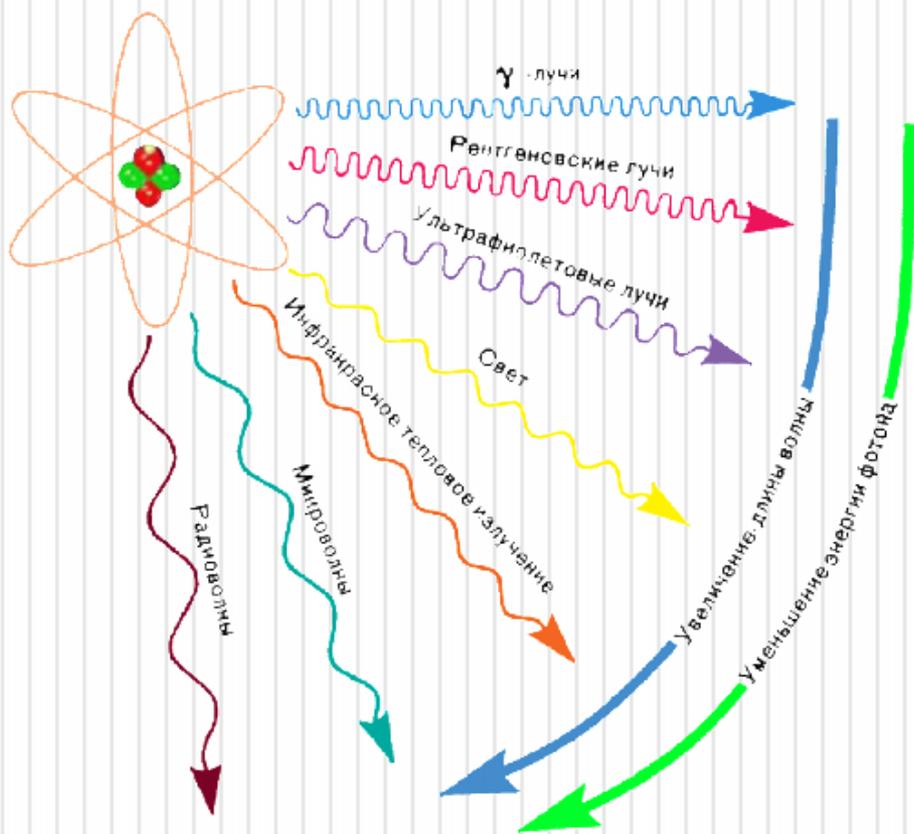


*Физико-
химические
методы
анализа*

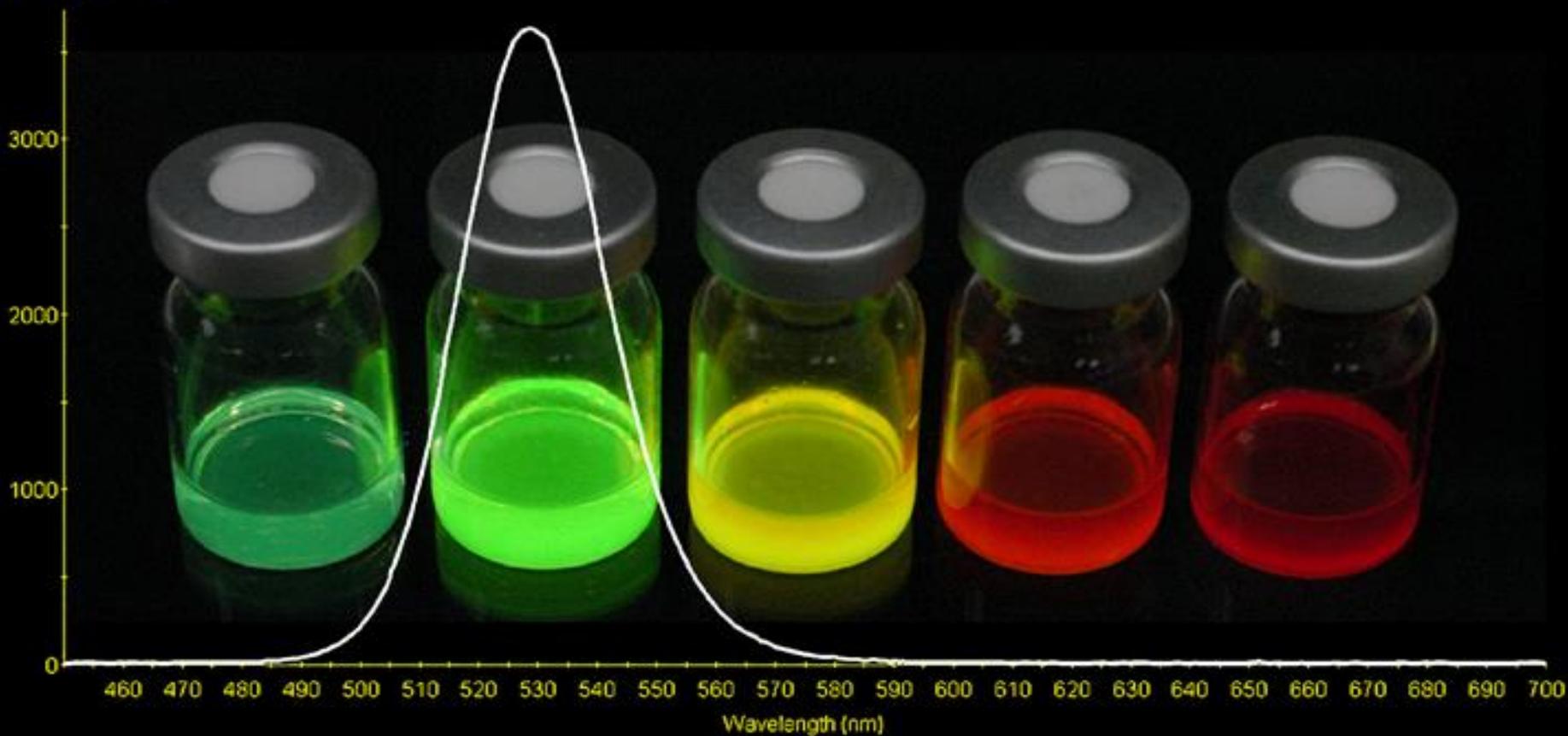
Люминесцентная спектроскопия



Что такое люминесценция

- * **Люминесценция** – свечение атомов, ионов, молекул, возникающее в результате электронного перехода в этих частицах при их возвращении из возбужденного состояния в нормальное. Таким образом молекула преобразует поглощенную энергию в собственное излучение (В.Л.Левшин)
- * Люминесценцию называют холодным свечением
- * Люминесцирующие вещества могут находиться в любом агрегатном состоянии

Intensity (counts)



Классификация видов люминесценции

- 1. По длительности свечения
- 2. По способу возбуждения
- 3. По механизму свечения:
 - свечение дискретных центров – поглощающими и излучающими центрами являются одни и те же частицы (атомы, молекулы, ионы)
 - рекомбинационное свечение – процессы поглощения и излучения разделены во времени и в пространстве; в процессе возбуждения происходит разделение частицы вещества на две противоположно заряженные части; последующая их рекомбинация сопровождается выделением энергии



1. Классификация люминесценции по длительности свечения

- **Флуоресценция** ($= 10^{-8}$ с)
 - При флуоресценции молекула переходит в основное состояние из короткоживущего возбужденного состояния
 - Она наблюдается сразу же после поглощения света, быстро спадает и исчезает в результате столкновений излучающей молекулы с другими молекулами в растворе (тушение флуоресценции)
- **Фосфоресценция** ($>10^{-6}$ с)
 - Фосфоресценция наблюдается при переходе молекулы в основное состояние из относительно долгоживущего возбужденного состояния, так что между поглощением и испусканием света может пройти относительно много времени
 - Для фосфоресценции характерны большая длина волны излучения, меньшая интенсивность и большее влияние матрицы

2. Классификация люминесценции по способам возбуждения

| | |
|--|-----------------------|
| Электромагнитное излучение УФ- и видимого диапазона | Фотолюминесценция |
| Поток электронов (катодные лучи) | Катодолюминесценция |
| Поток ионов щелочных металлов | Ионолюминесценция |
| Рентгеновское излучение | Рентгенолюминесценция |
| Радиоактивное излучение | Радиолюминесценция |
| Тепловая энергия | Термолюминесценция |
| Ультразвук | Сонолюминесценция |
| Механическое воздействие | Триболюминесценция |
| Энергия химической реакции | Хемилюминесценция |



В аналитической практике чаще используют фото- и хемилюминесценцию

- * Флуоресцентные измерения **более избирательны, чем спектрофотометрические**, поскольку зависят от двух длин волн: поглощаемого и испускаемого света
- * По сравнению с молекулярной абсорбционной спектроскопией метод обладает **большей чувствительностью**
 - * *(Это обусловлено тем, что метод относится к силовым, в котором выходной сигнал увеличивается с увеличением интенсивности излучения)*
- * **Пределы обнаружения для большинства соединений составляют $\sim 10^{-3}$ мкг/мл**, что на 1-2 порядка ниже, чем в абсорбционной спектроскопии

- 
- * Кроме того, в ряде случаев наблюдается **большой линейный диапазон определяемых содержаний** – иногда до 4-х порядков величин концентраций
(при той же воспроизводимости результатов анализа)

Все это предопределило развитие люминесцентного метода анализа

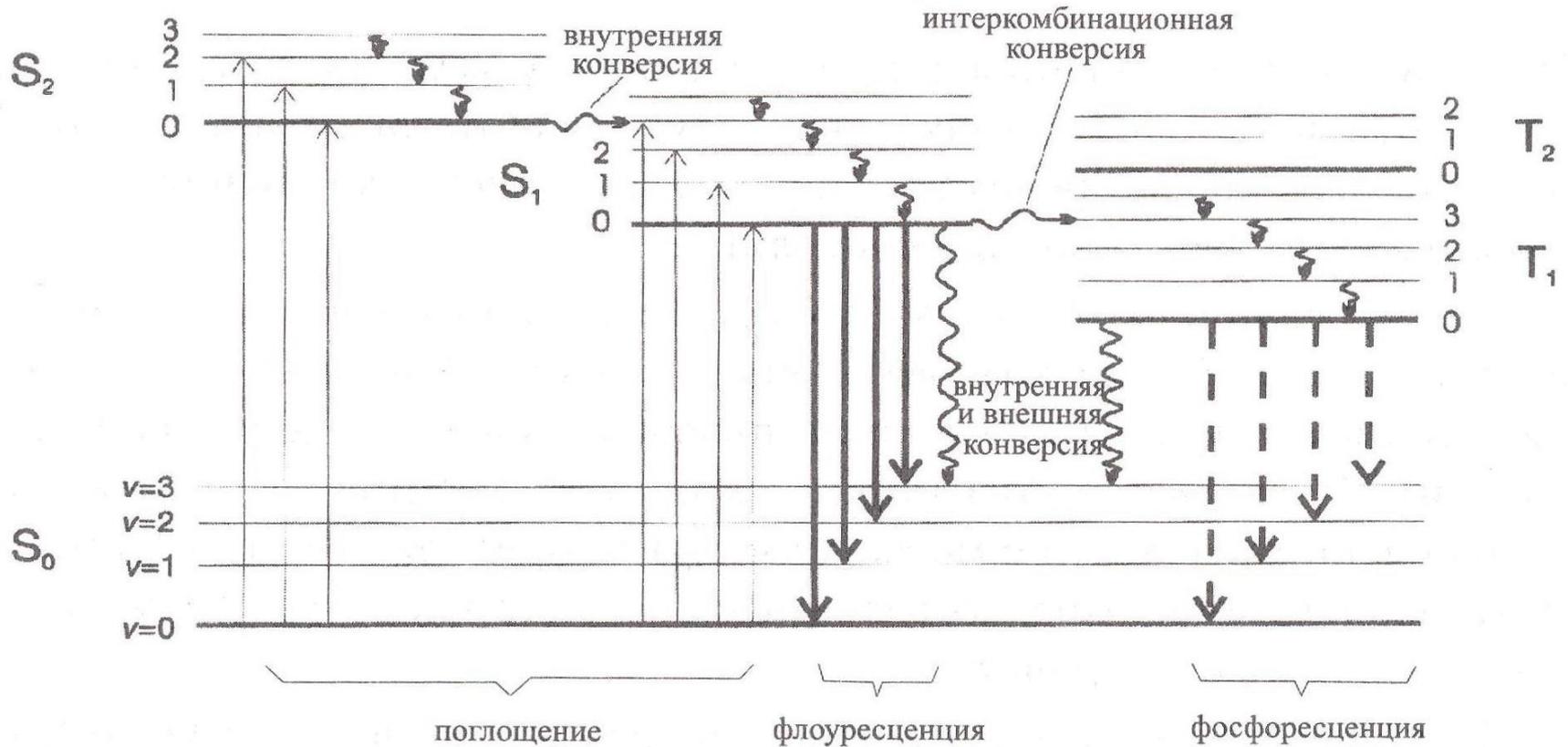
Молекулярная люминесцентная спектроскопия (флуориметрия)

Фотопроцессы в молекулах

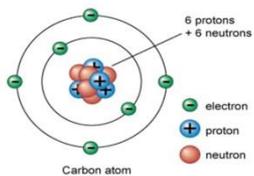
- * Электронное возбуждение молекулы связано с переходом электрона из основного состояния в возбужденное с большей энергией
- * Возбужденные молекулы переходят в основное состояние, **часто испуская свет**
- * Конкурирующие физические процессы могут приводить к образованию нового возбужденного состояния, при этом общая потеря электронной энергии несколько задерживается
- * В конечном счете все же происходит быстрый переход всех возбужденных состояний в основное состояние системы

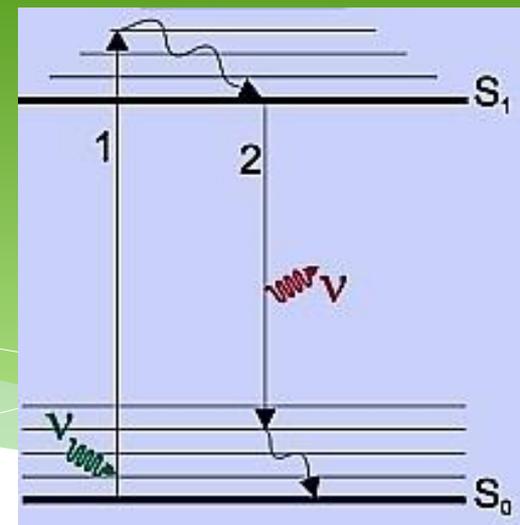
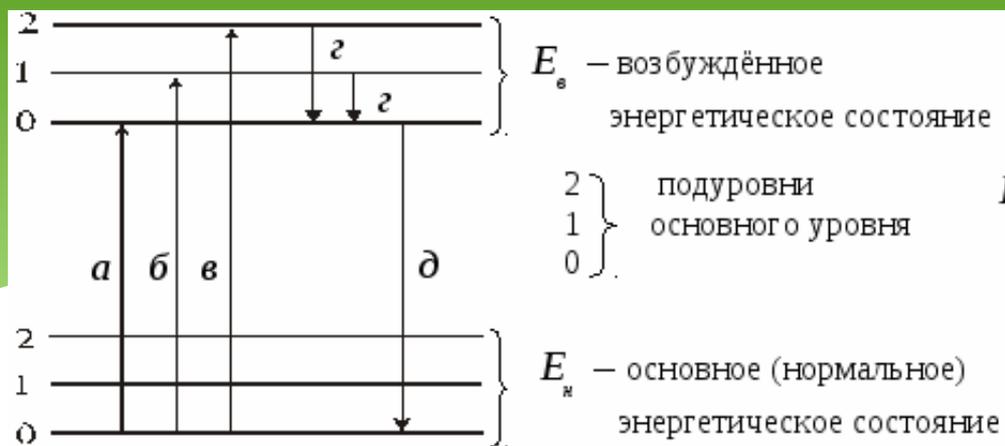
- * Происхождение люминесцентного излучения поясняется диаграммой Яблонского

Диаграмма Яблонского



Строение атома





Перераспределение электронов после поглощения света при флюоресценции происходит в очень короткий период времени ($10^{-8} - 10^{-9}$) с.

Переходы «г» соответствуют процессу колебательной дезактивации молекул и происходят во время столкновения с молекулами других веществ или растворителями. Они не сопровождаются излучением лучистой энергии.

С выделением лучистой энергии происходит только переход «д». При этом энергия переходов:

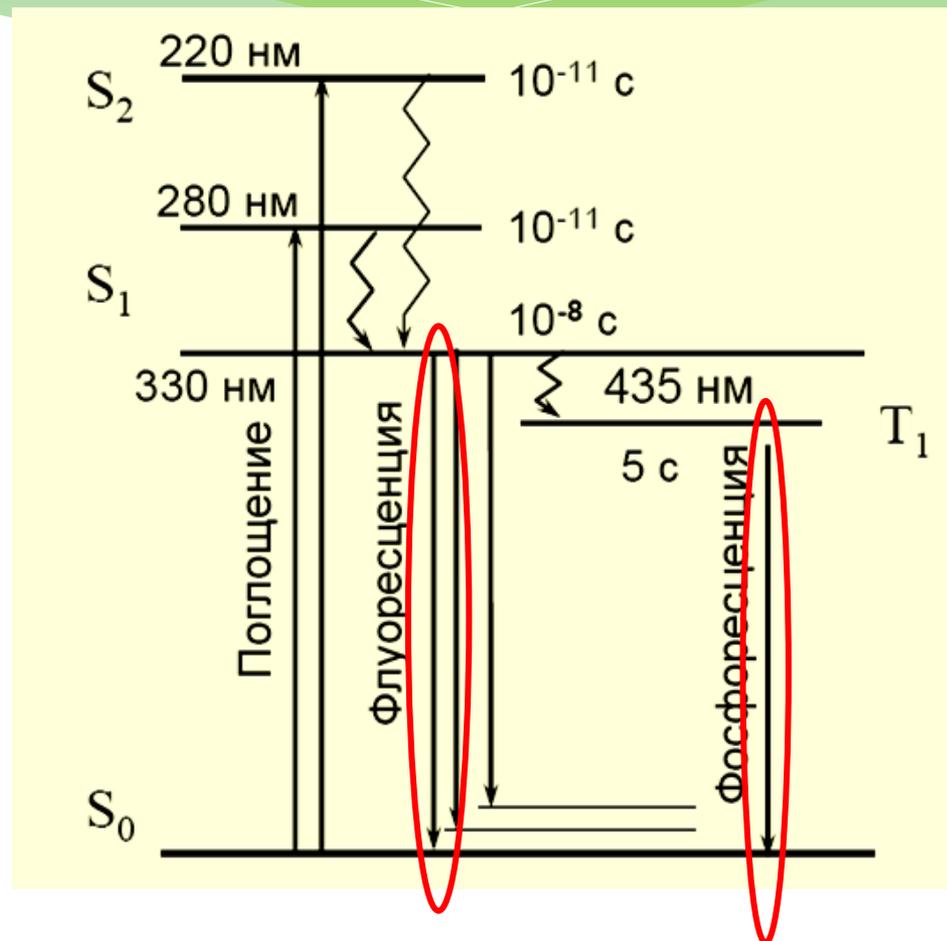
$$E_d = h(\nu_s^0 - \nu_n^0)$$

$$E_d = E_a < E_b < E_v,$$

Основные закономерности молекулярной люминесценции

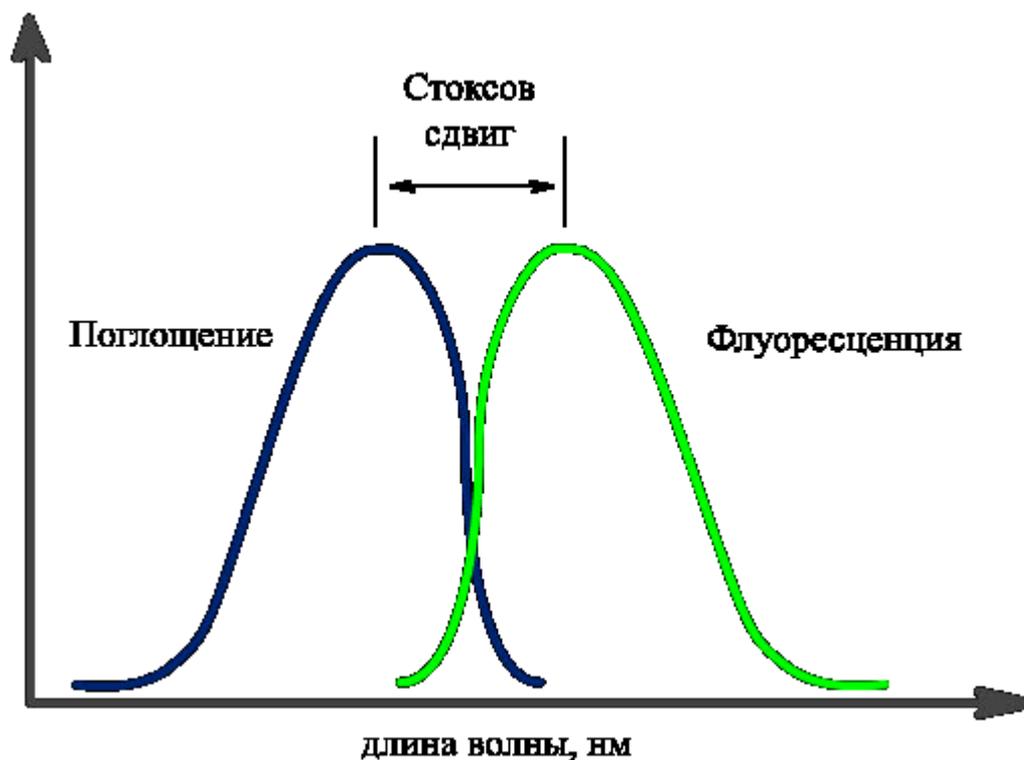
- * **Правило Каши:** форма спектра люминесценции не зависит от длины волны возбуждающего света, т.к. **излучательный переход может происходить только с самого нижнего колебательного уровня**

спектр люминесценции всегда будет одним и тем же независимо от того, на какой энергетический уровень попал электрон в результате поглощения фотона



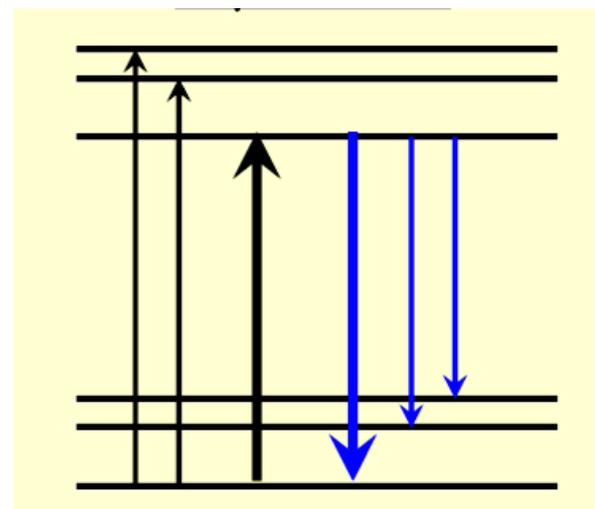
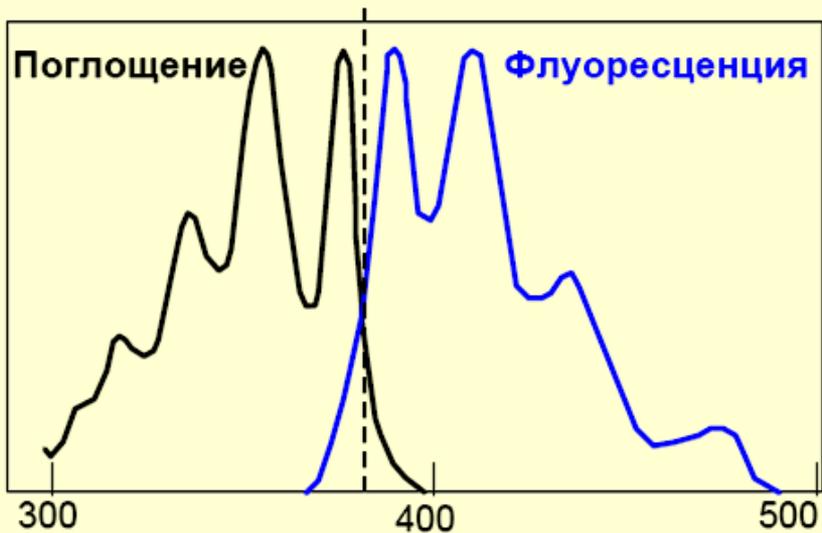
Закон Стокса-Ломмеля

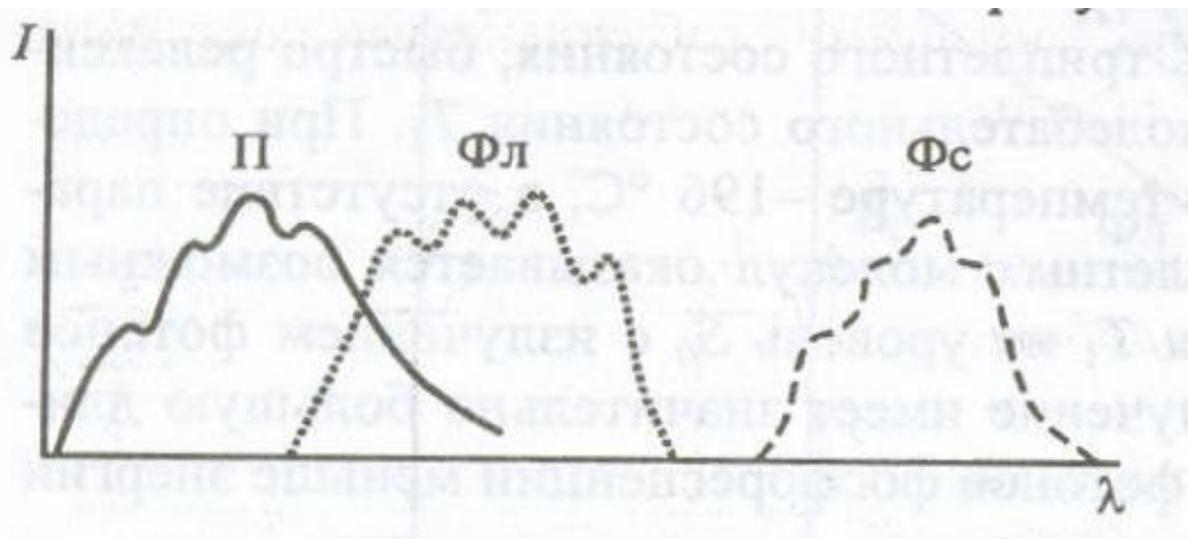
- * Энергия испускаемого фотона ниже, чем энергия поглощенного фотона, поэтому спектр флуоресценции молекулы находится в области более длинных волн по сравнению со спектром поглощения -



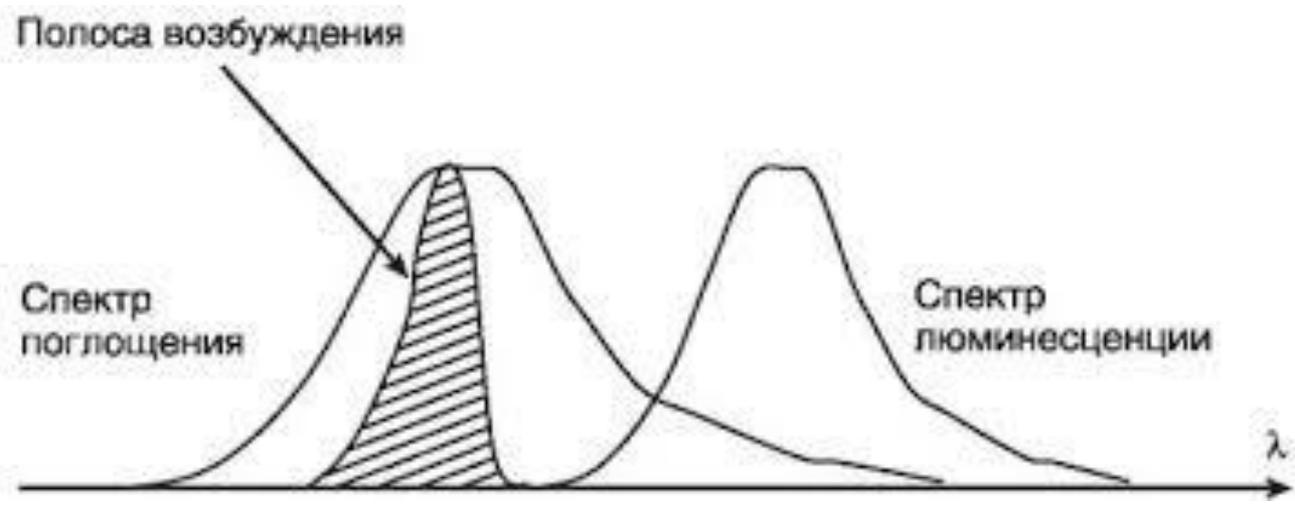
Правило Левшина

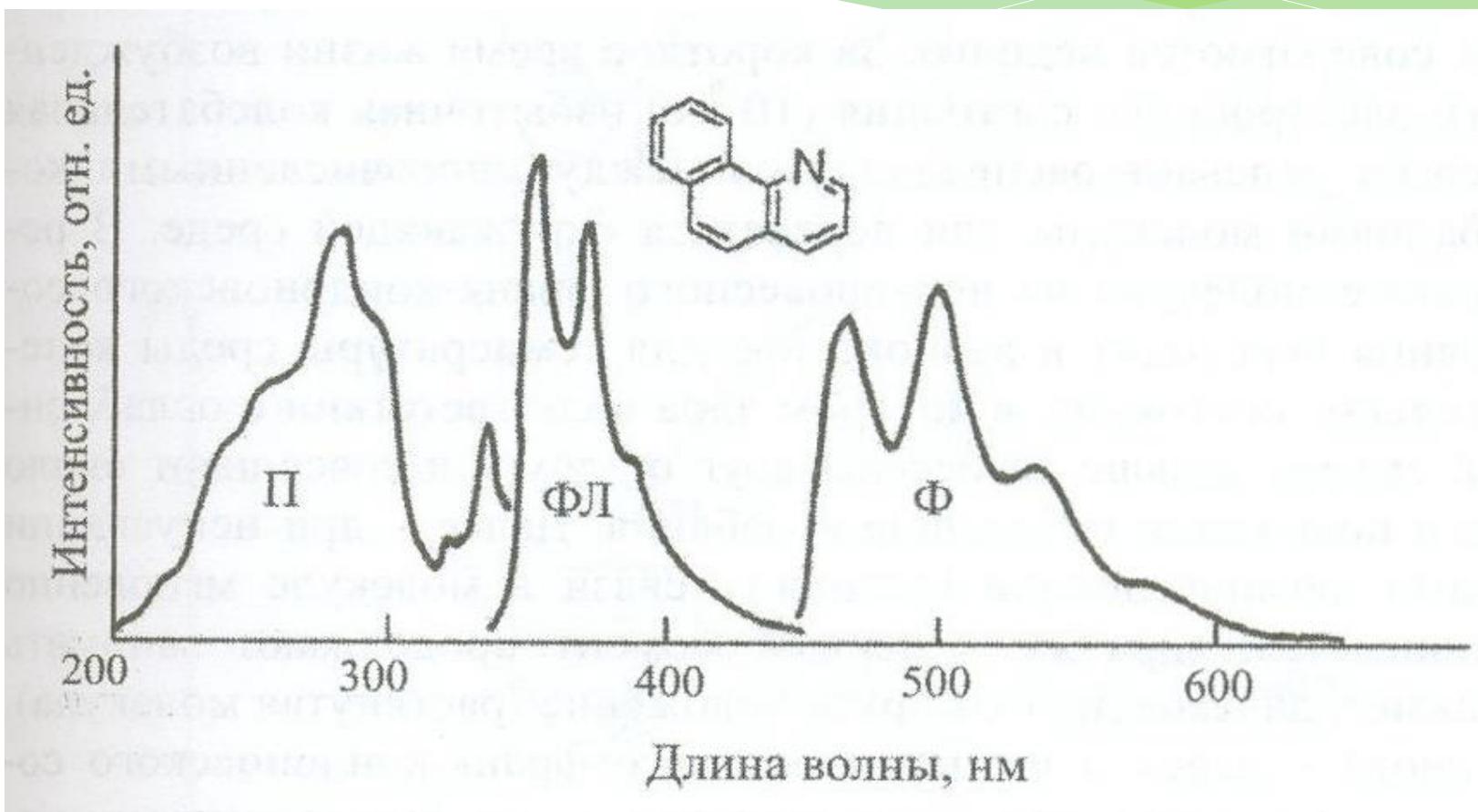
- * **спектры поглощения и флуоресценции зеркально симметричны**, поскольку структура колебательных подуровней одинакова в основном и возбужденном состояниях



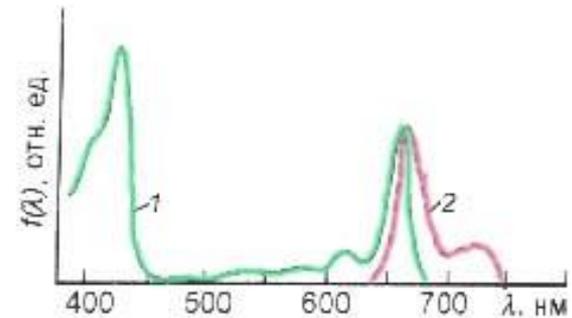
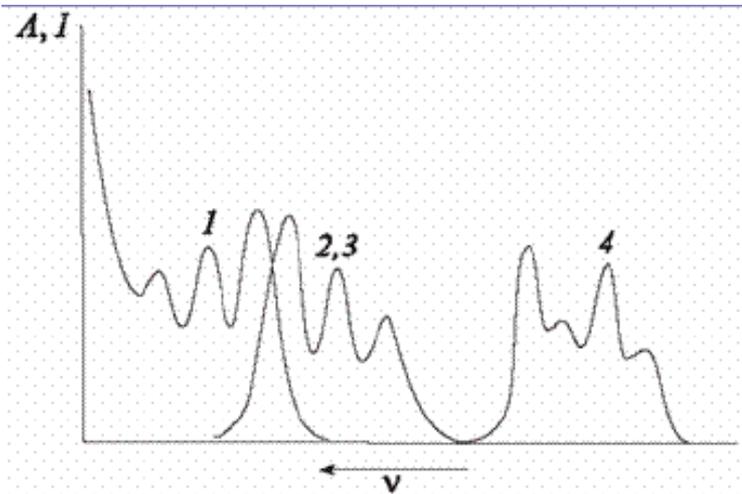


Спектр фосфоресценции в соответствии с диаграммой Яблонского лежит в области более длинных волн, чем спектр флуоресценции





Относительное расположение спектров



- поглощения (1)
- флуоресценции (2)
- замедленной флуоресценции (3)
- фосфоресценции (4)
- координаты: $A = f(\nu) - 1$; $I = f(\nu) - 2, 3, 4$

Характеристики люминесцирующих молекул

1. **Спектр возбуждения люминесценции** - зависимости интенсивности люминесценции I от частоты (волнового числа) или длины волны возбуждающего света
2. **Спектр люминесценции** - зависимость интенсивности люминесценции от ее длины волны $I = f(\lambda); I = f(\nu)$
3. **Время жизни люминесценции** – время, за которое интенсивность излучения уменьшится в e раз, поскольку затухание люминесценции происходит по закону:

$$I_t = I_0 e^{-t/\tau}$$

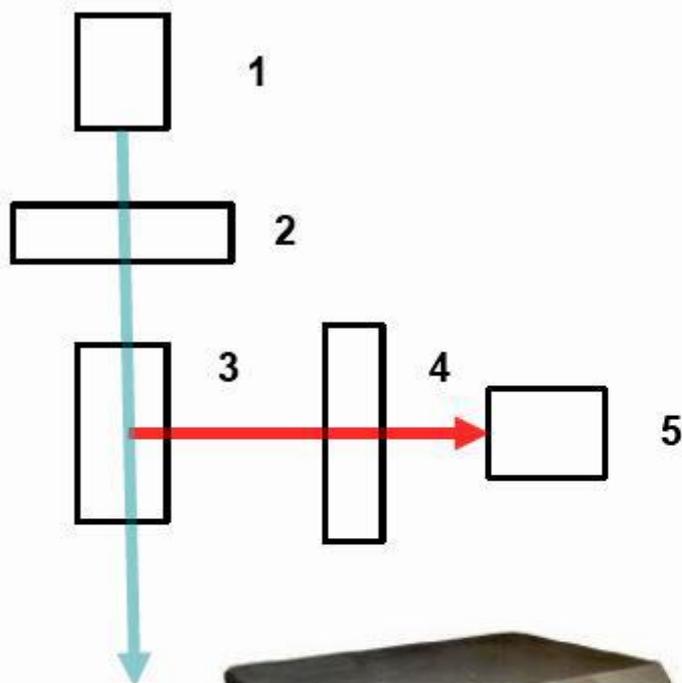
4. **Энергетический выход люминесценции $B_{эн}$** - отношение излучаемой энергии к поглощенной

$$B_{эн} = \frac{E_{ФЛ}}{E_{погл}}$$

5. **Квантовый выход $B_{кв}$** - отношение числа излучаемых квантов к числу поглощенных квантов светового потока

$$B_{кв} = \frac{N_{ФЛ}}{N_{погл}}$$

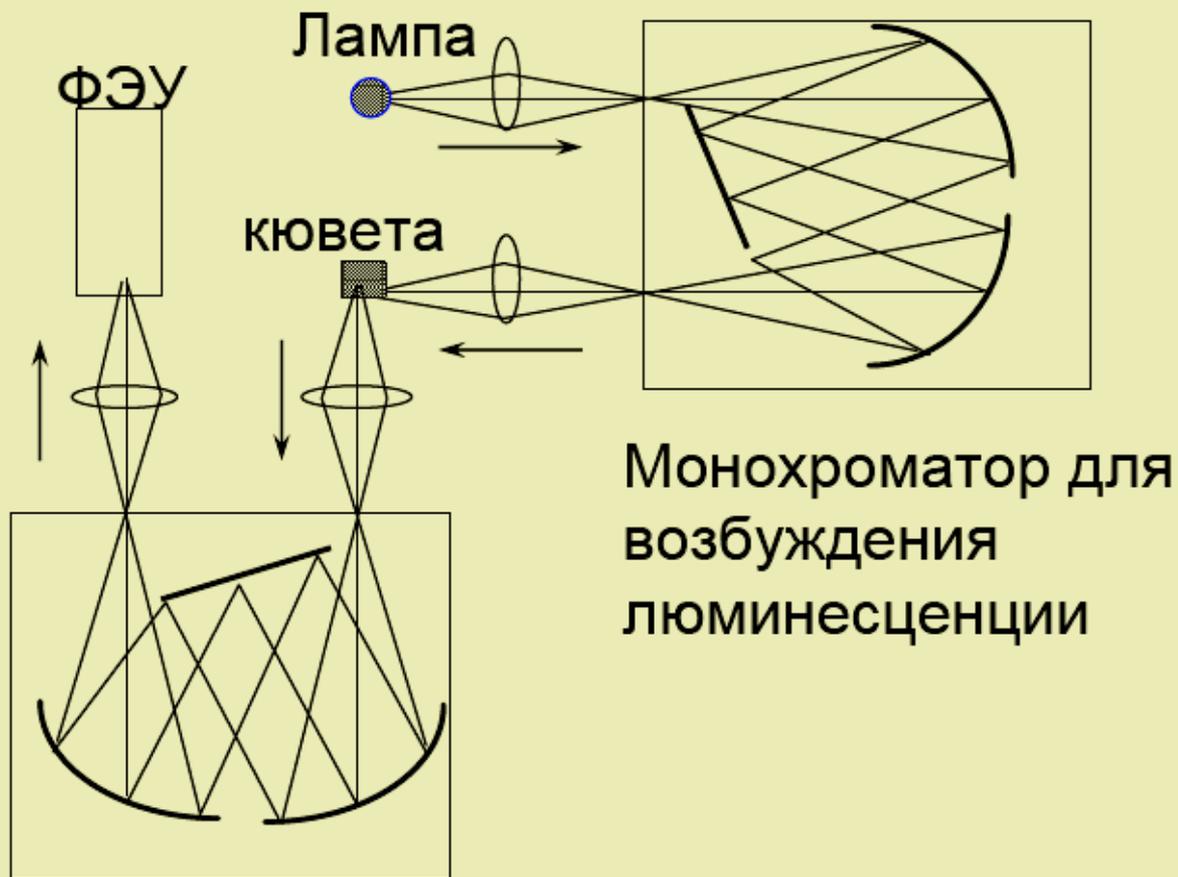
Измерения в люминесценции



- 1 – источник излучения
- 2 – фильтр (монокроматор) для возбуждающего излучения
- 3 – кювета (стекло)
- 4 – фильтр (монокроматор) для люминесценции
- 5 - фотоприемник



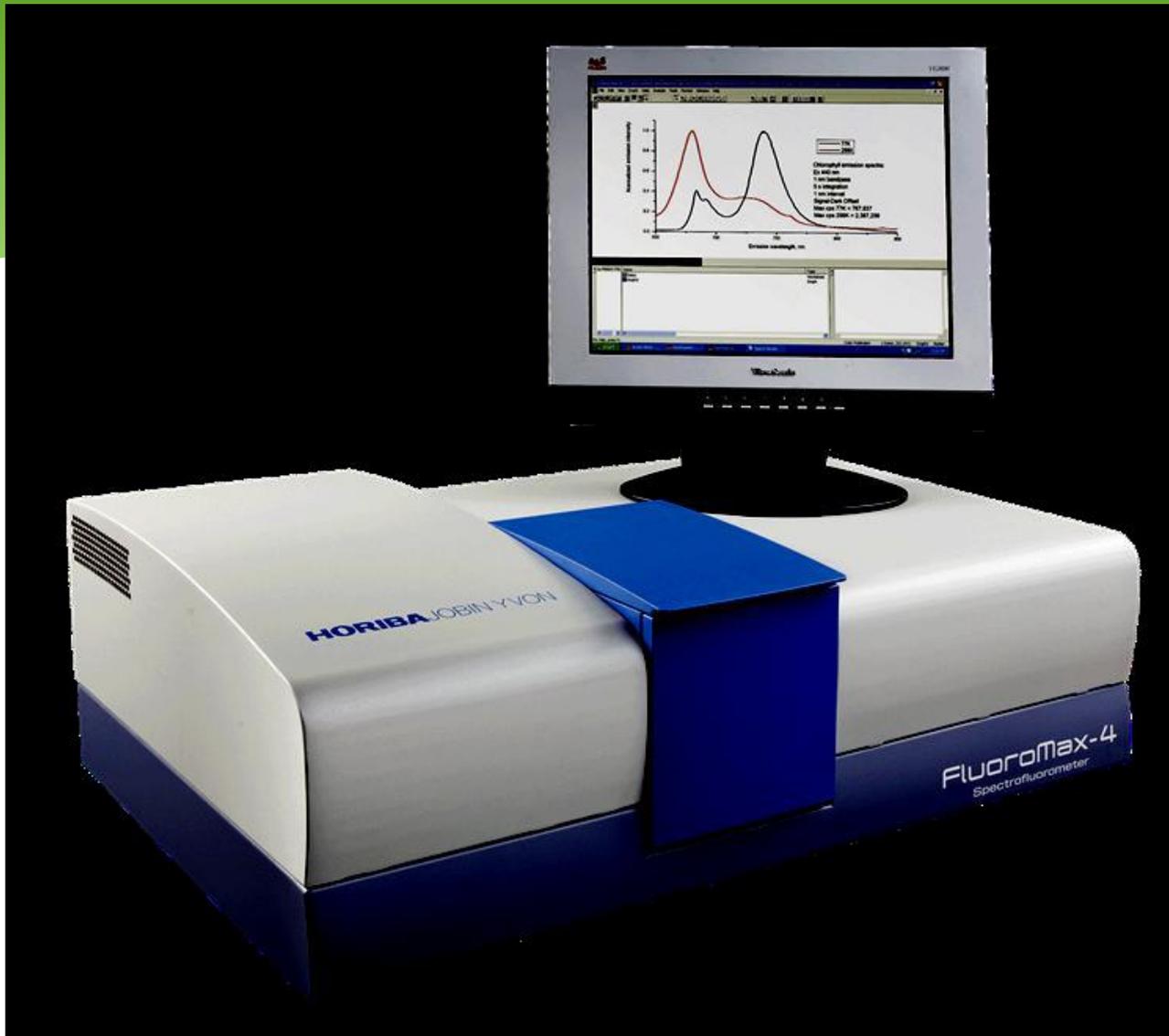
Схема спектрофлуориметра



Монохроматор для
возбуждения
люминесценции

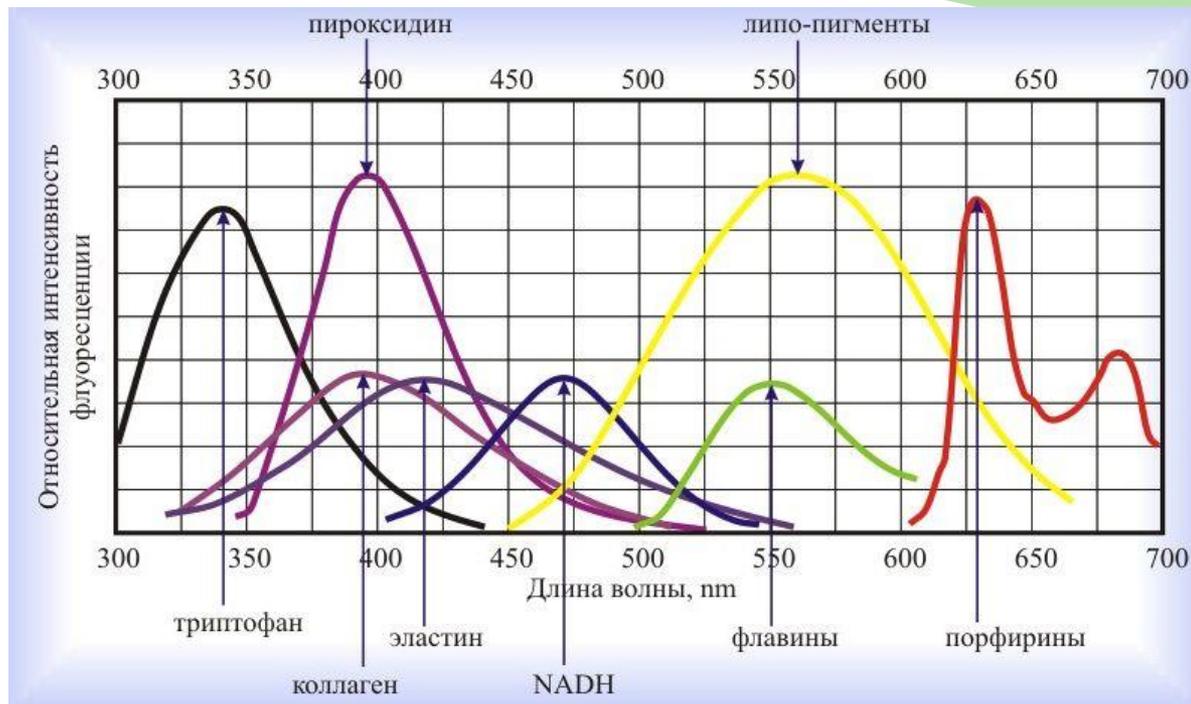
Монохроматор для
измерения спектра
люминесценции

- * Для возбуждения люминесценции используется УФ-излучение. **Источники излучения** – газоразрядные лампы, чаще всего ртутно-кварцевые и ксеноновые
- * Измерение люминесцентного излучения чаще всего проводят под прямым углом к падающему лучу света, поэтому **кюветы должны быть прозрачны** во всех направлениях
- * Высококачественный прибор имеет 2 **монохроматора** – для регистрации спектра возбуждения и флуоресценции
- * **Приемником излучения** может служить глаз человека. В современных приборах используются фотоумножители (ФЭУ)
- * Для регистрации **фосфоресценции** необходимо устройство для охлаждения пробы и механический или электронный прерыватель, позволяющий облучать пробу короткими импульсами и тем самым отделять длительную фосфоресценцию от кратковременной флуоресценции



Спектрофлуориметр фирмы Horiba FluoroMax - 4

Качественный анализ



Идентификация веществ происходит в области минимального пересечения длин волн

Использование качественного анализа весьма ограничено вследствие накладывания спектров люминесцирующих веществ друг на друга

Качественный анализ

1. Спектр люминесценции есть индивидуальная характеристика люминесцирующего вещества. Спектры могут быть использованы для качественного люминесцентного анализа. Обычно такой анализ проводится визуально по цвету излучения.
 - * Качественный люминесцентный анализ применяют для исследования минералов, определения марок стёкол, сортов смазочных масел и т.п.
2. Очень чувствительны качественные **люминесцентные реакции**, используемые для обнаружения ионов
3. Возникновение или исчезновение люминесценции обычно наблюдается визуально при добавлении органических реагентов к растворам неорганических солей
 - * Так, ярко-зеленая люминесценция лития с 8-оксихинолином возникает в присутствии 0,1 мкг/мл Li,
 - * медь открывают по ярко синей люминесценции ее соединения с салицилалазином при концентрации 0,05 мкг/мл и т.д.

Количественный анализ

В основе количественного анализа лежит зависимость интенсивности люминесценции от концентрации люминесцирующего вещества

$$I_{\text{фл}} = K \cdot I_0 \cdot B_{\text{кв}} \cdot \varepsilon \cdot c \cdot l$$

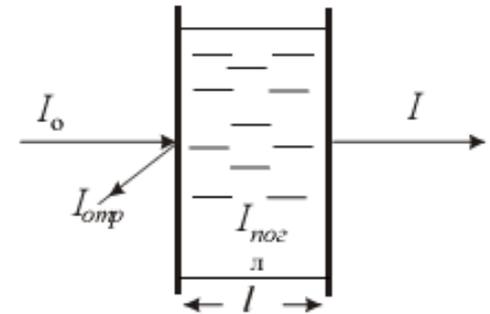
где K – коэффициент пропорциональности

$B_{\text{кв}}$ – квантовый выход люминесценции

I_0 – интенсивность возбуждающего света

ε – молярный коэффициент поглощения

l – толщина слоя раствора



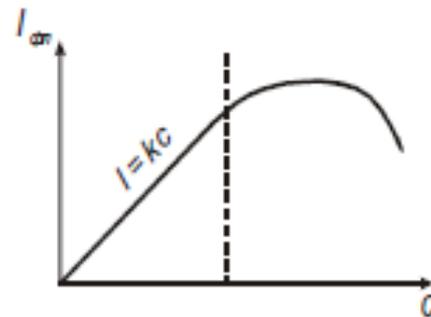
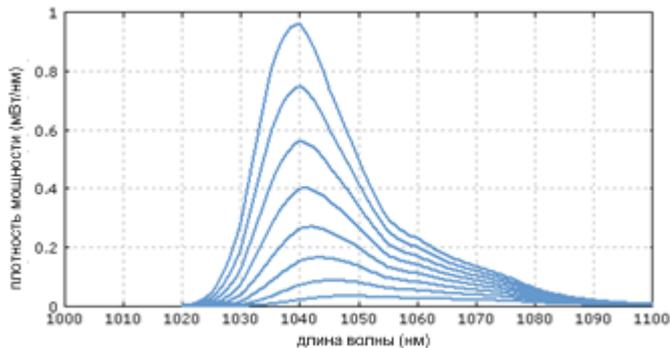
Это соотношение справедливо, если постоянны:

квантовый выход

интенсивность возбуждающего света

$$I = K \cdot c$$

- * Зависимость линейна в пределах 3-4 порядков величин концентрации (10^{-7} - 10^{-4} М)



- * При концентрациях $>10^{-4}$ М линейность графика нарушается из-за **концентрационного тушения люминесценции**, **самопоглощения** и др.

Факторы, влияющие на выход люминесценции

- * **Тушение** люминесценции происходит при столкновении возбужденной молекулы с другими, особенно парамагнитными (растворенный кислород), которые стимулируют процессы интеркомбинационной конверсии
- * **Повышение температуры** уменьшает выход люминесценции. Это связано с тем, что возрастает частота соударений, при которых происходит безызлучательная дезактивация возбужденных молекул. Поэтому определения проводятся, как правило, при комнатной температуре
- * **Присутствие посторонних веществ** также понижает выход люминесценции. Наиболее активные тушители люминесценции - катионы и анионы «тяжелых» элементов (I⁻, Br⁻, Cs⁺ и др.), парамагнитные ионы и молекулы (Mn²⁺, O₂ и др.), молекулы растворителя
- * **Самопоглощение** – состоит в поглощении части испускаемого света слоем люминесцирующего вещества

Применение метода

Число флуоресцирующих веществ ограничено.

Метод применим для определения :

- 1. веществ**, обладающих **собственной люминесценцией** (соединения U(VI), особенно уранил-иона UO^{2+} , РЗЭ и др.)
- 2. ионов металлов** в виде комплексов с органическими реагентами:
 - * δ -оксихинолин и его производные (более 25 элементов, в т.ч. Li, Ca, Mg, Ba, Sc, Al, In, Ga)
 - * оксиазо- и оксиазометиновые соединения (Al, Ga, Mg и др.)
 - * полиоксифлавоны (Zr, Hf, Sn, Th, Al, Be)
 - * родаминовые красители (Au, In, Ga, Hg, B, Te и др.)
- 3. органических веществ** - конденсированных полиароматических систем (антрацен, флуорен, флуоресцеин, ...)
- 4. кристаллофосфоров** или твёрдых растворов. Обычно их получают спеканием основного вещества (ZnS, CdS, CaS, SrS и др.) с активатором (соединения Ag, Cu, Mn, Se и др.) и плавнем (NaCl, $NaNO_3$, KCl, CaF_2 и др.).

- * Кристаллофосфоры обозначают химическими символами основного вещества, образующего кристаллическую структуру активатора и плавня. Например, запись $ZnS \times Ag \times NaCl$ означает, что данный кристаллофосфор представляет собой сульфид цинка, активированный атомами серебра, и при синтезе его использован плавень — хлорид натрия
- * В некоторых случаях кристаллофосфор удается получить сокристаллизацией активатора и основного вещества из насыщенного раствора последнего. Спектр люминесценции кристаллофосфора определяется типом активатора

- Например, уран в количестве 10^{-5} мкг можно определить с применением кристаллофосфора на основе NaF , сурьму в количестве 10^{-6} мкг – на основе CaO , редкоземельные элементы в количестве 10^{-6} мкг – на основе ThO_2

Чувствительность определения сопоставима , а иногда и превосходит атомно-спектроскопические методы:

селективность не очень высока

Флуориметрические определения

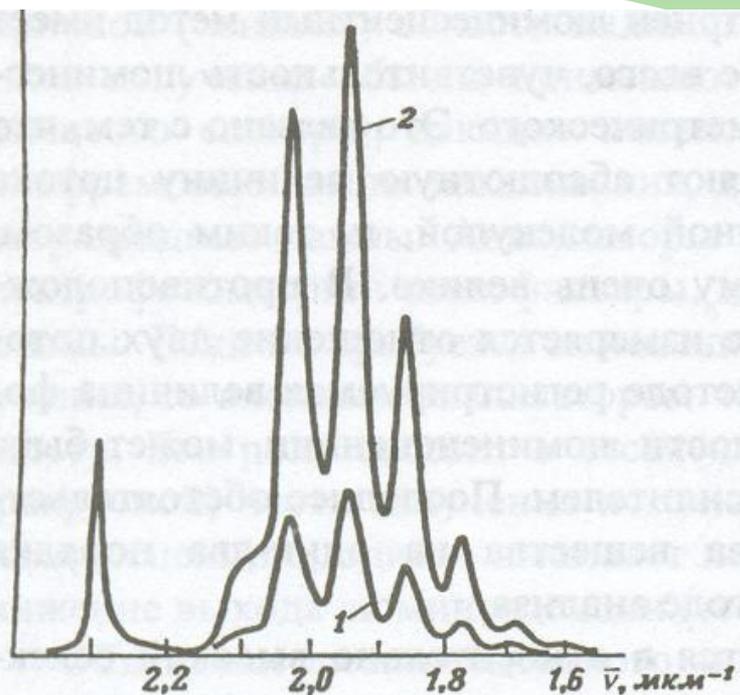


Рис. 11.62. Спектры люминесценции уранил-иона в H_2SO_4 ($c_{\text{H}_2\text{SO}_4}$, М):

1 — 0,05; 2 — 2,5

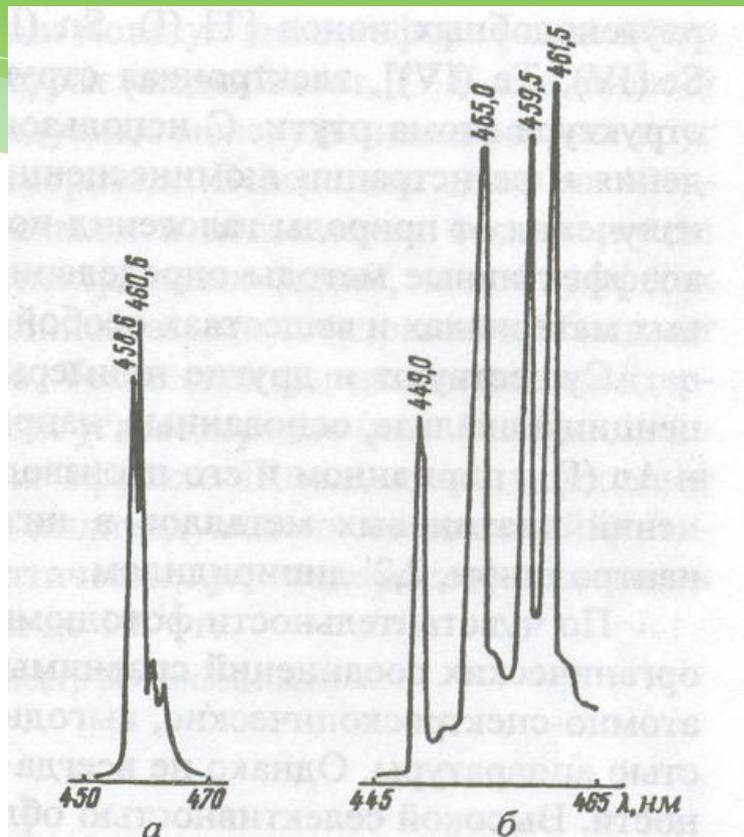
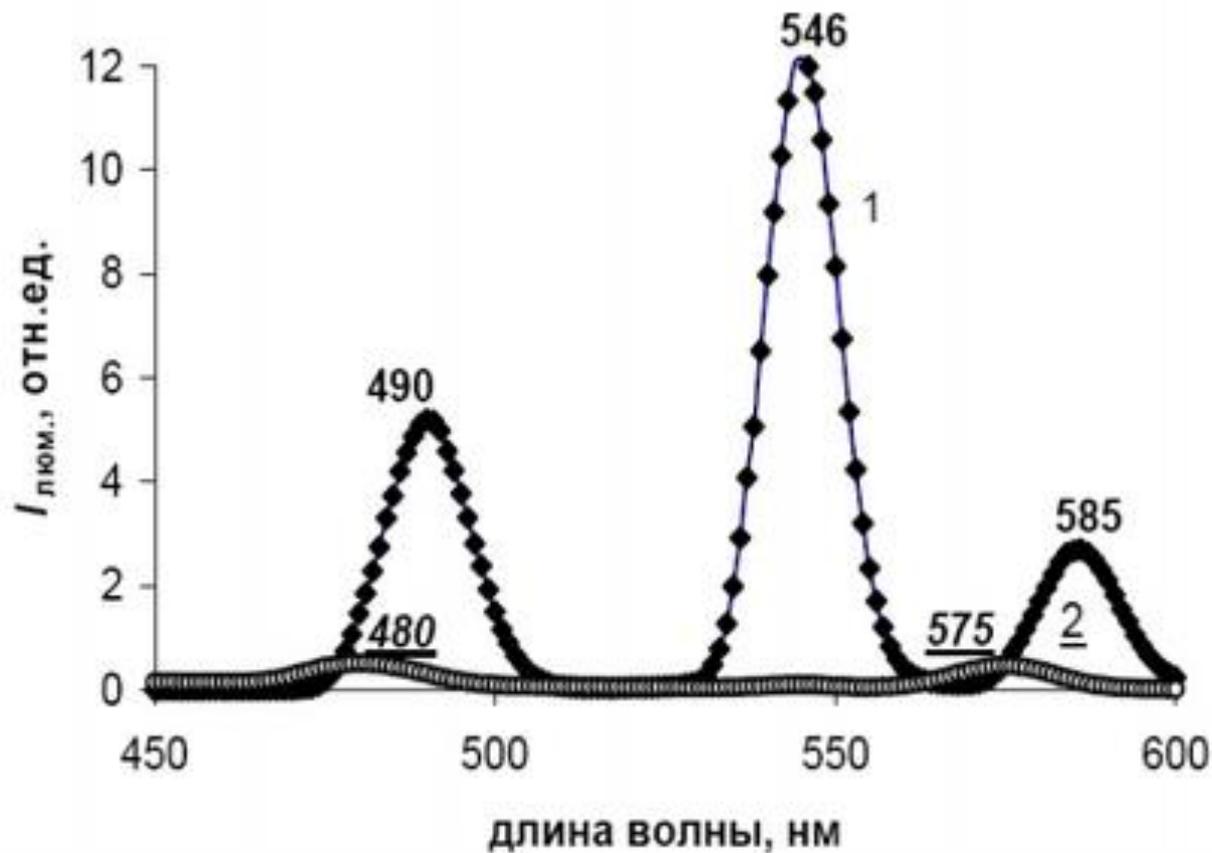


Рис. 11.63. Спектры люминесценции кристаллофосфоров, содержащих Tm^{3+} , в области 445—470 нм. Матрицы: а — LaOCl ; б — YOF

Флуориметрические определения



Спектры люминесценции комплексов Tb (III) – 1 и Dy (III) – 2 с 3-(6-бензодиоксанил)пиразол-5-карбоновой кислотой

Пределы обнаружения некоторых элементов

| Элемент | Реагент | Предел обнаружения, мкг · мл ⁻¹ |
|---------|---|---|
| Al | 3-Окси-2-нафтойная кислота | $2 \cdot 10^{-4}$ |
| | Протравной синий 9 | $5 \cdot 10^{-4}$ |
| | Морин | $2 \cdot 10^{-4}$ |
| | Салицилиден- <i>o</i> -аминофенол | $3 \cdot 10^{-4}$ |
| | N-салицилиден-2-амино-3-оксифлуорен | $8 \cdot 10^{-4}$ |
| В | Ацетилсалициловая кислота | $1 \cdot 10^{-2}$ |
| | Бензоин | $1 \cdot 10^{-2}$ |
| | Дибензоилметан | $5 \cdot 10^{-4}$ |
| | Хинизарин | $1 \cdot 10^{-2}$ |
| Mg | N,N'-бис(салицилиден)этилен-диамин | $1 \cdot 10^{-5}$ |
| | N,N'-бис(салицилиден)-2,3-диаминобензофуран | $2 \cdot 10^{-3}$ |



В аналитической практике чаще используют фото- и хемилюминесценцию

- * Флуоресцентные измерения **более избирательны, чем спектрофотометрические**, поскольку зависят от двух длин волн: поглощаемого и испускаемого света
- * По сравнению с молекулярной абсорбционной спектроскопией метод обладает **большей чувствительностью**
 - * *(Это обусловлено тем, что метод относится к силовым, в котором выходной сигнал увеличивается с увеличением интенсивности излучения)*
- * **Пределы обнаружения для большинства соединений составляют $\sim 10^{-3}$ мкг/мл**, что на 1-2 порядка ниже, чем в абсорбционной спектроскопии