

Лекція 3.

Тема. Люмінесцентний аналіз.

Мета. Освоєння теоретичних і практичних основ люмінесцентних методів аналізу та застосування його для аналізу неорганічних токсикантів.

План.

1. Суть методу.
2. Механізм люмінесценції.
3. Характеристики фотолюмінесценції.
4. Основні закони люмінесценції.
5. Гасіння люмінесценції.
6. Якісний і кількісний люмінесцентний аналіз.
7. Обладнання для проведення люмінесцентного аналізу.
8. Застосування люмінесценції.

Вступ.

Люмінесцентний аналіз дає змогу визначити якісний та кількісний склад речовин. Його застосовують для дослідження понад 3000 органічних сполук, які мають власну люмінесценцію, флуоресціюючих неорганічних сполук: солей уранілу, лантанідів, комплексних галогенідів важких металів. Ряд цих сполук інтенсивно флуоресціюють після реакцій комплексоутворення, окиснення.

В неорганічному синтезі люмінесцентний аналіз використовують в основному для визначення рідкоземельних елементів, а також малих кількостей домішок в напівпровідникових матеріалах.

Люмінесцентні методи в 100 разів чутливіші за фотометричні, крім того, сигнал лінійно залежить від концентрації в широкому діапазоні, тому для люмінесцентних методів більший і діапазон визначуваних концентрацій. Висока чутливість дозволяє досягнути межі виявлення на рівні пікограмів в 1 мл (10^{-12} г/мл) розчину.

1. Суть методу.

Здатність атомів і молекул поглинати енергію, що надходить до них ззовні, викликає їх перехід у новий енергетичний стан, який називається збудженим, і в якому перебувають дуже обмежений час ($\sim 10^{-8}$ с). Надлишкова енергія атомів чи молекул, отримана при збудженні, може бути витрачена на відрив електронів – йонізацію речовини, фотохімічні реакції, нагрівання речовини – перехід надлишкової енергії в теплову. Крім того, збуджені атоми чи молекули здатні віддавати всю надлишкову енергію або частину її у вигляді світла.

Як правило, більшість твердих речовин при сильному нагріванні світяться. Наприклад, розпечені тверді тіла випромінюють біле світло, яке має суцільний спектр частот. Із зниженням температури тіла зменшується інтенсивність його випромінювання, а у спектрі переважають довгі хвилі (червоні та інфрачервоні). При подальшому охолодженні тіло випромінює невидимі оком інфрачервоні промені. Таке світіння розжарених тіл називають **температурним або тепловим рівноважним випромінюванням** (електромагнітне випромінювання з безперервним спектром, що випускається нагрітими тілами за рахунок їх теплової енергії).

Теплове випромінювання є найпоширенішим у природі. Воно здійснюється за рахунок енергії теплового руху атомів і молекул речовини, тобто за рахунок внутрішньої енергії, і тому залежить від температури речовини.

У деяких речовин спостерігається світіння і без нагрівання – при кімнатній температурі, яке називається холодним світінням або **люмінесценцією**. Для того, щоб викликати люмінесценцію речовини, до нього необхідно підвести ззовні певну кількість енергії.

Джерела збудження люмінесціюючої речовини можуть бути різними. В залежності від джерела збудження частинок розрізняють наступні види люмінесценції:

Джерело збудження	Вид люмінесценції
Світловий потік (УФ, видиме світло)	Фотолюмінесценція
Енергія хімічних реакцій	Хемолюмінесценція
Енергія хімічних реакцій, які відбуваються в живих організмах	Біолюмінесценція
Рентгенівське випромінювання	Рентгенолюмінесценція
Механічна дія	Тріболюмінесценція
Електрична дія	Електролюмінесценція

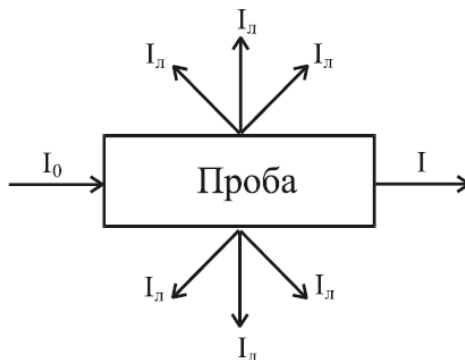
Із всіх видів люмінесценції в аналітичній хімії найчастіше використовують **фотолюмінесценцію молекул**.

Найпоширеніший люмінесцентний аналіз — з використанням люмінесценції, збудженої ультрафіолетовим промінням.

В залежності від того, як реєструють сигнал – після закінчення збудження чи через певний проміжок часу, розрізняють флуориметрію і фосфориметрію. У залежності від методу одержання спектра розрізняють: звичайну (класичну, традиційну), синхронну і похідну флуориметрію (фосфориметрію).

Крім того, виділяють люмінесцентний аналіз: прямий, непрямий, індикаторний і сортовий аналіз (сортування за інтенсивністю і кольором люмінесценції).

Різниця інтенсивностей (потужностей) падаючого потоку I_0 і потоку, що вийшов з проби I , витрачається на збудження частинок проби і виникнення люмінесценції ($I_{\text{л}}$). Якщо потоки I_0 і I мають певний напрям, то випромінювання проби $I_{\text{л}}$ поширюється в різних напрямках з однаковою ймовірністю.



Люмінесцентне випромінювання відрізняється від інших видів випромінювання, зокрема температурного, за такими ознаками:

- тривалістю світіння (час світіння після усунення джерела збудження), яка $\geq 10^{-10}$ с;

- нерівноважністю процесу, бо не пов'язаний з тепловою енергією системи. Люмінесціююча молекула після втрати енергії збудження при кімнатній температурі не може знову її отримати у разі зіткнення з незбудженими молекулами, тобто збуджений електронний стан молекули за звичайних умов не перебуває у рівновазі з теплотою системи і енергією руху частинок;

- для люмінесценції характерне явище гасіння світіння сторонніми речовинами.

У фотолюмінесценції частинки речовини, поглинаючи електромагнітне випромінювання УФ і видимого діапазону довжин хвиль, яке надходить ззовні, переходять в збуджений енергетичний стан. Збуджені частки досить швидко втрачають надлишкову енергію і переходять в основний стан. Такий перехід може відбуватися з випромінюванням фотонів люмінесценції або без випромінювання – шляхом передачі енергії оточуючим часткам у вигляді тепла. Таким чином, люмінесцентна частинка є **самостійним джерелом випромінювання**, що перетворює поглинену енергію збудження в власне випромінювання. Ця особливість люмінесценції відрізняє її від інших видів випромінювання – розсіювання та відбиття випромінювання, гальмівного випромінювання заряджених частинок (електромагнітне випромінювання заряджених частинок при зіткненні з іншими частинками) і т. д.

Повне визначення поняття люмінесценції дав С.М. Вавилов (радянський фізик, засновник наукової школи фізичної оптики у СРСР): “Люмінесценцією називається надлишок над температурним випромінюванням тіла в тому випадку, якщо це надлишкове випромінювання володіє тривалістю від 10^{-10} с і більше”. Тривалість люмінесценції різна: від мільярдних долей секунди (для окремих атомів і молекул) до годин і навіть декількох діб (для кристалофосфорів).

Люмінесціювати речовини можуть в будь-якому агрегатному стані, проте в практиці аналізу найчастіше застосовують люмінесценцію речовин у розчині.

Всі люмінесценціюючі речовини називаються **люмінофорами** (органічні – органолюмінофорами), ця здатність визначається хімічною структурою речовини. Органічні і неорганічні люмінофори суттєво відрізняються за природою світіння. У перших процеси поглинання світла збудження і випромінювання протікають в межах кожної люмінесціюючої молекули. У других в акті люмінесценції беруть участь не окремі атоми і молекули, а кристали (кристалофосфори).

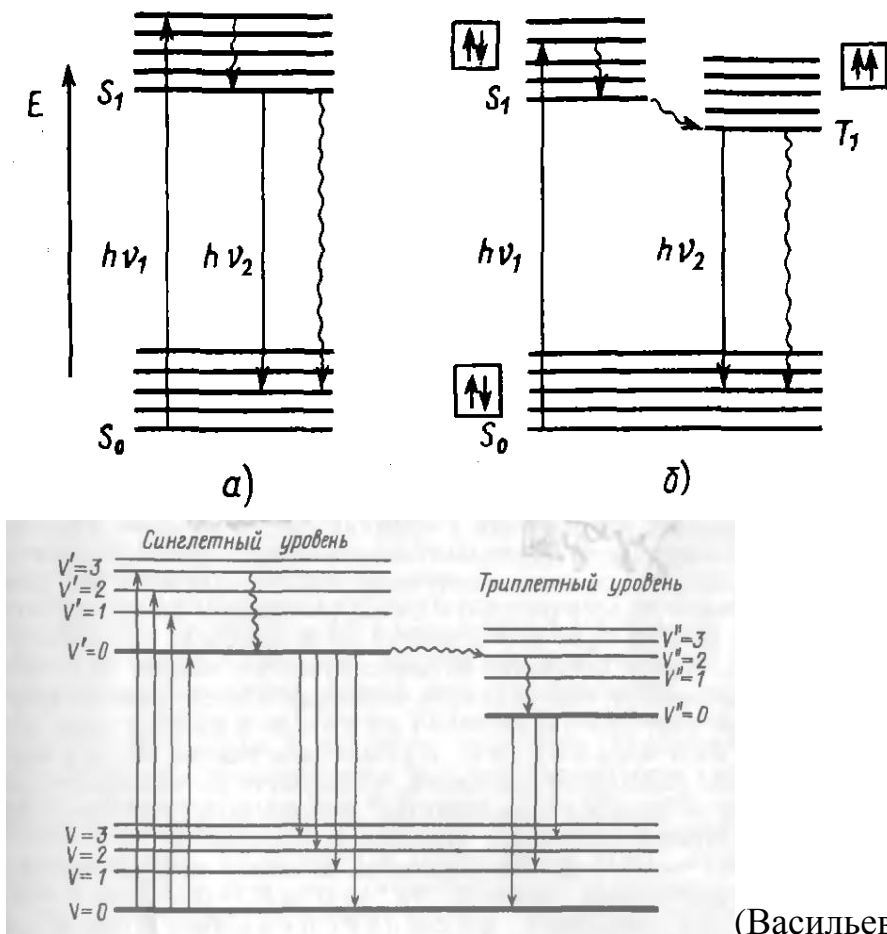
2. Механізм люмінесценції

Розглянемо детальніше механізм збудження молекулярної люмінесценції та її видів.

Отриману енергію молекула може втрачати різними шляхами, серед яких може бути і випромінювання відповідно до схеми:



Молекула, поглинаючи квант світла, переходить із основного стану S_0 у збуджений електронний стан, наприклад S_1 (рис. 2).



(Васильев)

Рис. 2. Схема енергетичних переходів молекули, яка ілюструє виникнення флуоресценції (а) і фосфоресценції (б) (схема Яблонського)

При кімнатній температурі молекула зазвичай знаходиться в основному коливальному стані. Переходячи у збуджений стан, молекула попадає на один з його коливальних рівнів.

Поглинання молекулою кванту енергії здійснюється за дуже короткий час (10^{-15} с), далі за $\sim 10^{-12}$ с відбувається перехід електрона на нижній коливальний рівень збудженого стану (рис. 2, а, коротка хвиляста стрілка). Цей процес називається **коливальною релаксацією**. Повернення молекули з нижнього коливального стану S_1 в незбуджений стан S_0 може відбутися 3 шляхами:

1) втрата молекулою енергії у вигляді тепла в результаті зіткнень з іншими частинками, (процес **внутрішньої конверсії**, зображений на рис. 2, а, довга хвиляста стрілка); вказані процеси втрати енергії (**внутрішня конверсія і коливальна релаксація**) протікають дуже швидко ($\sim 10^{-12}$ с), через що флуоресценція з більш високих станів, ніж S_1 , зустрічається рідко.

2) повернення молекули на будь-який коливальний підрівень основного стану з випусканням енергії у вигляді кванта світла без зміни спіна електрона (**флуоресценція**). Для молекул більшості органічних сполук при кімнатній температурі це поглинання відповідає переходу з нижнього

коливального рівня основного стану на один із коливальних рівнів першого або другого збудженого електронного стану тієї ж мультиплетності (S_1 , S_2).

3) перехід молекули із збудженого стану S_1 в метастабільний стан T_1 , а далі в основний S або в результаті внутрішньої конверсії з виділенням теплоти (рис. 2, б, довга хвиляста стрілка), або з виділенням кванта світла (**фосфоресценція**).

Явище фосфоресценції можна пояснити, згадавши про синглетний і триплетний стан молекул (мультиплетність – число, яке характеризує спіновий стан багатоелектронної системи). Відомо, що основний стан молекули – синглетний, в якому всі спіни електронів спарені (S_0). Найстійкішим станом більшості молекул є синглетний, тобто стан з сумарним спіном, рівним 0. В синглетному стані електрони, які займають одну і ту ж молекулярну орбіталь, антипаралельні: $\uparrow\downarrow$. Електронні переходи без зміни спіна називаються синглет-синглетними, наприклад, $S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$, $S_1 \rightarrow S_0$. Із них перші два переходи відбуваються при поглинанні світла, останній – при флуоресценції. Триплетний рівень молекули (T) характеризується двома неспареними електронами, тому він має меншу енергію порівняно з відповідним синглетним. В триплетному стані (T_1 , T_2 і ін.) спіни збудженого електрона і того, що залишився в основному стані, паралельні: $\uparrow\uparrow$. Сумарний спін дорівнює 1.

Поки молекула знаходиться у збудженому стані, у одного з електронів може змінитися спін, і молекула перейде в більш низький за енергією триплетний стан за допомогою **інтеркомбінаційної конверсії**. Завдяки процесам внутрішньої конверсії і коливальної релаксації молекула далі досягає нижнього коливального рівня першого збудженого триплетного стану (T_1). Звідси молекула може повернутися в основний стан S_0 через випускання фотона. Це випускання і називають **фосфоресценцією**.

Переходи між синглетним і триплетним станами, наприклад, $S_1 \rightarrow T_1$ (рис. 2, б) в принципі заборонені (за правилами відбору, згідно яких заборонені переходи із зміною спіна електрона). Час життя електрона в збудженому синглетному стані складає 10^{-8} - 10^{-5} с, а в триплетному – не менше 10^{-4} с. Таким чином, імовірність переходу між двома синглетними станами набагато вища, ніж між синглетним і триплетним. Прямий перехід з основного стану S_0 в триплетний в результаті поглинання фотона (тривалість цього процесу порядку 10^{-15} с) практично неможливий. Молекула може опинитися в триплетному стані тільки в результаті переходів електронів із збуджених синглетних станів.

Але такі переходи, які називаються, ще раз, **інтеркомбінаційною конверсією**, можуть здійснюватися в деяких умовах, наприклад, у присутності

важких атомів (наприклад, галогенів). Час життя триплетного стану досить великий ($10^{-3} - 10^{-2}$ с).

Молекули в триплетному стані легко втрачають свою енергію у процесах без випромінювання – дезактивуються з виділенням тепла. Дезактивація може відбутися при взаємодії молекули в триплетному стані з молекулами, які мають неспарені електрони (наприклад, з молекулами Оксигену), а також при зіткненнях з іншими частинками. Тому флуоресценція спостерігається набагато частіше за фосфоресценцію, особливо у рідких розчинах, де фосфоресценція зазвичай не спостерігається.

Фосфоресценція – процес триваліший, ніж флуоресценція. Тривалість процесу фосфоресценції становить від 10^{-3} до 10 с. Особливо тривалий світіння спостерігається в разі біоломінесценції. Для того, щоб виміряти фосфоресценцію, зразки заморожують, охолоджуючи їх до температури рідкого азоту (-196°C), при цьому процес зіткнення зводяться до мінімуму. Інтенсивна фосфоресценція спостерігається у органічних сполук в у скловидному стані, коли мінімальна дифузія. Тверді зразки, наприклад, неорганічні мінерали, також демонструють тривалу фосфоресценцію.

3. Характеристики люмінесценції

Найважливішими характеристиками фотолюмінесценції молекул речовин є їх спектри поглинання, збудження і люмінесценції.

Спектри поглинання молекул зумовлені електронними переходами з основного стану в збуджений, їх представляють у вигляді залежності величини поглинання від частоти (довжини хвилі). Величина поглинання може бути виражена пропусканням ($T, \%$), оптичною густиною (A) або коефіцієнтом молярного поглинання (ϵ). При поданні спектра поглинання у вигляді кривих $T, \% = f(\nu)$, $A = f(\nu)$ або $T, \% = f(\lambda)$, $A = f(\lambda)$ вказують товщину поглинаючого шару (l , см) і концентрацію речовини (c , моль / л).

Спектри люмінесценції зумовлені електронними переходами з збудженого стану в основний. Їх представляють у вигляді залежності інтенсивності люмінесценції (I) від частоти (довжини хвилі) випромінювання, що випускається. Він є індивідуальною характеристикою люмінесціуючої речовини і його використовують для ідентифікації. Форма і положення спектру не залежать від довжини хвилі збудження люмінесценції. Це зрозуміло, якщо згадати, що випромінювання завжди відбувається з нижчого коливального рівня першого збудженого стану незалежно від того, який квант поглинається молекулою і на який енергетичний рівень вона при цьому перейде. Форма спектра люмінесценції визначається природою молекули та внутрішніми взаємодіями в ній і практично не залежить від міжмолекулярної взаємодії.

Спектри збудження характеризують активне поглинання, що викликає люмінесценцію молекул речовин. Ці спектри представляють у вигляді залежності інтенсивності люмінесценції від частоти (довжини хвилі) випромінювання, що збуджує люмінесценцію. Спектр збудження за формою дуже схожий на спектр поглинання молекули, може відрізнитися від нього унаслідок інструментальних спотворень.

Розглянемо енергетику люмінесценції. Люмінесценція речовини виникає за рахунок поглинання нею енергії збудження. Однак в енергію люмінесценції перетворюється не вся поглинута енергія збудження – частина поглинутої енергії при фотолюмінесценції витрачається на переходи без випромінювання. Тобто, не всі поглинуті кванти світла $h\nu$ перетворюються в люмінесценцію. Тому енергія квантів, що випускаються, повинна бути менша за енергію квантів, що поглинаються.

Ефективність перетворення речовиною поглинутої енергії в енергію випромінювання відображають енергетичний (B_e) і квантовий ($B_{кв}$) виходи люмінесценції. **Енергетичний** вихід люмінесценції – це відношення випромінюваної енергії ($E_{люм}$) до поглинутої ($E_{погл}$):

$$B_e = \frac{E_{люм}}{E_{погл}} = \frac{N_{люм}}{N_{зб}} \cdot \frac{h\nu_{люм}}{h\nu_{зб}} = \frac{N_{люм}}{N_{зб}} \cdot \frac{\nu_{люм}}{\nu_{зб}}$$

де $N_{люм}$, $\nu_{люм}$, $N_{зб}$, $\nu_{зб}$ – кількість квантів, частота люмінесценції і кількість поглинутих квантів з відповідною частотою.

Квантовий вихід – відношення кількості квантів випромінювання до кількості поглинутих квантів:

$$B_{кв} = \frac{N_{люм}}{N_{зб}}$$

З двох останніх рівнянь одержуємо

$$B_e = B_{кв} \cdot \frac{\nu_{люм}}{\nu_{зб}},$$

або

$$B_e = B_{кв} \cdot \frac{\lambda_{зб}}{\lambda_{люм}}$$

Оскільки $\lambda_{зб} < \lambda_{люм}$, то очевидно, що квантовий вихід є частиною енергетичного.

Вихід люмінесценції є характеристичним параметром речовини при фіксованих умовах і значеннях зовнішніх параметрів. Знання величини виходу люмінесценції і впливу різних факторів на цю величину має дуже велике значення для люмінесцентного аналізу. Очевидно, що чим більший вихід

люмінесценції для якоїсь певної речовини, тим чутливіша аналітична реакція, яка основана на використанні випромінювання цієї речовини.

Важливою характеристикою люмінесценції є **тривалість світіння**. Вона являє собою середній проміжок часу, впродовж якого молекули люмінофора залишаються в збудженому стані. Вказану характеристику також називають середнім часом життя збудженого стану. Зазвичай час перебування молекул люмінофора в збудженому стані невелике і становить 10^{-10} - 10^{-7} с. Однак іноді вони можуть перебувати у збудженому стані значно більший проміжок часу – від 10^{-4} до 10^2 с.

4. Основні закони люмінесценції

1. Правило Каші стосується форми спектрів люмінесценції (флуоресценції, фосфоресценції) при збудженні їх випромінюванням різних довжин хвиль. Оскільки випускання квантів люмінесценції завжди відбувається з нижчого електронно-збудженого рівня молекули, спектр люмінесценції буде завжди одним і тим же незалежно від того, на якій енергетичний рівень потрапив електрон в результаті поглинання фотона. Це означає, що спектр люмінесценції **не залежить від довжини хвилі** збуджуючого випромінювання.

2. Закон Стокса–Ломмеля.

За відомим правилом Д. Стокса, встановленим ще в 19 ст., тобто до квантової теорії, на основі простих спостережень, енергія кванта люмінесценції завжди менша за енергію кванта збудження $h\nu_{\text{люм}} < h\nu_{\text{зб}}$, тобто лише частина поглинутої енергії перетворюється у випромінювання, решта витрачається на збільшення коливної енергії молекул, енергії теплового руху молекули, передачу іншим молекулам. Довжина хвилі люмінесцентного світла буде завжди більша, ніж довжина хвилі збуджуючого світла.

Проте експериментальні дослідження довели, що правило Стокса не завжди виконується, що є очевидним через часткове перекривання спектрів поглинання і люмінесценції.

Правило виконується лише у випадку простих молекул у газовій фазі. Загальніша закономірність, яка витримується завжди, відома як **закон Стокса–Ломмеля**: спектр люмінесценції загалом і його максимум зсунуті щодо спектра поглинання і його максимуму в довгохвильову ділянку (рис. 3). Це означає, що речовини, які поглинають УФ-світло, можуть люмінесценціювати будь-яким світлом, але речовини, люмінесценція яких збуджується, наприклад, синім світлом, не можуть світитися фіолетовим, а тільки зеленим, жовтим, червоним, тобто, розміщеним в більш довгохвильовій частині спектру.

Правило Стокса стосується окремої молекули і характеризує одиничний акт поглинання і випромінювання світла. Воно стверджує, що молекула не

може випромінити більших за енергією квантів за рахунок поглинання менших. Закон Стокса-Ломмеля, навпаки, розглядає поглинання і випромінювання світла всією сукупністю молекул, тому має статистичний характер. Наявність **антистоксової** ділянки (на рис. 3 – невеличка ділянка спектра, де смуги збудження і люмінесценції перекриваються) свідчить про те, що можлива нерівність $h\nu_{\text{люм}} > h\nu_{\text{зб}}$, тобто утворення більших за енергією квантів люмінесценції, яке можливе за рахунок комбінації наявної коливної енергії з поглинутими квантами.

Спектри поглинання і люмінесценції перетинаються в точці при ν_0 , яка відповідає збудженню електрона і випромінюванню кванта без втрат на переходи без випромінювання.

Відстань між максимумом спектра поглинання і максимумом спектра люмінесценції називається **стоксовим зміщенням**. Люмінофори характеризуються величиною стокового зміщення. Чим воно буде більше, тим більш надійне визначення речовини люмінесцентним методом.

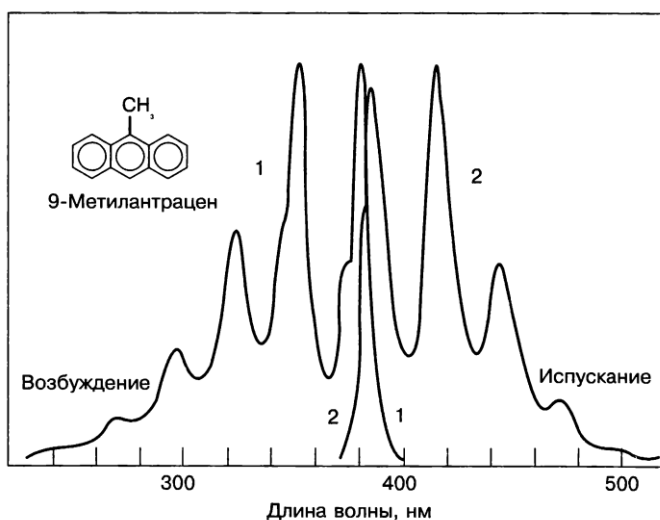


Рис. 3. Спектр збудження і випромінювання люмінесценціуючої молекули

3. Правило дзеркальної симетрії Льовшина.

За цим правилом нормовані (зведені до одного максимуму і подані у функції частот) спектри поглинання і люмінесценції дзеркально симетричні щодо прямої, проведеної через точку перетину спектрів перпендикулярно до осі частот (рис. 2.6). Це правило справджується для більшості молекул, особливо великих. Якщо виконується це правило, то правильне відношення

$$\nu_{\text{погл}} + \nu_{\text{люм}} = 2\nu_0,$$

тому

$$\nu_{\text{погл}} - \nu_{\text{люм}} = 2(\nu_{\text{погл}} - \nu_0).$$

$\nu_{\text{погл}}$ і $\nu_{\text{люм}}$ – частоти max поглинання і люмінесценції, ν_0 – частота в точці перетинання спектрів.

Графік залежності $(\nu_{\text{погл}} - \nu_{\text{люм}}) - \nu_{\text{погл}}$ повинен бути прямою з tg кута нахилу рівним 2.

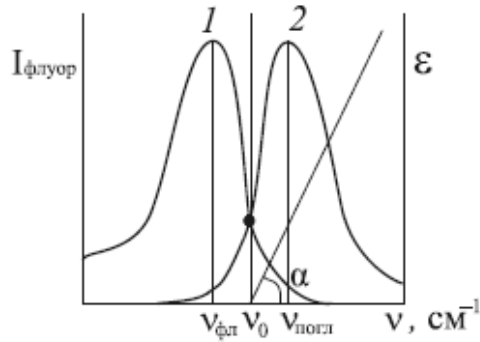


Рис.4. Дзеркальна симетрія спектрів люмінесценції (1) і поглинання (2)

Встановлена дзеркальна подібність спектрів поглинання і випромінювання для досить широкого ряду речовин. Ця симетрія проявляється для складних молекул і відсутня для простих молекул, що зв'язано, найімовірніше, зі значними внутрішньомолекулярними взаємодіями складних молекул. Збереження правила дзеркальної симетрії дозволяє побудувати спектр люмінесценції чи поглинання, маючи тільки один із них.

4. Закон Вавілова С.І.

Залежність між енергетичним виходом і довжиною хвилі збуджуючого потоку відома як закон Вавілова С.І., згідно з яким V_e спочатку зростає прямопропорційно до довжини хвилі збудження $\lambda_{зб}$ (I), залишається сталим на деякому інтервалі довжин хвиль і потім різко зменшується (II) (рис. 5):

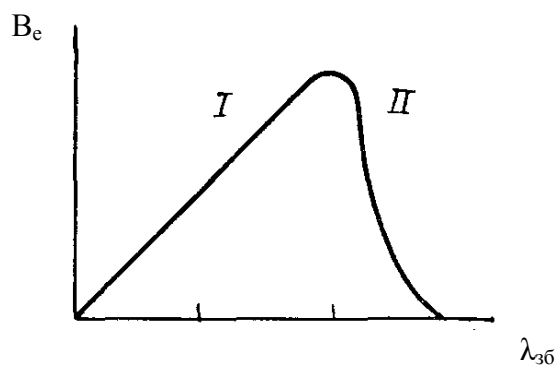


Рис. 5. Залежність енергетичного виходу від довжини хвилі збуджуючого потоку

У межах лінійної залежності V_e від $\lambda_{зб}$ правильне рівняння

$$V_e = k\lambda_{зб}$$

Отже, з закону випливає сталість величини квантового виходу в зазначених межах довжин хвиль. Справді, з останнього рівняння і рівняння

$$V_e = V_{кв} \cdot \frac{\lambda_{зб}}{\lambda_{лком}}$$

отримаємо

$$V_{\text{кв}} = V_e \cdot \frac{\lambda_{\text{люм}}}{\lambda_{\text{зб}}} = k \cdot \lambda_{\text{люм}},$$

де $\lambda_{\text{люм}}$ – довжина хвилі, що відповідає максимуму спектра люмінесценції.

Отож, враховуючи рівняння, у всьому спектральному діапазоні, де V_e пропорційний $\lambda_{\text{зб}}$, квантовий вихід є сталим (рис. 6), тобто в цьому діапазоні довжин хвиль збудження у випромінювання перетворюється та сама частка поглинутих квантів, незалежно від їхньої частоти. Цей важливий висновок з закону Вавілова стосується лише стоксової ділянки спектра; у разі переходу до антистоксової (ділянка перекривання спектрів) $V_{\text{кв}}$ різко зменшується.

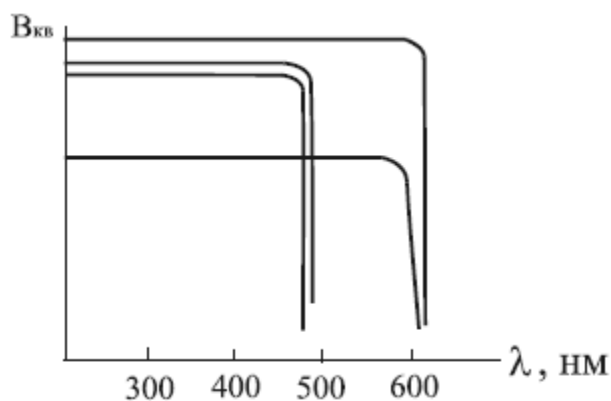


Рис. 6. Залежність $V_{\text{кв}}$ від $\lambda_{\text{зб}}$ для: родаміну, β -нафтолу, акридину, еккуліну.

Ця важлива закономірність пояснює, зокрема, важливу для практики особливість: спектр люмінесценції не залежить від того, якою ділянкою спектру збуджується люмінесценція дано речовини, тобто спектр люмінесценції залежить від набору енергетичних рівнів молекули і не залежить від того, які конкретно кванти світла були витрачені на перехід молекул у збуджений стан.

Якщо збудження молекули викликане УФ-випромінюванням, яке має більшу енергію кванта, ніж видиме, то надлишок енергії поглинутого кванта (відносно енергії випроміненого кванта) витрачається на внутрішньомолекулярні коливання, тобто перетворюється в теплову енергію. На практиці для отримання люмінесценції багатьох речовин найчастіше використовують УФ промені світла, тобто короткохвильове світло з більшою енергією кванта, так як це, хоча і менш вигідно енергетично, зате значно простіше в технічному виконанні.

5. Гасіння люмінесценції.

Проблема, з якою часто зустрічаються при використанні люмінесценції в кількісному аналізі полягає в її **гасінні** багатьма речовинами. Гасіння може бути зумовлене самою люмінесціуючою речовиною.

Гасінням називають зменшення інтенсивності люмінесценції чи квантового виходу люмінесценції. Це одна з ознак люмінесцентного випромінювання і може бути викликане різними причинами.

За природою гасіння розрізняють гасіння першого та другого роду.

Гасіння **першого роду** зумовлюють хімічні та фізико-хімічні процеси з **незбудженою** молекулою люмінесціуючої речовини – частина енергії збудження витрачається, наприклад, на іонізацію молекули чи збільшення її коливного чи обертального руху. Тривалість збудженого стану τ не змінюється, бо у збуджений стан переходить лише та частина молекул, яка не зазнала змін. Спектр люмінесценції за такого типу гасіння змінюється. Прикладом може бути “хімічне” гасіння, яке здебільшого залежить від рН розчину: анілін у межах рН 5–13 при збудженні світлом з $\lambda=290$ нм люмінесціює голубим світлом, тоді як катіон анілінію чи аніон аніліну не люмінесціують.

Гасіння другого роду відбуває відбувається тоді, коли зовнішньої дії зазнають збуджені молекули – під час хімічних реакцій збуджених молекул, передачі енергії на незбуджені молекули,. Величина τ в таких випадках змінюється.

За ознакою зміни чи сталості τ можна визначити природу гасіння.

Враховуючи процеси гасіння, розрізняють:

– **концентраційне** гасіння (концентрація люмінесціуючої речовини перевищує 10–5 г/мл). За наявності концентраційного гасіння змінюється не тільки інтенсивність (вона зменшується), а й спектр люмінесценції. Причин концентраційного гасіння може бути декілька (різної природи). Зокрема, зі збільшенням кількості молекул збільшується імовірність взаємодії між ними та з молекулами розчинника й утворення асоціатів, не здатних люмінесціювати. При високих концентраціях проявляється також **ефект внутрішнього фільтру**. При проходженні світла через розчин інтенсивність його падає. Відповідно, на молекули розчину, які знаходяться в кюветі ближче до джерела збудження, падає світло більшої інтенсивності, ніж на молекули в товщині шару. Оскільки інтенсивність люмінесценції залежить від інтенсивності падаючого світла I_0 , то в міру ослаблення потоку $I_{\text{л}}$ буде зменшуватися. При малій концентрації цей ефект непомітний, при великій – суттєвий;

– гасіння сторонніми речовинами: йонами важких атомів, перехідних металів – I^- , Br^- , NO_3^- , Cu^{2+} , Fe^{3+} , O_2 , SO_2 , SO_4^{2-} , гідрохіноном та ін. Наприклад, розчинний кисень як гасій другого роду полегшує перехід молекул ароматичних сполук $S_1 - T_1$, а з рівня T відбувається перехід без випромінювання;

– забарвлені сторонні речовини можуть гасити люмінесценцію через поглинання випромінювання забарвленим розчином. Природа такого виду

гасіння аналогічна до впливу великих концентрацій люмінесціюючої речовини (ефект “внутрішнього фільтра” або резонансне гасіння або). Наприклад, в розчині натрій карбонату калій дихромат має максимуми поглинання при 245 і 348 нм. Вони перекриваються зі смугами збудження (275 нм) і люмінесценції (350 нм) триптофана і заважають його визначенню;

– температурне гасіння, яке належить до гасіння другого роду, бо з підвищенням температури зменшується τ .

6. Якісний і кількісний люмінесцентний аналіз

Висока чутливість люмінесцентного методу дає змогу використовувати люмінесцентні реакції для виявлення речовин у різних об'єктах, причому використовують реакції різних типів. Для якісного аналізу іноді використовують **власну люмінесценцію речовин** – галогенідів Sb(III), Sn(II), Tl(I), In(III) і ін. Частіше користуються **реакціями утворення комплексних сполук**. Наприклад, мідь виявляють за яскравою синьою люмінесценцією її комплексу з саліцилалазином (межа виявлення 0,25 мкг в 5 мл розчину); берилій з морином утворює комплекс з яскравою зеленою люмінесценцією. Широко використовують комплекси металів з 8-оксихіноліном для виявлення Li, Mg, Sc, Al, In, Ga і ін.

В якісному аналізі можна використати **явище гасіння люмінесценції чи зміни її кольору**. Варто зазначити, що у багатьох випадках люмінесценцію можна спостерігати візуально залежно від складності об'єкта. Велике значення люмінесцентний якісний аналіз має в біології, фармакології, медицині, сільському господарстві, харчовій промисловості. Наприклад, якість насіння перевіряють за характером світіння – життєздатне насіння має жовте, нежиттєздатне – коричневе світіння. Свіже насіння гороху та квасолі люмінесціює голубим світлом, старе – не люмінесціює. Здорове насіння пшениці люмінесціює рівномірним синьо-голубуватим світлом, а пошкоджене паразитами – не люмінесціює.

Ефективним є якісний аналіз з використанням **кристалофосфорів** для виявлення домішок у чистих речовинах. Кристалофосфори на основі CaO виявляють домішки Se і Fe за червоною люмінесценцією, Tl (I) – за зеленою, Bi (III) – фіолетовою.

Кількісний люмінесцентний аналіз ґрунтується на залежності інтенсивності люмінесценції $I_{\text{л}}$ чи квантового виходу $V_{\text{кв}}$ від концентрації люмінесціюючої речовини. Кількість поглинутих речовиною квантів ($N_{\text{погл}}$) пропорційна різниці інтенсивності падаючого монохроматичного потоку I_0 та потоку, що вийшов з проби I_t :

$$N_{\text{погл}} = k(I_0 - I_t).$$

Інтенсивність люмінесценції залежить від кількості поглинутих квантів та квантового виходу світіння:

$$I_n = k'N_{\text{погл}}B_{\text{кв}} = kk'(I_0 - I_t) B_{\text{кв}}.$$

З основного закону світло поглинання:

$$I_t = I_0 10^{-\varepsilon cl},$$

де ε – молярний коефіцієнт світлопоглинання, $\text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$; c – концентрація речовини моль/л; l – товщина поглинаючого шару, см.

Комбінуючи останні два рівняння отримаємо:

$$I_n = k''I_0 B_{\text{кв}} (1 - 10^{-\varepsilon cl}).$$

Величини ε , l , k'' , I_0 , $B_{\text{кв}}$ – сталі, тому, об'єднавши їх у загальну сталу a , можна записати:

$$I_n = a \cdot C.$$

Стала a враховує те, що вимірюється лише частина випромінювання, яке рівномірно поширюється в усіх напрямках від центру світіння.

На практиці залежність справджується лише для малих концентрацій люмінесцентної речовини C .

Таким чином, інтенсивність люмінесценції прямо пропорційна концентрації для низьких концентрацій речовини – верхня межа концентрації розчину в люмінесцентному аналізі зазвичай не перевищує 10^{-3} - 10^{-4} моль/л.

При більш високих концентраціях інтенсивність люмінесценції із збільшенням концентрації може знижуватися (концентраційне гасіння). Причину можна пояснити так: в розбавленому розчині поглинуте випромінювання рівномірно розподіляється у всій товщині розчину, а в розчині з високою концентрацією більшу частину випромінювання поглинає перший шар розчину на шляху випромінювання. Тому рівняння справедливе, коли через розчин **проходить** основна частина випромінювання (більше 92 %).

7. Обладнання для проведення люмінесцентного аналізу.

Для вимірювання флуоресценції використовують **флуорометри** і **спектрофлуориметри**, для вимірювання фосфоресценції – фосфориметри. Розглянемо їхні основні вузли:

1. Джерела збудження. Для збудження люмінесценції використовують ртутні, ртутно-кварцеві, ксенонові, вольфрамгалогенідні лампи, які дають випромінювання у УФ- і видимій області.

2. Пристрої для виділення спектрального діапазону. Для вимірювання люмінесценції необхідно відділяти випромінювання, що випускається, від вихідного. Найпростіше це зробити, вимірюючи випромінювання люмінесценції під прямим кутом до вихідного випромінювання.

Випромінювання люмінесценції випускається у всіх напрямках, а вихідне випромінювання проходить прямо через розчин. В оптичних схемах приладів для вимірювання люмінесценції передбачено два таких пристрої. Один служить для виділення смуги випромінювання, яке збуджує речовину, другий – для виділення потрібної довжини хвилі (чи інтервала довжин хвиль) із спектру люмінесценції. В якості таких пристроїв використовують призмові і дифракційні монохроматори (в спектрофлуориметрах) і світлофільтри (в флуориметрах).

3. Детектори. Для детектування люмінесцентного випромінювання використовують фотоприймачі, які перетворюють світловий сигнал в електричний і лічильники фотонів.

Принципова схема флуориметрів. Схема найпростішого флуориметра, для якого необхідне джерело УФ-випромінювання, наведена на рис. 7.

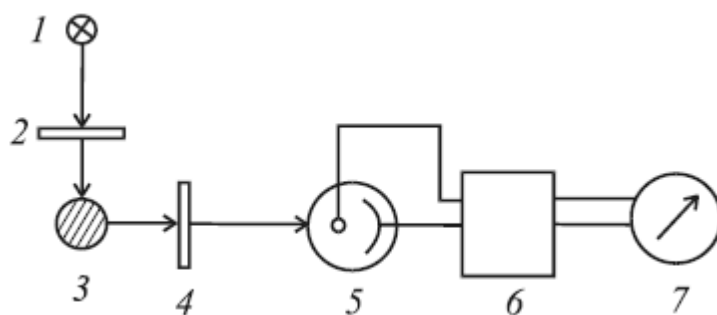


Рис. 7. Принципова схема простого флуориметра.

1 – джерело УФ-випромінювання; 2,4 – первинний і вторинний світлофільтри;
3 – кювета з пробєю; 5 – фотодетектор; 6 – підсилювач; 7 – реєстратор

В приладі джерело випромінювання, кювету з досліджуваним розчином і детектор розміщують найчастіше під прямим кутом до падаючого світла. Світло від ртутної лампи попадає на первинний світлофільтр, який пропускає випромінювання з довжинами хвиль збудження, і далі на кювету з досліджуваним розчином. Люмінесцентне випромінювання, яке випускається розчином, попадає на вторинний світлофільтр, який пропускає люмінесцентне випромінювання, і затримує розсіяне та збуджуюче випромінювання.

8. Застосування люмінесценції.

Люмінесцентний аналіз переважає молекулярну спектроскопію абсорбційну за чутливістю – за сприятливих умов (великі значення молярних коефіцієнтів поглинання ϵ_λ , виходів світіння та незначні впливи сторонніх речовин) можна досягнути межі виявлення на рівні пікограмів в 1 мл (10^{-12} г/мл) розчину. До високої чутливості можна додати і широкі інтервали

визначуваних вмістів (до чотирьох порядків) за задовільної точності визначення (від 10^{-7} до 10^{-4} М).

Висока чутливість люмінесцентного методу дає змогу використовувати люмінесцентні реакції для виявлення речовин у різних об'єктах, причому використовують реакції різних типів. Зазначені переваги люмінесцентного аналізу над молекулярною абсорбційною спектроскопією забезпечили прогрес цього методу аналізу за останній час в аналізі речовин високої чистоти, мікрровключень і малих поверхонь.

Люмінесценцію широко використовують для визначення малих концентрацій органічних речовин в об'єктах довкілля, біологічних середовищах, (наприклад, вітамінів, ліків, наркотиків) і т.п.

В неорганічному синтезі люмінесцентний аналіз використовують в основному для визначення рідкоземельних елементів, а також малих кількостей домішок в напівпровідникових матеріалах.

Велике значення має люмінесцентний якісний аналіз в біології, фармакології, медицині, сільському господарстві, харчовій промисловості.

Люмінесценцію часто спостерігають у повсякденному житті. Здатністю до люмінесценції володіють деякі види мікроорганізмів і форми комах та глибинних риб. На сонячному світлі люмінесціюють деякі тонізуючі напої (через добавки хініну); бензин, який містить поліциклічні ароматичні вуглеводні (нафталін, антрацен і ін.); деякі ліки та наркотики. Світяться деякі мінерали, руди (уранові).