



**Лекция Решетняк Е.А.**

**Оптические методы анализа.**

# Люминесцентные методы анализа

## ВОПРОСЫ ЛЕКЦИИ

- Флуоресценция и фосфоресценция. Диаграмма Яблонского.
- Спектры флуоресценции и фосфоресценции
- Аналитический сигнал и градуировочная характеристика люминесцентных методов.
- Помехи в люминесцентном анализе.
- Применение люминесцентных методов.
- Сравнение метрологических характеристик спектрофотометрии и люминесцентной спектрометрии.

*1). Васильев В.П. Аналитическая химия. Кн. 2: Физико-химические методы анализа. Глава 5, с. 98-110. ( М.: Дрофа, 2007. 384 с.)*

*2). Основы аналитической химии. Под ред. Ю.А. Золотова. (М.: Высш. шк., 2004. 503 с.) Кн. 2: Методы химического анализа. С. 305-328.*

# Молекулярная люминесценция

**Люминесценция** (слабое свечение) - испускание квантов света возбужденными молекулами (атомами, ионами);

**Флуоресценция** – свечение малой длительности ( $10^{-11}$  -  $10^{-6}$  с) после поглощения энергии возбуждения;

**Фосфоресценция** – более длительное свечение, продолжается после прекращения возбуждения от нескольких микросекунд до нескольких суток.



# Виды люминесценции в зависимости от источника энергии возбуждения

- Фотолюминесценция – свет (УФ и видимый спектральный диапазон);
- Рентгенолюминесценция - рентгеновское излучение;
- Сонолюминесценция – звук (ультразвук);
- Электролюминесценция - электрическое поле;
- Триболюминесценция - механическое воздействие;
- Хемилюминесценция - химические реакции.
- Биолюминесценция - химические реакции в процессах жизнедеятельности некоторых организмов.

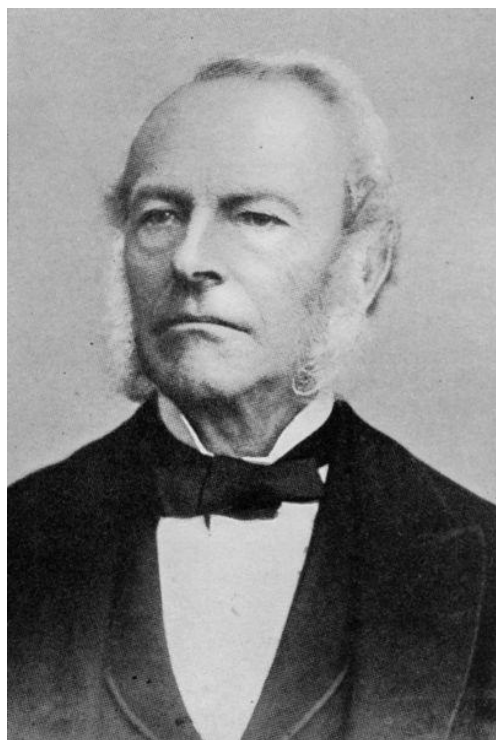


Светлячок

# Фотолюминесценция



# Открытие флуоресценции



**Георг Габриель Стокс**  
13.08.1819-1.02.1903

**1852**

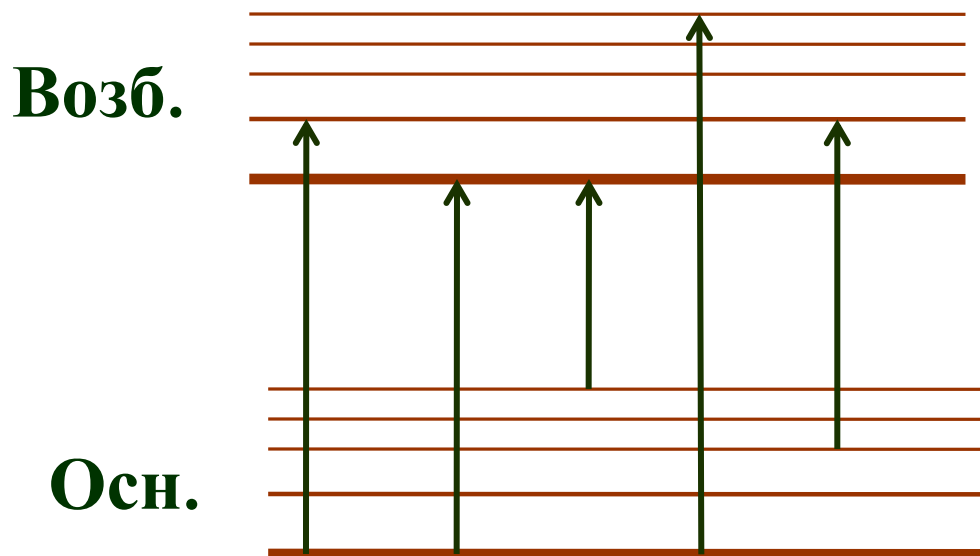
# Флуоресценция и фосфоресценция



**Сергей Иванович Вавилов**  
24.03.1891-25.01.1951

**1922**

# Механизмы возбуждения при люминесценции



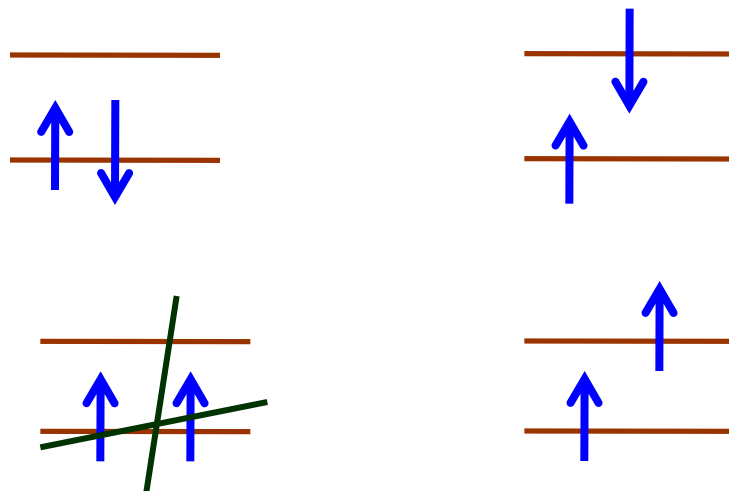
**Электронные** уровни в молекуле изображают более жирными линиями, а **колебательные** уровни – более тонкими линиями.

$$E = E_{\text{эл}} + E_{\text{колебат}} + E_{\text{вращ}}$$

# Ориентация электронных спинов в синглетном и триплетном состояниях

Синглетное состояние  
( $S_0$ ,  $S_1$ ,  $S_2$ )

Триплетное состояние  
( $T_1$ ,  $T_2$ )



В основном  
состоянии

После  
возбуждения



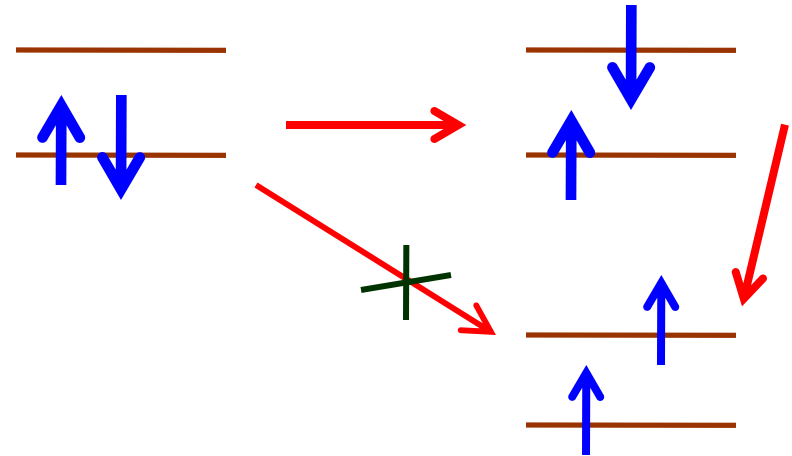
# Мультиплетность и запрещенный переход

**Мультиплетность:  $M = 2s + 1$**

**$s$  — суммарный электронный спин данного состояния**

**Для синглетных состояний  
 $s = 0; M = 1$**

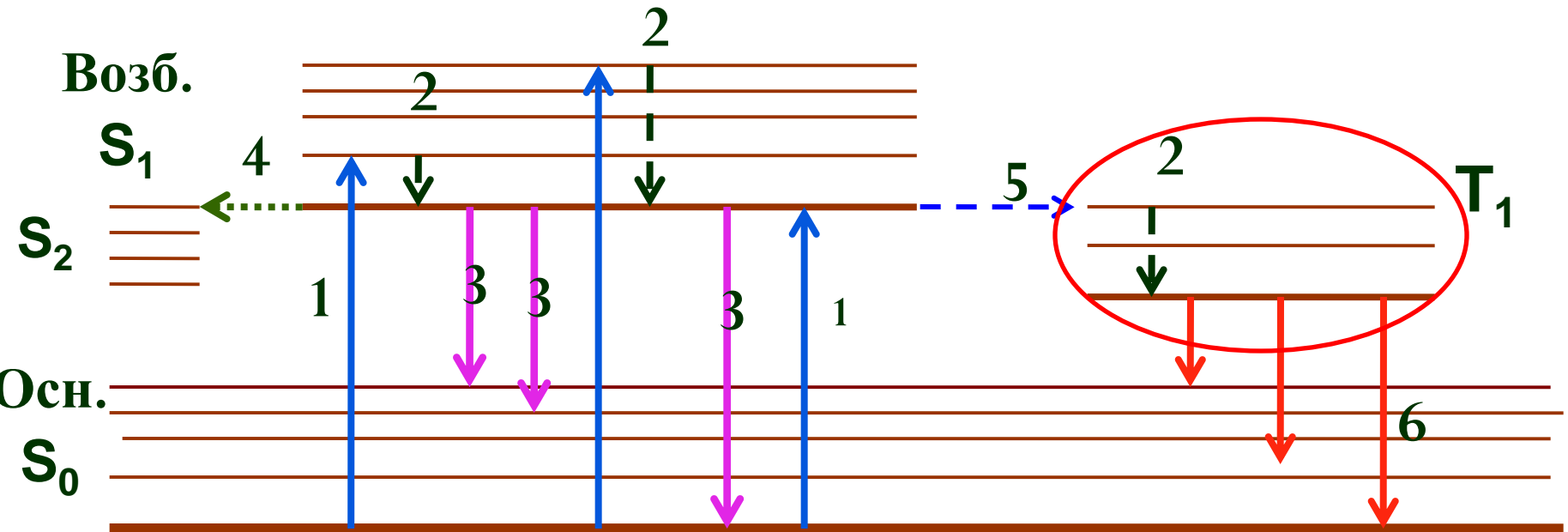
**Для триплетных состояний  
 $s = 1; M = 3$**



**В основном  
состоянии**

**После  
возбуждения**

# Диаграмма Яблонского



**1** – поглощение,  
**2** – колебательная  
релаксация,  
**3** – флуоресценция,  
**4** - внутренняя конверсия

**5** - интеркомбинационная  
конверсия,  
**6** - фосфоресценция

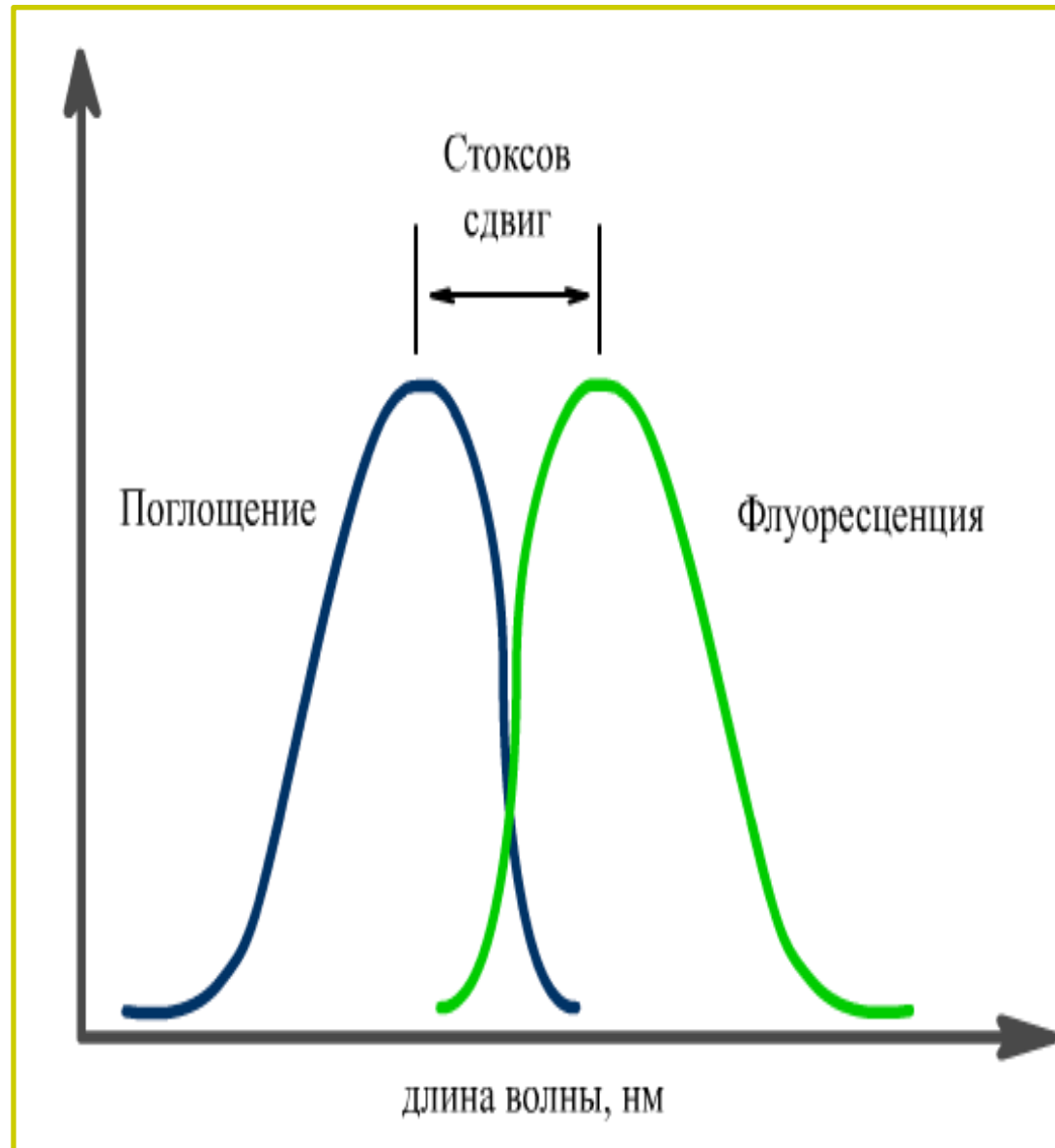
# Спектры поглощения и флуоресценции

■ Свет люминесценции имеет всегда большую  $\lambda$ , чем поглощенный свет (закон Стокса)

$$E_{\text{возб.}} > E_{\text{фл.}}; \lambda_{\text{возб.}} < \lambda_{\text{фл.}}$$

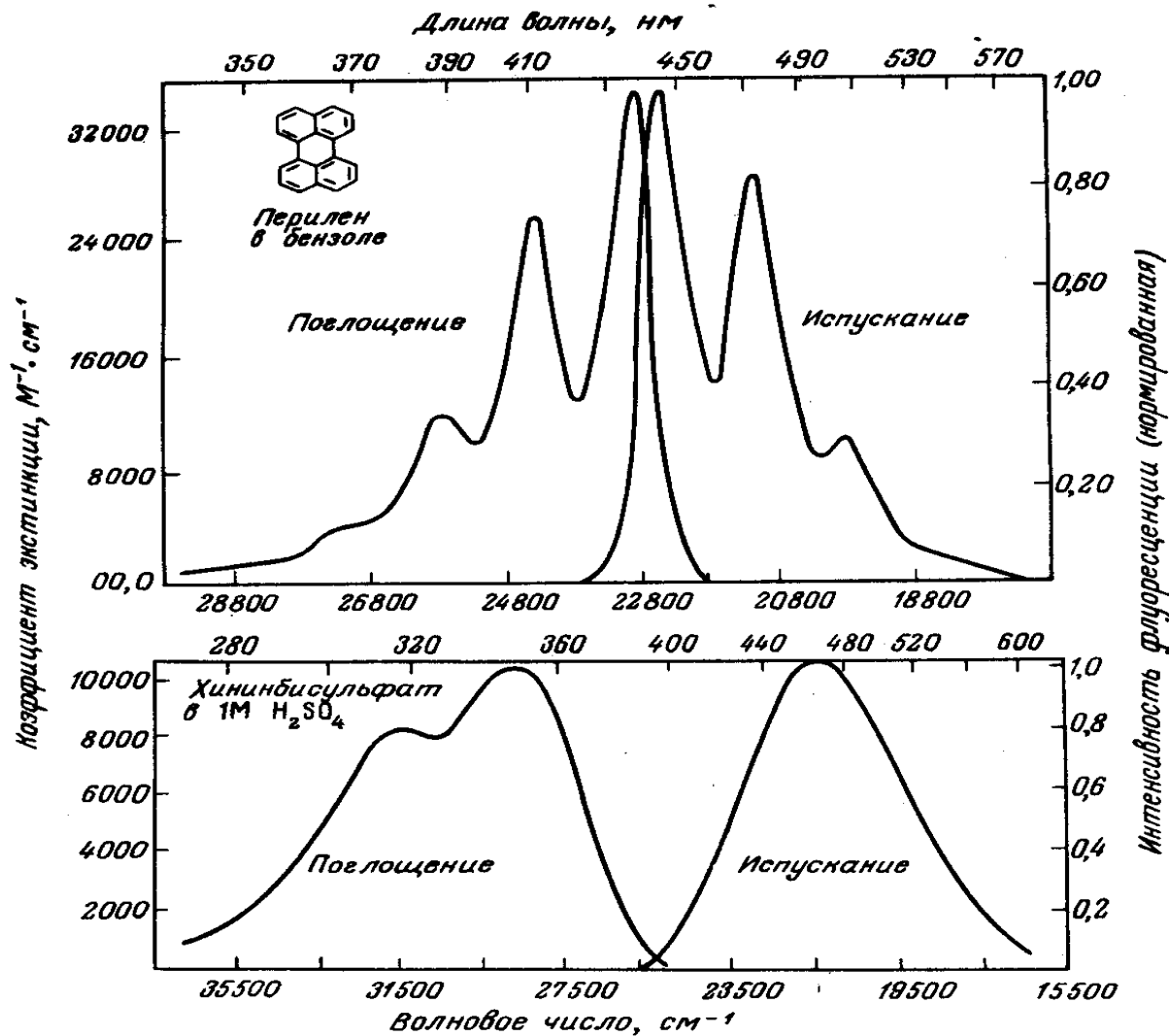
■ Спектр Фл сдвинут в длинноволновую область относительно спектра поглощения (закон Стокса - Ломмеля);

■ Спектр Фл зеркально симметричен спектру поглощения (правило Левшина).



# Правило зеркальной симметрии

Перилен

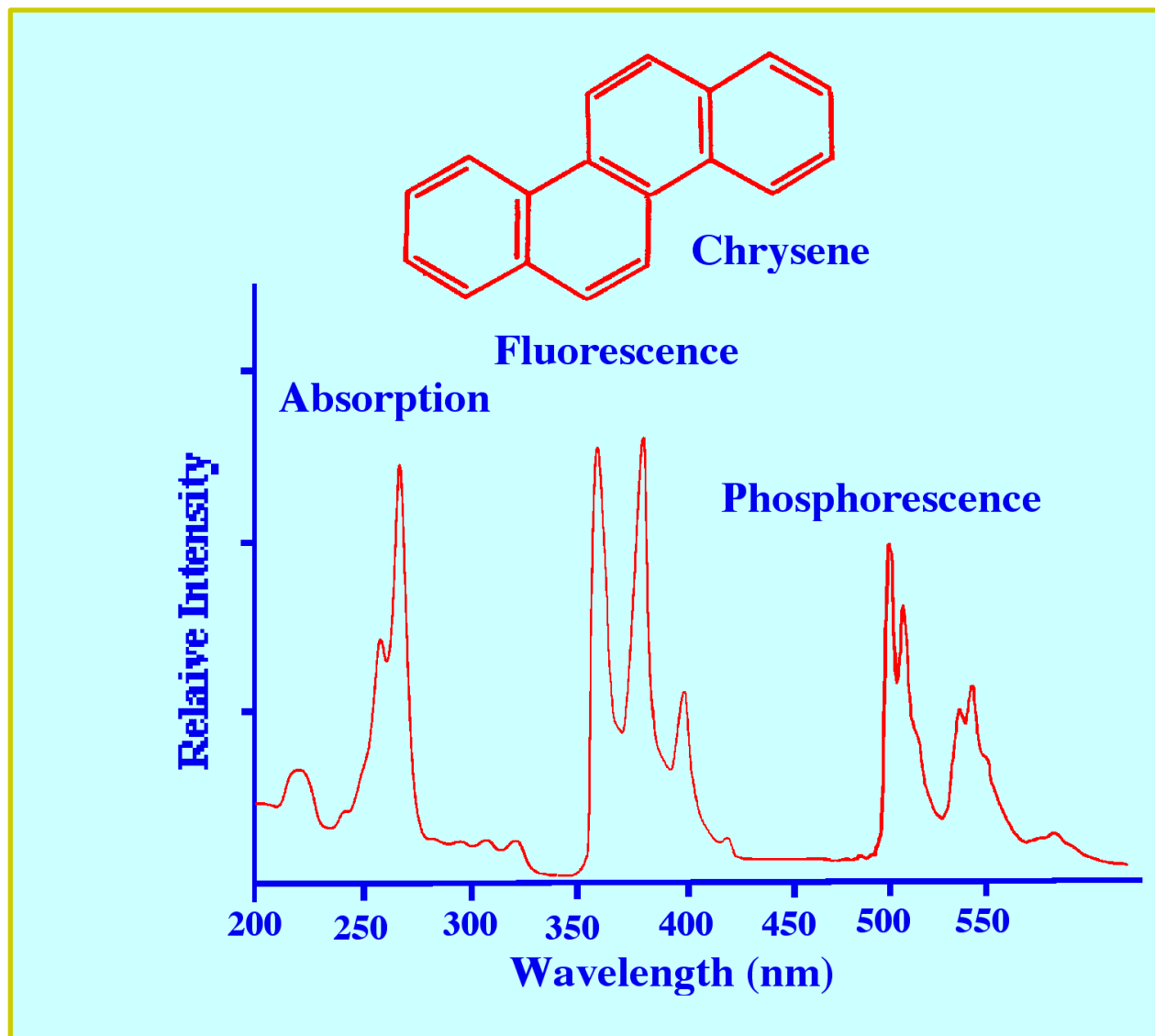


Хинин

# Спектры флуоресценции и фосфоресценции

Спектр  
фосфоресценции  
сдвинут в  
длинноволновую  
область  
относительно  
спектра  
флуоресценции

$$E_{\text{возб.}} > E_{\text{фл.}} > E_{\text{фосф.}} ;$$
$$\lambda_{\text{возб.}} < \lambda_{\text{фл.}} < \lambda_{\text{фосф.}}$$



# АС и ГХ люминесцентных методов

■ Аналитический сигнал (АС) – интенсивность испускаемого света (флуоресценции)  $I_{фл}$

■ Квантовый выход:

$$B_{кв} = \frac{N_{фл}}{N_{погл}};$$

$$I_{фл} = \kappa \kappa' B_{кв} I_0 \varepsilon l c = \kappa c;$$

Не зависит от  $\lambda$

$$I_{фл} = \kappa N_{фл} = \kappa B_{кв} N_{погл};$$

$$N_{погл} = \kappa' (I_0 - I); \quad I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon l c};$$

$$N_{погл} = \kappa' I_0 (1 - 10^{-\varepsilon l c});$$

$$I_{фл} = \kappa \kappa' B_{кв} I_0 (1 - 10^{-\varepsilon l c});$$

$$10^{-\varepsilon l c} = 1 - 2.3 \varepsilon l c + \frac{(2.3 \varepsilon l c)^2}{2} - \frac{(2.3 \varepsilon l c)^3}{2 \cdot 3} + \dots;$$

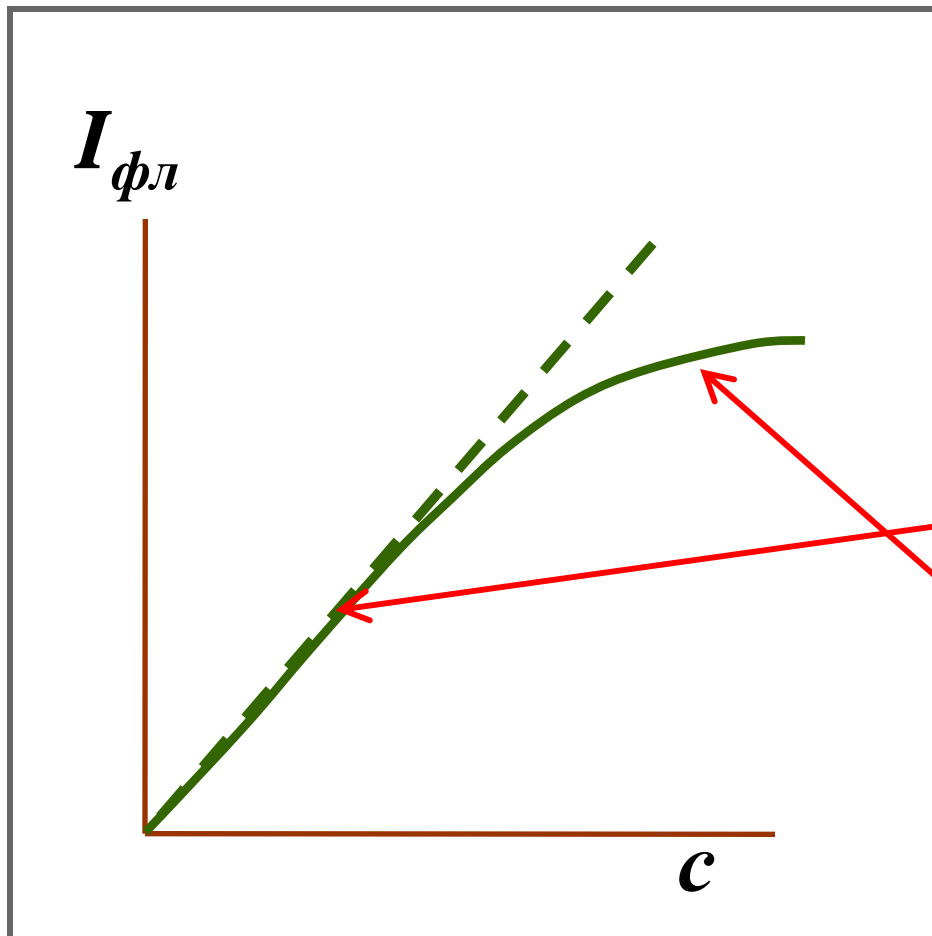
$$2.3 \varepsilon l c \ll \frac{(2.3 \varepsilon l c)^2}{2}$$

Концентрация люминофора  
 $c < (10^{-5} - 10^{-6})$  моль/л

# Помехи в люминесцентном анализе

- ✓ Изменение мощности источника излучения;
- ✓ Факторы, влияющие на поглощение (*немонохроматичность, рассеяние*);
- ✓ Концентрационное тушение (*самопоглощение – поглощение люминофором части люминесцентного излучения, при  $c > 10^{-4}$  моль/л*);
- ✓ Эффект внутреннего фильтра (*поглощение части возбуждающего излучения при прохождении через слой люминофора*);
- ✓ Температурное тушение;
- ✓ Влияние тяжелых атомов или парамагнитных частиц на квантовый выход – изменяется скорость процесса .

## Концентрационное тушение : отклонение ГГ от линейности



$$2.3\epsilon lc \square \frac{(2.3\epsilon lc)^2}{2},$$

если  $\epsilon lc < 0.01$

А если  $\epsilon lc \geq 0.01 \dots$



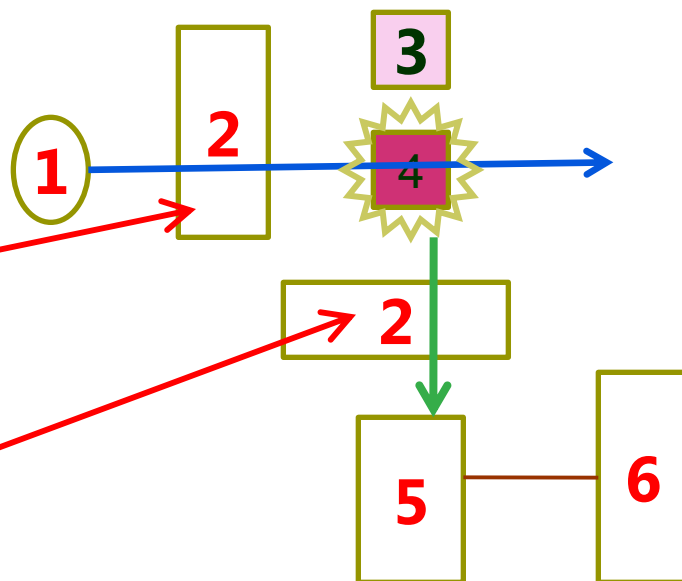
# Схема прибора для люминесцентного анализа

## ФЛУОРИМЕТР

Два монохроматора

$\lambda_{\text{возбужд.}}$

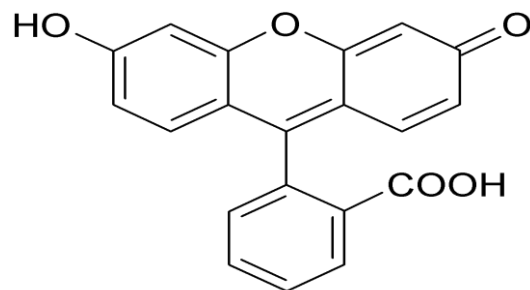
$\lambda_{\text{флуоресц}}$



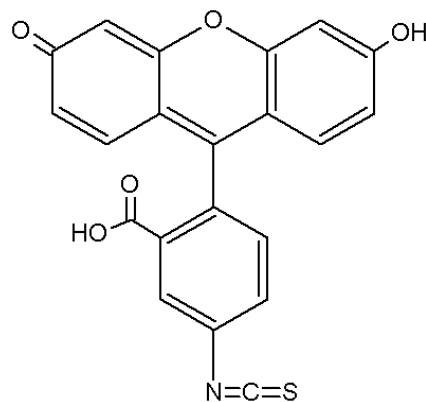
Измеряется  
интенсивность  
флуоресценции  $I_{\text{фл}}$

# Применение люминесцентных методов

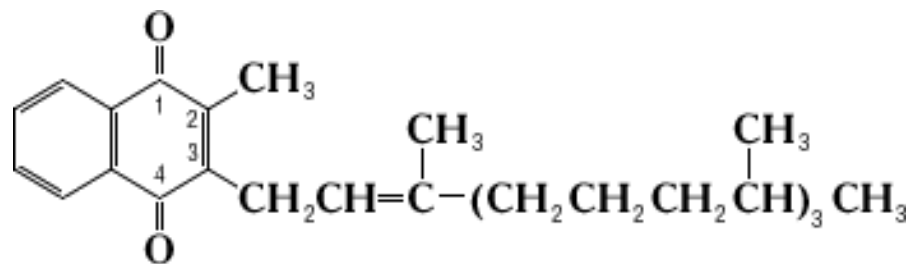
**Флуоресцеин**



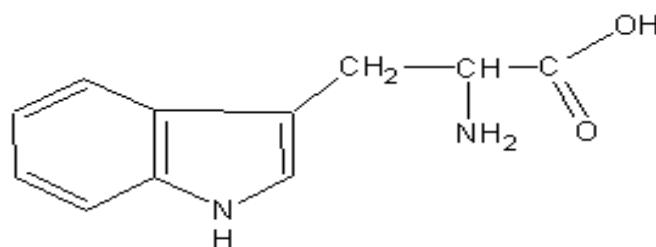
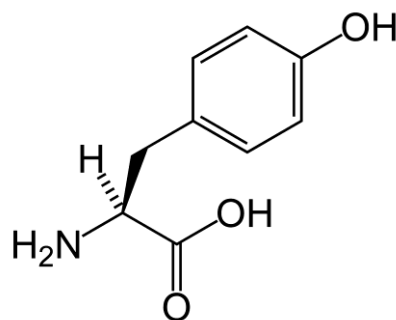
**Флуоресцеин  
изотиоцианат**



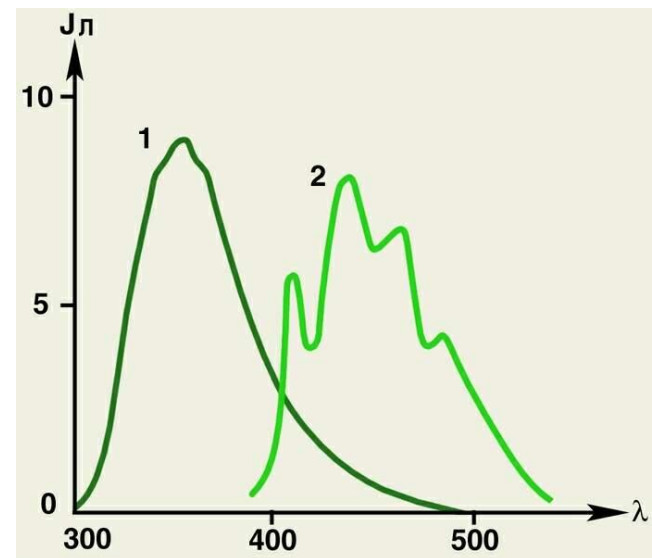
# Витамин К



# Тирозин

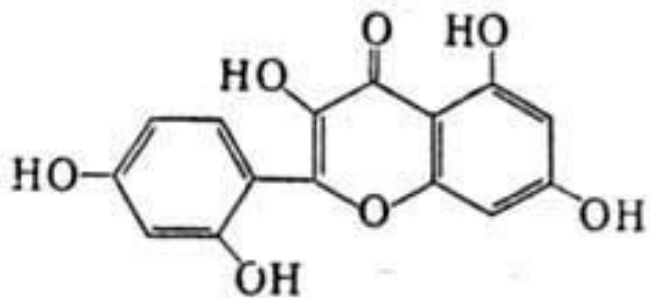


Триптофан –  
спектры флуоресценции и  
фосфоресценции  
Белки

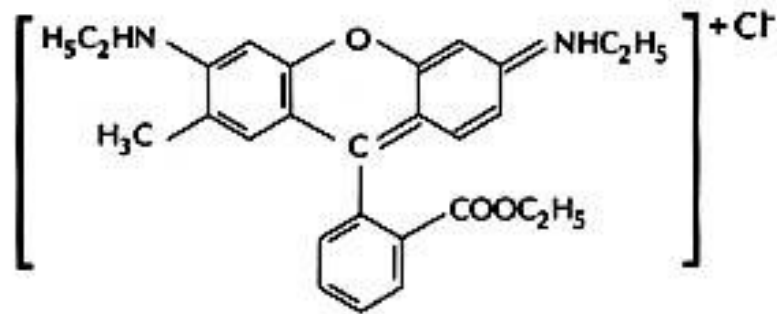


# Реагенты для люминесцентного анализа (неорганических веществ)

## Морин



## Родамин 6Ж



# Преимущества люминесцентных методов по сравнению с СФ

Селективность *выше*;  
Пределы определения *ниже*;  
Диапазон определяемых концентраций *шире*.

*Определение*  
биологически важных  
веществ,  
микроколичеств  
токсикантов,  
детекция в ВЭЖХ.

