

# **Экспериментальные методы химической кинетики**

**под редакцией  
Н.М. Эмануэля, М.Г. Кузьмина**

## **Глава**

# **Кинетика люминесценции**

*(<http://www.chemnet.ru/rus/teaching/kinetics-exp/>)*

**Электронная версия подготовлена  
на основе издания:**

**Экспериментальные методы химической кинетики:  
Учебн. пособие/ Под. ред. Н.М. Эмануэля и М.Г. Кузьмина.  
Москва: Изд-во Московского университета, 1985 г.**

КИНЕТИКА ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

Наиболее прямым методом исследования первичных стадий фотохимических реакций является изучение кинетики люминесценции (закона возгорания и затухания люминесценции). При этом для возбуждения люминесценции используют либо короткие импульсы света, либо модулированный свет. Наносекундные и пикосекундные источники света и высокочувствительные сверхбыстрые системы регистрации предоставляют исключительные с точки зрения химической кинетики возможности для исследования механизмов наиболее быстрых химических реакций.

Интенсивность люминесценции (флуоресценции и фосфоресценции) прямо пропорциональна концентрации возбужденных молекул (соответственно в синглетном или триплетном состоянии) в данный момент времени. Поэтому, измеряя кинетику люминесценции, мы получаем непосредственно зависимость концентрации этих возбужденных молекул от времени.

В данной главе рассмотрены способы определения констант скорости фотохимических и фотофизических процессов из данных по кинетике люминесценции и описаны экспериментальные методы ее изучения.

§ 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНСТАНТ СКОРОСТИ ФОТОПРОЦЕССОВ

При поглощении света возбуждающей вспышки молекулы M переходят в электронно-возбужденное состояние M\*:

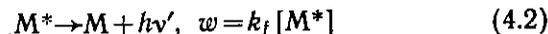


Скорость этого процесса определяется выражением:

$$w = b \cdot E(t), \quad (4.1a)$$

где  $E(t)$  — зависимость интенсивности возбуждающей вспышки от времени.

Возбужденные молекулы M\* могут флуоресцировать:



и безызлучательно дезактивироваться:



где  $k_f$  и  $k_d$  — константы скорости флуоресценции и дезактивации возбужденных молекул.

Таким образом, можно записать дифференциальное уравнение для концентрации возбужденных молекул:

$$d[M^*]/dt = b \cdot E(t) - (k_f + k_d) [M^*]. \quad (4.4)$$

При импульсном возбуждении после прекращения возбуждающего импульса  $E(t) = 0$  и получается уравнение процесса первого порядка:

$$d[M^*]/dt = -(k_f + k_d) [M^*], \quad (4.5)$$

решение которого имеет вид экспоненты (рис. 4.1a):

$$F(t) = k_f [M^*] = k_f [M^*]_0 e^{-(k_f + k_d)t} = F_0 e^{-(k_f + k_d)t}, \quad (4.6)$$

где  $[M^*]_0$  и  $F_0$  — концентрация возбужденных молекул и интенсивность флуоресценции в момент прекра-

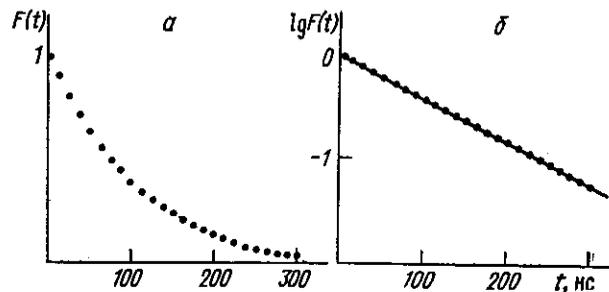


Рис. 4.1. Кинетика затухания флуоресценции раствора нафталина в гептане  $\tau = \Delta t / 2,3 \Delta \lg F = 107$  нс

щения возбуждения. Время жизни возбужденных молекул

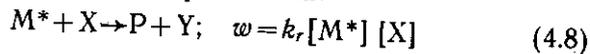
$$\tau_0 = 1/k_0 = 1/(k_f + k_d)$$

можно определить графически, откладывая зависимость логарифма интенсивности от времени (рис. 4.1б):

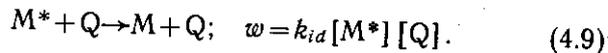
$$\lg F(t) = \lg F_0 - 0,434t/\tau_0. \quad (4.7)$$

### Уравнение Штерна — Фольмера

Если возбужденные молекулы взаимодействуют с какими-либо веществами, присутствующими в системе, вступая в химические реакции или дезактивируясь, то кинетическую схему (4.1)—(4.3) необходимо дополнить соответствующими процессами:



и (или)



Поскольку присутствие таких добавок вызывает уменьшение интенсивности люминесценции, их обобщенно называют тушителями люминесценции, не конкретизируя механизм тушения. Чаще всего встречается случай, когда присутствуют оба процесса (4.8) и (4.9), и находят константу скорости суммарного тушения:  $k_q = k_r + k_{id}$ . Чтобы найти отдельно константу скорости реакции (4.8), необходимо провести также исследование фотолиза М. При этом из зависимости квантового выхода реакции Ф от концентрации

$$1/\Phi = 1/\Phi_\infty (1 + 1/k_q\tau_0[X])$$

определяют предельный квантовый выход реакции  $\Phi_\infty$  и  $k_q$ . Далее находят  $k_r$ , исходя из того, что  $\Phi_\infty = k_r / (k_r + k_{id})$ ,  $k_r = \Phi_\infty \cdot k_q$  (определение квантовых выходов реакций подробно описано в главе «Фотохимия»). В дальнейшем в данной главе мы не будем задаваться вопросом, приводит или нет наблюдаемое тушение люминесценции к необратимой химической реакции, поскольку (в отсутствие физических механизмов тушения — переноса энергии и индуцируемой интеркомбинационной конверсии) именно константа скорости тушения люминесценции является важнейшим параметром — не осложненной вторичными реакциями (в отличие от квантового выхода реакций) мерой реакционной способности возбужденных молекул.

Тушение люминесценции, происходящее в результате взаимодействия возбужденных молекул с другими

молекулами, называют динамическим тушением. При непрерывном возбуждении со скоростью  $\omega_0$  стационарная концентрация возбужденных молекул  $[M^*]$  равна:

$$[M^*] = \omega_0 / (k_f + k_a + k_q[Q]), \quad (4.10)$$

и зависимость квантового выхода флуоресценции  $\Phi$  от концентрации тушителя описывается уравнением Штерна—Фольмера (при естественном условии  $[Q] \gg [M^*]$ ):

$$\Phi_0/\Phi = 1 + k_q\tau_0[Q], \quad (4.11)$$

где  $\Phi_0 = k_f \cdot \tau_0$  — квантовый выход флуоресценции в отсутствие тушителя. Затухание флуоресценции при этом остается экспоненциальным:

$$F(t) = F_0 \exp(-t/\tau); \quad (4.12)$$

$$\tau = 1/(k_f + k_a + k_q[Q]); \quad (4.13)$$

$$\tau_0/\tau = 1 + k_q\tau_0[Q]. \quad (4.14)$$

При динамическом тушении зависимости  $\tau_0/\tau$  и  $\Phi_0/\Phi$  от концентрации тушителя совпадают между собой. Значение константы скорости взаимодействия  $[M^*]$  с

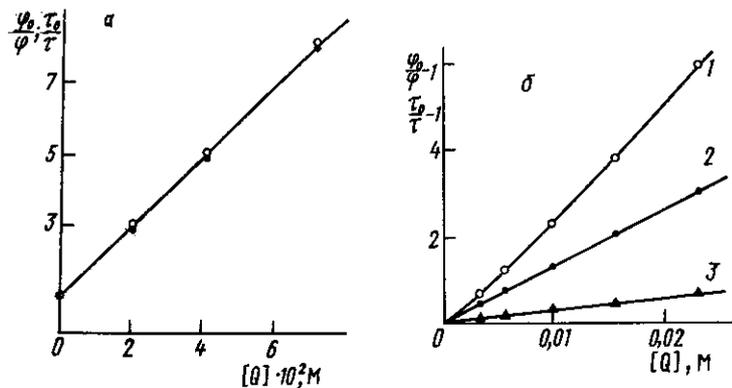


Рис. 4.2. Тушение флуоресценции в координатах уравнения Штерна—Фольмера.

а — пирен ( $10^{-4}$  М) в присутствии диэтиламина в ацетоннитриле; б — акридиний перхлорат ( $10^{-5}$  М) в присутствии 1,6-диметилнафталина в этаноле.

1 — изменение квантового выхода флуоресценции, 2 — времени жизни, 3 — определение константы статического тушения.  $K = 30 \text{ М}^{-1}$  (уравнение 4.20)

[Q] определяют из наклона графика в координатах уравнений (4.11) или (4.14), рис. 4.2а.

Уменьшение интенсивности люминесценции  $M$  может происходить также в результате образования в основном электронном состоянии комплексов между молекулами  $M$  и  $Q$  (или  $X$ ):



Такое тушение люминесценции называют статическим. При этом концентрация свободных молекул  $M$  равна:

$$[M] = M_0 / (1 + K[Q]), \quad (4.16)$$

где  $[M]_0$  — исходная концентрация  $M$ ;  $K$  — константа равновесия. Если комплексы  $(MQ)$  не флуоресцируют, а их спектр поглощения близок к спектру поглощения  $M$ , то возбуждающий свет будет поглощаться всеми молекулами  $M$ , как свободными, так и связанными в комплекс, а флуоресцировать будут лишь свободные молекулы  $M$ . Следовательно, для квантового выхода флуоресценции получим уравнение

$$\varphi_0/\varphi = 1 + K[Q], \quad (4.17)$$

которое отличается от уравнения Штерна—Фольмера (4.11) лишь физическим смыслом константы тушения. При статическом тушении время жизни возбужденных молекул не изменяется:  $\tau = \tau_0$ . Это позволяет различать статическое и динамическое тушение по кинетике флуоресценции.

Во многих системах наблюдается сочетание статического и динамического тушения. Тогда зависимость  $\varphi_0/\varphi$  от  $[Q]$  в общем случае становится нелинейной (рис. 4.2б):

$$\varphi_0/\varphi = (1 + K[Q]) (1 + k_q \tau_0 [Q]). \quad (4.18)$$

Одно лишь измерение концентрационной зависимости тушения флуоресценции не позволяет достаточно точно разделять статическое и динамическое тушение. Сочетание измерений концентрационной зависимости тушения флуоресценции и времени жизни возбужденных молекул дает возможность определить отдельно константы динамического и статического тушения (рис. 4.2б):

$$\tau_0/\tau = 1 + k_q \tau_0 [Q], \quad (4.19)$$

$$\varphi_0/\varphi = 1 + K[Q]. \quad (4.20)$$

Нужно учитывать, однако, что сходный характер концентрационной зависимости  $\varphi_0/\varphi$  наблюдается при наличии нестационарной диффузии (см. ниже).

### Реакции, лимитируемые диффузией

На скорость многих быстрых реакций в растворах сильное влияние оказывает диффузия реагентов. При этом могут возникать эффекты, приводящие в конечном счете к сильным отклонениям от уравнений (4.11), (4.12), (4.18) и несовпадению зависимостей  $\varphi_0/\varphi$  и  $\tau_0/\tau$  даже в отсутствие комплексобразования в основном состоянии. Эти эффекты возникают вследствие того, что за время протекания реакции (определяемое вре-

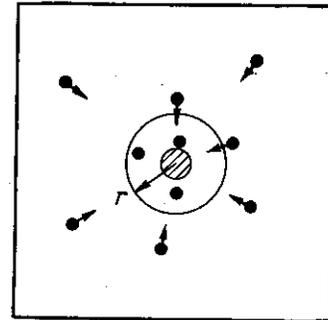


Рис. 4.3. Модель, поясняющая возникновение нестационарной диффузии. Молекулы тушителя внутри сферы радиуса  $r$  прореагируют быстрее, чем предсказывается стационарными уравнениями

менем жизни возбужденных состояний молекул) не успевают установиться стационарные диффузионные градиенты в растворе. Стационарные уравнения предполагают наличие установившегося потока диффузии через некую сферу радиуса  $r$ . В первый момент после инициирования в непосредственной близости около возбужденной молекулы могут оказаться молекулы тушителя (рис. 4.3а), и они прореагируют быстрее, чем это будет при установившемся диффузионном потоке. Вследствие этого наблюдаемая константа скорости будет зависеть от времени, в первый момент превышая, а затем выходя на стационарное значение.

В общем случае уравнение для константы скорости таких реакций можно получить из второго закона Фика:

$$\partial c/\partial t = D \nabla^2 c \quad (4.21)$$

при граничных условиях:

$$\begin{aligned} c(r, 0) &= c_0; \\ c(\infty, t) &= c_0; \\ c(R, t) &= \frac{D}{k_c} \left( \frac{\partial c}{\partial r} \right)_R, \end{aligned} \quad (4.22)$$

где  $D = D_M + D_Q$  — коэффициенты диффузии;  $k_c$  — константа скорости химической реакции в комплексах столкновения;  $R = R_M + R_Q$  — сумма радиусов соударения.

Решение уравнения (4.21) при начальных условиях (4.22) для константы скорости реакции  $k(t)$ :

$$k(t) = \frac{\Phi}{c_0} = \frac{4\pi R D N'_A}{1 + \frac{4\pi R D}{k_c}} \left[ 1 + \frac{k_c}{4\pi R D} \exp(x^2) \operatorname{erfc}(x) \right], \quad (4.23)$$

где  $\Phi$  — поток диффузии;

$$x = (\sqrt{D}t/R) (1 + k_c/4\pi R D).$$

Значения  $\operatorname{erfc}(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_x^\infty e^{-\lambda^2} d\lambda$  приводятся в математических таблицах;  $N'_A$  — число Авогадро на миллимоль.

При временных интервалах, больших  $10^{-11}$  с для обычных значений  $R$  и  $D$ ,  $\exp(x^2) \cdot \operatorname{erfc}(x)$  можно разложить в ряд и оставить первый член:

$$k(t) = 4\pi R' D N'_A (1 + R'/\sqrt{\pi D}t), \quad (4.24)$$

где  $R' = R/(1 + 4\pi R D/k_c)$ .

Для реакционной схемы (4.1) — (4.3), (4.9) получается следующий закон затухания:

$$F(t) = F_0 \cdot \exp \left\{ -\frac{t}{\tau_0} - 4\pi R' D N'_A [Q] t (1 + 2R'/\sqrt{\pi D}t) \right\}. \quad (4.25)$$

Согласно этому закону при малых значениях времени после иницирования наблюдается более быстрое затухание флуоресценции, затем при больших значениях второй член в показателе экспоненты (4.25) становится менее существенным, и скорость затухания за-

медляется, достигая стационарного значения. Уравнение (4.25) хорошо описывает экспериментальные данные при разумных значениях варьируемых параметров. Следует отметить, однако, что в случае обычных молекул в маловязких растворителях начальный быстрый участок может маскироваться, если возбуждающая вспышка не слишком короткая, и рассеянный свет не очень хорошо отделен.

Стационарное решение уравнения (4.21) дает изменение квантового выхода флуоресценции:

$$\Phi_0/\Phi = (1 + 4\pi R' D N'_A \tau_0 [Q]) \omega^{-1}. \quad (4.26)$$

где  $\omega = 1 + y \sqrt{\pi} \cdot \exp(y^2) \operatorname{erfc}(y)$

$$\text{и } y = \frac{4R'^2 \sqrt{\pi D} N'_A [Q]}{\sqrt{(1/\tau_0) + 4\pi R' D N'_A [Q]}}.$$

В отсутствие нестационарных эффектов константа скорости реакции, лимитируемой диффузией, равна:

$$k_{diff} = 4\pi R D N_A, \text{ мл/моль} \cdot \text{с}. \quad (4.27)$$

Отсюда, используя уравнение Стокса, получают известное уравнение Дебая:

$$k_{diff} = 8RT/3000\eta, \text{ л/моль} \cdot \text{с}, \quad (4.28)$$

где  $\eta$  — вязкость, выраженная в паузах;  $R = 8,31 \times 10^7$  эрг/град·моль.

При не очень больших  $[Q]$  уравнение (4.26) достаточно хорошо линейризуется в координатах (4.20), и, таким образом, с помощью этого уравнения трудно отличить комплексообразование в основном состоянии от влияния нестационарной диффузии (рис. 4.2б). Это приводит к тому, что разные авторы одни и те же экспериментальные факты интерпретируют по-разному. Так, например, отклонения зависимости  $\Phi_0/\Phi$  от линейной при тушении ароматических углеводородов четыреххлористым углеродом Боуэн и Меткалф интерпретируют только как комплексообразование, а Нойс — только как следствие нестационарной диффузии. Следует отметить, однако, что комплексообразование обычно обнаруживается и другими методами (например, методами УФ- и ЯМР-спектроскопии), но значения констант комплексообразования, получаемые лю-

минесцентными методами, по уравнению (4.20), существенно (иногда в 10 раз) превышают значения, найденные другими способами. Очевидно, в большинстве случаев в различие  $\phi_0/\phi$  и  $\tau_0/\tau$  вносят свой вклад и комплексообразование, и нестационарные эффекты (рис. 4.4).

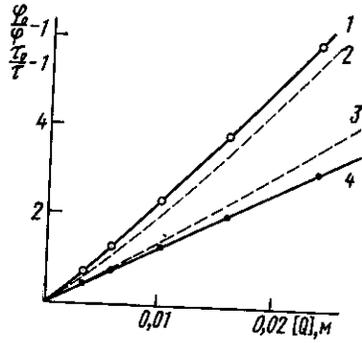


Рис. 4.4. Зависимость относительных квантовых выходов флуоресценции (1) и времени жизни (4) акридиния перхлората от концентрации 1,6-диметилнафталина.

Теоретические зависимости  $\phi_0/\phi$  от  $[Q]$  рассчитаны по уравнению для нестационарной диффузии (4.26) при  $D=1,5 \cdot 10^{-5}$  см<sup>2</sup>/с и  $R'=7$  А (2); а также при  $R'=-3,5$  А (3). Константа статического тушения, определенная в соответствии с уравнениями (4.20), рис. 2б, равна 30, а определенная из спектров поглощения — 2,6. В этой системе в отклонение зависимостей  $\phi_0/\phi$  от  $\tau_0/\tau$  явно вносят свой вклад и комплексообразование, и нестационарные эффекты

Использование уравнений (4.24), (4.25) затрудняет обычно отсутствие точных данных о  $D$  и особенно  $R'$  (параметр  $k_c$  можно получить из кинетики затухания флуоресценции на экспоненциальных участках). Из начального участка кривой затухания, зная  $D$ , можно получить  $R'$ .

Веллер для введения поправок на нестационарную диффузию при нахождении  $k_q$  из данных по  $\phi_0/\phi$  воспользовался приближенным выражением, требующим только знания относительного коэффициента диффузии  $D=D_M+D_Q$ :

$$\phi_0/\phi = (1 + k_q \tau_0 [Q]) \exp(-\lambda k_q \tau_0 [Q]), \quad (4.29)$$

где

$$\lambda = \frac{k_q}{4\pi N_A} \sqrt{\frac{\phi_0/\phi}{D^2 \tau_0}}$$

Величины поправок на нестационарную диффузию сильно зависят от времени жизни возбужденного состояния, константы скорости тушения и концентрации тушителя. Наименьшие поправки имеют место при большем времени, малых концентрациях и больших коэффициентах диффузии.

Возбуждение может передаваться от одних молекул к другим, имеющим одинаковые или близкие энергии возбуждения. Известны различные механизмы переноса энергии:

а) реабсорбция — повторное поглощение образцом испускаемой им люминесценции;

б) безызлучательный индуктивный перенос энергии (при индукционном диполь-дипольном или мультипольном взаимодействии осцилляторов возбужденной молекулы и акцептора энергии);

в) безызлучательный обменный перенос энергии (при обменном взаимодействии возбужденной молекулы с акцептором энергии).

Перенос энергии влияет на кинетику люминесценции и может исказить истинный закон гибели возбужденных молекул.

**Реоабсорбция.** Кинетика флуоресценции при наличии реабсорбции в общем случае имеет сложный вид и зависит от того, какова толщина образца, длина волны регистрации и как по отношению к направлению падения возбуждающего света расположен приемник света флуоресценции.

При реабсорбции концентрация возбужденных молекул изменяется во времени и по глубине образца, при этом возбуждение постепенно распространяется вглубь. Реабсорбция приводит к увеличению времени затухания флуоресценции, отклонению от экспоненциальности и зависимости характера затухания от длины волны регистрации флуоресценции. Существующая теория реабсорбции, позволяющая охарактеризовать флуоресценцию значениями интегрального времени затухания и оценить неэкспоненциальность по их различию, весьма сложна. Однако можно сравнительно просто проанализировать кинетику флуоресценции, рассмотрев общее количество возбужденных молекул в образце  $N(t)$ . При коротком импульсном возбуждении изменение  $N(t)$  после прекращения возбуждающего импульса можно описать уравнением:

$$dN(t)/dt = -N(t)/\tau_0 + \alpha \phi N(t)/\tau_0, \quad (4.30)$$

где  $\tau$  — собственное время жизни возбужденных молекул;  $\phi$  — квантовый выход флуоресценции;  $\alpha$  — инте-

гральная вероятность реабсорбции флуоресценции в образце, зависящая от перекрывания спектров поглощения и флуоресценции, концентрации люминофора и геометрии системы. Если  $\alpha$  не меняется во времени, то вследствие реабсорбции должно наблюдаться увеличение времени затухания флуоресценции, при этом кинетика должна сохраняться экспоненциальной. Однако в общем случае интегральная вероятность реабсорбции увеличивается во времени вследствие изменения распределения возбужденных молекул по объему образца, поэтому наблюдаемая флуоресценция при наличии реабсорбции может затухать неэкспоненциально.

Для приближенной оценки  $\alpha$  в начальный момент в случае плоского образца можно положить, что половина испускаемой флуоресценции выходит через переднюю стенку не реабсорбируясь. Приняв длину оптического пути равной толщине образца  $d$ , получим

$$\alpha_0 \approx \frac{\int f(\nu)(1 - 10^{-\epsilon[M]d})d\nu}{2 \int f(\nu) d\nu}, \quad (4.31)$$

где  $f(\nu)$  — спектральное распределение флуоресценции;  $\epsilon$  — коэффициент поглощения;  $[M]$  — концентрация люминофора. Такая оценка является несколько заниженной.

Если учесть, что флуоресценция распространяется равновероятно по всем направлениям и фактическая величина оптического пути  $a$  больше толщины образца, получим для плоского образца

$$\alpha_0 = \frac{\int f(\nu) \int [1 - 10^{-D/(1-a)}] dad\nu}{2 \int f(\nu) d\nu}, \quad (4.32)$$

где  $D = \epsilon[M]d$  — оптическая плотность образца на данной длине волны. По мере проникновения возбуждения в результате реабсорбции в глубь образца величина  $a$  возрастает, но не более чем в два раза.

Рассмотрим подробнее влияние реабсорбции и реэмиссии на кинетику флуоресценции. При наблюдении флуоресценции в сильно реабсорбируемой области длин волн регистрируется излучение, исходящее главным образом с поверхности образца и испускаемое непосредственно первично возбужденными молекулами люминофора, поэтому кинетика затухания флуоресценции должна быть близкой к экспоненциальной, а время затухания близко к  $\tau_0$ .

При наблюдении флуоресценции в слабо реабсорбируемой области интегральная флуоресценция  $F(t)$ , испускаемой всем образцом, пропорциональна общему числу возбужденных молекул в образце и

$$d \ln F(t)/dt = d \ln N(t)/dt = (1 - \alpha\varphi)/\tau_0. \quad (4.33)$$

При возбуждении слабопоглощаемым светом распределение возбужденных молекул по образцу близко к равномерному и слабо меняется со временем, при этом затухание флуоресценции близко к экспоненциальному, но время затухания может быть существенно больше  $\tau_0$  (при сильной реабсорбции и большом квантовом выходе флуоресценции).

При сильном поглощении возбуждающего света возбужденные молекулы первоначально образуются в тонком приповерхностном слое образца. При большой величине вероятности перепоглощения ( $\alpha \geq 0,3$ ) по мере распространения возбуждения внутрь образца реабсорбция возрастает и  $\alpha$  увеличивается, но не более чем в 2 раза. При этом наблюдаемое время затухания флуоресценции

$$\tau = \tau_0 / (1 - \alpha\varphi) \quad (4.34)$$

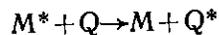
будет постепенно возрастать и затухание будет неэкспоненциальным, причем неэкспоненциальность будет тем больше, чем меньше разность  $(1 - \alpha\varphi)$ , т. е. чем больше вероятность перепоглощения и квантовый выход флуоресценции. Этот эффект должен быть существенным только для люминофоров, обладающих достаточно большим квантовым выходом флуоресценции.

В случае сильной реабсорбции, таким образом, трудно измерить истинное значение времени жизни. Наиболее близко к истинному, как это ни парадоксально, значение в области максимального перекрывания спектров поглощения и флуоресценции (там, где искажение спектра флуоресценции наиболее велико) и при регистрации флуоресценции с той же стороны образца, на которую падает возбуждающий свет (во фронтальном режиме).

При введении в систему, где наблюдается реабсорбция и реэмиссия, тушителя, который тушит флуоресценцию статическим путем, интегральная вероятность перепоглощения не меняется, но падает кванто-

вый выход флуоресценции  $\phi$ . Вследствие этого величина  $\alpha\phi$  уменьшается, что должно приводить к уменьшению неэкспоненциальности (если она вызвана реабсорбцией) и сокращению времени жизни. Таким образом, возрастание концентрации тушителя будет вызывать увеличение статического тушения, приводя при наличии реабсорбции и реэмиссии к постепенному уменьшению наблюдаемого времени затухания флуоресценции и имитируя тем самым диамическое тушение.

**Безызлучательный перенос энергии.** При безызлучательном переносе энергии электронного возбуждения между молекулами в растворе также в большинстве случаев наблюдаются сложные законы затухания флуоресценции. Константа скорости  $k_t$  переноса энергии от первоначально возбужденной молекулы донора энергии к молекуле акцептора



по индуктивно-резонансному (диполь-дипольному) механизму согласно теории, развитой Т. Ферстером, равна:

$$k_t = \frac{9000 \ln 10 \kappa^2 k_f}{128\pi^6 N_A n^4 R^6} \int F_M(\bar{\nu}) \cdot \epsilon_Q(\bar{\nu}) \frac{d\bar{\nu}}{\bar{\nu}^4}, \quad (4.35)$$

где  $F_M(\bar{\nu})$  — квантовый спектр флуоресценции донора (зависимость числа квантов флуоресценции от частоты света), нормированный к единице;  $\epsilon_Q(\bar{\nu})$  — молярный десятичный коэффициент экстинкции акцептора;  $k_f = \phi_0/\tau_0$  — константа скорости флуоресценции донора;  $\kappa$  — фактор, отвечающий за взаимную ориентацию донора и акцептора (для достаточно быстрого броуновского движения  $\kappa \approx 2/3$ );  $N_A$  — число Авогадро;  $n$  — показатель преломления среды;  $R$  — расстояние между донором и акцептором.

Если молекулы донора и акцептора расположены парами, а расстояние между молекулами во всех парах одинаковое, кинетика затухания флуоресценции описывается экспоненциальным законом с константой затухания, задаваемой уравнением (4.35). Такого рода системы встречаются редко (например, монослой), а в большинстве случаев молекулы в образце расположены случайным образом. Чтобы получить закон затухания в этом случае, необходимо рассчитать число

пар, находящихся на разных расстояниях, и просуммировать константы скорости для этих пар. При равномерном распределении молекул тушителя в образце и  $[Q] \gg [M]$  получаем

$$F_{M^*}(t) = F_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau_0} - \frac{\pi^{3/2} R_k^3 N_A [Q]}{750} \sqrt{\frac{t}{\tau_0}}\right), \quad (4.36)$$

где  $R_k$  — критический радиус, см, формально получаемый при подстановке в (4.35) вместо  $k_t$  величины  $1/\tau_0$ . Уравнение (4.36) хорошо описывает кинетику тушения флуоресценции в твердых и сильновязких растворах (рис. 4.5), однако в растворах обычной вязкости наблюдаются отклонения, связанные с диффузией реагентов. В предельном случае может наблюдаться обычное моноэкспоненциальное затухание, но константа скорости, определяемая формально из уравнения Штерна — Фольмера, будет существенно больше предельно диффузионной.

При высокой концентрации флуорофора и сильном перекрывании его спектров поглощения и флуоресценции может наблюдаться перенос энергии между молекулами одного сорта (миграция энергии). Внешне это напоминает явления, наблюдающиеся в случае реабсорбции. Нужно, однако, подчеркнуть существенные различия: при миграции энергии наблюдаемое время жизни не возрастает, не зависит от геометрии образца и способа регистрации.

### Обратимые реакции в жидких растворах

Молекулы в возбужденном состоянии могут участвовать в обратимых химических реакциях, приводящих к образованию новых возбужденных молекул:

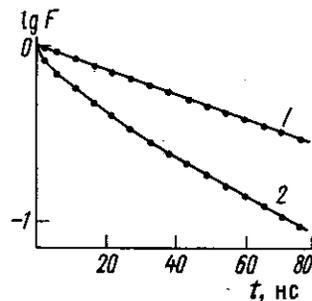
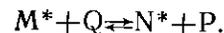
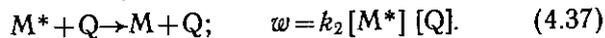
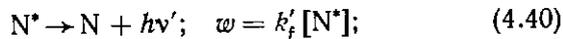
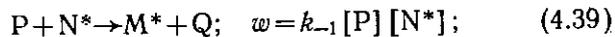
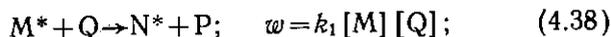


Рис. 4.5. Кинетика затухания флуоресценции феназина ( $2 \times 10^{-2}$  M) в отсутствие (1) и в присутствии (2) акцептора энергии — акридина ( $1,5 \times 10^{-2}$  M) в циклогексанолёной.

К ним относятся, например, реакции переноса протона, образования эксимеров и эксиплексов. В ряде случаев такие процессы сопровождаются также индуцированной безызлучательной дезактивацией:



Дополнив систему (4.1)–(4.3) уравнением (4.37) и следующими:



получим систему дифференциальных уравнений:

$$d[M^*]/dt = b \cdot E(t) - (k_f + k_d + (k_1 + k_2)[Q])[M^*] + k_{-1}[N^*][P]; \quad (4.42)$$

$$d[N^*]/dt = k_1[Q][M^*] - (k'_f + k'_d + k_{-1}[P])[N^*]. \quad (4.43)$$

При импульсном возбуждении достаточно коротким импульсом света можно положить, что в момент  $t=0$ :

$$[M^*] = [M^*]_0; \quad [N^*] = 0. \quad (4.44)$$

Обозначим сумму скоростей гибели  $M^*$ :

$$k_f + k_d + (k_1 + k_2)[Q] = \mu \quad (4.45)$$

и сумму скоростей гибели  $N^*$ :

$$k'_f + k'_d + k_{-1}[P] = \mu', \quad (4.46)$$

а

$$k_1[Q] \cdot k_{-1}[P] = \beta^2. \quad (4.47)$$

После преобразований система уравнений (4.42 и 4.43) приобретает вид:

$$\frac{d^2 [M^*]}{dt^2} + (\mu + \mu') \frac{d[M^*]}{dt} + (\mu\mu' - \beta^2) [M^*] = 0; \quad (4.48)$$

$$\frac{d^2 [N^*]}{dt^2} + (\mu + \mu') \frac{d[N^*]}{dt} + (\mu\mu' - \beta^2) [N^*] = 0. \quad (4.49)$$

Решение системы однородных дифференциальных уравнений (4.48), (4.49) имеет вид:

$$[M^*] = c (\theta e^{-\theta_1 t} + e^{-\theta_2 t}); \quad (4.50)$$

$$[N^*] = c' (e^{-\theta_1 t} - e^{-\theta_2 t}); \quad (4.51)$$

где

$$\theta_{1,2} = 1/2 \cdot \{ \mu + \mu' \pm \sqrt{(\mu - \mu')^2 + 4\beta^2} \}; \quad (4.52)$$

$$\theta = \frac{\mu - \theta_2}{\theta_1 + \mu} = \frac{\mu - \mu' + \sqrt{(\mu - \mu')^2 + 4\beta^2}}{-\mu + \mu' + \sqrt{(\mu - \mu')^2 + 4\beta^2}}. \quad (4.53)$$

И, таким образом, кинетика флуоресценции  $M^*$  и  $N^*$  описывается соответственно суммой и разностью двух экспонент:

$$E(t) = F_0 (\theta e^{-\theta_1 t} + e^{-\theta_2 t}); \quad (4.54)$$

$$F'(t) = F'_0 (e^{-\theta_1 t} - e^{-\theta_2 t}). \quad (4.55)$$

Примеры кинетик такого рода для различного рода систем приведены на рис. 4.6. Кривые затухания флуоресценции ( $M^*$  — (1)) и нарастания и затухания флуоресценции ( $N^*$  — (2)), описываемые соответственно уравнениями (4.54) и (4.55), измерены в полосах испускания  $M^*$  и  $N^*$ . В приведенных случаях спектры

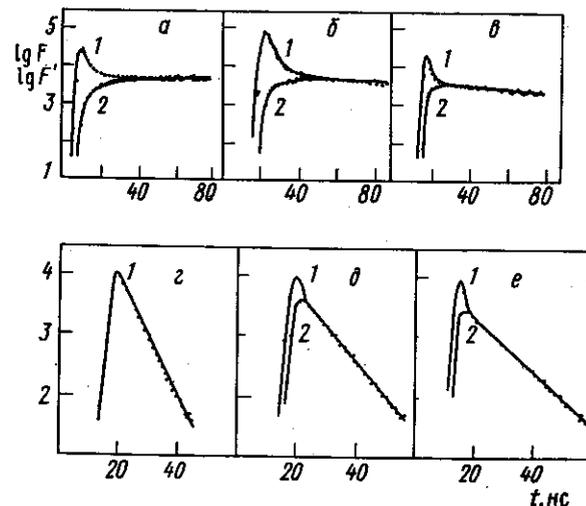


Рис. 4.6. Кинетика флуоресценции ароматических углеводородов (1) эксиплексов (2) в системах а—в — пирен, диэтиланилин в гептане (концентрация диэтиланилина в а — 0,003 М; в — 0,03 М) и г—е — перилеи, диэтиланилин в гептане (г — 0; д — 0,3 М; е — 0,88 М)

испускания  $M^*$  и  $N^*$  сильно различались, и это позволило получить кинетики флуоресценции чистых компонентов. Физический смысл наблюдающейся двухэкспоненциальной кинетики следующий: в первый момент после возбуждения наблюдается быстрая гибель  $M^*$  благодаря протеканию как спонтанной дезактивации  $M^*$ , так и превращению  $M^*$  в  $N^*$ . В то же время концентрация  $N^*$  возрастает. Оба этих процесса описываются экспонентами с показателем, равным  $\phi_1$ , но взятыми с разными знаками. Через некоторое время концентрация  $N^*$  возрастет настолько, что скорость расхождения  $M^*$  замедлится в результате обратного превращения  $N^*$  в  $M^*$ , и оба типа возбужденных молекул гибнут с одинаковой скоростью, задаваемой экспонентой с показателем  $\phi_2$ .

В зависимости от соотношения параметров  $\phi_1$ ,  $\phi_2$  и  $\theta$  в кинетике флуоресценции  $M^*$  экспериментально удается наблюдать или обе экспоненты (два линейных участка в полулогарифмических координатах), или одну из них (рис. 4.6). Если наблюдаются два линейных участка, найти параметры  $\phi_1$ ,  $\phi_2$  и  $\theta$  не составляет большого труда. Величину  $\phi_2$  легко определить из наклона зависимости  $\lg F(t)$  или (и)  $\lg F'(t)$  при больших значениях времени (рис. 4.7). Для определения  $\phi_1$  можно проэкстраполировать к малым временам кинетику затухания  $M$  при больших значениях времени (в логарифмических координатах) и вычесть из натуральных значений измеренной кинетики флуоресценции при малом времени натуральные величины проэкстраполированного «хвоста» затухания. Из наклона полученной разницы в полулогарифмических координатах находят  $\phi_1$  (рис. 4.7):

$$\lg \left( e^{-\phi_2 t} - \frac{F'(t)}{F_0'} \right) = -0,434 \phi_1 t. \quad (4.56)$$

Удобно также нормировать  $F'(t)$  так, чтобы при больших величинах  $t$  она совпадала с  $F(t)$ :

$$\alpha F'(t) = F(t). \quad (4.57)$$

Тогда при малых  $t$

$$F(t) = \alpha F'(t) = F_0(1 + \theta) \exp(-\phi_1 t), \quad (4.58)$$

и, откладывая зависимость логарифма  $F(t) - \alpha F'(t)$  от времени, можно определить  $\phi_1$  и  $\theta$  (рис. 4.7).

Зная параметры  $\phi_1$  и  $\phi_2$ , можно определить кинетические константы следующим образом: из графика (рис. 4.8)

$$\phi_1 + \phi_2 = \mu + \mu' = (1/\tau_0) + \mu' + (k_1 + k_2) [Q] \quad (4.59)$$

находят  $k_0 = k_1 + k_2$  и  $\mu'$ , так как  $1/\tau_0$  легко определить в отсутствие  $Q$ . Далее можно воспользоваться тем, что

$$k_{-1} = \frac{(\phi_1 - \mu)(\mu - \phi_2)}{k_1 [Q] [P]}, \quad (4.60)$$

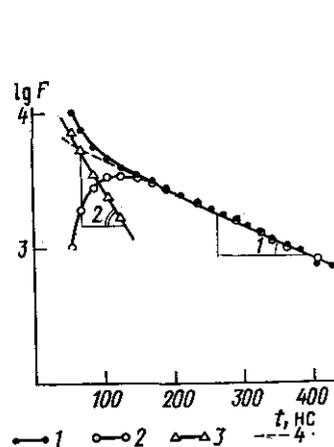


Рис. 4.7. Кинетика флуоресценции пирена ( $1,5 \cdot 10^{-3} M$ ) (1) и его эксимера (2) в ацетонитриле без  $O_2$ ; 3 — построение по уравнению (4.58). Найденные величины:  $\phi_1 = 3,5 \cdot 10^7 \text{ c}^{-1}$  и  $\phi_2 = 1,1 \cdot 10^7 \text{ c}^{-1}$

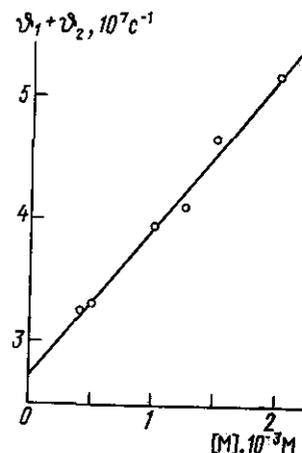


Рис. 4.8. Зависимость кинетических параметров  $\phi_1 + \phi_2$  от концентрации пирена и его эксимера в ацетонитриле без  $O_2$

и найти  $\tau_0' = 1/(\mu' - k_{-1}[P])$ . Следует отметить, однако, что далеко не всегда этим методом удастся найти кинетические константы с достаточной точностью, так как иногда приходится вычитать близкие между собой величины, определенные с экспериментальной погрешностью.

Для определения констант скорости приходится во всех случаях измерять концентрационные зависимости кинетики люминесценции. Чтобы измеряемая кинетика была достаточно информативна, необходимо наилуч-

шим способом подобрать условия измерения и представлять себе, каким образом меняется кинетика люминесценции при изменении концентрации тушителя. Можно показать, что в зависимости от соотношения

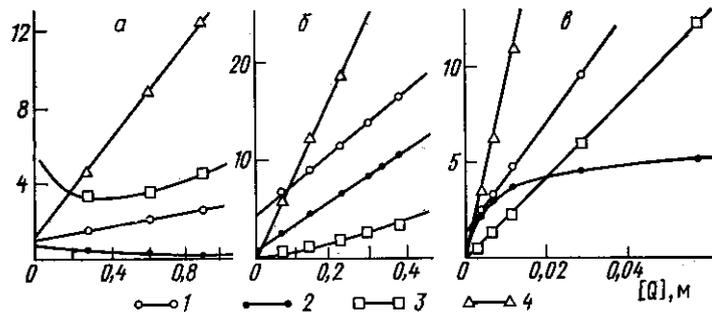


Рис. 4.9. Зависимость кинетических параметров  $\phi_1\tau_0$  (1),  $\phi_2\tau_0$  (2) относительного вклада большей из экспонент  $\theta$  (3), квантового выхода флуоресценции  $\phi_0/\phi$  (4) от концентрации тушителя для систем: а) перилей-диэтиланилин в гептане, 293 К, б) пирен-триэтиланилин в гептане, 250 К, в) пирен-диэтиланилин в гептане, 293 К

$1/\tau_0$  и  $\mu'$  и наблюдаются различные виды концентрационных зависимостей  $\phi_1$ ,  $\phi_2$  и  $\theta$ .

1. При  $1/\tau_0 > \mu'$  с увеличением концентрации тушителя  $\phi_1$  возрастает почти линейно,  $\phi_2$  падает, приближаясь к конечному значению, равному  $\phi_{2lim} = (1/\tau_0') + \frac{k_{-1}k_2[P]}{k_{\sigma}}$ . Величина  $\theta$  при этом сначала быстро уменьшается (от бесконечно большого значения при  $[Q]=0$ ), а затем медленно увеличивается (рис. 4.9а). При больших значениях  $\theta$  кинетические кривые затухания флуоресценции  $M^*$  и  $N^*$  будут иметь одноэкспоненциальный характер с различным временем затухания. Лишь в области  $\theta \leq 10^2$  можно реально наблюдать двухэкспоненциальный характер затухания флуоресценции  $M^*$ .

2. При  $1/\tau_0 < \mu'$  с увеличением концентрации  $Q$  параметры  $\phi_1$  и  $\theta$  возрастают почти линейно ( $\theta$  растет начиная с 0). При значениях  $\theta < 1$  практически очень трудно наблюдать две экспоненты на кинетической кривой затухания флуоресценции  $M^*$ . С увеличением

концентрации тушителя  $\theta$  увеличивается, но так как при этом увеличивается и  $\phi_1$ , вскоре константа затухания вспышки становится с ней соизмеримой, и снова бывает трудно наблюдать первую экспоненту. Характер изменения  $\phi_2$  при этом зависит от соотношения кинетических констант:

а)  $k_{\sigma}/k_1 > k_{-1}k_2[P]/k_{\sigma}$ ; при этом  $\phi_2$  возрастает с увеличением концентрации тушителя, достигая предельного значения, равного  $\phi_{2lim} = (1/\tau_0') + k_{-1}k_2[P]/k_{\sigma}$  (рис. 4.9б);

б)  $k_{\sigma}/k_1 = k_{-1}[P]/(\mu' - 1/\tau_0)$ ; при изменении концентрации тушителя  $\phi_2$  остается постоянной:  $\phi_2 = \phi_{2lim} = 1/\tau_0 = (1/\tau_0') + \frac{k_{-1}k_2[P]}{k_{\sigma}}$ ;

в)  $k_{\sigma}/k_1 < k_{-1}[P]/(\mu' - 1/\tau_0)$ ; при увеличении концентрации тушителя  $\phi_2$  уменьшается, достигая того же предельного значения, равного  $\phi_{2lim} = (1/\tau_0') + k_{-1}k_2[P]/k_{\sigma}$ .

3. Если  $1/\tau_0 = \mu'$ ,

$$\phi_{1,2} = (1/\tau_0) \pm \sqrt{k_{-1}k_1[P][Q]}; \theta = 1.$$

Следует отметить, что состояние, при котором флуоресценция  $M^*$  и  $N^*$  описывается одинаковыми экспонентами, отвечает не равновесию, а стационарному состоянию. Отношение концентраций  $M^*$  и  $N^*$  описывается выражением:

$$\frac{[N^*]}{[M^*][Q]} = \frac{k_1}{\phi_1 - \mu} = \frac{2k_1}{-\mu + \mu' + \sqrt{(\mu - \mu')^2 + 4\beta^2}},$$

которое совпадает с выражением для константы равновесия  $k_1/k_{-1}$  лишь при  $k_1 \gg k_2$  и  $|k_1[Q] - k_{-1}[P]| \gg \gg |(1/\tau_0) - (1/\tau_0')|$ .

В общем случае в системах с обратными реакциями квантовые выходы  $\phi$  и  $\phi'$  флуоресценции  $M^*$  и  $N^*$  зависят от концентрации тушителя следующим образом:

$$\frac{\phi_0}{\phi} = 1 + \left( k_2 + \frac{k_1}{1 + \tau_0' k_{-1}[P]} \right) \tau_0 [Q], \quad (4.61)$$

$$\frac{\phi'}{\phi} = \frac{k_f'}{k_f} \frac{k_1 \tau_0'}{1 + \tau_0' k_{-1}[P]} [Q] = \frac{k_f'}{k_f} \frac{k_1}{\mu'} [Q], \quad (4.62)$$

В то же время, умножив (4.52) на  $\tau_0$ , получаем аналог

уравнения Штерна—Фольмера для кинетики флуоресценции ( $\tau_0/\tau = 1 + k_q \tau_0 [Q]$ ):

$$\tau_0 \Phi_{1,2} = \frac{1}{2} \{ 1 + k_q \tau_0 [Q] + \tau_0 (\mu' \pm \sqrt{(\mu - \mu')^2 + 4\beta^2}) \}. \quad (4.63)$$

Из сравнения уравнений (4.61) и (4.63) видно, что они по-разному зависят от концентрации тушителя. Такие зависимости для трех экспериментально исследованных систем приведены на рис. 4.9. Таким образом, при обратимости реакции в возбужденном состоянии даже в отсутствие нестационарных эффектов и образования комплексов в основном состоянии зависимости в обычных используемых штерн-вольмеровских координатах (4.11) и (4.14) не совпадают.

### Кинетика флуоресценции в твердой фазе

В твердой фазе в отсутствие переноса энергии должен осуществляться статический механизм тушения флуоресценции. Могут существовать два типа молекул: свободные молекулы, рядом с которыми при замораживании раствора нет ни одной молекулы туши-

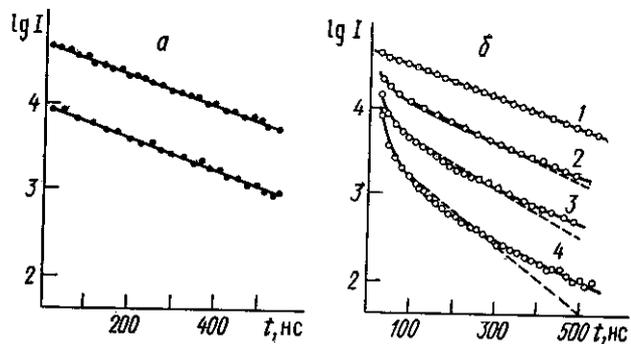


Рис. 4.10. Кинетика затухания флуоресценции в твердой фазе для статического тушения (а) и для тушения в результате туннельного переноса электрона (б) в системе нафталин —  $\text{CCl}_4$  в этаноле при 77 К. Концентрация  $\text{CCl}_4$ : 1 — 0 М, 2 — 2 М, 3 — 2,5 М; 4 — 3 М. Сплошная кривая рассчитана для двухэкспоненциального затухания по уравнению (4.54), пунктирная кривая — по уравнению (4.66)

теля, и молекулы, имеющие соседа-тушителя, нефлуоресцирующие. Поэтому при тушении флуоресценции в твердой фазе часто изменяется квантовый выход флуоресценции, а время затухания остается неизменным (рис. 4.10а).

Существует, однако, тип процессов, для которых не требуется непосредственный контакт между партнерами и достаточно эффективный при низких температурах. Имеется в виду туннелирование, имеющее наибольшую важность для переноса электрона. Теоретические оценки показывают, что за время жизни синглетного возбужденного состояния возможно туннелирование электрона на расстояние до 10 Å.

Вероятность туннельного проникновения электрона энергии  $E$  при соударении с потенциальным барьером прямоугольной формы высотой  $U_0$  и шириной  $R'$  дается формулой Гамова:

$$p \sim \exp \left( -\frac{\sqrt{2m}}{\hbar} R' \sqrt{(U_0 - E)} \right), \quad (4.64)$$

где  $m$  — масса электрона. Эта формула дает вероятность проникновения для единичного удара; чтобы получить скорость, надо эту вероятность умножить на частоту ударов  $\nu$ . Таким образом, получаем выражение для константы скорости переноса электрона в зависимости от расстояния  $r$  между донором и акцептором:

$$k(r) = \nu \cdot e^{-\frac{2r}{a}}, \quad (4.65)$$

где  $a = 2\hbar/\sqrt{2m(U_0 - E)}$ .

Для того чтобы получить закон затухания для типичного случая, когда тушитель равномерно распределен в образце и  $[M] \ll [Q]$ , необходимо рассчитать количество пар донор-акцептор, расположенных на различных расстояниях, и просуммировать вероятности переноса для этих пар. При этом получается выражение

$$F(t) = F_0 \cdot \exp \left\{ -\frac{t}{\tau_0} - \frac{\pi a^3}{6} N_A' [Q] \ln^2 \nu t \right\}, \quad (4.66)$$

где  $N_A'$  — число Авогадро на миллимоль;  $a$  выражается в сантиметрах. Выражение (4.66) можно при-

ближенно представить в линейном виде:

$$\ln \frac{F(t)}{F(t_0)} + \frac{t-t_0}{\tau_0} = -\beta \frac{t}{t_0}, \quad (4.67)$$

где  $\beta = 1/2 \pi a^3 N_A [Q] \ln^2(\nu t_0)$ .

Динамическое тушение флуоресценции в твердой фазе (в спирте при 77 К) наблюдается, например, для пирена и нафталина в присутствии акцептора электрона — четыреххлористого углерода. На рис. 4.10б представлена кинетика затухания флуоресценции нафталина в присутствии четыреххлористого углерода. Форма кинетической кривой не зависит от температуры в пределах 77—140 К и хорошо описывается уравнением (4.66). Полученные значения  $a \sim 1 \text{ \AA}$  и  $\nu \sim 10^{14} \text{ с}^{-1}$  близки к предсказываемым теорией.

### Кинетика фосфоресценции

Фосфоресценцию обычно изучают в твердой фазе, поскольку константы скорости испускания фосфоресценции, как правило, малы ( $10^{-1}—10^3 \text{ с}^{-1}$ ) и неизбежные примеси в жидких растворах сильно тушат фосфоресценцию. Исключением являются такие соединения, как диацетил и дибензоил, для которых достаточно интенсивная фосфоресценция наблюдается и в жидких растворах. Для других соединений наблюдать фосфоресценцию в жидких растворах удастся только методом счета фотонов. Квантовый выход фосфоресценции равен:

$$\varphi_p = k_p \cdot \tau_T \cdot \varphi_T = k_p \cdot \tau_T \cdot k_{isc} \cdot \tau_0, \quad (4.68)$$

где  $k_p$  и  $k_{isc}$  — константы скорости испускания фосфоресценции и интеркомбинационной конверсии  $S_1 \rightarrow T_1$ ;  $\tau_T$  и  $\tau_0$  — время жизни триплетных и синглетных возбужденных состояний соответственно;  $\varphi_T$  — квантовый выход триплетных состояний. В твердой фазе в отсутствие добавок затухание фосфоресценции обычно происходит экспоненциально:

$$I_p = I_p^0 \cdot \exp(-t/\tau_T). \quad (4.69)$$

В присутствии значительных концентраций тушителей наблюдается статическое тушение, приводящее к уменьшению квантового выхода фосфоресценции без

изменения времени затухания (аналогично статическому тушению флуоресценции). Некоторые соединения, в особенности содержащие тяжелые атомы, способствующие интеркомбинационной конверсии, образуют комплексы с фосфоресцирующим соединением, приводя к изменению времени затухания фосфоресценции и иногда даже к увеличению квантового выхода фосфоресценции вследствие увеличения в таких комплексах константы скорости испускания. При этом затухание фосфоресценции может быть неэкспоненциальным. В простейшем случае кинетика затухания представляет собой сумму двух экспонент, одна из которых соответствует свободным молекулам  $^3M$ , а другая — комплексу  $^3(MQ)$ . Соотношение вкладов этих двух экспонент зависит не только от концентрации комплексообразователя, но также от продолжительности возбуждающего импульса, поскольку время достижения стационарного состояния при заданной интенсивности возбуждающего света для частиц с разным временем жизни различно. Нарастание интенсивности люминесценции описывается выражением вида:

$$I = E \cdot \varphi_p [1 - \exp(-t/\tau_T)], \quad (4.70)$$

где  $E$  — интенсивность возбуждения;  $\tau_T$  — время затухания;  $\varphi_p$  — квантовый выход. Каждая из компонент фосфоресценции будет нарастать с собственной скоростью, зависящей от ее  $\tau_T$ . Это дает возможность более четко выявить ту или иную экспоненту, варьируя продолжительность импульса возбуждающего света.

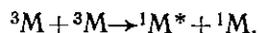
### Кинетика замедленной флуоресценции

Замедленной флуоресценцией называют испускание, наблюдаемое при переходе  $S_1 \rightarrow S_0$ , но обладающее гораздо большим временем затухания, чем время жизни синглетных возбужденных состояний. Известно три типа замедленной флуоресценции: активационная, ангиляцияционная и рекомбинационная.

Активационная замедленная флуоресценция наблюдается тогда, когда триплетные молекулы могут возвращаться в синглетное возбужденное состояние путем термического возбуждения. Такая замедленная флуоресценция возможна при малой разнице энергий синглетного и триплетного состояний и наблюдается, на-

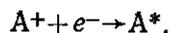
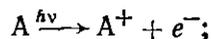
пример, в растворах флуоресцеина в стеклообразной борной кислоте и в хорошо деаэрированных растворах зозина в глицерине или этаноле.

Аннигиляционная замедленная флуоресценция возникает тогда, когда при взаимодействии (аннигиляции) двух триплетных состояний одна молекула образуется в возбужденном синглетном, а другая — в основном состоянии:



Аннигиляционная замедленная флуоресценция характерна для растворов нирена, антрацена, фенантрена и многих других соединений.

Рекомбинационная замедленная флуоресценция наблюдается в жестких средах, когда в результате фотоионизации (однофотонной или ступенчатой) образуются электроны, захватываемые ловушками. В результате диффузии электроны могут рекомбинировать с ионами, давая синглетные возбужденные состояния:



Такого рода замедленная флуоресценция обнаружена в замороженных растворах ароматических аминов, фенолов и ряда красителей. Рекомбинационная замедленная флуоресценция характеризуется сложным, неэкспоненциальным затуханием и сравнительно большой продолжительностью (до сотен секунд).

Рассмотрим кинетику первых двух типов замедленной флуоресценции. Квантовый выход активационной замедленной флуоресценции рассчитывают по уравнению

$$\Phi_{af} = \Phi_f \cdot k_e \cdot \tau_T \cdot \Phi_T. \quad (4.71)$$

Отношение квантовых выходов замедленной флуоресценции  $\Phi_{af}$  и фосфоресценции  $\Phi_p$  представляется в виде:

$$\Phi_{af}/\Phi_p = \Phi_f \cdot k_e/k_p, \quad (4.72)$$

где  $k_e$  — константа скорости термического возбуждения  $T_1 \rightarrow S_1$ ;  $k_p$  — константа скорости испускания фосфоресценции;  $\Phi_p$  — квантовый выход обычной флуоресценции;  $\Phi_T$  — квантовый выход триплетных состояний;

$\tau_T$  — время жизни триплетных состояний. Интенсивность активационной замедленной флуоресценции линейно зависит от интенсивности возбуждающего света, а затухание происходит симбатно с затуханием фосфоресценции с той же самой константой скорости. Константа скорости термической активации может быть записана в виде

$$k_e = k_e^0 \exp(-\Delta E/RT),$$

где  $\Delta E$  — разность энергий состояний  $S_1$  и  $T_1$ . Тогда для отношения квантовых выходов замедленной флуоресценции и фосфоресценции получаем зависимость типа Аррениуса:

$$\Phi_{af}/\Phi_p = (\Phi_f/k_p) \cdot k_e^0 \cdot \exp(-\Delta E/RT). \quad (4.73)$$

Для аннигиляционной замедленной флуоресценции кинетические закономерности более сложные. Скорость испускания:

$$\omega_{an} = \Phi_f \cdot k_{TT} [{}^3M]^2, \quad (4.74)$$

где  $k_{TT}$  — константа скорости аннигиляции триплетов. При небольшой скорости возбуждения гибель триплетных состояний происходит главным образом в результате мономолекулярных процессов, и стационарную концентрацию триплетов можно выразить так:

$$[{}^3M] = \omega_0 \cdot \tau_0 \cdot k_{isc} \tau_T. \quad (4.75)$$

Квантовый выход аннигиляционной замедленной флуоресценции

$$\Phi_{an} = \omega_{an}/\omega_0 = \Phi_f \cdot k_{TT} (\omega_0 \tau_0 k_{isc} \tau_T)^2 \quad (4.76)$$

зависит от интенсивности возбуждающего света. Интенсивность аннигиляционной замедленной флуоресценции пропорциональна квадрату интенсивности возбуждающего света. При импульсном возбуждении концентрация триплетов в растворе падает по экспоненциальному закону (при небольшой начальной концентрации триплетов, когда  $k_{TT} [{}^3M] \ll 1/\tau_T$ ),

$$[{}^3M] = [{}^3M]^0 \exp(-t/\tau_T), \quad (4.77)$$

и интенсивность замедленной флуоресценции затухает экспоненциально:

$$\omega_{an} = \omega_{an}^0 \cdot \exp(-2t/\tau_T). \quad (4.78)$$

Константа скорости затухания аннигиляционной замедленной флуоресценции оказывается вдвое больше константы скорости гибели триплетных состояний. Если существенный вклад в гибель триплетных состояний дает аннигиляция триплетов (например, в условиях импульсного фотолиза), кинетика замедленной флуоресценции (как и кинетика гибели триплетов) отклоняется от экспоненциальной.

## § 2. МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ КИНЕТИКИ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

Для изучения кинетики люминесценции используют импульсные и фазово-модуляционные методы. В импульсных методах люминесценция возбуждается одиночным или периодически повторяемым импульсом света. При этом требуются импульсный источник света с достаточно крутым задним фронтом светового импульса и система регистрации с малой постоянной времени. В фазовом и модуляционном методах возбуждение люминесценции производится непрерывным источником света, интенсивность которого промодулирована с некоторой частотой, и регистрируется фаза и (или) глубина модуляции испускаемого излучения.

Импульсные методы позволяют изучать кинетику при любом характере затухания люминесценции. В фазово-модуляционном методе необходимо заранее предполагать вид закона затухания люминесценции, и экспериментально определяют лишь количественные значения параметров. Проверка правильности предполагаемого закона требует особого исследования.

При изучении кинетики молекулярной фосфоресценции, обычно характеризующейся временем затухания в диапазоне  $10^{-3}$ — $10$  с, используют, как правило, импульсные методы. Для исследования флуоресценции в пикосекундном и наносекундном ( $10^{-12}$ — $10^{-7}$  с) диапазонах используют импульсные и фазово-модуляционные методы.

### Импульсные методы

Прибор для измерения кинетики люминесценции включает источник света и систему регистрации.

**Импульсные источники света.** Для измерения кинетики затухания фосфоресценции требуются импульсы света с длительностью  $10^{-3}$  с и более. Получение та-

ких импульсов с достаточно коротким фронтом не представляет особых трудностей и может быть обеспечено при помощи различных механических затворов, заслонок, вращающихся дисков или цилиндров с отверстиями при использовании обычных стационарных источников света. Существует множество конструкций фосфориметров, использующих принцип механического прерывания света.

В микросекундном и наносекундном диапазонах для получения достаточно коротких импульсов приходится использовать специальные импульсные лампы. Характеристики некоторых импульсных ламп приведены в таблице.

Источник света	Длина волны излучения, нм	Длительность импульса, с	Энергия импульса	
			Дж	Фотон
<i>Лампы</i>				
ксеновые	200—1000	$10^{-6}$ — $10^{-5}$	$10^2$ — $10^3$	$10^{19}$
азотная искровая	290—450	$10^{-9}$	$10^{-5}$	$10^{11}$
<i>Лазеры:</i>				
азотный	337	$10^{-9}$ — $10^{-8}$	$10^{-3}$ — $10^{-2}$	$10^{15}$
рубиновый	694	$10^{-8}$	1	$10^{16}$
		$10^{-11}$ *	0,1	$10^{17}$
	347**	$10^{-11}$ *	$3 \cdot 10^{-2}$	$10^{16}$
	231**	$10^{-11}$ *	$1 \cdot 10^{-2}$	$10^{16}$
неодимовое стекло	1064	$10^{-8}$	1	$10^{16}$
		$5 \cdot 10^{-13}$ *	1	$10^{16}$
	532**	$5 \cdot 10^{-13}$ *	0,3	$10^{16}$
	354**	$5 \cdot 10^{-13}$ *	$10^{-1}$	$10^{17}$
органические красители:	266**	$5 \cdot 10^{-13}$ *	$10^{-2}$	$10^{17}$
	340—1300	$10^{-11}$ *	$10^{-8}$	$10^9$
аргоновый	450—520	$10^{-11}$ *	$10^{-7}$	$10^{10}$
криптоновый	647, 646 (до 950)	$10^{-10}$ *	$10^{-7}$	$10^{10}$

Примечание. Приведенные параметры не являются предельными, а только ориентировочными для типичных (иногда лучших) установок или серийно выпускаемых приборов на 1980 г.

\* В режиме синхронизации мод.

\*\* С использованием умножения частоты.

Наиболее простой периодический источник наносекундных световых импульсов представляет из себя разрядник, заряжаемый через большое сопротивление (несколько десятков МОм) от источника постоянного

напряжения 10—20 кВ до тех пор, пока не произойдет пробой разрядного промежутка. Роль конденсатора играет собственная емкость электрода относительно корпуса лампы. Вследствие малой величины этой емкости и большого балластного сопротивления разряд быстро гаснет и начинается новый цикл зарядки. Спектр лампы зависит от газа и давления. При низких давлениях спектр линейчатый, при больших — сплошной. Электрические импульсы, получаемые на втором электроде, могут быть использованы в качестве запускающих для электронной системы регистрации.

Наилучшими источниками коротких мощных импульсов света являются лазеры. В настоящее время разработано и выпускается промышленностью большое количество импульсных лазеров различных типов. Лазеры, работающие в режиме модулированной добротности, дают импульсы длительностью  $10^{-8}$ — $10^{-9}$  с, а в режиме синхронизации мод — до  $10^{-12}$  с (см. таблицу). Возможность использования умножения частот (при прохождении лазерного импульса через некоторые сильно поляризующиеся кристаллы возникает излучение с частотой  $2\nu$ ,  $3\nu$  или  $4\nu$ ) и лазеров на красителях позволяет получать лазерные импульсы любой необходимой длины волны в диапазоне 250—1300 нм. К недостаткам лазеров следует отнести то, что в результате большой мощности импульсов в образцах могут возникать специфические «лазерные» эффекты (эффекты, связанные с большой локальной концентрацией возбужденных молекул и их взаимодействием между собой и нелинейные эффекты), и кроме того, в фотохимически активных системах происходит быстрый фотоллиз вещества. Характеристики некоторых импульсных лазеров приведены в таблице на с. 209.

Иногда для возбуждения люминесценции используют короткие импульсы рентгеновского излучения или электронные импульсы, получаемые на ускорителях.

**Осциллографическая регистрация.** Простейшей системой для наблюдения за кинетикой люминесценции является фотоумножитель с осциллографом. Эта система позволяет легко измерять время затухания, большее  $10^{-6}$  с. Для работы в наносекундном диапазоне приходится использовать специальные стробирующие осциллографы. При этом удается достичь разрешающей способности в несколько наносекунд.

При возбуждении лазерными импульсами вследствие их большой мощности для регистрации люминесценции можно использовать специальные коаксиальные фотоэлементы, которые в комбинации со сверхвысокочастотным осциллографом дают разрешающую способность в доли наносекунды.

**Регистрация при помощи электронно-оптических преобразователей.** В последнее время разработаны специальные электронно-оптические преобразователи, позволяющие осуществлять развертку изображения за время порядка наносекунд и пикосекунд, одновременно

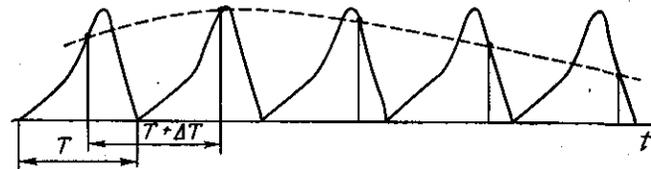


Рис. 4.11. Принцип стробирования.

Сигнал поступает с периодом  $T$ . Регистрируют от каждого импульса по одному значению амплитуды с периодом  $T + \Delta T$ . Получается сигнал, в точности соответствующий поступающему, но растянутый в  $T/\Delta T$  раз

усиливая яркость изображений. В сочетании с лазерным возбуждением такие устройства дают возможность исследовать кинетику флуоресценции в этих диапазонах. К недостаткам таких систем относится необходимость использования для возбуждения весьма мощных импульсов, при которых концентрация возбужденных молекул достигает значительной величины, и возникают различные нелинейные явления (взаимное тушение возбужденных молекул и т. п.).

**Стробирование.** Принцип стробирования заключается в том, что первичная регистрирующая система включается периодически на короткое время после возбуждающего импульса. Задержка постепенно увеличивается и таким образом осуществляется сканирование исходного сигнала (рис. 4.11). В стробирующих системах все устройства усиления и регистрации, кроме первичного, работают в значительно более низкочастотном диапазоне по сравнению с исследуемым сигналом. Наблюдается также улучшение отношения сигнал/шум. Запись сигнала может осуществляться самописцем.

Для измерения в миллисекундном диапазоне (фос-

форесценция) используют механические стробирующие устройства, например систему из двух дисков с прорезями, вращающихся с несколько различающимися скоростями. Вариантом стробирующего устройства с визуальной или фотографической регистрацией служит первый фосфороскоп Вуда. Разновидностью метода стробирования является и используемый иногда метод определения времени затухания фосфоресценции по зависимости регистрируемой интенсивности фосфоресценции от скорости вращения цилиндра с прорезями в стандартном фосфориметре.

Для измерения в наносекундном и пикосекундном диапазонах используют электронные и оптические системы стробирования. В электронных системах используют импульсное питание ФЭУ. В оптических системах применяют затворы, основанные на эффектах Керра и Поккельса.

**Регистрация методом счета фотонов.** Появление многоканальных анализаторов импульсов, разработанных первоначально для ядерной физики, позволило применить их для статистической регистрации слабых световых сигналов. В определенных условиях ФЭУ могут работать в режиме регистрации одиночных фотонов. Для этого используют нелинейное распределение напряжений на динодах и фокусирующих электродах ФЭУ и усилители с малым входным сопротивлением. При этом на выходе получают отдельные короткие (порядка 10 нс) импульсы, соответствующие попавшим на фотокатод фотонам. При удачно подобранном распределении напряжений питания ФЭУ амплитуда полезных импульсов существенно выше амплитуды большинства шумовых импульсов. Поэтому полезные импульсы могут быть выделены при помощи амплитудного дискриминатора.

Одифотонные импульсы ФЭУ регистрируются (суммируются) в регистрах многоканального временного анализатора за много циклов возбуждения. Развертка по каналам включается каждый раз от возбуждающего импульса. Такая система чрезвычайно удобна для регистрации кинетики люминесценции в широком диапазоне — от  $10^{-6}$  с до десятков секунд. Она позволяет регистрировать затухание люминесценции на несколько порядков и особенно полезна для изучения неэкспоненциального затухания.

Многоканальные анализаторы пока не позволяют производить развертку со скоростью, большей  $10^{-7}$  каналов в секунду. Чтобы обойти эту трудность и использовать метод счета фотонов в наносекундной области, применяют метод время-амплитудного преобразования. Он заключается в том, что импульсы ФЭУ первоначально преобразуются специальным устройством в другие импульсы, амплитуда которых пропорциональна интервалу времени между импульсом возбуждения и импульсом ФЭУ, а затем уже многоканальным анализатором амплитуды импульсов регистрируется распределение этих импульсов по амплитудам (рис. 4.12).

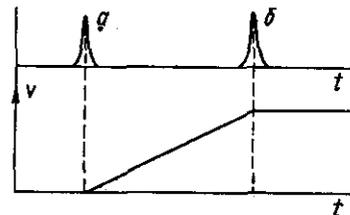


Рис. 4.12. Принцип время-амплитудного преобразования.

Сигнал от вспышки (а), «старт», включает схему, заряжающую конденсатор; сигнал от ФЭУ, (б), «стоп», выключает. Амплитуда напряжения на конденсаторе пропорциональна времени интервалу между импульсами

Вероятность появления импульса на выходе ФЭУ прямо пропорциональна числу фотонов, попадающих на фотокатод, и, следовательно, числу фотонов, испускаемых образцом. Обозначив зависимость интенсивности флуоресценции от времени  $t$  через  $F(t)$ , а вероятность появления импульсов ФЭУ через  $I(t)$ , получим:  $I(t) = a \cdot F(t)$ . Регистрируя зависимость числа импульсов ФЭУ от интервалов времени между возбуждающим и регистрируемым импульсами при большом числе возбуждающих вспышек, получают функцию распределения, пропорциональную кинетической кривой флуоресценции  $F(t)$ . Если на фотоумножитель после импульса возбуждения попадут последовательно два фотона, будет зарегистрирован лишь первый из них. В результате при большой интенсивности флуоресценции, когда вероятность попадания более чем одного фотона на фотокатод ФЭУ велика, происходит искажение регистрируемой кинетической кривой, проявляющееся в «ускорении» затухания флуоресценции (так как при большем времени будет регистрироваться меньше импульсов, чем попало фотонов на ФЭУ, т. е. будет имитироваться более быстрое затухание). Этого можно избе-

жать, если вообще не регистрировать никаких импульсов, когда на ФЭУ за время между двумя импульсами возбуждения попадает более одного фотона. При этом можно с высокой точностью регистрировать кинетику затухания флуоресценции, даже когда один регистрируемый импульс приходится на три-четыре возбуждающих импульса. В противном случае точность измерения примерно равна доле регистрируемых импульсов.

Анализатор амплитуды импульсов позволяет накопить информацию о функции распределения  $I(t) = a \cdot F(t)$  за большое число вспышек. Практически для

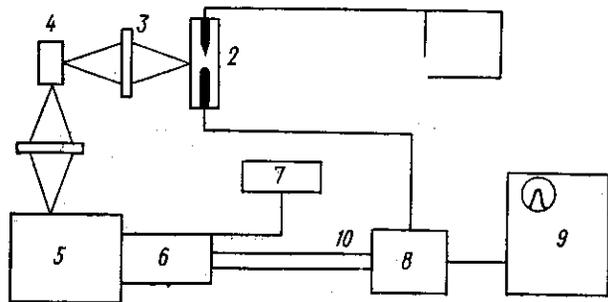


Рис. 4.13. Блок-схема установки для измерения кинетики флуоресценции в режиме счета одиночных фотонов: 1 — питание лампы; 2 — импульсная лампа; 3 — светофильтр; 4 — образец; 5 — монохроматор; 6 — ФЭУ; 7 — питание ФЭУ; 8 — время-амплитудный преобразователь; 9 — многоканальный анализатор; 10 — сигнал, снимаемый с последнего диода ФЭУ для отбора однофотонных импульсов; если амплитуда этого сигнала превышает заданную, время-амплитудный преобразователь не включается.

получения кинетической кривой необходимо регистрировать  $10^4$ — $10^6$  импульсов (т. е. требуется не менее  $10^5$ — $10^7$  возбуждающих вспышек). Для градуирования временной шкалы установки удобно использовать кабельные линии переменной задержки. Введение дополнительной задержки в канал приводит к соответствующему смещению кинетической кривой. Блок-схема установки, реализующей «метод счета фотонов», приведена на рис. 4.13.

**Учет аппаратной функции.** Если время затухания люминесценции и время возбуждающей вспышки сравнимы между собой, наблюдаемая кинетика флюо-

ресценции  $F(t)$  отличается от истинного закона затухания  $f(t)$  (при возбуждении бесконечно коротким импульсом света). Чтобы найти  $f(t)$  из наблюдаемой экспериментально  $F(t)$ , необходимо знать форму импульса возбуждающего света  $E(t)$  (точнее, так называемую аппаратную функцию, определяющую разрешение всей установки в целом). Для ее определения вместо образца помещают металлическую рассеивающую пластинку и проводят измерения обычным образом. Наблюдаемую в момент  $t$  интенсивность флуоресценции можно представить в виде суммы (интеграла) интенсивностей испускания частиц, возбужденных в моменты  $t = x_1, x_2, \dots$  и т. д. (рис. 4.14),

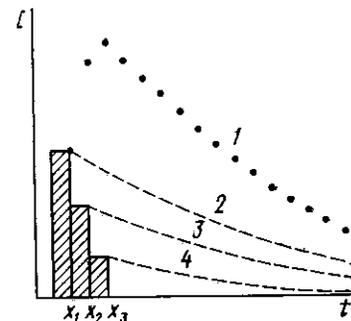


Рис. 4.14. Модель кинетической кривой флуоресценции ( $I$ ), возбуждаемой импульсом конечной длительности (схематично изображен в виде ступенчатой функции — заштриховано):

$$F = E(x_1)f(t-x_1) + E(x_2) \cdot f(t-x_2) + E(x_3)f(t-x_3);$$

$$2 - E(x_1)f(t-x_1); 3 - E(x_2) \times f(t-x_2); 4 - E(x_3)f(t-x_3);$$

$$f(t-x_i) = e^{-k(t-x_i)}$$

$$F(t) = E(x_1) \cdot \Delta x \cdot f(t-x_1) + F(x_2) \cdot \Delta x \cdot f(t-x_2) + E(x_3) \cdot \Delta x \cdot f(t-x_3) + \dots$$

$$F(t) = \sum_0^{x=t} E(x_i) \Delta x f(t-x_i) \quad (4.79)$$

или при  $\Delta x \rightarrow 0$

$$F(t) = \int_0^t E(x) f(t-x) dx. \quad (4.80)$$

Интеграл (4.80) называют сверткой функций  $E(x)$  и  $f(t-x)$

Общего аналитического метода определения функции  $f(t)$  по экспериментально наблюдаемым  $E(t)$  и  $F(t)$  не существует. Зная закон затухания люминесценции или сделав некоторые предположения о его виде, можно различными способами определить время затухания, и порядок меньше аппаратной функции.

Для экспоненциального затухания люминесценции истинное время затухания приближенно выражается уравнением

$$\tau = \sqrt{\tau_F^2 - \tau_E^2}, \quad (4.81)$$

где  $\tau_F$  — наблюдаемое время затухания;  $\tau_E$  — время затухания возбуждающего импульса. Получаемые значения при экспоненциальном затухании вспышки и флуоресценции при  $\tau \gg \tau_E$  хорошо соответствуют значениям, определяемым точными, более сложными методами.

Один из простых методов основан на преобразовании уравнения (4.4). Заменяя  $[M^*]$  на  $F(t)/k_f$  и проинтегрировав, получим

$$\int_0^t dF(t) = k_f b \int_0^t E(t) dt - (k_f + k_d) \int_0^t F(t) dt$$

или

$$\frac{F(t) - F(0)}{\int_0^t E(t) dt} = k_f b - (k_f + k_d) \frac{\int_0^t F(t) dt}{\int_0^t E(t) dt}. \quad (4.82)$$

Подставим  $I(t) = aF(t)$  и обозначим

$$\int_0^t E(t) dt = W(t); \quad (4.83)$$

$$\int_0^t I(t) dt = V(t). \quad (4.84)$$

Тогда, учитывая, что  $I(0) = 0$ , получим

$$\frac{I(t)}{W(t)} = k_f a b - \frac{1}{\tau_0} \frac{V(t)}{W(t)}. \quad (4.85)$$

Построив графическую зависимость  $I(t)/W(t)$  от  $V(t)/W(t)$ , из тангенса угла наклона прямой находят:  $\tau_0 = 1/(k_f + k_d)$  (рис. 4.15).

Другой метод состоит в моделировании  $F(t)$  по уравнению (4.79) с помощью ЭЦВМ при заданном  $E(t)$  для предполагаемого закона затухания, например в виде одной экспоненты или суммы нескольких экспонент:

$$f(t) = \sum_i a_i e^{-t/\tau_i}.$$

Варьируя параметры  $a$  и  $\tau_i$  подбирают их так, чтобы расхождение между экспериментальной и рассчитанной функциями  $F(t)$  было минимальным.

Как уже отмечалось, ключевым в определении  $f(t)$  любым методом является измерение  $F(t)$  и  $E(t)$  в идентичных условиях. Однако создать точно идентичные условия при измерении  $F(t)$  и  $E(t)$  принципиально невозможно; вследствие стока сдвига между поглощением и флуоресценцией эти функции измеряются при разных длинах волн, а форма вспышки и аппаратная функция регистрирующей системы зависят от длины волны.

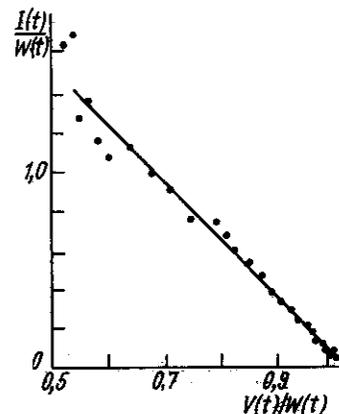


Рис. 4.15. Использование уравнения (4.85) для определения коротких времен жизни 4-фосфенил-2-метоксистильбеа в толуоле,  $\tau = 0,9$  нс

### Фазово-модуляционные методы. Теоретические основы фазово-модуляционной флуориметрии

В фазово-модуляционном методе интенсивность возбуждающего света периодически меняется, и производится измерение фазы или глубины модуляции люминесценции. При этом функцию возбуждения удобно разложить в ряд Фурье:

$$E(t) = E_0 \left\{ 1 + \sum_j E_j \exp[i(2\pi\nu_j t + \varphi_j)] \right\}, \quad (4.86)$$

где  $E_j$  — амплитуда;  $\nu_j$  — частота;  $\varphi_j$  — фаза  $j$ -й компоненты. Интенсивность люминесценции системы будет выражаться уравнением (4.80), анализ которого в общем виде не представляется возможным. Если характеристическая функция затухания люминесценции  $f(t)$  представляет собой одну экспоненту или сумму или разность двух экспонент, такой анализ приводит к следующим результатам. Для моноэкспоненциального затухания с константой  $k = 1/\tau$

$$f(t) = f_0 \cdot \exp(-kt).$$

Интенсивность люминесценции может быть представлена рядом Фурье, аналогичным (4.86), причем фазы и амплитуды различных частотных компонент  $I(t)$  зависят только от фаз и амплитуд соответствующих компонент  $E(t)$  и от  $k$ :

$$F(t) = \frac{c_0 f_0}{k} \left\{ 1 + \sum_j \left( \frac{k}{k + 2\pi i \nu_j} \right) F_j \exp [i(2\pi \nu_j t + \psi_j)] \right\}. \quad (4.87)$$

Люминесценция оказывается промодулированной теми же частотами, что и возбуждающий свет, но отстает по фазе на углы  $\psi_j - \varphi_j$ . Фаза ( $\psi_j$ ) и амплитуда ( $F_j$ )  $j$ -х компонент  $F(t)$  относительно  $E(t)$  описываются выражениями:

$$\psi_j - \varphi_j = \arctg \left( \frac{2\pi \nu_j}{k} \right) = \arctg (2\pi \nu_j \tau), \quad (4.88)$$

$$\frac{F_j}{E_j} = \cos (\psi_j - \varphi_j) = \frac{k}{\sqrt{k^2 + 4\pi^2 \nu_j^2}}. \quad (4.89)$$

Уравнение (4.88) позволяет определить  $\tau$  по разности фаз ( $\psi_j - \varphi_j$ ) между флуоресценцией и возбуждением на частоте  $\nu_j$ , а уравнение (4.89) — из отношения амплитуд модуляции флуоресценции  $F_j$  и возбуждения  $E_j$  на соответствующей частоте.

Для анализа двухэкспоненциальной кинетики необходимо использовать две частоты модуляции или одновременно регистрировать как фазу, так и амплитуду модуляции флуоресценции на одной частоте. При модуляции одной частотой для флуоресценции, описываемой уравнением

$$f(t) = f_0 (e^{-k_1 t} + a e^{-k_2 t}), \quad (4.90)$$

получим

$$F(t) = f_0 E_0 \left\{ \frac{1}{k_1} + \frac{a}{k_2} + \sum_j F_j \left( \frac{1}{k_1 + 2\pi i \nu_j} + \frac{a}{k_2 + 2\pi i \nu_j} \right) \times \right. \\ \left. \times \exp [i(2\pi \nu_j t + \psi_j)] \right\} \quad (4.91)$$

$$\frac{F_j}{E_j} \exp [-i(\psi_j - \varphi_j)] = \frac{1}{(k_1 + 2\pi i \nu_j)} + \frac{a}{(k_2 + 2\pi i \nu_j)}. \quad (4.92)$$

Поскольку уравнение (4.92) содержит три неизвестных параметра ( $k_1$ ,  $k_2$  и  $a$ ), то определить их из двух экспериментально определяемых величин ( $E_j$  и  $\varphi_j$ ) на одной частоте модуляции не представляется возможным. Однако если двухэкспоненциальное затухание связано с протеканием адиабатической реакции в возбужденном состоянии и исследуемая система имеет испускание продукта реакции на другой длине волны, описываемое уравнением

$$f'(t) = f'_0 (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}), \quad (4.93)$$

то

$$F'(t) = \frac{E_0 f'_0 (k_2 - k_1)}{k_1 k_2} \left\{ 1 + \sum_j \frac{k_1 k_2}{(k_1 + 2\pi i \nu_j)(k_2 + 2\pi i \nu_j)} \times \right. \\ \left. \times F'_j \exp [i(2\pi \nu_j t + \psi'_j)] \right\} \quad (4.94)$$

и

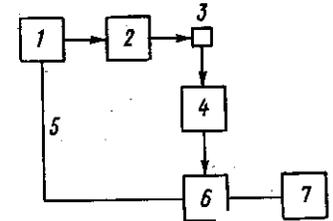
$$\psi'_j - \varphi_j = \arctg \left( \frac{2\pi \nu_j}{k_1} \right) + \arctg \left( \frac{2\pi \nu_j}{k_2} \right), \quad (4.95)$$

$$\frac{F'_j}{E_j} = \frac{k_1 k_2}{\sqrt{(k_1^2 + 4\pi \nu_j^2)(k_2^2 + 4\pi \nu_j^2)}}. \quad (4.96)$$

Отсюда можно независимо определить  $k_1$  и  $k_2$  из экспериментально измеренных величин  $\psi'_j$  и  $F'_j$  на одной частоте.

**Фазово-модуляционные флуорометры.** Общая схема устройства фазово-модуляционного флуорометра приве-

Рис. 4.16. Блок-схема фазово-модуляционного флуорометра: 1 — источник модулированного света, 2, 4 — монохроматоры или светофильтры, 3 — образец, 5 — линия опорного электрического сигнала, 6 — приемник света и фазовый детектор и (или) измеритель глубины модуляции, 7 — измерительный прибор



дена на рис. 4.16. Для модуляции света с частотой  $10^7 - 10^8$  Гц чаще всего используют ультразвуковые дифракционные решетки или ячейки Керра или Показельса в сочетании с поляризаторами света. В качестве

приемника света используют фотоумножители. Фазовое детектирование и определение глубины модуляции производят при помощи специальной электронной аппаратуры (узкополосных усилителей, фазовых детекторов). Сдвиг фазы можно измерять с точностью до 0,1%, позволяя тем самым измерять время затухания до  $10^{-10}$  с.

### § 3. ПРАКТИЧЕСКИЕ РАБОТЫ

Для выполнения первых трех задач необходима установка счета фотонов для диапазона  $10^{-6}$ — $10^2$  с (рис. 4.17) или импульсный фосфориметр с осциллографом с памятью, для других задач — наносекундный

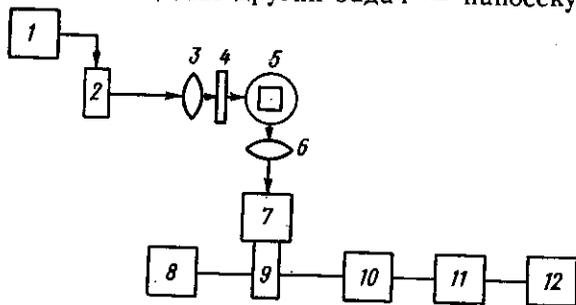


Рис. 4.17. Блок-схема импульсной установки для изучения кинетики фосфоресценции: 1 — источник высокого напряжения (20 кВ) для питания импульсной лампы, 2 — импульсная лампа, 3, 6 — линзы, 4 — светофильтр, 5 — образец, 7 — монохроматор, 8 — источник питания ФЭУ, 9 — ФЭУ, 10 — дискриминатор амплитуды импульсов, 11 — временно анализатор импульсов, 12 — печатающее устройство

импульсный флуорометр с время-амплитудным преобразователем (см. рис. 4.13), имеющий разрешающую способность в диапазоне 0,1—10 нс на канал (при 128 каналах).

#### 1. Определение времени жизни триплетных состояний

Влияние природы электронного перехода на время жизни триплетных состояний можно наблюдать, изучая кинетику затухания фосфоресценции соединений ряда

нафталина: нафталина, октадейтеронафталина, хинолина. Для этого готовят  $10^{-2}$  М растворы указанных соединений в толуоле. Кинетику затухания фосфоресценции измеряют в кварцевых ампулах диаметром 4—5 мм, замораживая образцы в кварцевом сосуде Дьюара и возбуждая светом 313 нм. Находят время жизни, используя уравнение (4.7) (см. рис. 4.1 б).

Спин-орбитальное взаимодействие, особенно существенное в тяжелых атомах, увеличивает константу скорости интеркомбинационной конверсии. Это приводит к тому, что в ряду нафталин, хлорнафталин, бромнафталин, йоднафталин сокращается время жизни фосфоресценции; таким же образом влияют растворители, содержащие тяжелые атомы.

Количественное исследование комплексообразования на интеркомбинационную инверсию может быть проведено на примере кинетики затухания фосфоресценции нафталина и гексадейтеронафталина в присутствии соединений, содержащих галогены в замороженных растворах. Готовят раствор нафталина ( $10^{-2}$  М) в этаноле и такие же растворы с добавкой 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 М бромида или йодида лития (или алкилгалогенида). Исследуют кинетику фосфоресценции при 77 К. Построив кинетику фосфоресценции в полулогарифмических координатах, проводят разделение кинетической кривой на две экспоненты:

$$I = I_0 \cdot (a \cdot e^{-k_1 t} + b \cdot e^{-k_2 t}),$$

где  $k'$  — константа скорости затухания комплекса нафталина с анионом галогена. Используя методику, изложенную на с. 198, уравнения (4.56) — (4.58), находят константу скорости испускания комплекса и величину  $b/a$ , равную константе комплексообразования с точностью до отношения квантовых выходов фосфоресценции нафталина и комплекса.

#### 2. Исследование кинетики замедленной флуоресценции

Для сравнения замедленной флуоресценции активационного и аннигиляционного типа проводят измерения спектров и кинетики замедленной флуоресценции еозина и антрацена в глицерине или полиэтиленгликоле. Растворы тщательно деаэрируют. Концентрация раст-

воров эозина —  $10^{-5}$  М, антрацена —  $10^{-4}$  М. Для измерения спектров замедленной флуоресценции используют спектрофлуориметр с вращающимся цилиндром с прорезями. Определяют зависимость интенсивности замедленной флуоресценции от интенсивности возбуждающего света, используя градуированные ослабительные сетки. Измеряют кинетику затухания замедленной флуоресценции. Данные по кинетике затухания замедленной флуоресценции представляют в координатах  $\lg I-t$ . Находят время жизни триплетных состояний  $\tau_T$ .

### 3. Определение времени жизни синглетных состояний

Измеряют кинетику затухания флуоресценции этанольных растворов пирена и 9,10-дибромантрацена ( $10^{-4}$  М), длина волны возбуждения — 335 нм для пирена и 400 нм для dibромантрацена. Для долгоживущих возбужденных состояний (пирена) данные представляют в координатах  $\lg I-t$  и определяют константу скорости затухания  $k_0$  и время жизни  $\tau_0$ . Для короткоживущих возбужденных состояний  $k_0$  и  $\tau_0$  находят тремя способами: 1) откладывают данные по кинетике флуоресценции и форме вспышки в координатах  $\lg I-t$  и, используя (4.81), находят  $\tau_0$ ; 2) рассчитывают  $\tau_0$ , используя уравнения (4.85); 3) используя полученные первыми способами значения  $\tau_0$ , по уравнению (4.79)

рассчитывают свертку функций  $E(t)$  и  $f(t) = e^{-\frac{t}{\tau_0}}$  и полученную таким образом теоретическую кривую откладывают на том же графике, на котором отложены экспериментальные значения  $F(t)$ . Варьируют  $\tau_0$  до получения наилучшего схождения. Последнюю операцию целесообразно проводить, составив предварительно программу для расчета на ЭВМ. Сравнивают полученные тремя способами значения.

### 4. Определение констант динамического и статического тушения флуоресценции

Готовят растворы пирена ( $10^{-4}$  М) в гептане: чистый и с добавкой четыреххлористого углерода (2, 4, 6,  $8 \cdot 10^{-1}$  М) или раствор перхлората акридиния ( $10^{-4}$  М) в этаноле, с добавлением 1,6-диметилнафталина (0, 2,

4, 6,  $8 \cdot 10^{-2}$  М). Измеряют относительные квантовые выходы и кинетику затухания флуоресценции. Полученные результаты обрабатывают в соответствии с уравнениями (4.11) — (4.20). Находят  $\tau_0$ ,  $k_g$  и константу комплексообразования в соответствии с уравнением (4.20). Используя значение  $k_c$ , полученное из кинетики флуоресценции, значения  $R=7$  А и коэффициенты диффузии  $D=2 \cdot 10^{-5}$  см<sup>2</sup>/с (пирен и четыреххлористый углерод) или  $D=1,5 \cdot 10^{-5}$  см<sup>2</sup>/с (акридиний с диметилнафталином) по уравнению (4.26) рассчитывают значения  $(\Phi_0/\Phi)_{\text{нест}}$  для тех же концентраций тушителя, что были использованы экспериментально. Найдя истинные значения  $(\Phi_0/\Phi)_s$  с учетом нестационарных поправок, по уравнению (4.20) находят константу комплексообразования. Сравнивают относительные вклады каждого из трех процессов (динамического тушения, нестационарных эффектов и комплексообразования) в изменение квантового выхода флуоресценции.

### 5. Изучение кинетики протолитической диссоциации

Изучают спектры флуоресценции и кинетику флуоресценции 2-нафтола в полосах 360 и 450 нм в водных растворах серной кислоты и едкого натра при pH 1, 5, 7, 12. Полученные данные по кинетике флуоресценции представляют в координатах  $\lg F-t$  и  $\lg F'-t$  и, используя уравнения (4.45) — (4.60), находят все константы скорости протекающих в системе процессов.

### 6. Кинетика образования эксимеров

Кинетика образования возбужденных димеров-эксимеров описывается уравнениями (4.45) — (4.55), только вместо  $k_{-1}$  [Р] подставляют  $k_{-1}$ . Готовят растворы пирена в толуоле ( $3 \cdot 10^{-4}$ ;  $1 \cdot 10^{-3}$ ;  $3 \cdot 10^{-3}$ ;  $1 \cdot 10^{-2}$  М) и очищают от кислорода откачиванием на вакуумной установке или путем продувания азота. Измеряют спектры флуоресценции при возбуждении светом 350 нм и кинетику флуоресценции в полосе испускания пирена (390 нм) и эксимера (500 нм), регистрируя флуоресценцию с той же стороны образца, на которую падает свет возбуждения. Полученные данные представляют в координатах  $\lg F-t$  и  $\lg F'-t$  и, используя уравнения (4.45) — (4.60), находят константы входящих в кинетическую схему процессов, приняв  $k_2 \ll k_1$ .

## 7. Кинетика образования эксиплексов

Кинетика образования возбужденных комплексов с переносом заряда — эксиплексов — описывается уравнениями (4.45) — (4.55), только вместо  $k_{-1}[P]$  подставляют  $k_{-1}$ . Готовят раствор пирена в гептане ( $10^{-4}$  М) с добавкой 1,4-дицианбензола (0, 2, 4, 6,  $8 \cdot 10^{-2}$  М). Измеряют спектры флуоресценции при возбуждении светом 350 нм и кинетику флуоресценции в полосе пирена (390 нм) и эксиплекса (500 нм). Полученные данные представляют в координатах  $\lg F-t$  и  $\lg F'-t$  и, используя уравнения (4.45) — (4.60), находят константы входящих в кинетическую схему процессов, приняв  $k_2 \ll k_1$ .

### ЛИТЕРАТУРА

1. Колдин Е. Быстрые реакции в растворе. М., 1966.
2. Пархер С. Фотолюминисценция растворов. М., 1972.
3. Бартроп Дж., Койл Дж. Возбужденные состояния в органической химии. М., 1978.