

§ 3.2. Сәуле шығару анизотропиясының өшу кинетикасы

Жоғарыда флуоресценциялаушы молекулалардың деполяризациясының негізгі себебі олардың айналмалы диффузиясы екені атап өтілді. Деполяризацияның бұл түрі Левшин—Перрен формуласымен сипатталады. Алайда бұл формуланы қолдану люминесценция анизотропиясының стационарлық өлшеулерінен алынған мәліметтерді ғана түсіндіруге мүмкіндік береді. Анизотропияның өшу кинетикасын анықтау люминесценциялаушы молекулалардың қозғалыс диффузиясы туралы тікелей ақпарат береді. Анизотропия кинетикасын қоздырушы импульс аяқталғаннан кейін тікелей өлшеуге болады. Симметрия осі бар молекулаларды қарастырайық.

Мұндай идеал жүйелер үшін сәуле шығару анизотропиясының өшуі экспоненциалдық заңға бағынады:

$$r(t) = r_0 e^{-t/\tau_{\text{вр}}}, \quad (3.2.1)$$

мұндағы $\tau_{\text{вр}}$ — молекуланың айналмалы релаксациясының орташа уақыты. Бұл шама ортаның тұтқырлығына, температураға және молекуланың көлеміне байланысты болады. Люминесценция интенсивтілігінің өшуі де экспоненциалдық заңға бағынады (§ 3.1):

$$I(t) = I_0 e^{-t/\tau_{\text{фл}}}. \quad (3.2.2)$$

Жоғарыда кез келген уақыт мезетіндегі анизотропия дәрежесін мына қатынастан анықтауға болатыны көрсетілді:

$$r(t) = [I_{\parallel}(t) - I_{\perp}(t)]/[I_{\parallel}(t) + 2I_{\perp}(t)]. \quad (3.2.3)$$

Сәуле шығару анизотропиясының кинетикасын талдау үшін (3.2.3) формуласының $I_{\parallel}$ және $I_{\perp}$ мүшелерін және олардың люминесценцияның өшу кинетикасының $I(t)$ тәуелділігімен уақыттық байланысын жеке қарастыру қажет. $I(t)$ шамасы мына қатынастан анықталады:

$$I(t) = I_{\parallel}(t) + 2I_{\perp}(t). \quad (3.2.4)$$

(3.2.4) өрнегінен $I_{\parallel}(t)$ шамасын $I(t)$ және $I_{\perp}(t)$ функциясы ретінде оңай анықтауға болады. Табылған мәнді (3.2.3) өрнегіне қойып, мына қатынасты аламыз:

$$I_{\perp}(t) = \frac{1}{3}I(t)[1 - r(t)]. \quad (3.2.5)$$

(3.2.1) және (3.2.2) өрнектерін ескере отырып:

$$I_{\perp}(t) = \exp(-t/\tau_{\text{фл}})[1 - r_0 \exp(-t/\tau_{\text{вр}})]. \quad (3.2.6)$$

Осы тәсілмен $I_{\parallel}(t)$ үшін де өрнек алуға болады:

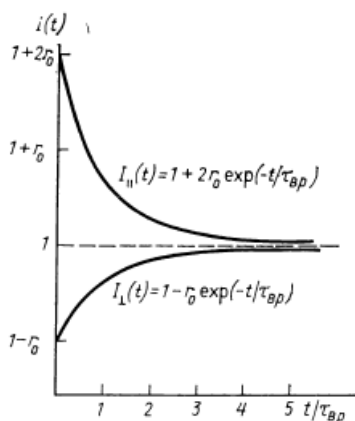
$$I_{\parallel}(t) = \exp(-t/\tau_{\text{фл}})[1 + 2r_0 \exp(-t/\tau_{\text{вр}})]. \quad (3.2.7)$$

(3.2.6) және (3.2.7) теңдеулерінен анизотропияның өшуі кезінде флуоресценция интенсивтілігінің өшуі $I(t)$ тәуелділігіне байланысты болмайтыны көрінеді. Басқаша айтқанда, $I(t)$ тәуелділігі $\tau_{\text{фл}}$ шамасымен, ал $r(t)$ тәуелділігі тек $\tau_{\text{вр}}$ шамасымен сипатталады.

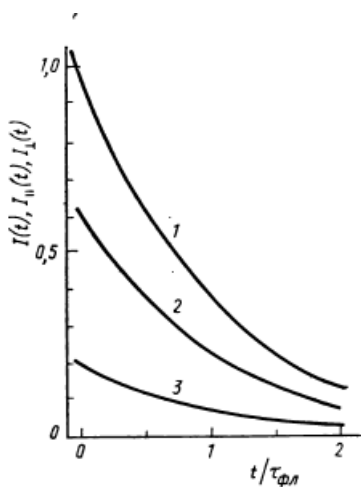
Мұндай бөліну стационарлық өлшеулер кезінде мүмкін емес. Шынында да, $I_{||}(t)$ және $I_{\perp}(t)$ тәуелділіктерін ғана қарастырайық (59-сурет). 59-суреттен бастапқы уақыт аралығында $I_{||}$ және $I_{\perp}$ интенсивтіліктерінің айырмашылығы елеулі болғанда, $I_{||}(t)$ және $I_{\perp}(t)$ функцияларының өшу жылдамдықтары бір-біріне жақын болатыны көрінеді. Егер люминесценцияның өшуі мен деполяризациясын бірге қарастырсақ (60-сурет), онда $I_{||}(t)$ интенсивтілігінің бастапқы айырмашылығы (2-қисық) және $I_{\perp}(t)$ интенсивтілігінің бастапқы айырмашылығы (3-қисық) молекулалардың диффузия арқылы айналуының әсерінен люминесценцияның жалпы өшу жылдамдығынан әлдеқайда жоғары болады.

Егер $\tau_0 > 0$ болса, онда $t = 0$ кезінде $I_{||} > I_{\perp}$ болады. 60-суреттен $I_{||}(t)$ шамасының бастапқы өшу жылдамдығы $I_{\perp}(t)$ шамасының өшу жылдамдығынан жоғары екені, ал $I_{\perp}(t)$ шамасының кему жылдамдығы $I(t)$ қорытқы шамасына қарағанда төмен екені көрінеді (1-қисық). Мұндай жағдай осы уақыт аралығында молекулалардың қоздырушы жарықтың электрлік векторына параллель бағдарланудан оған перпендикуляр бағдарлануға қайта бағытталуы жүретіндігімен байланысты.

Үлкен уақыт аралықтарында молекулалардың айналымы диффузиясының әсерінен $I_{||}(t)$, $I(t)$ және $I_{\perp}(t)$ қисықтарының өшу жылдамдықтары іс жүзінде бірдей болады (59-сурет). Бұл жағдай 60-суретте де байқалады.



59-сурет. $I_{||}$ және $I_{\perp}$ шамаларының t уақытқа тәуелді өшуінің идеалдандырылған көрінісі, салыстырмалы бірліктермен.

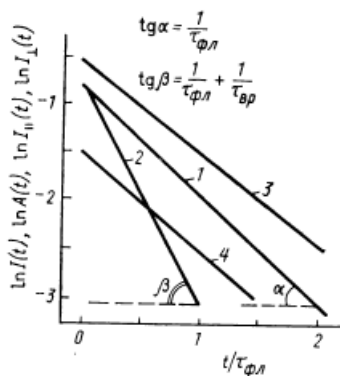


60-сурет. I (1), $I_{||}$ (2) және $I_{\perp}$ (3) шамаларының келтірілген $t/\tau_{фл}$ уақытқа тәуелділігі; $\tau_{фл}$ — люминесценцияның өшу уақыты.

Айналмалы релаксация уақытын анықтау үшін анизотропияның өшу кинетикасы көбінесе логарифмдік масштабта көрсетіледі [8]. 61-суретте $\ln I$ шамасының t уақытқа тәуелділігі көрсетілген (1-қисық). Анизотропияның экспоненциалдық өшуі салдарынан $\ln A(t)$ графигі сызықтық болады және оның көлбеулік бұрышы бойынша $\tau_{\text{вр}}$ шамасын анықтауға болады (61-сурет). Кейде бұл жағдайда мына тәуелділік қарастырылады:

$$A(t) = I_{\parallel}(t) - I_{\perp}(t) = I_0 \exp[-t(\frac{1}{\tau_{\text{фл}}} + \frac{1}{\tau_{\text{вр}}})]. \quad (3.2.8)$$

61-суретте $\ln A(t)$ тәуелділігі көрсетілген. Одан $I_{\parallel}(t) - I_{\perp}(t)$ айырмасының (2-қисық) $I_{\parallel}(t)$ және $I_{\perp}(t)$ шамаларына қарағанда жылдамырақ азаятыны көрінеді (тиісінше 3 және 4-қисықтар). Бұл көрсетілген айырманың жалпы өшу нәтижесінде ғана емес, оның үстіне анизотропияның қосымша өшуі нәтижесінде де азаятындығымен түсіндіріледі.



61-сурет. $\ln I$ (1), $\ln A = I_{\parallel} - I_{\perp}$ (2), $\ln I_{\parallel}$ (3) және $\ln I_{\perp}$ (4) шамаларының $t/\tau_{\text{фл}}$ уақытқа тәуелділігі; $\tau_{\text{фл}}$ — люминесценцияның өшу уақыты.

Анизотропияның өшу кинетикасын басқа түрде де, яғни молекуланың қозған күйде әртүрлі уақыт аралықтарында φ бұрышына бұрылуына байланысты көрсетуге болады. Кез келген уақыт мезеті үшін (2.2.11) өрнегіне сәйкес:

$$r(t) = r_0[(3\cos^2\varphi - 1)/2]. \quad (3.2.9)$$

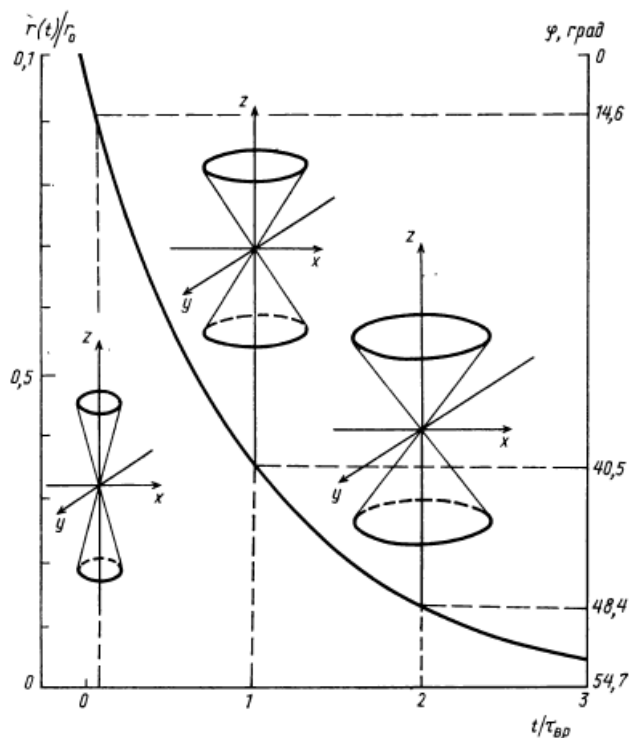
Егер айналу болмаса, $\varphi = 0$ және $r = r_0$ болады. $\varphi = 54,7^\circ$ болған кезде анизотропия нөлге тең болады. $r(t)/r_0$ тәуелділігін біле отырып, әрбір t уақыт мезетіндегі φ бұрышының мәнін анықтауға болады. 62-суретте $r(t)/r_0$ шамасының уақытқа тәуелділігі және осы тәуелділіктен (3.2.9) формуласының көмегімен әртүрлі уақыт мезеттері үшін есептелген φ бұрышының мәндері көрсетілген [8].

Бастапқы уақыт мезетінде молекулалар, яғни олардың дипольдік моменттері, z осіне қатысты симметриялы таралады (62-сурет). Бұл уақытта молекуланың жұтылу осцилляторы бағытының z осімен сәйкес келу ықтималдығы $\cos^2\theta$ шамасына пропорционал болады. Мұндағы θ — жұтылу бағыты мен z осінің арасындағы бұрыш. Кейінгі уақыт аралықтарында молекулалардың диффузиялық айналуы салдарынан қозған молекулалардың қайта таралуы жүреді. Соның нәтижесінде молекулалардың, яғни олардың дипольдік моменттерінің, z осіне қатысты таралуы кеңейеді. Бұл θ бұрышының (3.2.9) формуласы арқылы анықталатын φ шамасына ұлғаюына сәйкес келеді.

Кез келген аралық t уақыт мезетінде $r(t)/r_0$ қатынасы φ бұрылысының орташа бұрышына сәйкес болады. Егер $t = 0$ болса, онда $\varphi = 0$. $t = \tau_{\text{вр}}$ болған кезде молекула ортада орта

есеппен $14,6^\circ$ бұрышқа бұрылады; $t = 2\tau_{вр}$ кезінде $\varphi = 40,5^\circ$; $t = 3\tau_{вр}$ кезінде $\varphi = 48,4^\circ$. Ал $\varphi = 54,7^\circ$ болған кезде сәуле шығару анизотропиясының толық өшуі байқалады (62-сурет).

Осылайша, сәуле шығару анизотропиясының өшуін зерттеу молекулалардың орташа айналу бұрыштары туралы да, олардың айналмалы диффузиясы нәтижесінде пайда болатын бұрыштық ығысулары туралы да ақпарат алуға мүмкіндік береді.



62-сурет. Люминесценцияның деполяризациясы $r(t)/r_0$ шамасының және қозған күйдегі молекуланың φ бұрылу бұрышының уақытқа тәуелділігі; $\tau_{вр}$ — айналмалы релаксация уақыты.

Іс жүзінде люминесценциялаушы жүйелердің біртекті болмауымен жиі кездесуге тура келеді. Осыған байланысты әртүрлі молекулалар қоспасының люминесценция анизотропиясының өшу кинетикасын қарастыру қызығушылық тудырады. Екі типті молекулалардан тұратын қоспа берілсін. Оның сәуле шығаруының өшу кинетикасы мына өрнекпен сипатталады:

$$I(t) = a_1 \exp(-t/\tau_1) + a_2 \exp(-t/\tau_2), \quad (3.2.10)$$

мұндағы τ_1 және τ_2 — жүйе құраушыларының орташа өшу уақыттары, ал a_1 және a_2 — τ_1 және τ_2 өшу уақыттары бар құраушылардың жалпы өшу қисығына қосатын салыстырмалы үлесін анықтайтын экспонента алдындағы коэффициенттер.

Әрбір құраушының белгілі бір уақыт мезетіндегі үлесін былай анықтауға болады:

$$f_i(t) = a_i \exp(-t/\tau_i) / I(t), \quad (3.2.11)$$

мұндағы $i = 1, 2$.

Сонда люминесценция анизотропиясының аддитивтілік заңын пайдаланып (§ 2.1), мына өрнекті жазуға болады:

$$r(t) = [r_1(t)a_1 \exp(-t/\tau_1) + r_2(t)a_2 \exp(-t/\tau_2)] / [a_1 \exp(-t/\tau_1) + a_2 \exp(-t/\tau_2)]. \quad (3.2.12)$$

Жоғарыда айтылғандардың барлығынан люминесценция анизотропиясының өшу кинетикасы люминесценциялаушы жүйелердің құрылымы туралы қосымша ақпарат бере алатыны шығады.

§ 3.3. Люминесценцияның лездік спектрлері

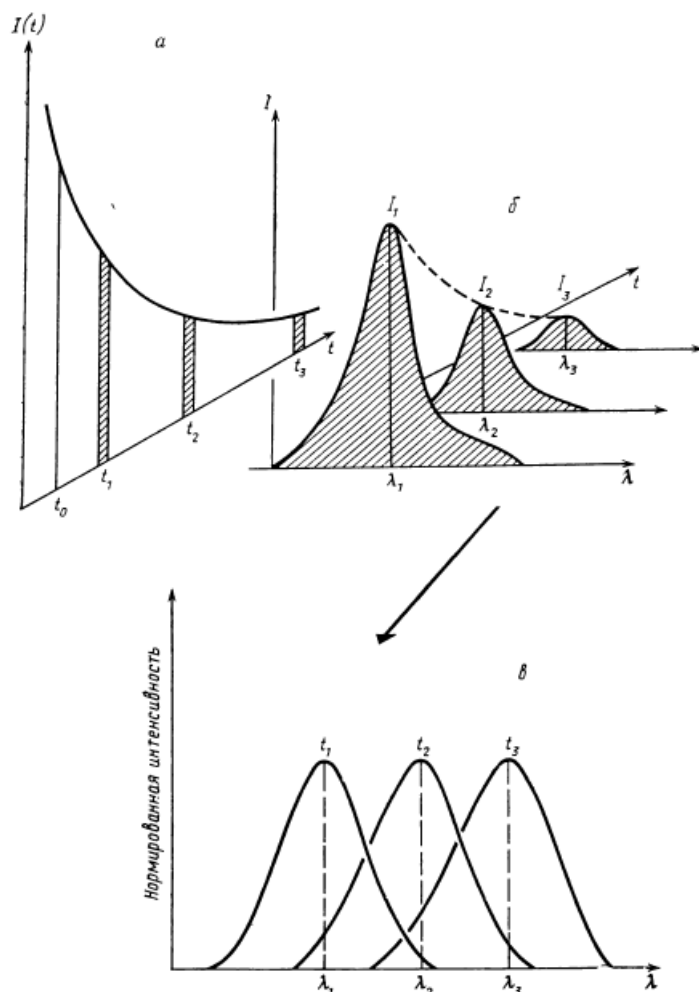
Сәуле шығарудың өшу кинетикасын қарастырған кезде әрбір люминесценциялаушы молекула сәуле шығару толқынының ұзындығына тәуелді болмайтын белгілі бір өмір сүру уақытымен сипатталады деп есептелді. Алайда нақты жүйелерде бұл шарт орындалмайтын көптеген жағдайлар кездеседі. Көп жағдайда қоздырудан кейінгі уақытқа байланысты флуоресценция спектрлерінің ығысуы байқалады. Сондықтан люминесценциялаушы жүйелерде жүретін физикалық және химиялық процестерді толық сипаттау үшін уақыт бойынша ажыратылған спектрлерді тіркеу қажет. Мұндай спектрлер люминесценцияның лездік спектрлері деп аталады. Басқаша айтқанда, люминесценцияның лездік спектрлері — қоздырудан кейінгі әртүрлі уақыт аралықтарында өлшенген сәуле шығару спектрлері.

Люминесценцияның лездік спектрлерін алуудың екі тәсілі бар. Бірінші тәсіл — қоздыру импульсі аяқталғаннан кейін белгілі бір уақыт аралықтарында сәуле шығаруды тікелей тіркеу. Люминесценцияның өшу қисығы сәуле шығару толқынының ұзындықтары бойынша қандай да бір тіркелген қабылдағыштың 63, а-суретте көрсетілген тәуелділігін білдірсін. t_0 суретінде қоздырушы импульстің аяқталу уақыты көрсетілген. t_0 -ге қатысты уақыттық кідірісті тіркей отырып, люминесценция спектрін қабылдағышты толқын ұзындықтары бойынша сканерлеу арқылы бақылаймыз.

t_1 , t_2 және t_3 уақыттық кідірістерін тіркедік деп есептейік (63, а-сурет). 63, б-суретте t_1 , t_2 және t_3 тіркелген уақыт аралықтарындағы люминесценция спектрлері көрсетілген. Олардың максимумдары λ_1 , λ_2 және λ_3 шамаларына сәйкес келеді. Қоздыру мезетінен люминесценцияны бақылау мезетіне дейінгі уақыт ұлғайған сайын оның интенсивтілігі төмендейді:

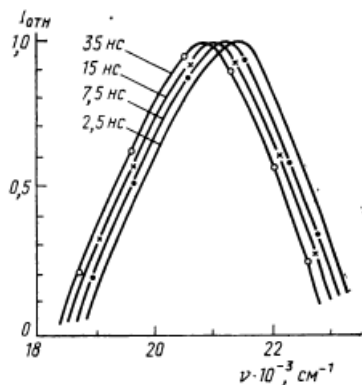
$$I_1 > I_2 > I_3.$$

Бұл қозған күй қоныстануының азаюына байланысты. Люминесценция спектрлерін $t_{\text{фл}}$ -ден едәуір үлкен уақыт аралықтарында тіркеген кезде сәуле шығару интенсивтілігі тым аз болады, сондықтан оны тіркеу қиындайды. Уақытқа тәуелді спектрлік ығысулар әртүрлі уақыт аралықтарында алынған люминесценцияның нормаланған лездік спектрлерін салыстыру кезінде анағұрлым айқын байқалады. Сондықтан люминесценцияның лездік спектрлері әдетте олардың тіркелу уақыт аралықтары көрсетіліп, нормаланған түрде беріледі (63, в-сурет).



63-сурет. Люминесценцияның лездік спектрлері: а) флуоресценция интенсивтілігінің $I(t)$ уақытқа тәуелділігі; б) t_1 , t_2 және t_3 тіркелген уақыт аралықтарындағы флуоресценция спектрлері; в) t_1 , t_2 және t_3 уақыт аралықтарындағы флуоресценцияның нормаланған лездік спектрлері.

Мысал ретінде 64-суретте толқын ұзындығы 337 nm сәулемен қоздырылған поливинил спирті қабыршағындағы 3-аминофталимидтің люминесценциясының лездік спектрлері келтірілген [9]. Спектрлерді тіркеу уақыттары суретте көрсетілген.



64-сурет. Поливинил спирті қабыршағындағы 3-аминофталимид люминесценциясының лездік спектрлері ($\lambda_{\text{қозд}} = 337 \text{ nm}$). Тіркеу уақыттары тиісті қисықтардың жанында көрсетілген.

Люминесценцияның лездік спектрлерін алудың екінші әдісі есептеу әдісі болып табылады және төмендегідей жүзеге асырылады. Спектрдің тандап алынған бөліктерінде белгілі бір толқын ұзындықтары үшін флуоресценцияның тәжірибелік өшу қисықтары $I_{\text{эксп}}(t)$ алынады. Әдетте спектр толқын ұзындығы бойынша тең $\Delta\lambda$ аралықтарға бөлінеді.

Флуоресценцияның шынайы өшу қисығы $I_{\text{ист}}(t)$ шексіз қысқа жарық импульсімен қоздырғанда және уақыттық ажырату қабілеті шексіз аз қабылдағышпен тіркегенде ғана алынуы мүмкін. Алайда нақты аспаптарда мұндай жағдай жүзеге асырылмайды. Сондықтан әрбір толқын ұзындығы үшін $I_{\text{ист}}(t)$ шамасын алдын ала анықтауға тура келеді. Люминесценцияның шынайы өшу қисығын [10] теңдеуінен анықтауға болады:

$$I_{\text{эксп}}(t) = \int_0^t I_{\text{ист}}(t - t') G(t') dt'. \quad (3.3.1)$$

Мұндағы $G(t')$ — аспаптың аппараттық функциясы. Оны мына түрде көрсетуге болады:

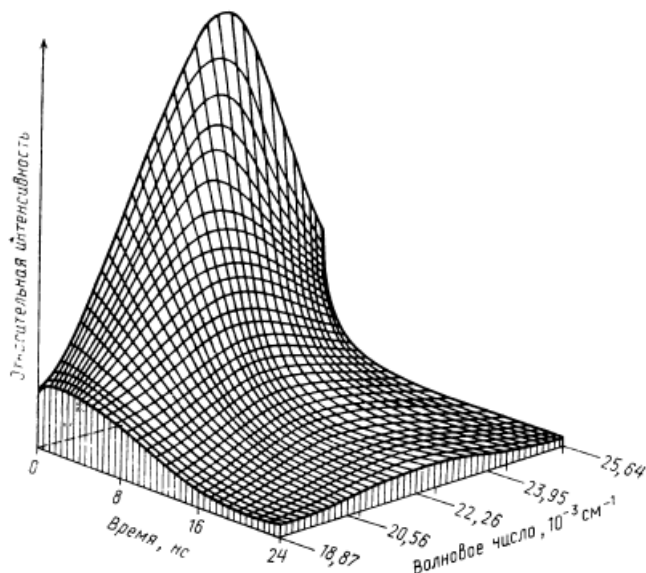
$$G(t) = E(\lambda_{\text{қозд}}, t) H(\lambda_{\text{бак}}, t) K(t), \quad (3.3.2)$$

мұндағы $E(\lambda_{\text{қозд}}, t)$ — импульстік көздің жарық сәуле шығаруының таралу функциясы, $\lambda_{\text{қозд}}$ — қоздырушы жарықтың толқын ұзындығы; $H(\lambda_{\text{бак}}, t)$ — фотокөбейткіштің спектрлік сезгіштігі, $\lambda_{\text{бак}}$ — бақыланатын люминесценцияның толқын ұзындығы; $K(t)$ — электрондық блоктардың өтпелі сипаттамасы.

Спектрдің әрбір жеке толқын ұзындығы үшін люминесценцияның шынайы өшу қисықтары тұрғызылғаннан кейін қоздырудан кейінгі кез келген уақыт мезетіне сәйкес келетін спектрлер алынады. Содан кейін люминесценцияның алынған спектрлері нормаланады.

Люминесценцияның лездік спектрлерін мұндай әдіспен алу өте күрделі есептеулерді қажет етеді. Оларды орындау үшін тәжірибелік қондырғыларды автоматтандыру және электрондық есептеу машиналарын қолдану қажет. Алайда есептеулердің күрделілігіне қарамастан, бұл әдіс молекулалардың қозған күйінде жүретін процестер туралы толық ақпарат алуға мүмкіндік береді. Электрондық есептеу машиналарын қолдану қоздырушы импульс аяқталғаннан кейінгі люминесценция интенсивтілігінің $I(\lambda, t)$ өзгерісінің «үшөлшемді» бейнесін тұрғызуға мүмкіндік береді.

Мысал ретінде 65-суретте 2-п-толуидинил-6-нафталинсульфон қышқылы люминесценциясы интенсивтілігінің уақыт пен толқын санына тәуелділігі көрсетілген [11]. Суреттен толқын саны $25,64 \cdot 10^3 \text{ cm}^{-1}$ болғандағы флуоресценция толқын саны $18,87 \cdot 10^3 \text{ cm}^{-1}$ болғандағы флуоресценцияға қарағанда жылдамырақ өшетіні көрінеді. Сонымен қатар толқын саны $18,87 \cdot 10^3 \text{ cm}^{-1}$ болғанда интенсивтіліктің бастапқы өсуі байқалады.



65-сурет. 2-п-толуидинил-6-нафталинсульфон қышқылы люминесценциясы интенсивтілігінің уақыт пен толқын санына тәуелділігі.

Люминесценцияның лездік спектрлері үлкен ақпараттық маңызға ие. Олардың көмегімен мыналарды анықтауға болады:

1. кинетикалық және спектрлік сипаттамалары бойынша ерекшеленетін қозған молекулалардың бірнеше түрінің бір мезгілде болуы;
2. қоршаған ортаның люминесценциялаушы молекулалардың энергетикалық деңгейлеріне әсерінің және әртүрлі деңгейлердің уақыт бойынша релаксациясының өзгеруі;
3. энергияның молекулаішілік және молекулааралық тасымалдану процестері. Энергия тасымалданған кезде қоздыру энергиясының берілуі есебінен қоздырылған молекулалардың флуоресценция интенсивтілігінің артуы мен өшуін бақылауға болады.