

Лабораторная работа 3.1

Д.Ю. Дубов

Термическая активация замедленной флуоресценции в сложных молекулах

Цель работы: исследование закономерностей затухания фотолюминесценции молекулы (флуоресцеин натрия) с близко расположенными возбужденными электронными состояниями, экспериментальное определение постоянной времени люминесценции и энергии термической активации.

Краткая теория**1. Электронно-возбужденные состояния молекулы**

Поглощение излучения видимого и УФ-диапазона веществом связано с переходом молекул в возбужденные электронные состояния, т. е. с образованием **электронно-возбужденных молекул**. В них электрон находится на одном из электронных уровней (орбиталей), лежащих выше основного состояния, оставаясь связанным с остальной частью («дыркой») молекулы. Очевидно, при таком возбуждении молекула сохраняется как таковая.

В квантовой механике состояния молекул описываются **волновой функцией** Ψ , определяющей их электронное состояние, движение ядер, электрические и магнитные свойства и т.д. Для упрощения часто используют приближение Борна–Оппенгеймера, которое предполагает электронную **пространственную** φ_e , **колебательную** χ и **спиновую** σ волновые функции **независимыми** друг от друга, что позволяет выразить полную волновую функцию через их произведение:

$$\Psi = \varphi_e \cdot \chi \cdot \sigma.$$

Необходимо отметить, что для описания динамики возбужденных электронных состояний это приближение часто оказывается слишком грубым. Многие безызлучательные процессы в молекулах связаны как раз с электронно-колебательным взаимодействием, а за интеркомбинационные переходы, сопровождающиеся изменением спина электрона, ответственно спин-орбитальное взаимодействие. Тем не менее, принцип Борна–Оппенгеймера обычно используется в качестве первого приближения, а соответствующее взаимодействие рассматривается как возмущение.

Свойства возбужденной молекулы определяются строением электронных оболочек, строгое вычисление структуры которых для сложных молекул исключительно трудоемко. В то же время существуют некоторые достаточно простые представления, позволяющие качественно классифицировать электронные состояния. Эти представления основаны, главным образом, на рассмотрении **симметрии** электронных (пространственных и спиновых) волновых функций состояний.

При наличии у молекулы того или иного элемента пространственной симметрии **пространственная** часть ее электронной волновой функции при данной операции может либо сохранять свой знак, либо менять его на противоположный. В первом случае волновые функции называются четными (индекс **g**, от немецкого слова *gerade*), во втором случае – нечетными (индекс **u** – *ungerade*). В спектроскопии часто обозначения различных возбужденных состояний основаны на их симметрии по теории групп. Однако это можно сделать только для достаточно простых молекул. Сложные молеку-

лы в большинстве случаев не обладают какой-либо симметрией¹. Для них при классификации состояний ограничиваются указанием молекулярных орбиталей либо просто порядкового номера состояния (по шкале энергий, начиная с основного, которое принимается за нулевое).

Колебательные волновые функции молекул в первом приближении выражают в виде волновых функций гармонического или ангармонического осциллятора.

Электронные **спиновые** волновые функции молекул представляются в виде произведения спиновых волновых функций неспаренных электронов. Ядерными

спинами, как правило, пренебрегают. У молекул с четным числом электронов суммарный спин S должен быть равен целому числу ($S = 0, 1, 2 \dots$). Величину $(2S + 1)$ называют **мультиплетностью** и при обозначении состояний обычно указывают верхним индексом слева. Состояния, имеющие суммарный электронный спин, равный нулю, называют **синглетными** (S -состояния), равный единице – **триплетными** (T -состояния), двум – **квинтетными** и т. д. (см. рис. 1).

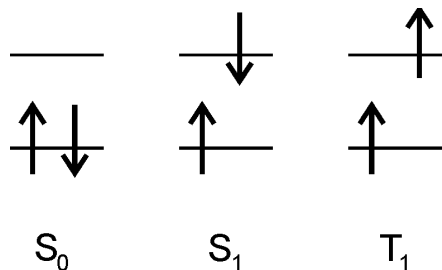


Рис. 1. Возможные ориентации спинов электронов в молекуле

В основном состоянии у большинства молекул с четным числом электронов все электроны спарены и суммарный спин равен нулю². В одноэлектронных возбужденных состояниях молекул с четным числом электронов, по крайней мере, два электрона занимают различные орбитали и могут иметь как одинаковые, так и разные спины. Поэтому такие молекулы имеют два набора электронных состояний: синглетные и триплетные.

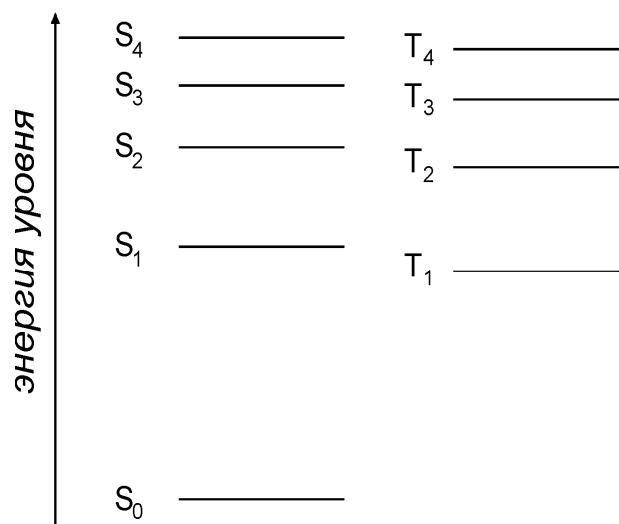


Рис. 2. Диаграмма энергетических уровней

состояний: синглетные и триплетные.

Для изображения различных электронных состояний молекулы часто используется диаграмма энергетических уровней (см. рис. 2). На ней синглетные (S_0, S_1, S_2, \dots) и триплетные (T_1, T_2, T_3, \dots) уровни расположены в порядке возрастания энергии возбуждения (S_0 – основное синглетное состояние³). Обычно состояние T_1 занимает промежуточное положение между S_0 и S_1 (расширение известного в атомной физике правила Хунда на молекулярные системы).

¹ Иногда встречается плоская симметрия.

² У молекул, которые имеют вырожденные несвязывающие молекулярные орбитали, обладающие одинаковой энергией, два электрона с наибольшей энергией могут занять эти орбитали поодиночке и иметь одинаковые спины. В этом случае суммарный спин основного состояния будет равен единице, как, например, у молекулы O_2 .

³ Вновь подчеркнем, что состояния T_0 не существует, за исключением некоторых парамагнитных молекул.

2. Кинетика процессов с участием электронно-возбужденных состояний

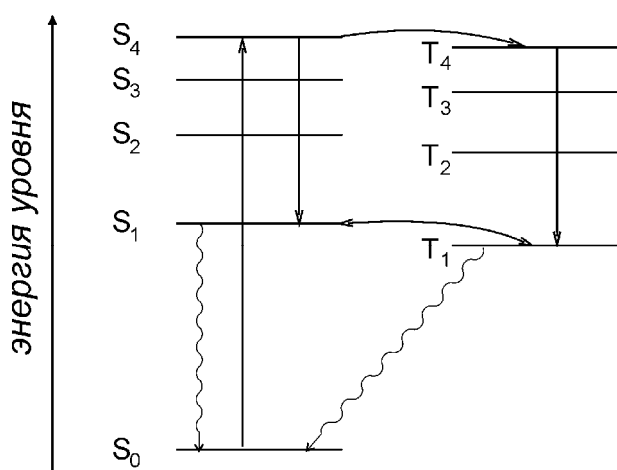


Рис. 3. Типы переходов в электронно-возбужденной молекуле

Полная динамика образования и распада возбужденных состояний сложной молекулы включает в себя процессы, в которых происходит превращение первичной молекулы (диссоциация, изомеризация), а также процессы, инициируемые ее взаимодействием с окружающим веществом (разнообразные би- и три-молекулярные элементарные реакции). Однако в данной работе можно ограничиться рассмотрением лишь **внутримолекулярных** процессов, не приводящих к распаду молекулы. В таких процессах изменение возбужденных состояний молекулы происходит вследствие без-

ызлучательных и излучательных переходов и схематично изображается на диаграмме энергетических уровней (рис. 3). Однако для детального описания эволюции системы необходима, прежде всего, информация о вероятностях тех или иных процессов.

Вероятности как излучательных, так и безызлучательных переходов между различными возбужденными состояниями можно качественно оценить без точного расчета, основываясь на симметрии электронных, колебательных и спиновых волновых функций состояний, участвующих в переходе. Для этого используются так называемые **правила отбора**, определяющие условия, когда вероятность перехода отлична от нуля (переход «не запрещен»). Для целей этой работы важно, прежде всего, **спиновое правило** отбора, требующее, чтобы при переходе сохранялась мультиплетность состояния.

Фотовозбуждение. Из-за спинового правила отбора при поглощении фотона заселяются, главным образом, состояния **той же мультиплетности**, что и исходное, поскольку вероятности излучательных переходов в состояния иной мультиплетности на несколько порядков ниже. На рис. 3 фотовозбуждению соответствует переход $S_0 \rightarrow S_4$.

Безызлучательные переходы. Важной особенностью сложных молекул является существование быстрых безызлучательных переходов между возбужденными состояниями одинаковой мультиплетности – **внутренней конверсии**. При этом молекула, оказавшаяся в результате поглощения фотона в высоком возбужденном состоянии, быстро (за $10^{-12} - 10^{-10}$ с) переходит в нижнее возбужденное состояние (рис. 3, переход $S_4 \rightarrow S_1$). Внутренняя конверсия из нижнего возбужденного состояния S_1 в основное S_0 происходит существенно медленнее. Это приводит к тому, что значительная часть более медленных процессов протекает из нижнего возбужденного состояния (правило Каши), незави-

симо от того, какое возбужденное состояние получается первоначально в результате поглощения фотона.

Состояния с иной мультиплетностью, чем исходное, заселяются, как правило, в результате безызлучательных переходов, сопровождающихся изменением спина, – **интеркомбинационной конверсии** (переходы $S_4 \rightarrow T_4$, $S_1 \rightarrow T_1$). Такие переходы связаны со спин-орбитальным взаимодействием. Их вероятность сильно зависит от особенностей строения молекул (симметрии и типов возбужденных состояний), и увеличивается при наличии в молекуле тяжелых атомов.

Излучательные переходы. Для возбужденных частиц характерны также процессы с испусканием света, т. е. **люминесценция**. Условно люминесценцию можно разделить на **флуоресценцию** и **фосфоресценцию**. К флуоресценции относят быстрые процессы с характерным временем 10^{-9} – 10^{-7} с. На рис. 3 ей соответствует обозначенный волнистой линией разрешенный переход $S_1 \rightarrow S_0$. Фосфоресценция обусловлена переходами, в той или иной степени запрещенными правилами отбора, протекает с невысокой вероятностью и может длиться значительно дольше (до 10^{-2} – 10^2 с). На рис. 3 это переход $T_1 \rightarrow S_0$. Важно, что для наблюдения фосфоресценции на практике необходимо подавить конкурирующие процессы, которые могут привести к безызлучательному гашению возбужденного состояния (тушению). Задача непростая, так как, обладая значительным излучательным временем жизни, триплетные состояния активно теряют свою энергию в различных столкновительных процессах. В растворах эти состояния дезактивируются растворенными молекулами с неспаренными электронами (например, кислородом) даже при очень низких концентрациях примесей. Поэтому фосфоресценцию конденсированных сред обычно изучают в твердой фазе.

3. Эффект замедленной флуоресценции

Замедленной флуоресценцией (ЗФ) называют излучение, наблюдаемое при $S_1 \rightarrow S_0$ переходе со временем затухания много большим, чем характерные времена жизни синглетных возбужденных состояний. Известно три типа ЗФ: активационная, аннигиляционная и рекомбинационная⁴. **Активационная** ЗФ наблюдается в тех случаях, когда триплетные молекулы могут возвращаться в синглетное возбужденное состояние путем термического возбуждения. Такая ЗФ возможна при малой разнице энергий триплетного и синглетного состояний и наблюдается, например, в растворах флуоресцеина в стеклообразной борной кислоте или в хорошо обезгаженных растворах эозина в глицерине или этаноле.

Для рассмотрения схемы активационной ЗФ обратимся еще раз к рисунку 3. Еще во время возбуждающего светового импульса высоковозбужденные состояния релаксируют путем внутренней конверсии до нижних уровней S_1 и T_1 , а уровень S_1 быстро опустошается в силу обычной флуоресценции. Таким образом, после окончания возбуждения часть молекул остается в триплетном состоянии T_1 и все **послесвечение** (свечение после окончания возбуждения) определяется кинетикой релак-

⁴ Два последних типа связаны с межмолекулярными процессами и не рассматриваются в данной работе.

сации этого уровня. Если температура достаточно низкая, чтобы подавить термическую активацию, то концентрация молекул в триплетном состоянии уменьшается только за счет фосфоресценции, обуславливающей длинноволновую («красную»⁵) полосу послесвечения (переход $T_1 \rightarrow S_0$). При более высоких температурах становится возможным тепловое возбуждение молекулы в синглетное состояние S_1 с последующей флуоресценцией и возникновением коротковолновой («голубой») полосы послесвечения (последовательность переходов $T_1 \rightarrow S_1 \rightarrow S_0$).

4. Кинетика замедленной флуоресценции.

Введем обозначения для вероятностей процессов **флуоресценции** ($S_1 \rightarrow S_0$) – w_S , **фосфоресценции** ($T_1 \rightarrow S_0$) – w_T , **термической активации** ($T_1 \rightarrow S_1$) – w_{TS} . В силу вышеизложенного $w_S \gg w_T$. Изменение концентрации n_T молекул в состоянии T_1 описывается уравнением

$$\frac{dn_T}{dt} = -w_T \cdot n_T - w_{TS} \cdot n_T, \quad (1)$$

где слагаемые в правой части описывают изменение концентрации молекул в состоянии T_1 вследствие фосфоресценции и термической активации соответственно.

Вероятность термической активации молекул из состояния T_1 в состояние S_1 имеет обычную для активационных процессов **аррениусовскую** температурную зависимость:

$$w_{TS} = w_0 \cdot \exp(-Q/kT), \quad (2)$$

где Q – энергия активации рассматриваемого перехода; w_0 – частотный фактор, температурной зависимостью которого можно пренебречь; k – постоянная Больцмана.

Из уравнения (1) для концентрации молекул в состоянии T_1 получим

$$n_T = n_T^0 \cdot \exp(-t/\tau), \quad (3)$$

где n_T^0 – начальная концентрация молекул в состоянии T_1 , а

$$\tau = (w_T + w_{TS})^{-1}. \quad (4)$$

Таким образом, интенсивность фосфоресценции («красной» полосы послесвечения) изменяется по экспоненциальному закону:

$$J_T = J_T^0 \cdot \exp(-t/\tau), \quad (5)$$

где $J_T^0 \propto w_T \cdot n_T^0$ – начальная интенсивность рассматриваемой полосы, а постоянная времени τ определяется выражением (4).

При низких температурах, когда $w_{TS} \ll w_T$, постоянная времени затухания τ близка к излучательному времени фосфоресценции состояния T_1 и слабо зависит от температуры:

$$\tau = w_T^{-1}. \quad (6)$$

При повышении температуры величина τ уменьшается и при достаточно высоких температурах, когда $w_{TS} \gg w_T$, определяется вероятностью термической активации молекулы из состояния T_1 в состояние S_1 :

$$\tau \rightarrow w_{TS}^{-1}. \quad (7)$$

⁵ Для исследуемого красителя длинноволновая полоса имеет желто-оранжевый цвет.

Для изменения концентрации молекул n_s в состоянии S_1 можно записать кинетическое уравнение, аналогичное (1):

$$\frac{dn_s}{dt} = -w_s \cdot n_s + w_{TS} \cdot n_T. \quad (8)$$

Не решая (8), можно видеть, что поскольку вероятность флуоресценции w_s , опустошающей уровень S_1 , всегда велика, то в этом состоянии не происходит накопления молекул и $dn_s/dt \approx 0$. Тогда

$$w_{TS} \cdot n_T = w_s \cdot n_s. \quad (9)$$

Из последнего уравнения с учетом (3) получим

$$n_s = n_T^0 \cdot \frac{w_{TS}}{w_s} \cdot \exp(-t/\tau). \quad (10)$$

Отсюда интенсивность коротковолновой полосы послесвечения, $J_s = w_s \cdot n_s$, изменяется по экспоненциальному закону

$$J_s = w_{TS} \cdot n_T^0 \cdot \exp(-t/\tau) \quad (11)$$

с той же постоянной времени τ (определяемой выражением (4)), что и у длинноволновой полосы.

При высоких температурах, когда $w_{TS} \gg w_T$, выражение для постоянной времени τ можно записать в виде

$$\ln(1/\tau) = \ln w_0 - Q/kT, \quad (11)$$

из которого следует, что наклон прямолинейного участка температурной зависимости $\tau(T)$ в координатах $\ln(1/\tau) - 1/T$ определяется энергией Q термической активации перехода $T_1 \rightarrow S_1$.

Методика эксперимента

1. Описание установки

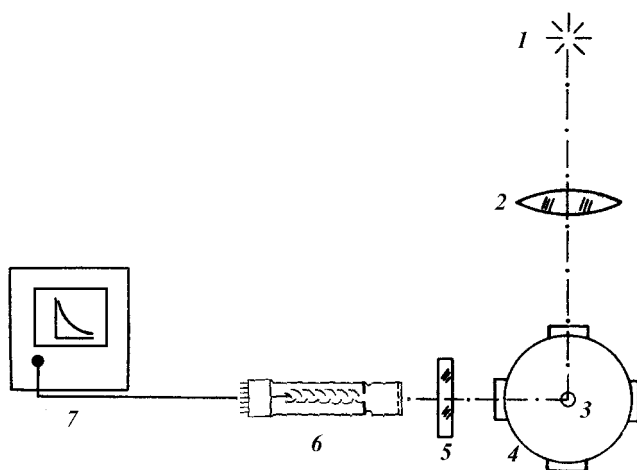


Рис. 4. Схема экспериментальной установки:
1 - импульсный источник света; 2 - конденсорная линза; 3 - образец; 4 - криостат; 5 - светофильтр; 6 - фотоумножитель; 7 - осциллограф/компьютер.

Схема экспериментальной установки приведена на рис. 4. Изучение импульсного лазера (ЛГИ-21, $\lambda = 337$ нм, длительность импульса 8 нс, мощность импульса 3 кВт) (1) направляется на исследуемый образец (3), люминесценция которого под углом 90° к направлению падающего света регистрируется фотоумножителем (6), сигнал с которого подается либо на осциллограф Tektronix (для визуального наблюдения люминесценции при настройке положения образца) либо на вход платы АЦП персонального компьютера (для оцифровки сигнала и определения времени затухания по-

слесвечения) (7). Исследуемая полоса люминесценции выделяется светофильтром (5).

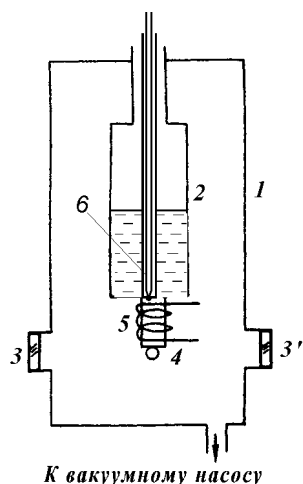


Рис. 5. Схема криостата:
1 - корпус; 2 - внутренний стакан с жидким азотом; 3, 3' - окна; 4 - исследуемый образец; 5 - нагреватель; 6 - термодатчик

Образец закрепляется в металлическом вакуумном криостате с жидким азотом, изображенном на рис. 5. При помощи форвакуумного насоса в термостате поддерживается давление < 1 Па. Изменение температуры образца в интервале 77–320 К осуществляется после испарения азота с помощью нагревателя (5), расположенного на теплопроводе. Температура образца измеряется хромель-алюмелевой термопарой и цифровым вольтметром. При этом второй спай термопары поддерживается при температуре тающего льда (273 К). Измеряемая ЭДС переводится в градусы по калибровочному графику.

В работе используется излучение флуоресцеина натрия⁶ (рис. 7), введенного в борнокислотное стекло. Образцы готовятся следующим образом. Флуоресцеин смешивается в пробирке с борной кислотой, и полученная смесь нагревается до температуры 240 °С. При этой температуре борная кислота постепенно дегидратируется, образуя прозрачный сплав, который затем выливают на предметное стекло. По-

лученные образцы имеют вид леденцов.

Для регистрации послесвечения используется фотоумножитель ФЭУ-83 с областью спектральной чувствительности 400–600 нм. Питание фотоумножителя осуществляется от стабилизированного выпрямителя ВС-22. Сигнал с анода фотоумножителя подается на вход АЦП.

Максимум длинноволновой полосы послесвечения находится при длине волны $\lambda = 570$ нм, максимум коротковолновой – при $\lambda = 470$ нм.

2. Порядок выполнения работы

Перед выполнением работы необходимо внимательно ознакомиться с описанием работы, инструкцией по эксплуатации используемых приборов; выписать основные технические характеристики аппаратуры; хорошо проверить надежность заземления всех приборов установки, так как в работе **используется высокое напряжение, опасное для жизни** (свыше 1000 В – блок питания лазера, 1100 В – блок питания фотоумножителя).

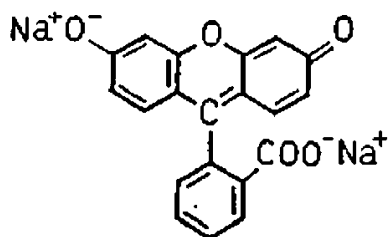


Рис. 6. Флуоресцеин натрия

Порядок включения установки

- Проверьте схему установки согласно рис. 1. Анодный сигнал ФЭУ должен быть подключен ко входу осциллографа
- Осторожно подняв стакан криостата, убедитесь в наличии образца, установить стакан так, чтобы рабочая поверхность об-

⁶ Флуоресцеин натрия, динатриевая соль диоксифлуорана, уранин ($C_{20}H_{10}O_5Na_2$) – желтые кристаллы, растворимые в воде (в отличие от собственно флуоресцеина – $C_{20}H_{12}O_5$), $t_{пл} = 314–316$ °С (с разложением); нетоксичен, обладает сильной желто-зеленой флуоресценцией. Применяется в качестве лазерного красителя и маркера при люминесцентном анализе в физике, химии, биологии, медицине, гидрогеологии и др.

разца находилось примерно под углом 45° к лучу лазера и к оси ФЭУ.

- Включите сетевой тумблер источника питания лазера. Проверьте, что на нем установлен уровень мощности - **???**, частота импульсов – ручной запуск.
- Включите сетевой тумблер источника питания ФЭУ (блок ВС-22), проверьте, что на нем установлено напряжение 800 В.
- После прогрева в течение 5 мин включите тумблер **???** блока питания лазера и тумблер «высокое напряжение» на ВС-22.

Настройка оптической схемы измерений

- Включите осциллограф Tektronix. Переключите тумблер источника питания лазера на периодическую подачу импульсов с минимальной частотой. Настройкой осциллографа получите на нем устойчивую картинку сигнала ФЭУ. Изменяя положение образца (вращение и небольшие горизонтальные смещения хладопровода) добейтесь максимального сигнала фосфоресценции (послесвечения, наблюдаемого при временах $\sim 10^{-1} - 1$ с после импульса лазера).
- Включите вакуумметр. Включите форвакуумный насос. Откройте стеклянный кран (на столе справа) на откачку криостата и откачайте его до давления порядка 1-5 Па (10-30 делений по вакуумметру).
- После достижения предельного вакуума, изменяя положение светофильтров перед ФЭУ, убедитесь, что оптический сигнал наблюдается для обеих полос люминесценции. **Ближний** к Вам светофильтр пропускает длинноволновую (желтую) полосу послесвечения, **дальний** – коротковолновую голубую.

Запись и обработка одиночного измерения времени затухания

- Переключите тумблер блока питания лазера «частота импульсов» на ручной запуск, а сигнал ФЭУ на 2 канал АЦП. Подайте напряжение питания на блок АЦП.
- Включите компьютер и загрузите операционную систему Linux (**не опоздайте при загрузке** – по умолчанию загружается Windows!), под которой работает программа АЦП. Login – “student”, password – “student”.
- Программа записи сигнала ФЭУ запускается с рабочего стола иконкой **«??? ???»**. После запуска программы включите 2 канал АЦП, на который подается сигнал.
- Перед началом работы вам необходимо зарегистрироваться. Это необходимо для того, чтобы ваши результаты записывались в директорию **/home/student/** в файл с вашим именем, «name.txt», а также для контроля выполнения работы преподавателем. Запишите свою фамилию или другое кодовое слово в окно программы и нажмите кнопку «registration».
- Сигнал ФЭУ записывается следующим образом. После нажатия кнопки **«Start»** в течение нескольких секунд АЦП подготавливается для записи. Запись сигнала начинается после того, как

кнопка «Start» становится **зеленой** и продолжается в течение 10 s. За это время Вам нужно подать одиночный лазерный импульс на образец, для чего следует нажать кнопку «запуск» на блоке питания лазера. После окончания записи на монитор выводится временной график сигнала. Вверху графика указана цена деления АЦП (интервал времени между последовательными измерениями) $t_{\text{АЦП}}$. Эта величина **не остается постоянной** и ее значение **должно быть записано** для определения истинного времени затухания.

- Для правильной аппроксимации нужно, чтобы сигнал при затухании стремился к нулевому уровню. Если это не так, и сигнал перед подачей импульса и после затухания не равен нулю, то наиболее вероятная причина этого – фоновый сигнал, который нужно устранить (выключить свет в комнате, задернуть шторы, обернуть ФЭУ плотной черной материей и т.п.).
- Для обработки кривой затухания следует нажать кнопку «Fit», после чего откроется окно аппроксимации сигнала различными зависимостями. В этом окне выберите аппроксимацию экспоненциальной функцией (кнопка «**expro**») и линейкой в нижней части окна укажите участок графика, который Вы хотите аппроксимировать.
- Обратите внимание на **правильный выбор** участка аппроксимации. При комнатной температуре в образцы после облучения активно протекают безызлучательные процессы, влияющие на скорость затухания флуоресценции. К счастью, они заканчиваются быстрее, чем замедленная флуоресценция. Вот почему **левая граница участка аппроксимации должна отступать от импульса лазера не меньше, чем на 0,5 – 1** клеточку графика. Выбор **правой границы** менее важен.
- После выбора участка нажмите кнопку «**fit**» в окне аппроксимации. Полученные в результате константы будут выведены в открывшемся окне в верхнем правом углу графика. Поскольку абсолютный уровень сигнала не важен, Вам нужно зафиксировать лишь константу «*Slope*» - наклон кривой, измеренный в делениях АЦП. Истинным временем затухания является величина $\tau = t_{\text{АЦП}} / \text{Slope}$.
- Провести измерения величина τ для желтой и голубой полос.

Измерение температурной зависимости времени затухания

- Подготовьте лед или снег для внешнего спая термопары. Заливая медленно жидкий азот во внутренний стакан криостата, охладите исследуемый образец до температуры не выше 120 К. Не следует стремиться к тому, чтобы после охлаждения в стакане оставалось большое количество жидкого азота, т.к. на его испарение уходит довольно много времени. Температуру образца контролируйте по цифровому вольтметру, используя градуировочную кривую медь-константановой термопары при низких температурах. Полное охлаждение образца происходит за 10-15 min. В течение этого времени следует периодически наблюдать изменение времени затухания τ желтой и голубой полос излучения.

- Нагрев образца происходит за счет естественного теплообмена криостата с окружающей средой. Полное время нагрева образца от температуры жидкого азота до $\sim 300\text{--}310\text{ K}$ должно быть не менее 40 min. В случае медленного нагрева можно периодически включать электрический нагреватель. Перед этим полезно убедиться, что его сопротивление около 3 Ом.
- Во время нагрева проводить измерения τ **длинноволновой (желтой) полосы** спектра. Разница температуры между измерениями должна соответствовать интервалу между показаниями вольтметра **не более 0,2 mV**. Для каждого измерения записывать величины: 1) температуры (в mV), 2) цены деления АЦП $t_{\text{АЦП}}$, 3) наклона кривой «Slope».

Порядок выключения

- Выключить блоки питания лазера и ФЭУ: сначала выключить «Высокое напряжение», затем – «Сеть». Выключить вакуумметр.
- Выключить форвакуумный насос. Повернув стеклянный кран на 180° , **напустить в насос воздух**. Иначе масло из насоса зальет магистрали откачки!

Обработка результатов

Перегрузите компьютер и загрузите ОС Windows. Запустите программу «MathCAD» и откройте в ней файл Photolumin.xmcd. Согласно инструкциям в нем обработайте полученные данные и распечатайте результаты обработки. При обработке **следует обратить внимание на следующее**:

- Правильно учесть порядки величин $t_{\text{АЦП}}$ и «Slope». Получаемые времена τ должны быть порядка десятых долей секунды секунды.
- На практике из-за быстрого роста безызлучательных процессов тушения возбуждения с увеличением температуры невозможно достичь выполнения условия $w_{TS} \gg w_T$ и получить ситуацию, когда опустошение уровня T_1 происходит **только** через процесс термической активации. Поэтому при обработке результатов учитывается ненулевая вероятность w_T опустошения T_1 вследствие перехода $T_1 \rightarrow S_0$, исторически называемого «бета-процессом» (в отличие от «альфа-процесса» – термической активации).
- Для определения w_T используется низкотемпературный участок зависимости $\tau(T)$, где процесс термической активации практически отсутствует. Слабая температурная зависимость $w_T(T)$ аппроксимируется кривой аррениусовского типа.
- Зная вероятность $w_T(T)$, нужную нам температурную зависимость $w_{TS}(T)$ (скорости альфа-процесса) находится, согласно формуле (3) описания, как $w_{TS} = 1 / \tau - w_T$.

Контрольные вопросы

1. Чем определяется вероятность переходов между электронно-возбужденными состояниями в молекулах?
2. Зная максимумы желто-зеленой и голубой полос (530–540 и 470 нм соответственно), оцените разность энергий состояний S_1 и T_1 . Сравните эту разность с полученной в работе величиной Q .
3. Можно ли определить энергию термической активации молекулы из измерений абсолютных интенсивностей длинноволновой и коротковолновой полос?

Приложение 1. Текст файла Photolumin.mcd

**Обработка экспериментальных данных лабораторной
работы 3.1
"Термическая активация замедленной флуоресценции в
сложных молекулах"**

D :=

6	1.857	272
5.8	1.815	272
5.7	1.785	273
5.5	1.767	280
5.4	1.736	277
5.3	1.713	273
5.1	1.723	272
5.0	1.723	272
4.7	1.786	273
4.6	1.779	273
4.5	1.817	274
4.3	1.815	274
4.0	1.823	273
3.9	1.896	273
2.9	1.88	272
2.7	1.904	272
2.5	1.945	273
2.3	2.066	274
2.1	2.111	274
1.9	2.313	278
1.7	2.469	274
1.5	2.624	275
1.3	2.759	272
1.1	3.092	272
0.9	3.54	273
0.7	3.675	274
0.5	4.176	279
0.3	5.24	276
0.1	6.085	274
-0.2	5.96	273

Заполните матрицу. В первом столбце - показания вольтметра, измеряющего э.д.с. термопары, мВ.

Во втором столбце - показатель экспоненты. В третьем столбце - цена деления одной точки АЦП по времени.

В матрице 30 строк !

$l := \text{rows}(D)$ $l = 30$

$i := 1..l$

$$t_i := D_{i,3} \cdot \frac{10^{-2}}{D_{i,2}}$$

$t =$

	1
1	1.465
2	1.499
3	1.529
4	1.585
5	1.596
6	1.594
7	1.579
8	1.579
9	1.529
10	1.535
11	1.508
12	1.51
13	1.498
14	1.44
15	1.447
16	1.429

t - постоянная
спада сигнала, сек.

Обработка показаний термопары - пересчет мВ в градусы по градуировочной кривой. Кривая подогнана полиномом третьей степени $T(V)$

$$a := 3.07247 \cdot 10^{-1} \quad b := -1.43038 \cdot 10^{-1} \quad c := 25.06 \quad d := 272.06$$

$$T(V) := a \cdot V^3 + b \cdot V^2 + c \cdot V + d$$

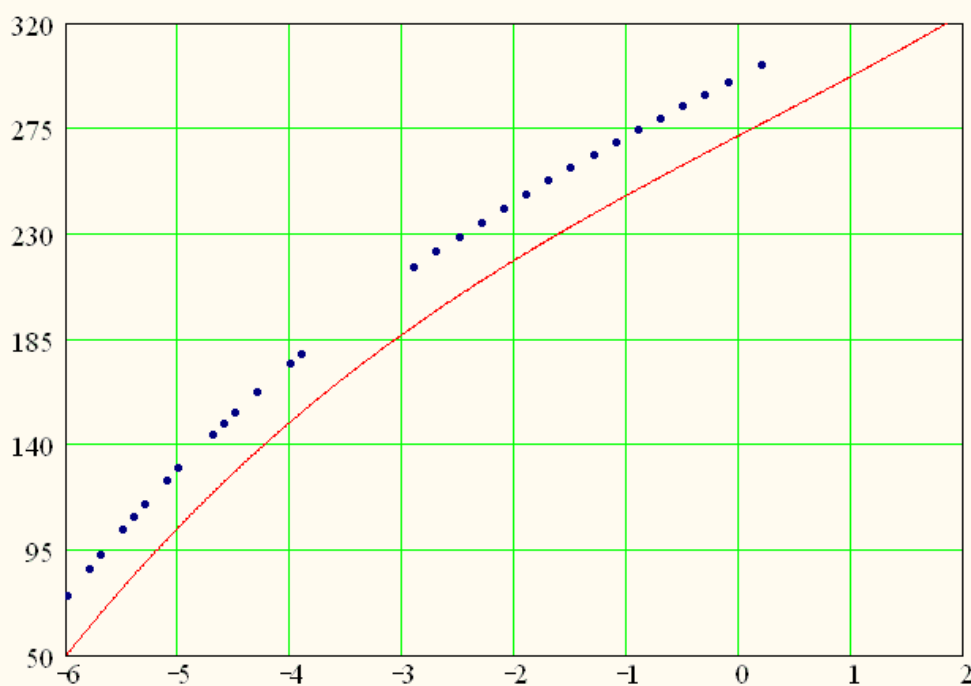
$$Tm_i := T(-D_{i,1}) + T0$$

$T0 := 25$

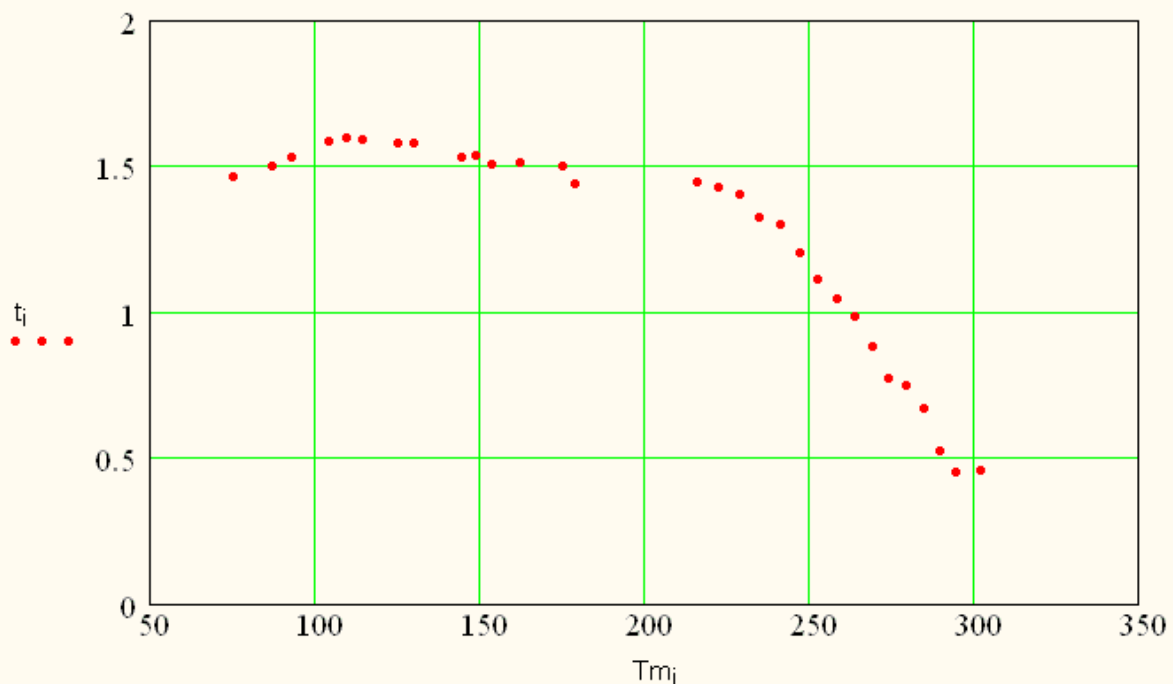
$$V := -6, -5.99 .. 2$$

**Измените
температуру конца
термопары (град.
С), если требуется.**

Градуировочная кривая термопары и экспериментальные точки:



Исходный график зависимости времени высвечивания флуоресцеина от температуры:



Определите на графике начальную и конечную точки для медленного бета- и быстрого альфа - процессов и присвойте соответствующие значения переменным в строке ниже. Напоминаем, что номер крайней левой точки на графике - 1, а крайней правой - 30.

$\beta_1 := 7$ $\beta_2 := 15$ $\alpha_2 := 29$ $\alpha_1 := 19$

Переходим к аррениусовским координатам $\ln(1/t)$ vs $1/T$.

Производим, для удобства, переобозначение. T_m - измеренная температура

$$j := 1 \dots (\beta_2 - \beta_1 + 1)$$

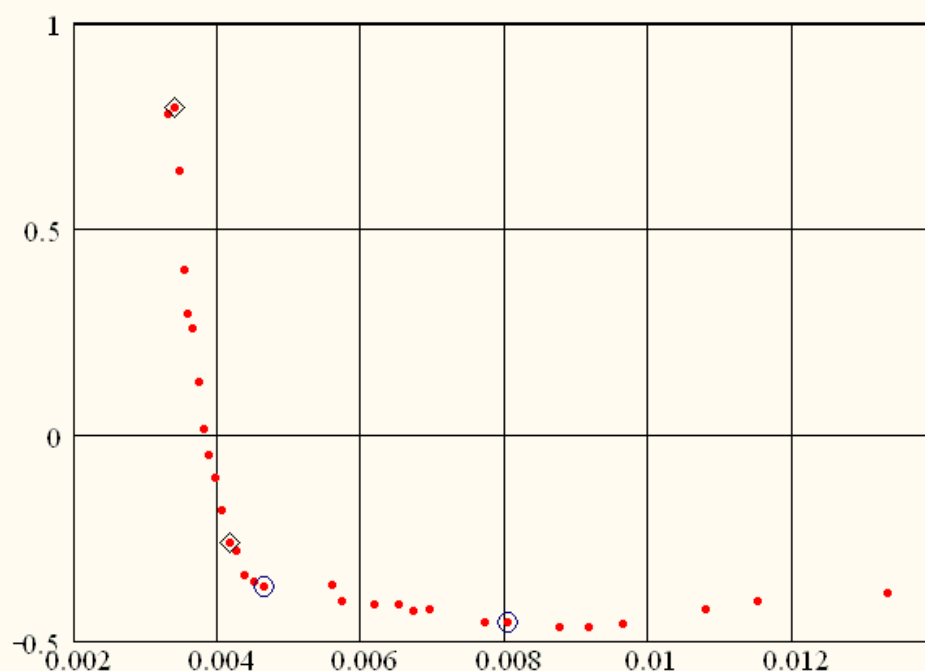
$$k := 1 \dots (\alpha_2 - \alpha_1 + 1)$$

$$t_{\alpha_k} := t_{k-1+\alpha_1} \quad T_{\alpha_k} := T_{m_{k-1+\alpha_1}}$$

$$\text{Ar}t_{\beta_j} := \ln\left(\frac{1}{t_{j-1+\beta_1}}\right) \quad \text{Ar}T_{\beta_j} := \left(\frac{1}{T_{m_{j-1+\beta_1}}}\right)$$

$$\text{Ar}t_{\alpha_k} := \ln\left(\frac{1}{t_{k-1+\alpha_1}}\right) \quad \text{Ar}T_{\alpha_k} := \left(\frac{1}{T_{m_{k-1+\alpha_1}}}\right)$$

График в аррениусовских координатах. Отмечены выбранные вами точки, в пределах которых будет проходить обработка



Подгоняем точки на двух выбранных участках прямыми линиями:

$$S\alpha := \text{slope}(\text{ArT}\alpha, \text{Ar}\alpha) \quad l\alpha := \text{intercept}(\text{ArT}\alpha, \text{Ar}\alpha)$$

$$S\beta := \text{slope}(\text{ArT}\beta, \text{Ar}\beta) \quad l\beta := \text{intercept}(\text{ArT}\beta, \text{Ar}\beta)$$

$$S\alpha = -1.315 \times 10^3 \quad l\alpha = 5.094 \quad S\beta = -28.972 \quad l\beta = -0.227$$

Полученные линейные зависимости:

$$x\alpha := 0, 0.0001 \dots 0.005$$

$$x\beta := 0, 0.0001 \dots 0.01$$

$$f\alpha(x\alpha) := S\alpha \cdot x\alpha + l\alpha$$

$$f\beta(x\beta) := S\beta \cdot x\beta + l\beta$$

$$F\beta_k := f\beta(\text{ArT}\alpha_k)$$

Отделяем быстрый альфа-процесс:

$$\text{ArT}\alpha_k := \ln\left(\frac{1}{\tau\alpha_k} - \exp(F\beta_k)\right)$$

Определяем энергию термической активации (в каких единицах?)

$$FS\alpha := \text{slope}(\text{ArT}\alpha, \text{Ar}\alpha)$$

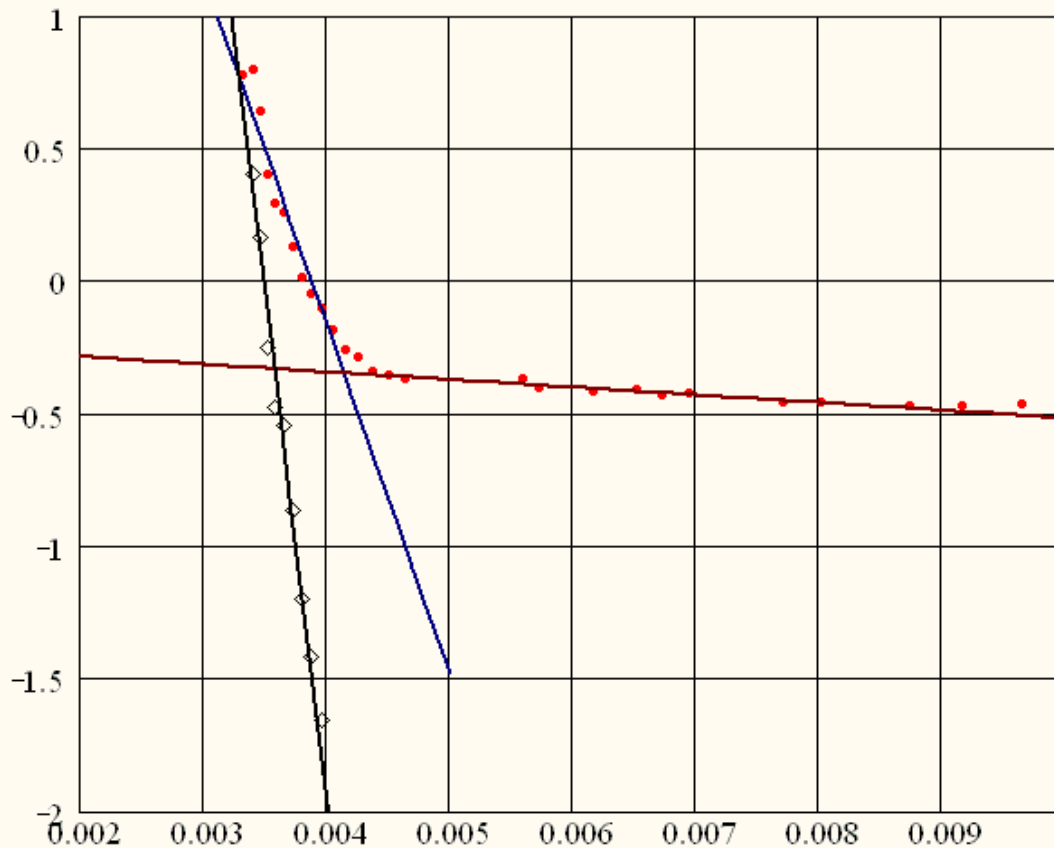
$$Fl\alpha := \text{intercept}(\text{ArT}\alpha, \text{Ar}\alpha)$$

$$F\alpha(x\alpha) := FS\alpha \cdot x\alpha + Fl\alpha$$

$$FS\alpha = -3.841 \times 10^3$$

Скопируйте график и полученную величину в Word, используя опции "Редактирование" и "Специальная вставка". Распечатайте картинку, вы будете использовать ее при сдаче работы.

$$FS\alpha = -3.841 \times 10^3$$



Приложение 2.

Люминесценция, в том числе замедленная флуоресценция, в современных исследованиях

Люминесцентный анализ – метод исследования, при котором регистрируется либо собственное свечение исследуемого объекта, либо свечение специального люминофора (флуоресцентной метки), которым обрабатывается исследуемый объект. Спектры люминесценции и спектры возбуждения люминесценции дают информацию об энергетических уровнях вещества. По поляризации люминесценции можно определить ориентацию и мультипольность испускающих и поглощающих систем и получить данные об обмене энергией между ними. По интенсивности и спектру люминесценции определяется наличие и концентрация тех или иных примесей, а также динамика химических превращений и межмолекулярного энергопереноса, например, при фотосинтезе. Чувствительность современ-

ного люминесцентного анализа очень высока и позволяет обнаруживать примеси некоторых, в частности, органических веществ в концентрации до 10^{-11} г/см³.

Прогресс в технике фотодетекторов и сканирующих оптических микроскопов открыл доступ к наблюдению одиночных молекул. Возбуждая постоянным облучением и наблюдая во времени стационарную люминесценцию одиночных молекул (молекулярных «светлячков»), можно исследовать латеральную диффузию молекул на твердой поверхности и объемную диффузию в твердых телах (типа полимеров). Используя поляризованный свет для возбуждения и детектируя поляризованную люминесценцию, можно измерять реориентацию молекул и осуществлять мониторинг их траекторий.

Возможности оптики одиночных молекул существенно расширяются при переходе к импульсной оптической спектроскопии. Она позволяет одновременно регистрировать интенсивность флуоресценции, поляризацию и время жизни, частоту вращения молекул и анизотропию вращательной диффузии; она уже используется для молекул с низким молекулярным весом в жидкостях и для макромолекул.

При импульсной спектроскопии серьезную проблему представляет собой выделение полезного сигнала флуоресцентной метки (а ее концентрация обычно мала) на фоне сильного излучения возбуждающего импульса и собственной флуоресценции среды. При наблюдении задержанной флуоресценции (обычно при временах порядка десятков-сотен микросекунд) быстрозатухающее фоновое излучение сводится, практически, к нулю, а смещение метки, важное в случае пространственно-разрешенных измерений, остается невелико. Еще одно важное отличие задержанной флуоресценции состоит в следующем. При увеличении концентрации обычных флуоресцентных меток наблюдается взаимотушение возбужденных состояний, так что выход флуоресценции не растет, а даже начинает падать. Концентрация меток, обладающих задержанной флуоресценцией, может быть до 1000 раз больше без существенного тушения возбуждения.

В последние годы методы флуоресцентного анализа и флуоресцентной микроскопии активно развиваются в биофизике и биохимии для получения важной информации о процессах, происходящих в клетке на молекулярном уровне.

Библиографический список

1. **Lewis G.N., Lipkin D., Magel T.T.** Reversible Photochemical Processes in Rigid Media. A Study of the Phosphorescent State // J. Amer. Chem. Soc. 1941. Vol. 63. P. 3005-3018. (– оригинальная статья, в которой впервые подробно исследована замедленная флуоресценция флуоресцеина).
2. **Лёвшин Л. В., Салецкий А. М.** Люминесценция и ее измерения: Молекулярная люминесценция. М.: Изд-во МГУ, 1989.
3. **Паркер С.** Фотолюминесценция растворов. М.: Мир, 1972.
4. **Пикаев А. К.** Современная радиационная химия. Основные положения. Экспериментальная техника и методы. М.: Наука, 1985.