жизни донора в присутствии акцептора (T_{da}) и отсутствии акцептора (T_d)

$$E = 1 - \frac{T_{da}}{T_d} \quad (\text{eq. 4})$$

где

$$T_{da} = \frac{1}{k_t + k_d + k_{di}} \quad (\text{eq. 5})$$

$$T_d = \frac{1}{k_d + k_{di}} \quad (\text{eq. 6})$$

Скорость переноса энергии между двумя молекулами

ТЭЭВ -динамический процесс с константой скорости k_T :

$$k_T = \frac{1}{\tau_{rD}} \left(\frac{R_0}{R} \right)^6$$

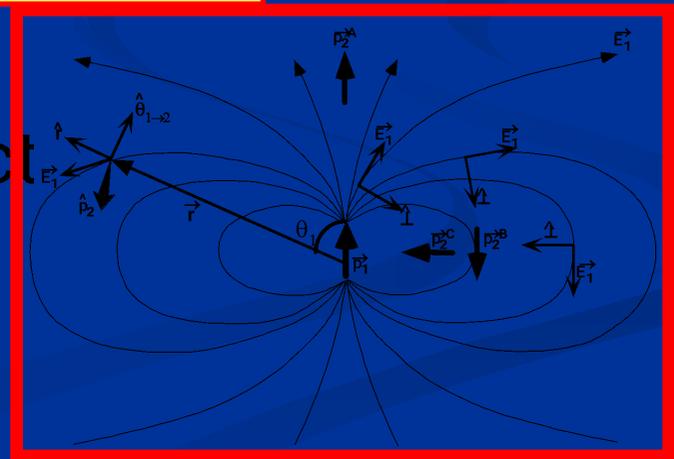
Энергия передается безызлучательно от одной возбужденной молекулы (**донор**) к другой (**акцептор**) из-за дальнедействующего **ДИПОЛЬ-ДИПОЛЬНОГО** взаимодействия

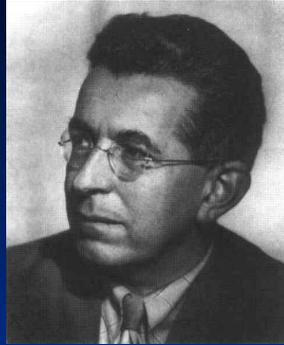


Ориентация

κ = kappa = orientation factor

$$\kappa^2 \approx \frac{2}{3}$$





Fritz London

Van der Waals interaction

**Quantum Theory: London, 1930; London, 1937
2nd order perturbation theory**

Fluctuating Induced-Dipole-Induced-Dipole

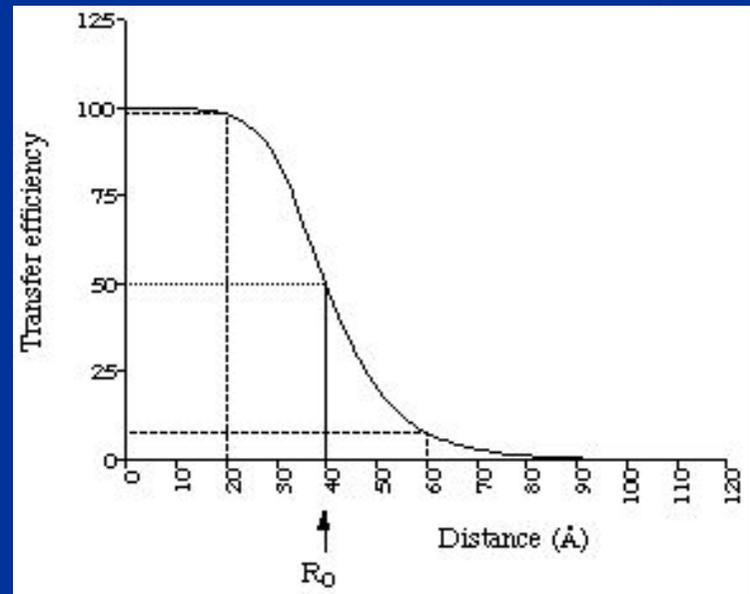
$$1/R^6$$

Радиус Ферстера

- Соотношение между эффективностью передачи и расстоянием между донором и акцептором (R)

$$E = \frac{R_0^6}{R_0^6 + R^6} \quad (\text{eq. 7})$$

R_0 : Радиус Ферстера



R₀ может быть вычислен

$$R_0 = \left\{ \frac{9000 (\ln 10) K^2 Q_d J}{128 \pi^5 n^4 N_{av}} \right\}^{\frac{1}{6}} = 9.78 \times 10^3 \{Q_d K^2 n^{-4} J\}^{\frac{1}{6}} \text{ \AA} \quad (\text{eq. 8})$$

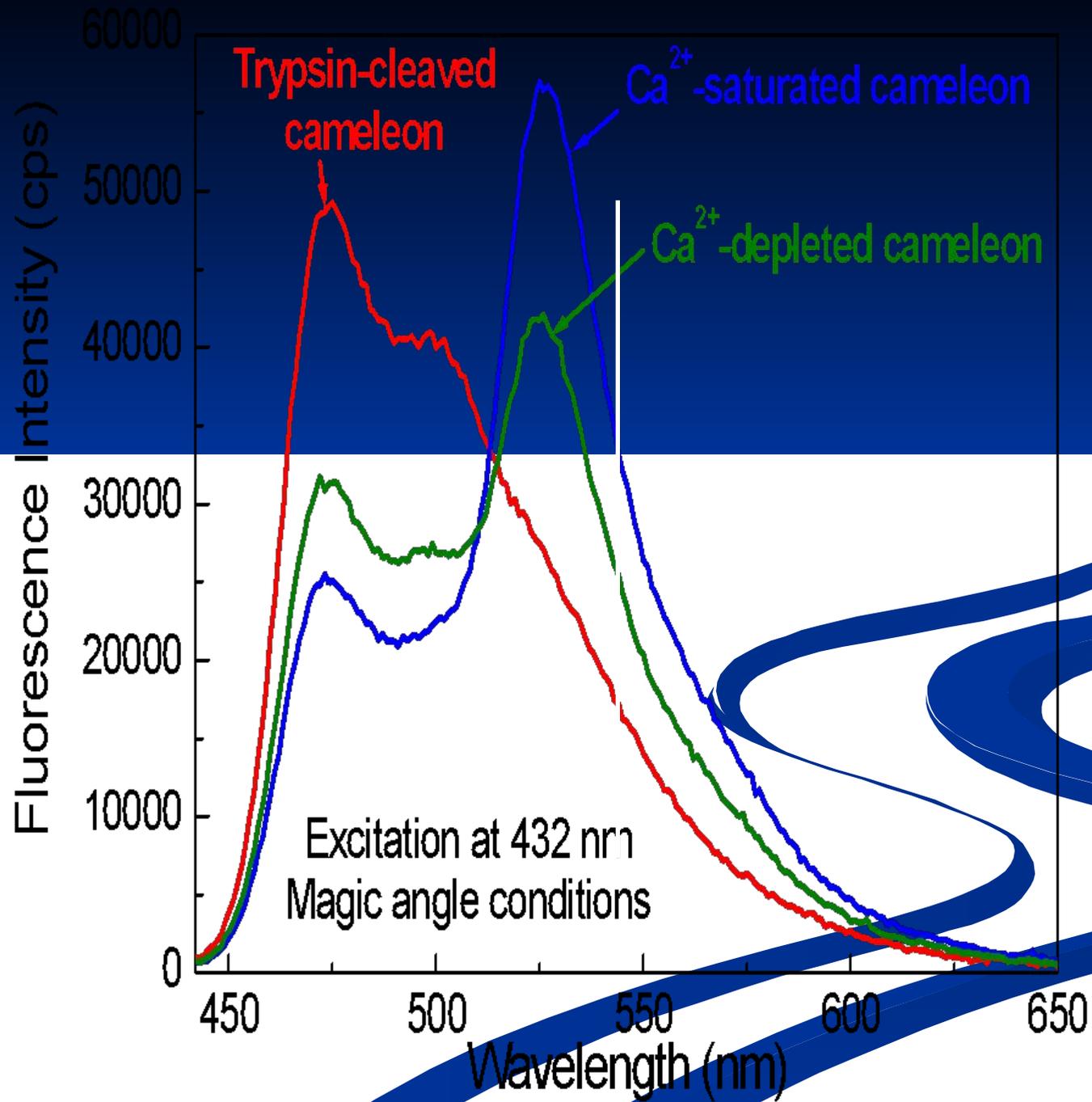
Q_d : квантовый выход донора,

n : коэффициент преломления среды

N_{av} : число Авагадро (N_{av}= 6.02 x 10²³ per mole)

Karr² : ориентационный фактор

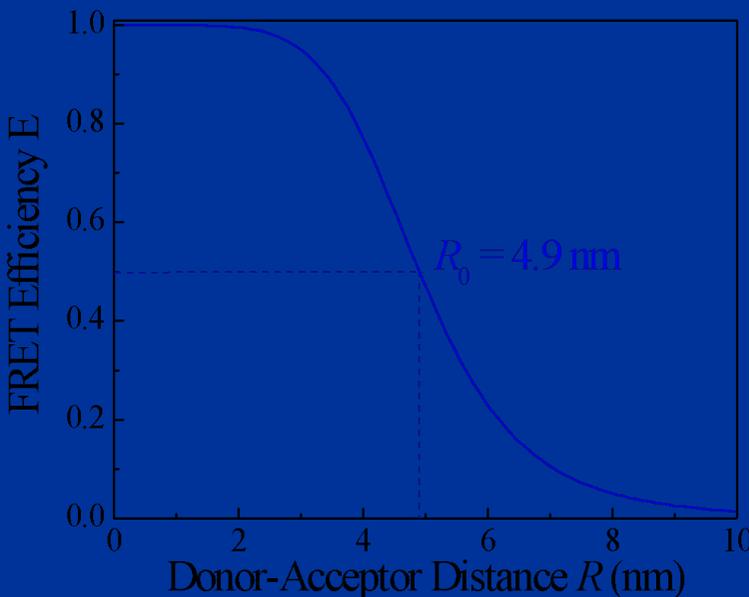
J : интеграл перекрытия



Эффективность переноса между двумя молекулами

E = Квантовый выход переноса энергии

$$E = \frac{\text{число квантов переданных от } D \text{ к } A}{\text{число квантов поглощенных } A}$$

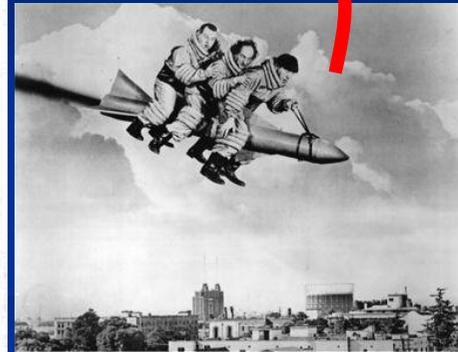
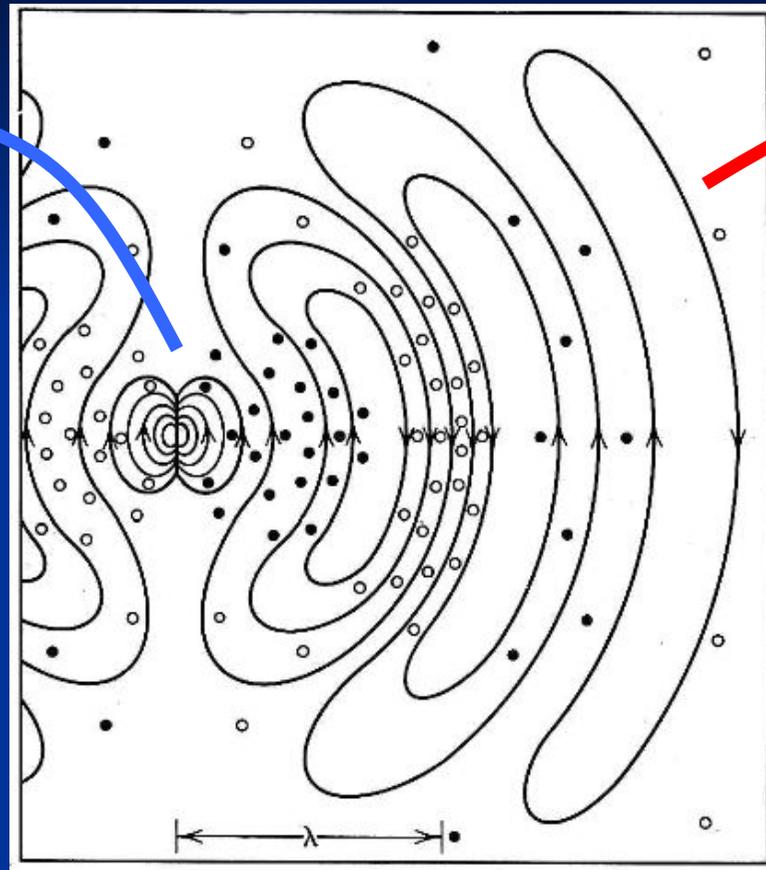


$$E = \frac{k_T}{k_T + \sum_{i \neq T} k_i} = \frac{k_T}{1/\tau_M}$$
$$= 1 - \frac{F_{DA}}{F_D} = \frac{1}{1 + (R/R_0)^6}$$

Безызлучательный перенос имеет место В ближнем поле осциллятора



Ближнее поле здесь.
Здесь ВЭЭВ имеет место



Фотоны здесь.
Здесь наблюдается флуоресценция

Два осциллирующих диполя



$\kappa = \text{каппа} = \text{orientation fact}$

- Энергия взаимодействия, E_{ia} , между двумя идентичными диполями is ($|\text{ближнее поле осциллирующего диполя}| = \text{поле неподвижного диполя}$):

Электрическое поле D:

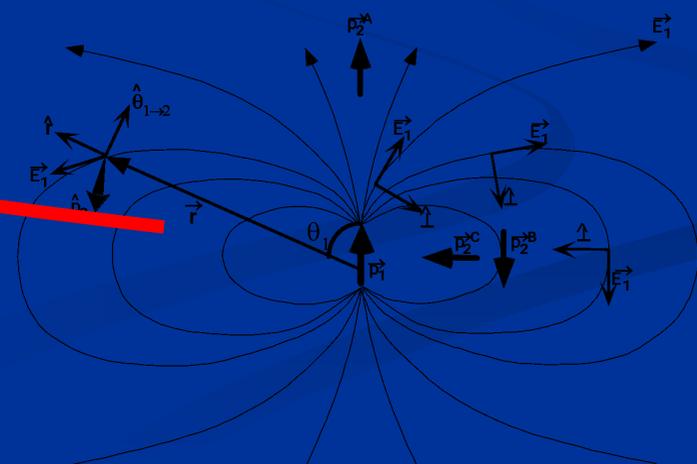
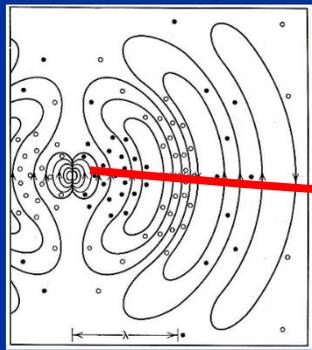
$$\vec{E}_D = \frac{1}{n^2 R^3} \left[3(\vec{\mu}_D \cdot \hat{R}) \hat{R} - \vec{\mu}_D \right]$$

Каппа!

Энергия взаимодействия:

$$E_{ia} = -\vec{\mu}_A \cdot \vec{E}_D = \frac{1}{n^2 R^3} \left[\vec{\mu}_A \cdot \vec{\mu}_D - 3(\vec{\mu}_A \cdot \hat{R})(\vec{\mu}_D \cdot \hat{R}) \right]$$

(af in E_D)





κ = kappa = orientation fact

Ориентационный
фактор:

$$\kappa = \left[\hat{\mu}_A \cdot \hat{\mu}_D - 3 \left(\hat{\mu}_A \cdot \hat{R} \right) \left(\hat{\mu}_D \cdot \hat{R} \right) \right]$$

$$E(t)_{rf,D} = \left\{ 2 \cos \theta_1 \cdot \hat{R} + \sin \theta_1 \cdot \hat{\theta}_1 \right\} \left(\mu_0 / n^2 \right) \left(1 / R^3 \right) \cdot \exp \left(i \omega \left(t - Rn / c \right) \right)$$

if $|\vec{\mu}_D| = |\vec{\mu}_A|$

Энергия взаимодействия $E_{ia} = -\vec{\mu}_A \cdot \vec{E}_D = \kappa \mu^2 / n^2 R^3$

fluorescence resonance energy transfer : FRET (3)

$$k_T = \frac{1}{\tau_d} \left(\frac{R_0}{r} \right)^6$$

distance dependence and Förster radius R_0

$$k_T = \frac{9000(\ln 10)\kappa^2\phi_d}{128\pi^5 n^4 N r^6 \tau_d} \int_0^\infty \frac{F_d(\bar{\nu})\epsilon_a(\bar{\nu})}{\bar{\nu}^4} d\bar{\nu}$$

$$k_T = (r^{-6} J \kappa^2 n^{-4} \lambda_d) \times 8.71 \times 10^{23} \text{ sec}^{-1}$$

$$R_0^6 = \frac{9000(\ln 10)\kappa^2\phi_d}{128\pi^4 N n^4} \int_0^\infty \frac{F_d(\bar{\nu})\epsilon_a(\bar{\nu})}{\bar{\nu}^4} d\bar{\nu}$$