

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М. В. ЛОМОНОСОВА
ФАКУЛЬТЕТ НАУК О МАТЕРИАЛАХ

МЕТОДИЧЕСКАЯ РАЗРАБОТКА

**ИССЛЕДОВАНИЕ МАТЕРИАЛОВ С
ПОМОЩЬЮ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО
СПЕКТРОМЕТРА PERKIN ELMER LS-55**

А.В.Попело, А.А.Елисеев

Москва 2011

Содержание

1. Теоретические основы люминесценции	2
2. Устройство люминесцентного спектрометра Perkin Elmer LS 55	12
3. Программное обеспечение FL WinLab	17
Экспериментальная часть	29
<i>методика исследования люминесценции коллоидных «квантовых точек»</i>	29
<i>методика исследования люминесценции комплексов Zn(II) с основаниями Шиффа</i>	36
<i>методика исследования соединений Eu, Tb и Tm</i>	47
<i>Определение родамина 6Ж в растворе этанола методом градуировочного графика.</i>	51

1. Теоретические основы люминесценции

Люминесценцией называют такое излучение, которое вещество испускает после предварительного возбуждения без всякой помощи тепловой энергии. О люминесценции можно говорить тогда, когда какие-либо вещества светятся при обычной температуре среды, причем подобное излучение вызывается не температурой излучающего тела. Здесь также возможен вариант, когда возбужденная молекула безизлучательно передают свою энергию другим молекулам, которые затем испускают свет. В зависимости от того или иного механизма возбуждения возможны различные виды люминесценции (таб. 1)

Таблица 1. Разные виды люминесценции

<i>Виды люминесценции</i>	<i>Механизм возбуждения</i>	<i>Пример</i>
Радиолюминесценция	Воздействие высокоэнергетических частиц или гамма-излучения радиоактивных процессов	Самосветящиеся цифры на циферблатах часов
Электролюминесценция	Воздействие электрических полей	Свечение газоразрядных ламп
Хемилюминесценция	Излучение, возбужденное химическими реакциями	Окисление белого фосфора на воздухе
Биолюминесценция	Био-химические процессы	Светящиеся рыбы, жуки, бактерии
Триболюминесценция	Механическое воздействие	Растирание или разбивка кристаллов сахара
Кристалло-люминесценция	Кристаллизация	Окислы мышьяка
Фотолюминесценция	Поглощение света УФ/видимый или ИК-области спектра	Флуоресценция и фосфорисценция

Флуорометрия – это эмиссионная спектроскопия, которая находит применение как в качественном, так и в количественном анализе. При известных компонентах можно по уровню сигнала сделать заключение об их концентрации, неизвестные же вещества идентифицируются путем сравнения спектров.

В зависимости от продолжительности процесса излучения, в случае фотолюминесценции, различают фосфоресценцию и флуоресценцию. Флуоресценция возникает, когда участвующие возбужденные состояния имеют в качестве исходной точки фотоэмиссии среднее время жизни порядка 10^{-8} с, фосфоресценция имеет место, когда это время 10^{-3} с и более.

Поглощенная энергия в большинстве случаев вновь отдается путем безызлучательной дезактивации, причем следует делать различие между межмолекулярными и внутримолекулярными процессами. Люминесценцию характеризуют спектром испускания (фотолюминесценцию – также спектром возбуждения), квантовым выходом, поляризацией, кинетикой затухания.

1.1 Механизм люминесценции. Для большинства органических молекул с четным числом электронов основное состояние является синглетным, а низшие возбужденные состояния имеют мультиплетность 1 и 3, т. е. могут быть синглетными и триплетными. Для таких молекул флуоресценция представляет собой излучательный переход в основное состояние S_0 из возбужденного синглетного состояния S_1 (переход 2 на рис. 1).

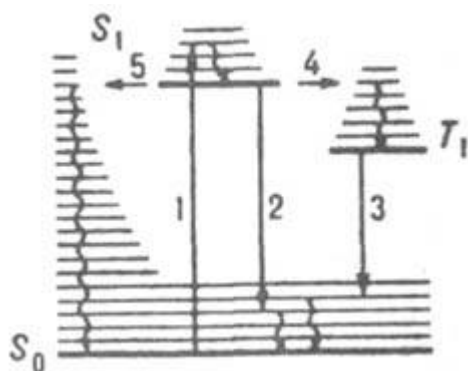


Рис. 1.1 Схема квантовых переходов при молекулярной люминесценции. S_0 – основной электронный уровень (с колебательными уровнями), S_1 и T_1 – возбужденные электронные уровни (синглетный и триплетный соответственно). Прямыми вертикальными стрелками обозначены: поглощение (1), излучательные переходы флуоресценция (2) и фосфоресценция (3), горизонтальными стрелками – безызлучательные переходы: интеркомбинационная конверсия (4) и внутренняя конверсия (5). Волнистыми стрелками обозначены процессы колебательной релаксации энергии возбуждения.

С флуоресценцией конкурирует безызлучательный переход в триплетное состояние T_1 с энергией, меньшей, чем у состояния S_1 (интеркомбинационная конверсия). Фосфоресценция - излучательный переход из нижнего триплетного состояния T_1 в основное состояние - наблюдается в условиях, когда конкурирующие с данным излучательным переходом безызлучательные процессы замедлены (высокая вязкость вещества, низкие температуры и т. п.). Впервые связь фосфоресценции с запрещенным излучательным переходом из триплетного состояния была обоснована А. Н. Терениным (1943). Возможна и так называемая замедленная флуоресценция, когда вследствие, например, термической активации молекул в возбужденном триплетном состоянии T_1 происходит безызлучательный переход в возбужденное синглетное состояние S_1 с последующим испусканием фотона в результате излучательного перехода $S_1 : S_0$. Спектр замедленной флуоресценции идентичен спектру обычной флуоресценции, но время затухания на неск. порядков больше. У некоторых молекул основное состояние не является синглетным. Так, для O_2 основное состояние триплетное $^3\Sigma_g^-$; слабая фосфоресценция, наблюдаемая для этого вещества в ближней ИК области, обусловлена переходом из нижнего синглетного состояния $^1\Delta$ в основное. Для радикалов, имеющих один неспаренный электрон, основное состояние дублетное (мультиплетность 2), низшие возбужденные состояния имеют мультиплетность 2 и 4 (соответствующие дублетные и квартетные состояния). Флуоресценция радикалов наблюдается при переходе из нижнего возбужденного дублетного состояния в основное.

1.2 Спектры люминесценции. Так как излучение флуоресценции всегда вызывается переходом из низшего колебального уровня первого возбужденного состояния, то внешние формы спектра излучения всегда одинаковы и в принципе не зависят от длины возбуждающего света. Графическое представление интенсивности излучения на оси y относительно длины волны, отложенной на оси x при заданной длине волны возбуждения обозначается как спектр флуоресцентной эмиссии. Если изменить длину волны возбуждения и отложить интенсивность излучения пробы относительно длины волны возбуждения, получится спектр возбуждения флуоресценции

Для получения истинного (квантового) спектра возбуждения необходимо учитывать зависимость интенсивности возбуждающего света (выраженной в числе падающих или поглощенных фотонов в единицу времени) от частоты. При слабом поглощении света образцом истинный спектр возбуждения люминесценции в большинстве случаев совпадает со спектром поглощения люминесцирующего вещества. Положение (частота) полосы в спектре люминесценции определяется разностью энергий состояний, связанных излучательным переходом; интенсивность полосы и время затухания свечения - заселенностью возбужденного состояния и вероятностью перехода (или временем жизни возбужденного состояния). Как правило, люминесценция происходит при переходе молекулы в основное состояние S_0 с нижнего колебательного уровня первых возбужденных электронных состояний S_1 и T_1 ; при возбуждении молекулы в более высокие электронные состояния (S_2 и др.) или на верхние колебательные уровни состояний S_1 и T_1 избыточная энергия, как правило, релаксирует гораздо быстрее (за время 10^{-12} с), чем происходит испускание. При испускании фотона сохраняется равновесная ядерная конфигурация молекулы, свойственная возбужденному состоянию (принцип Франка-Кондона), поэтому при возвращении в основное состояние молекула обычно оказывается на одном из верхних колебательных уровней, соответствующем колебаниям тех химических связей, равновесная длина которых при данном электронном переходе меняется. В результате в колебательной структуре спектров люминесценции множества молекул проявляются частоты колебаний основного состояния, тогда как в колебательной структуре спектров поглощения проявляются частоты колебаний возбужденного состояния. В атомных парах и растворах некоторых веществ испускание фотонов происходит при переходе в основное состояние S_0 из того же возбужденного состояния, которое образовалось при поглощении фотона; при этом энергии испускаемого и поглощенного фотонов одинаковы (резонансная люминесценция); в спектрах испускания и поглощения (возбуждения) наблюдаются совпадающие узкие линии. Чаще, однако, в молекулах, особенно многоатомных, часть поглощенной энергии превращается в тепловую (происходит диссипация энергии), что приводит к сдвигу спектра испускания относительно спектра возбуждения в низкочастотную (длинноволновую) область

(закон Стокса). Спектры высвечивания и возбуждения люминесценции (имеется в виду наиболее низкочастотная полоса в спектре поглощения) зеркально симметричны относительно прямой, проходящей через точку их пересечения перпендикулярно оси частот, если по оси ординат откладывать интенсивность люминесценции $P(\nu)$, выраженную в числе фотонов на единичный интервал частот в единицу времени, или молярный - коэффициент поглощения $\epsilon(\nu)$, а максимумы спектров нормировать к одной и той же величине. Это - так наз. правило Лёвшина (правило зеркальной симметрии); оно соблюдается в том случае, когда при переходе в возбужденное состояние не происходит существенного изменения молекулярной структуры и частот колебаний, а меняются лишь равновесные длины связей.

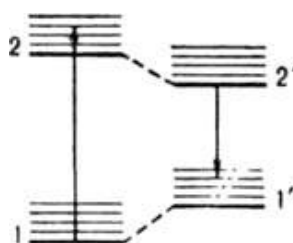


Рис. 1.2. Четырехуровневая схема квантовых переходов для молекулы, ядерная конфигурация которой в возбужденном состоянии существенно изменяется по сравнению с основным состоянием: 1 - основное состояние (синглетное); 1' - основное состояние с ядерной конфигурацией, соответствующей конфигурации синглетного возбужденного состояния; 2 - возбужденное синглетное состояние с ядерной конфигурацией, соответствующей равновесной конфигурации основного состояния; 2' - возбужденное синглетное состояние с равновесной ядерной конфигурацией (релаксированное).

Степанова:

$$P(\nu) / \epsilon(\nu) = D\nu^3 e^{-h\nu/kT},$$

где D - коэффициент пропорциональности, не зависящий от ν , k и h - постоянные Больцмана и Планка соответственно. T - абсолютная температура.

Если между актами поглощения и испускания фотона существенно меняется структура молекулы в возбужденном состоянии, зеркальная симметрия спектров поглощения и люминесценции нарушается, и для их описания используют четырехуровневую схему (рис. 2).

1.3 Параметры измерения флуорометрии. Флуорометрия отличается высокой чувствительностью и большим диапазоном линейности, действует без разрушения образца и для измерения не нуждается в большом количестве вещества. Проблемы при флуорометрическом анализе сложных проб связаны

прежде всего со спектральными наложениями и тушением флуоресцентного свечения.

Интенсивность и спектральное распределение флуоресцирующих веществ чрезвычайно зависят от внешних влияний – температуры, вида связи и вязкости растворителя. Особенно сильно воздействует на флуоресценцию растворитель, то есть непосредственное химическое окружение вещества, причем с увеличением полярности флуоресцентное излучение ослабевает. Весьма важны с аналитической точки зрения разные механизмы передачи энергии от возбужденной молекулы на соседних молекулы, которые затем начинают флуоресцировать. Здесь различают электронно-обменный механизм, прямую передачу энергии посредством фотонов и резонансный переход.

По сравнению с адсорбционной спектроскопией, при которой коэффициент поглощения может определяться в качестве единственного параметра, флуоресцентная спектроскопия обладает гораздо большей информативностью. Она позволяет проводить измерения множества независимых друг от друга параметров и осуществлять целенаправленное тушение флуоресценции подходящими вспомогательными средствами.

1.4 Квантовый выход люминесценции ϕ_L равен отношению числа испускаемых фотонов к числу поглощаемых. Он определяется квантовым выходом ϕ_i образования данного возбужденного состояния, вероятностью испускания фотона или константой скорости k_E этого процесса (определение см. ниже) и средним временем жизни τ_i возбужденного состояния:

$$\phi_L = \phi_i k_E \tau_i.$$

Как правило, для возбужденных синглетных состояний $\phi_i = 1$. Если ϕ_i не зависит от частоты возбуждающего света, выполняется закон Вавилова, согласно которому квантовый выход люминесценции постоянен в данной области частот возбуждающего света. Отклонения от закона Вавилова возникают, если при возбуждении в высшие электронные состояния появляются новые пути дезактивации возбужденных молекул, конкурирующие с внутренней конверсией в нижнее возбужденное состояние. Константу k_E можно вычислить из величины момента квантового перехода $M_{21} = \langle \Psi_2 | \mu | \Psi_1 \rangle$ между двумя электронно-колебательными (вибранными) состояниями, описываемыми волновыми

функциями Ψ_2 и Ψ_1 (μ - оператор дипольного момента):

$$k_E = \frac{64\pi^4 \nu^3}{3h(c/n)^3} M_{21}^2$$

(c - скорость света, n - показатель преломления вещества, ν - частота перехода).

Экспериментально значения k_E в случае флуоресценции определяют из интеграла длинноволновой полосы спектра поглощения:

$$\begin{aligned} k_E &= \frac{2303 \cdot 8\pi}{N_A(c/n)^2 \langle 1/\nu^3 \rangle} \int \frac{\epsilon(\nu) d\nu}{\nu} = \\ &= 2,88 \cdot 10^{-9} \frac{n^2}{\langle 1/\tilde{\nu}^3 \rangle} \int \frac{\epsilon(\tilde{\nu})}{\tilde{\nu}} d\tilde{\nu}, \end{aligned}$$

где N_A - постоянная Авогадро, $\tilde{\nu}$ - волновое число (см^{-1}). $\epsilon(\tilde{\nu})$ - молярный десятичный коэффициент поглощения (в $\text{дм}^3 \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$), $\langle 1/\tilde{\nu}^3 \rangle$ - среднее значение $1/\tilde{\nu}^3$ в спектре флуоресценции:

$$\langle 1/\tilde{\nu}^3 \rangle = \int F(\tilde{\nu}) \tilde{\nu}^{-3} d\tilde{\nu} / \int F(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu},$$

где $F(\tilde{\nu})$ - зависимость числа испускаемых фотонов от волнового числа. Для многоатомных молекул с типичной полушириной полосы поглощения порядка нескольких тыс. см^{-1} справедливо приближенное выражение:

$$k_E \sim 10^4 \epsilon_{\text{макс}}$$

($\epsilon_{\text{макс}}$ - молярный десятичный коэффициент поглощения в максимуме полосы).

1.5 Кинетика люминесценции. Эффективность, с которой протекают процессы поглощения и спуска света называют квантовым выходом. Этот параметр показывает степень вероятности того, что произойдет эмиссия поглощенного фотона - с той же или иной длиной волны. В простых системах молекулярная люминесценция после возбуждения коротким (по сравнению с τ_i) импульсом света затухает обычно по экспоненциальному закону: $I(t) = I_0 \exp(-t/\tau_i)$, где I_0 - начальная интенсивность излучения, t - текущее время. Величина, обратная τ_i , равна сумме констант скорости k_j всех излучательных и безызлучательных (включая химические реакции) процессов гибели данного возбужденного состояния: $1/\tau_i = \sum_j k_j$. Для многих жестких молекул (ароматические углеводороды, гетероциклические соединения и некоторые их производные) τ_i определяется

главным образом константой скорости k_{ISC} интеркомбинационной конверсии из состояния S_1 в одно из триплетных состояний с меньшей энергией. Величина k_{ISC} , в свою очередь, зависит от симметрии электронных волновых функций обоих состояний. Так, для перехода между состояниями одинаковой природы [например, $^1(\pi, \pi^*)$ и $^3(\pi, \pi^*)$] k_{ISC} имеет величину порядка 10^7 - 10^8 с⁻¹, а для состояний различной природы [например, $^1(\pi, \pi^*)$ и $^3(n, \pi^*)$ или $^1(n, \pi^*)$ и $^3(\pi, \pi^*)$] она составляет 10^{10} - 10^{11} с⁻¹. В результате молекулы, у которых, например, состояние S_1 имеет $^1(n, \pi^*)$ природу, а состояние T_1 $^3(\pi, \pi^*)$ характеризуется меньшей энергией, практически не флуоресцируют, но обладают большим квантовым выходом образования возбужденных триплетных состояний и фосфоресцируют в твердой фазе. У нежестких молекул часто наблюдаются процессы внутренней конверсии $S_1 \rightsquigarrow S_0$, приводящие к релаксации энергии электронного возбуждения и отсутствию как флуоресценции, так и фосфоресценции. В твердых растворах время жизни молекулы в триплетном состоянии определяется главным образом константами скорости излучательного интеркомбинационного перехода $T_1 \rightarrow S_0$ и безызлучательного электронно-колебательного переноса энергии на сравнительно высокочастотные колебания связей С—Н, О—Н и т. п. в этой же молекуле или в молекуле растворителя. Поэтому квантовый выход фосфоресценции ϕ_f лишь в несколько раз меньше квантового выхода ϕ_i образования триплетных состояний: ϕ_f [$\phi_f = k_{ISC} \tau_S$, где τ_S - время жизни состояния S_1]. В дейтерированных растворителях перенос энергии сильно замедляется и ϕ_f приближается к обратной величине константы скорости излучательного интеркомбинационного перехода $1/k_P$ (и может достигать 10^2 с), а квантовый выход фосфоресценции возрастает. В жидких растворах наблюдается эффективное тушение триплетных возбужденных состояний примесями (в т. ч. растворенным кислородом); их времена жизни падают до 10^{-5} - 10^{-4} с и менее (в зависимости от степени очистки растворителя); при этом фосфоресценция практически исчезает. При наличии в возбужденном состоянии равновесий между различными формами возбужденных молекул, адиабатических реакций или переноса энергии кинетика люминесценции становится более сложной и может быть описана суммой двух или нескольких экспонент.

1.6 Тушение люминесценции. Процессы определения концентрации могут быть затруднены тушением флуоресценции. Тушением люминесценции называется уменьшение квантового выхода наз. Оно может наблюдаться под действием различных добавок или примесей (тушителей люминесценции), при увеличении концентрации люминофора (концентрационное тушение), при повышении температуры (температурное тушение). Зависимость квантового выхода люминесценции ϕ от концентрации тушителя $[Q]$ обычно описывается уравнением Штерна-Фольмера:

$$\phi_0 / \phi = 1 + K[Q],$$

где ϕ_0 - квантовый выход люминесценции в отсутствие тушителя, K - константа тушения. Различают статическое и динамическое тушение люминесценции. Первое обусловлено образованием в основном электронном состоянии нелюминесцирующих молекулярных комплексов и не сопровождается изменением времени затухания люминесценции; при этом K примерно равно константе равновесия комплексообразования (при близких значениях коэффициент поглощения комплекса и люминофора на длине волны возбуждения). Второе вызывается взаимодействием возбужденных молекул с другими молекулами и сопровождается пропорциональным уменьшением времени затухания ($\tau_0 / \tau = \phi_0 / \phi$); в этом случае $K = k_Q \tau_0$, где k_Q - константа скорости такого взаимодействия, τ_0 - время затухания люминесценции в отсутствие тушителя.

1.7 Флуоресцентные индикаторы.

В результате реакции с подходящими реагентами даже не люминесцирующие прежде вещества могут быть превращены во флуоресцирующий продукт, который затем могут быть обнаружены методом флуорометрии. Для флуорометрического определения ионов металла используются флуоресцентные индикаторы, которые в результате комплексообразования изменяют свойства флуоресценции. Идеальный флуоресцентный индикатор должен вызывать отчетливое изменение спектральных характеристик после реакции с ионами металла. При этом вследствие комплексообразования происходит сдвиг максимума поглощения как для возбуждения, так и для излучения. Как и в адсорбционной спектроскопии,

здесь также имеются соответственно более или менее селективные флуоресцентные индикаторы. Кроме того, при условии большого выхода флуоресценции получают на порядок более высокую чувствительность обнаружения. В качестве примера флуоресцентного индикатора можно назвать 8-оксихинолин-5-сульфокислоту. Углевод успешно идентифицируются, например, с помощью 2-аминобензамида.

2. Устройство люминесцентного спектрометра Perkin Elmer LS 55.

Прибор предназначен для регистрации стационарных спектров флуоресценции образцов в различных агрегатных состояниях. Люминесцентный спектрометр LS 55 (рис. 2.1) может работать в одном из четырех режимов – флуоресценция, фосфоресценция, хеми- и биолюминесценция. В комплектующие прибора входят следующие приставки: устройство быстрой смены фильтра, приставка для исследования люминесценции твердых и жидких образцов, поляризаторы.

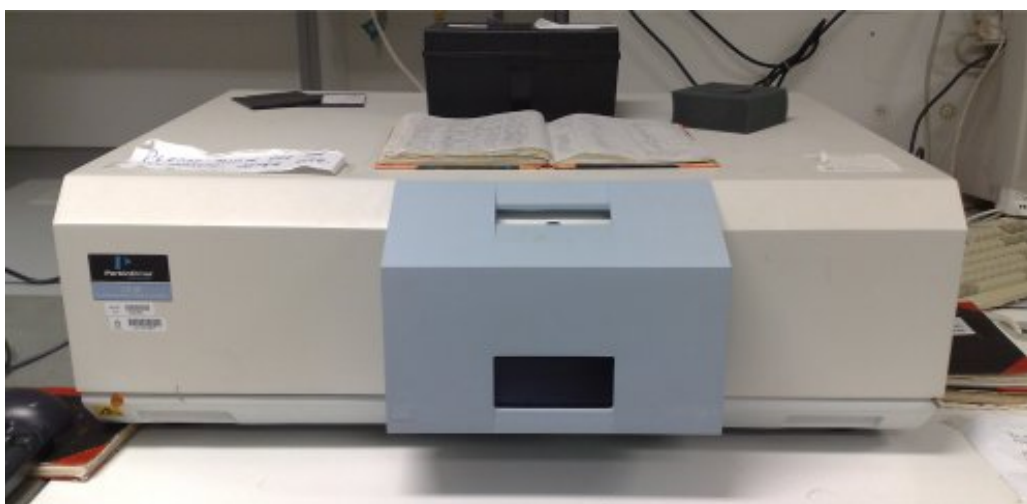


Рис.2.1. Люминесцентного спектрометра Perkin Elmer LS 55.

Технические характеристики:

- Однолучевой люминесцентный спектрометр, работающий в режимах флуоресценции, фосфоресценции, хеми- или биолюминесценции;
- Монохроматоры типа Монка-Джиллисона;
- Диапазон длинны волны - возбуждение 200 - 800 нм, эмиссия: 200 - 900 нм;
- Спектральная линия щели – возбуждение 2,5 - 15 нм, эмиссия 2,5 - 30 нм;
- Точность установки длины волны $\pm 1,0$ нм;
- Скорость сканирования 10 - 1500 нм/мин;
- Эмиссионные фильтры 290, 350, 390, 430, 515 нм;
- Точность установки длины волны ± 1 нм
- Воспроизводимость установки длины волны ± 0.5 нм
- Источник 150 Вт ксеноновая лампа, работающая в пульсирующем

режиме с частотой 50 Гц;

- 4-позиционный термостатируемый держатель кювет с перемешиванием;
- Управление осуществляется с персонального компьютера с помощью программы FL WinLab

2.1 Оптическая система.

Оптическая схема прибора показана на рисунке 2.2. Источником возбуждения служит ксеноновая лампа, работающая в пульсирующем режиме с частотой 50-60 Гц. Излучение фокусируется эллиптическим зеркалом и отражается торическим зеркалом на входную щель монохроматора возбуждения. Монохроматор состоит из входной щели, дифракционной решетки (1440 линий/мм), сферического зеркала и выходной щели. Из выходной щели выходит узкий интервал длин волн с центром, определяемым установками решетки. Большая часть излучения попадает в область образца через фокусирующее торическое зеркало, и небольшая часть отражается.

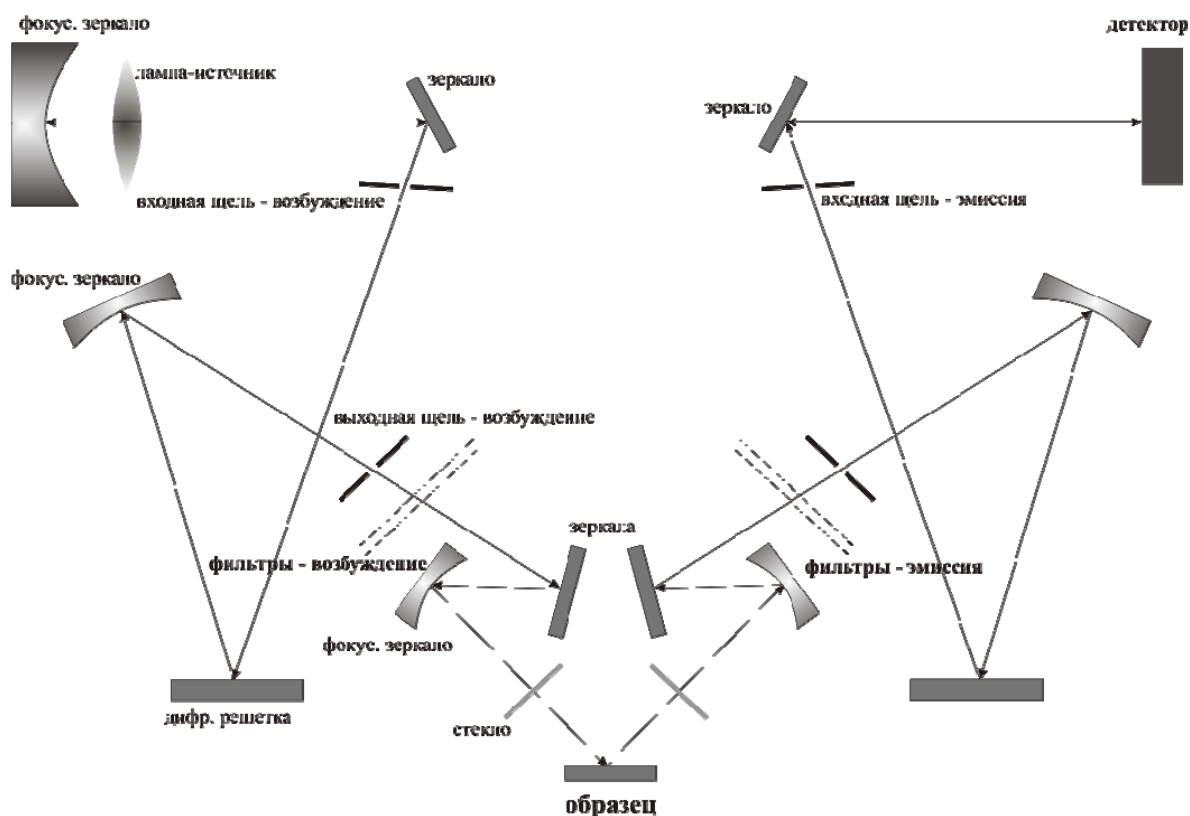


Рис. 2.2 Оптическая схема люминесцентного спектрометра Perkin Elmer LS 55.

Энергия, излучаемая образцом, фокусируется торическим зеркалом на входную щель эмиссионного монохроматора. Он состоит из входной щели,

сферического зеркала, дифракционной решетки (1200 линий/мм) и выходной щели. Из выходной щели выходит узкий интервал длин волн с центром, определяемым установками решетки. Спектральные диапазоны монохроматоров следующие:

1. Монохроматор возбуждения: 200–800 нм
2. Эмиссионный монохроматор: 200–900 нм

Ширины щелей можно варьировать для получения разрешения в диапазоне 2.5–15 нм для монохроматора возбуждения и 2.5–30 для эмиссионного монохроматора с шагом 0.1 нм. Можно также выбрать значение 0, что даст разрешение <2 нм.

Фильтры и поляризаторы.

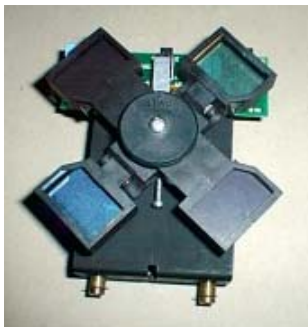


Рисунок 2.3 Колесо фильтров

Колесо фильтров, прилагаемое к эмиссионному монохроматору, имеет пять фильтров (они пропускают свет выше заданной длины волны и поглощают излучение с длиной волны ниже этой границы), 1%-й аттенюатор пропускания, а также переключатель в открытое и закрытое положение. Колесо фильтра возбуждения имеет открытое и закрытое положение, две позиции для вертикальных и горизонтальных поляризационных фильтров, три позиции для дополнительных фильтров пользователя и резервную позицию для автоматического 350 нм защитного фильтра. Этот защитный фильтр автоматически вводится в луч возбуждения, когда монохроматор возбуждения превышает длину волны 410 нм. Он устраняет вторичное излучение при возбуждении на больших диапазонах длин волн при узких размерах щели. Например при возбуждении на 500 нм, наблюдается также и пик в районе 250 нм как эффект второго порядка. Это может влиять на форму спектра возбуждения, особенно, когда излучение второго порядка на 250 нм фиксируется датчиком образца сравнения, а не поглощается образцом. В состав фильтров, представленных в

приборе, входит эмиссионный фильтр UG 5. Спектр пропускания представлен на рис .2.4.

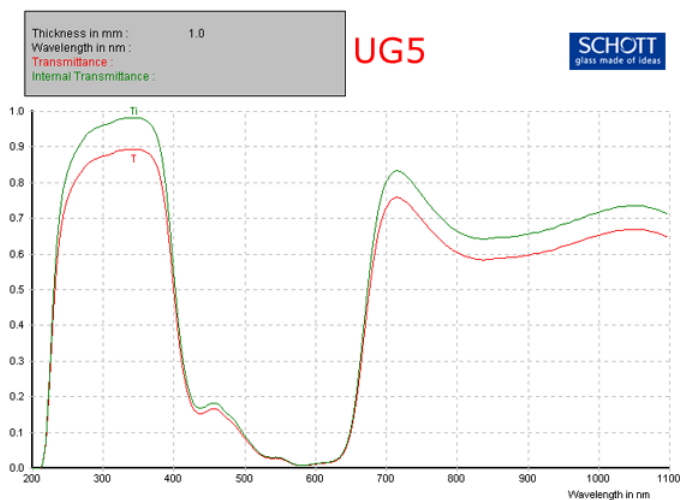


Рис. 2.4 Спектр пропускания фильтра UG 5.



Рисунок 2.5 Поляризатор

Поляризатор состоит из двух колес фильтров, соединенных поляризационными элементами, которые управляются автоматически.

Держатели ячеек

Держатель для кювет позволяет осуществлять изучение жидких образцов и растворов. Кювета помещается в держатель и закрепляется.



Рисунок 2.6 Кювета для съемки жидких образцов

Изучение порошков проводится с помощью порошкового держателя. Порошки должны быть хорошо растерты. Для уменьшения рассеяния, тем не менее, более оптимально предварительно спрессовать их в таблетки.

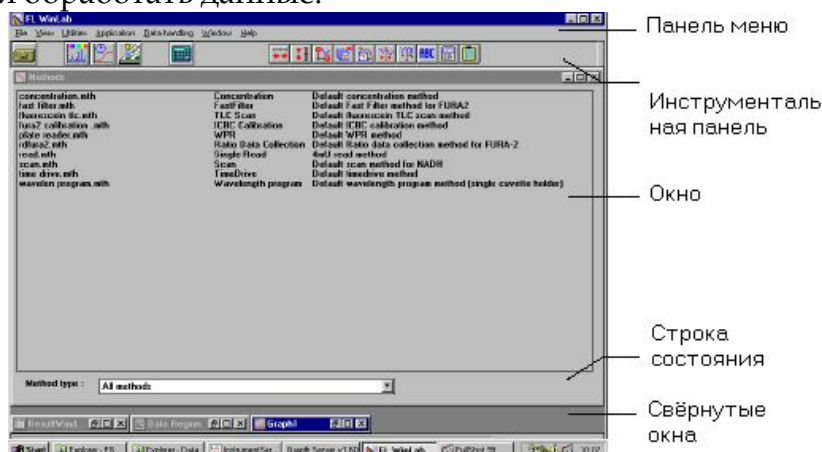


Рисунок 2.7 Держатель для кювет

Если все же образец находится в виде порошка, а не спрессованной таблетки, то используют следующий алгоритм действий. Наклеив углеродный скотч на держатель, нужно прикрепить кремниевую подложку. Далее нанести суспензию образца в спирте (или другом органическом растворителе), дать спирту высохнуть. Наносить образец прямо на углеродный скотч нежелательно во избежание рассеянного излучения. Растворитель должен быстро испаряться на воздухе и не взаимодействовать ни с образцом, ни с подложкой. Накрыть образец кварцевым стеклом. Держатель поместить в кюветное отделение.

3. Программное обеспечение FL WinLab

Из главного окна пакета FL WinLab могут быть запущены как приложения, так и специальные прикладные методы, кроме того можно отредактировать и обработать данные.



Применение	Приложение	Принадлежность
Кинетика, одна кювета	<i>TimeDrive</i>	Биокинетическая приставка
Кинетика, четыре кюветы одновременно	<i>Wavelength</i>	4-х кюветная кассета
Кинетика, несколько длин волн, одна кювета	<i>Wavelength</i>	Биокинетическая приставка
Кинетика, две длины волны и 4 кюветы	<i>Wavelength</i>	4-х кюветная кассета
Люминесцентная кинетика	<i>TimeDrive</i>	Биокинетическая приставка, приставка полной эмиссии
Коррекция эмиссии вольфрамовой лампы	<i>Scan</i>	Любая
3-х мерный спектр (ЕЕМ)	<i>Scan</i>	Любая
3-х мерный кинетический спектр	<i>Scan</i>	Любая
3-х мерный выборочный	<i>Scan</i>	Любая
Простое измерение интенсивности	<i>Read</i>	Любой держатель ячейки
Простой количественный анализ	<i>Concentration</i>	Любой держатель ячейки, перистальтический насос
Трехмерное сканирование TLC поверхностей /гелей/ плоских образцов	<i>TLC scan</i>	Устройство для сканирования поверхности

Процедура поверки характеристик прибора	<i>Validate instrument</i>	Герметизированная кювета с водой
---	----------------------------	----------------------------------

Конфигурирование программного обеспечения

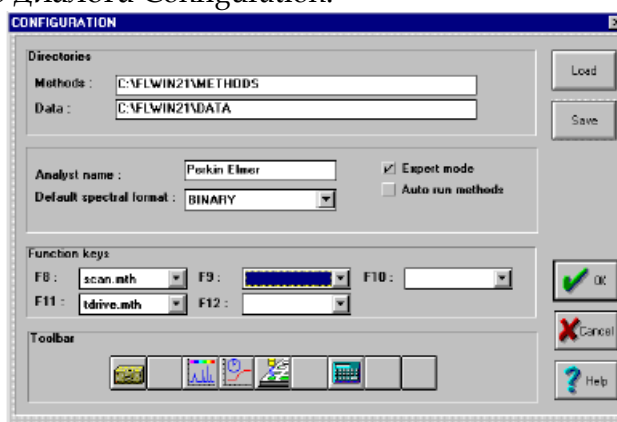
Пакет программ FL WinLab может быть сконфигурирован для различных пользователей или различных проектов.

Можно устанавливать или изменять следующие параметры: расположение данных и методов на жестком диске, имя оператора, формат используемых по умолчанию данных, режим Expert/GLP, опции автоматически выполняемых методов, назначение функциональных клавиш F8-F12 и содержимое инструментальной панели.

Создание файла конфигурации

1. В меню Utilities, выберите Configuration.

Появится окно диалога Configuration.



2. Введите желаемые параметры конфигурации.

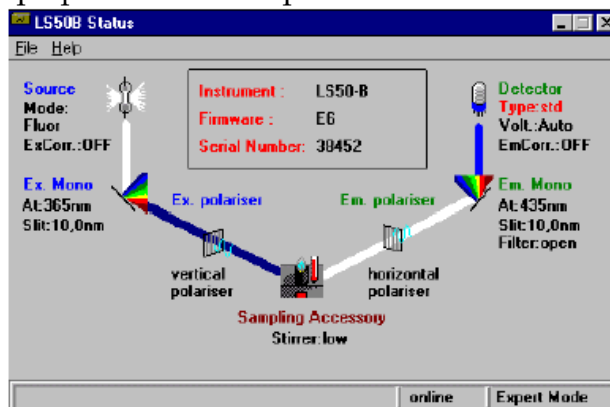
Параметр	Описание
Methods Directory	Этот каталог используется как основной каталог для сохранения и считывания методов.
Data Directory	Этот каталог используется как основной каталог для сохранения и считывания данных и результатов.
Analyst name	Это имя будет использовано всеми программными модулями (Scan, TimeDrive) и сохранен в массивах данных.
Default spectral format	Определяет формат файлов данных. Все модули, генерирующие данные (такие, как Scan или TimeDrive), сохраняют полученные данные в этом формате. Используются три формата: Binary: Это - стандартный формат, принятый в корпорации Perkin-Elmer. Он включает полный набор информации о сборе данных, включая время проведения измерений, имя оператора и параметры прибора. Для экономии дискового пространства и гарантированного сохранения информации, можно использовать именно этот формат. ASCII: Этот формат удобен для экспорта данных в универсальные программы такие, как Microsoft Excel. Здесь также имеется заголовок с полным набором сведений о массиве данных. Главный недостаток - большое количество занимаемого дискового пространства. Однако

	<p>благодаря совместимости этого формата с Microsoft Excel, часто удобнее использовать именно его.</p> <p>Data Manager: Это старый формат, используемый в программных продуктах корпорации Perkin-Elmer.</p>
--	--

Запуск утилиты

В меню Application выберите Instrument Status.

Появится окно с графическим отображением состояния прибора:






В окне приводится схема оптической системы прибора со значками, представляющими отдельные составляющие системы. Текущее состояние прибора описано текстом, расположенным рядом с иконками. Кроме того, будут отображены тип прибора, его версия и серийный номер прибора. Цвет лучей между значками на схеме оптической системы соотносится с длиной волны.

В режиме Expert установку прибора можно изменить, нажав на соответствующую иконку.

Запуск / остановка процесса сбора данных

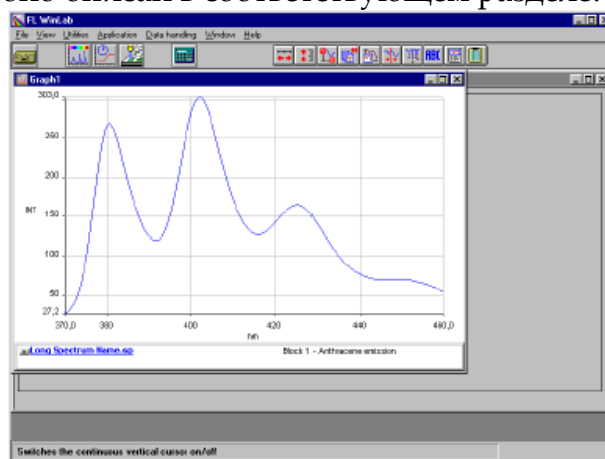
Кнопка Start/Stop имеет внешний вид светофора, который может быть красным, желтым или зеленым. Очень важно обращать внимание на эту кнопку, чтобы случайно не прервать длительную съемку (например – 3D-спектры).

Светофор	Значение
 жёлтый	Это - состояние при запуске приложения. Оно указывает, какое приложение в настоящее время инициализируется. Если прибор находится в автономном режиме, светофор будет желтым, пока прибор выключён. Когда приложение готово запустить процесс сбора данных, цвет светофора изменяется на зелёный.
 зелёный	Когда эта кнопка нажата, прибор настраивается на метод, происходит запуск процесса и получаемые данные по мере поступления отображаются в окне графика.
 красный	При нажатии этой кнопки, процесс останавливается, и светофор возвращается к зелёному цвету. Когда сбор данных остановлен,

полученные к этому моменту данные не теряются, а сохраняются в текущем каталоге данных пакета FL WinLab.

3.1 Способы просмотра данных

Окно *Graph* используется, чтобы показать и отредактировать спектральные кривые с помощью команд меню *View*. Окно графика *Graph1* появляется автоматически при запуске программного обеспечения. Чтобы показать другое окно графика, выберите пункт *New Graph* в меню *View*. Просмотр данных подробно описан в соответствующем разделе.



Окно *Results* - часть окна приложений. Оно появляется автоматически, когда Вы выбираете команды *List* или *Peak*. Окно приводит численные результаты, собранные в таблице. Вы можете скопировать эти результаты в другую программу через буфер обмена Windows, для чего выберите текст, который Вы хотите копировать, а затем в меню *File* выберите *Copy to Clipboard*.

The screenshot shows the 'ResultsWindow' in the FL WinLab application. It displays a table of numerical data. The title bar of the window is 'ResultsWindow - C:\FLWIN\TEMP\EUROMOD1.RLS'. The table has two columns of data.

500.00	0.7860
500.50	0.7820
501.00	0.7790
501.50	0.7760
502.00	0.7690
502.50	0.7620
503.00	0.7570
503.50	0.7570
504.00	0.7610
504.50	0.7650
505.00	0.7640
505.50	0.7630
506.00	0.7610
506.50	0.7540
507.00	0.7390
507.50	0.7260
508.00	0.7240
508.50	0.7380
509.00	0.7520
509.50	0.7560

Просмотр данных из приложения

Все приложения, которые отображают графические данные, имеют инструментальную панель, содержащую несколько кнопок управления. Они все активны в течение сбора данных (за исключением кнопки стирания данных). В процессе измерений, пользователь может, например, перемасштабировать оси, увеличить или уменьшить масштаб, и осуществлять автоматическое растягивание осей в специальных случаях.

Просмотр данных вне пределов пакета FL WinLab

FL WinLab может использоваться, чтобы рассмотреть данные в режиме *off-line*, например, для оценки предварительно собранных данных на фоне получения новых. Имеется набор инструментальных кнопок, которые обеспечивают быстрый доступ к ряду функций изменения масштаба графика и его обработки.

Просмотр данных из пакета FL WinLab

В дополнение к возможностям просмотра извне пакета FL WinLab, имеется другая весьма полезная особенность: пользователь может загружать копии в настоящее время собираемых данных в одно или большее количество окон просмотра. Смысл в том, что текущие данные могут быть сравнены с существующими или для ясности отображены в отдельных окнах.






Приложениями, где эта особенность особенно значима, являются:





- Сканирование по длине волны (Wavelength)
- Сбор относительных данных
- Быстрый фильтр

Универсальные средства просмотра

Инструментальные панели приложений

Имеются следующие инструментальные средства для изменения вида графиков.

Средство	Описание	Использование
	Авторасширение оси X	Показывает весь диапазон абсцисс всех выбранных файлов данных. Если, например, Вы выбрали два файла данных типа TimeDrives диапазоном 0-50 и 20-200 секунд соответственно, щелчок на этом инструменте установит диапазон абсциссы от 0 до 200.
	Авторасширение оси Y	Показывает весь диапазон ординат выбранных файлов данных. Если, например, Вы выбрали два файла данных типа TimeDrives с диапазонами ординат 0-50 и 20-200, выбор этого инструмента установит диапазон ординаты от 0 до 200.
	Формат диапазона графика	Показывает окно для ручного форматирования диапазонов изменения абсциссы и ординаты
	Выбор заданного по умолчанию Y-диапазона	Установка диапазона ординат по значениям минимума и максимума ординат в режиме реального времени.
	Окно радара	Выводит специальное окно, которое может использоваться для отображения любых заданных разделов данных в увеличенном

		масштабе, в границах, выделенных зеленым цветом. Новые границы окна могут быть установлены с помощью мыши.
	Вертикальный курсор	Активизирует вертикальный курсор, который можно непрерывно перемещать мышью, чтобы наряду с именем файла показать значения абсциссы и ординаты в панели, расположенной внизу окна. Чтобы отключить курсор, щелкните на этой кнопке снова.
	Удаление кривых	Удаляет выбранные кривые. Эта кнопка недоступна в течение сбора данных.
	Печать	Печатает содержимое текущего окна, используя установленные по умолчанию параметры настройки принтера.
	Копирование в буфер	Передаёт растровый образ окна графика в буфер обмена для копирования в текстовые процессоры, пакеты графических подпрограмм или электронные таблицы для составления отчёта.

Отображение графиков

1. В меню View выберите New Graph Window.
Откроется новое окно графика.

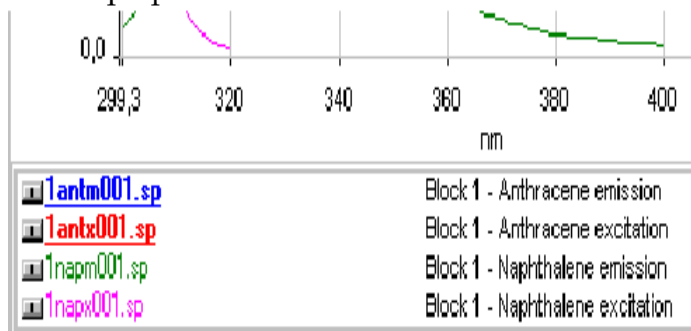
2. Выберите Add Curve в меню View.

Появится окно выбора файлов, которое Вы можете использовать, чтобы добавить к графику кривые с жёсткого диска, гибкого диска или из области данных активного окна графика. Для добавления кривой из области данных следует щёлкнуть мышью на её названии.

Можно выбрать из списка больше, чем один файл, удерживая клавишу SHIFT или CTRL при щелчке на имени файла.

Выбор кривых на графике


Описание каждой кривой на графике приведено на панели, расположенной внизу окна графика.



Названия выбранных в настоящее время кривых выделены полужирным шрифтом и подчеркиванием.

1. Чтобы выбрать или снять выделение кривой, щелкните на ней левой кнопкой мыши.

Для выбора более чем одной кривой, удерживайте нажатой клавишу CTRL и щелкните мышью на каждой невыбранной кривой, которую Вы хотите выбрать, или, удерживая клавишу SHIFT, щелкните на первой и последней кривой из диапазона кривых, которые надо выбрать.

2. Чтобы удалить выбранные кривые из графика, нажмите .

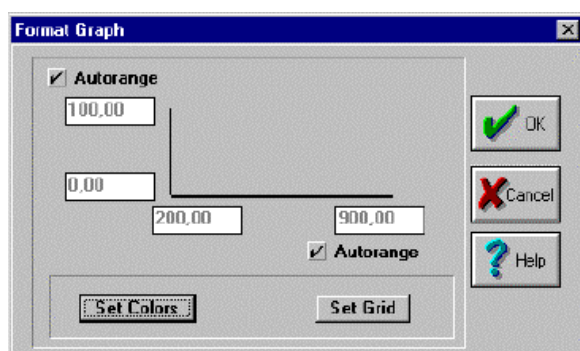
Если не все кривые представлены в области панели, Вы можете увеличить её размер. Для этого щёлкните мышью на верхней границе панели и, удерживая левую кнопку, переместите границу в нужном направлении.



Форматирование графика

В течение сбора данных форматирование невозможно.

1. В диалоге View выберите Format Graph. Появится окно диалога Format Graph.

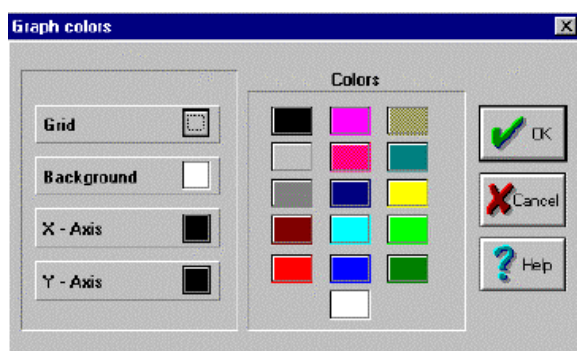


2. На любой из осей выберите Autorange, чтобы в процессе загрузки кривых автоматически настраивать эту ось на максимальное значение координаты.

ИЛИ

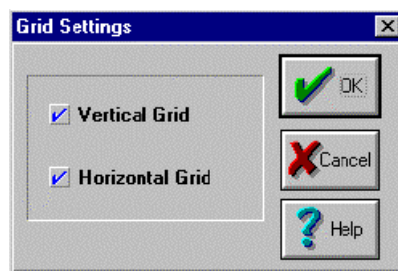
Определите диапазоны координат, которые Вы хотите просмотреть, введя соответствующие значения в текстовых полях.

3. Щелкните кнопку Set Colors, чтобы выбрать цвета координатной сетки, фона и оси в диалоге Graph colors.



Например, чтобы выбрать цвет линий координатной сетки, щелкните на сетке, затем на цвете, который Вам подходит.

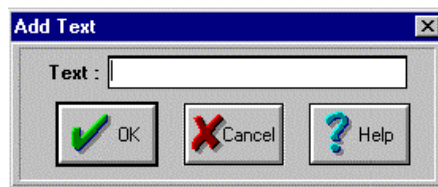
4. Щелкните Set Grid, чтобы задать вывод вертикальных и горизонтальных линий сетки в диалоге Grid Settings.



5. Выберите OK в окне диалога Format Graph.
Теперь график переформатирован в соответствии с установками.

Добавление текста к графику

1. В меню View выберите Add Text .
Появится окно диалога Add Text.



2. Введите с клавиатуры необходимый текст и затем щелкните на кнопке OK.

Новый текст появится посередине активного окна графика.

3. Чтобы переместить текст на нужное место, щелкните на нём мышью и затем, удерживая нажатой левую кнопку мыши, перемещайте текст к заданной позиции. При освобождении кнопки мыши позиция текста фиксируется.

4. Чтобы удалить текст, щелкните на нём, чтобы выделить, и затем выберите команду Remove Text в меню View.

Просмотр нескольких кривых

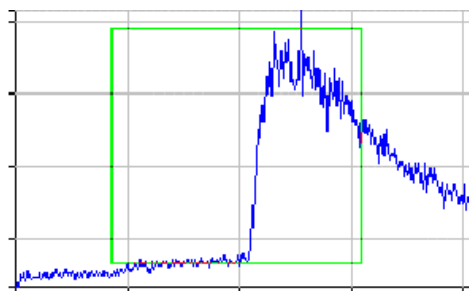
Для более отчётливого представления нескольких кривых на одном графике, выберите Split в меню View.

Кривые будут отображены одна выше другой в активном окне графика.
После отмены этой опции кривые снова будут наложены друг на друга.

Изменение масштаба изображения

1. Чтобы выбрать область графика, для которой надо изменить масштаб, щелкните левой кнопкой мыши на верхней левой точке этой области и перемещайте мышшь к её правой нижней точке, удерживая при этом нажатой левую кнопку мыши.

На графике появится зеленый прямоугольник.



2. Для перемещения или изменения размеров зеленого прямоугольника, перетаскивайте границы с помощью мыши, удерживая нажатой левую кнопку мыши.

3. Когда зеленый прямоугольник правильно выставлен, дважды щелкните левой кнопкой мыши внутри прямоугольника. Область внутри прямоугольника будет заполнена изображением.

Просмотр информации о наборе данных

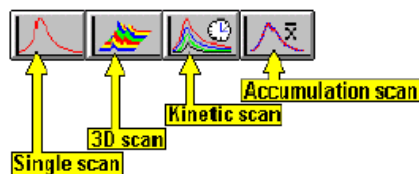
1. Чтобы увидеть некоторую информацию, связанную с кривой, щелкните на серой кнопке рядом с названием кривой на панели, расположенной внизу окна.

Появится окно диалога Status Information.

3.2 Приложение Scan

Приложение Scan используется для сбора различных типов спектральных данных в нескольких режимах (флюоресценция, фосфоресценция и биолюминесценция).

Имеются четыре режима сканирования, которые можно выбрать, нажав на следующие значки:



Режим Single scan

Имеются пять типов сканирования, доступных в этом режиме:

- Спектр возбуждения записывается с использованием фиксированной длины волны эмиссии. Начальная и конечная длина волны относятся к монохроматору возбуждения.
- Спектр эмиссии записывается с использованием фиксированной длины волны возбуждения. Начальная и конечная длина волны относятся к монохроматору эмиссии.
- Синхронная развертка, когда оба монохроматора сканируют одновременно с постоянной разностью между длинами волн монохроматоров возбуждения и эмиссии. Эта методика используется для быстрого анализа окружающей среды, например, для идентификации различных типов сырой нефти, а также значительно упрощает анализ спектров сложных смесей с

перекрытием спектральных компонент. При синхронной развертке, начальная и конечная длина волны всегда относятся к монохроматорам возбуждения и эмиссии. Кроме того, процесс всегда начинается с более высокой длины волны, чем у монохроматора возбуждения.

- Синхронная развертка, когда оба монохроматора сканируют одновременно с постоянной разностью энергии между излучениями монохроматоров возбуждения и эмиссии. Монохроматор эмиссии ускоряется относительно монохроматора возбуждения. При синхронной энергетической развертке, спектр регистрируется в единицах разности энергии (волновых числах) между возбуждением и эмиссией. Эта методика может использоваться для исследования очень сложных смесей, где спектральная чувствительность при постоянной разности длины волны слишком низка. Сканирование при постоянной энергетической разности между монохроматорами имеет преимущество по отношению к регистрации спектров при постоянной разности длины волны из-за более высокой спектральной разрешающей способности и более низкой фоновой флюоресценции.
- Предварительное сканирование, использующее или один, или оба монохроматора, может применяться для определения оптимальной длины волны возбуждения и эмиссии для неизвестного образца.

Режим 3-D scan

В этом режиме доступны четыре типа сканирования - сканирование возбуждения, эмиссионная развертка, синхронная развертка при постоянной длине волны и синхронная развертка при постоянной разности энергий.

В каждом случае, сканирование автоматически повторяется в диапазоне введенных параметров, однако между каждым сканированием происходит увеличение фиксированного параметра. Так, при эмиссионной трехмерной развертке, эмиссионное сканирование неоднократно повторяется, но каждый раз длина волны возбуждения увеличивается. Это приводит к объединению данных возбуждения и эмиссии на одном графике.

Когда метод *3-D scan* запущен, данные автоматически сохраняются как трехмерный набор данных с тем же самым названием, что у первого файла при запуске, но с расширением SP3. Трехмерные графики могут быть рассмотрены и отредактированы с помощью приложения 3D View.

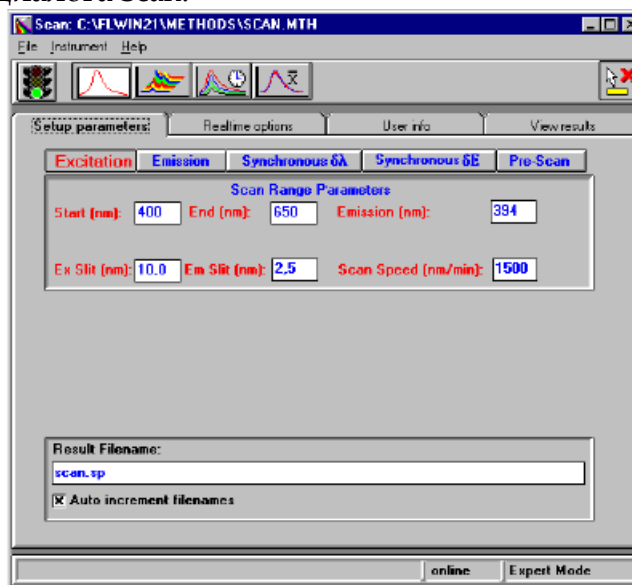
Режим Kinetic scan

В этом режиме доступны четыре типа сканирования - развертка возбуждения, эмиссионная развертка, синхронная развертка при постоянной длине волны и синхронная развертка при постоянной разности энергий излучения монохроматоров. Спектры регистрируются по времени; после поступления внешнего сигнала; или после ввода с клавиатуры.

Когда метод *Kinetic method* запущен, данные автоматически сохраняются как трехмерный набор данных с тем же самым названием, что у первого файла при запуске, но с расширением SP3. Трехмерные графики могут быть рассмотрены и отредактированы с помощью приложения 3D View.

3.3 Использование приложения

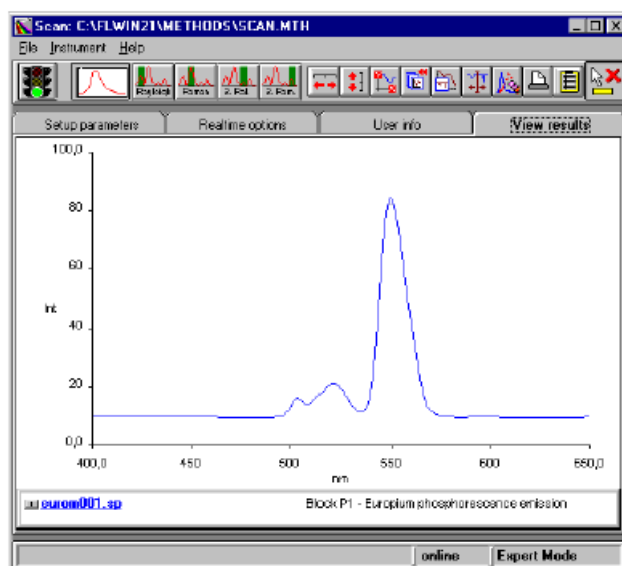
1. В меню Application выберите Scan.
Появится окно диалога Scan.



2. Выберите нужный режим сканирования (single, 3D, kinetic или accumulation) с помощью больших значков на инструментальной панели рядом со значком светофора.
3. Выберите тип развертки (Excitation, Emission, Synchronous или Pre-scan), щелкнув на соответствующей кнопке.
4. Задайте обязательные параметры в предлагаемые поля ввода. Используйте позиции табуляции для передвижения между страницами.
5. Щелкните на зеленом окне светофоре, чтобы запустить приложение.
6. Используя значки на инструментальной панели, отформатируйте графический дисплей.
7. Для выхода из приложения выберите Exit в меню File.

Страница View results

Эта страница содержит инструментальную панель, графические значки, на которой появляются в зависимости от выбранного режима сканирования. Подробное описание просмотра данных в режиме реального времени приведено в разделе «Универсальные средства просмотра».



Экспериментальная часть.

Методика исследования люминесценции коллоидных «квантовых точек».

Краткие теоретические сведения

Квантовые точки (КТ) – полупроводниковые нанокристаллы размером 2-10 нм, являются перспективным объектом для биологических и медицинских применений благодаря их уникальным оптическим, химическим, физическим свойствам.

Благодаря эффекту квантового пространственного ограничения оптические параметры квантовых точек (спектры поглощения и люминесценции) зависят от размеров нанокристаллов. Поэтому, меняя их размеры и химический состав, можно получить спектры излучения квантовых точек в широкой области длин волн: весь видимый диапазон, иногда инфракрасную и ультрафиолетовую области.

Квантовые точки хорошо люминесцируют с узким спектром излучения, обладают высоким «квантовым выходом» (до 80 %), большим коэффициентом поглощения (до единиц $10^6 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), им свойственна широкая полоса поглощения. Таким образом, квантовые точки разного размера можно возбудить светом с одной и той же длиной волны, регистрируя люминесцентное излучение от них на разных длинах волн. Нанокристаллы обладают высокой химической и фотостабильностью. Так, например, было показано, что квантовые точки в 100 раз более стойки к фотообесцвечиванию, чем флуоресцентный краситель родамин 6G.

Благодаря своим исключительным характеристикам, квантовые точки являются альтернативой традиционным люминофорам на основе органических красителей при использовании для медико-биологических приложений, значительно повышая эффективность существующих методик исследования, диагностики и лечения.

При получении спектров коллоидных «квантовых точек» следует
придерживаться нескольких правил:

1. Растворы КТ должны быть разбавленными. При высокой концентрации КТ в растворе возможны эффекты тушения люминесценции. Эффективная люминесценция наблюдалась при концентрации КТ порядка 10^{14} шт/см³.
2. Особое внимание следует уделять растворителю. Растворитель должен быть «чистым», не содержать дополнительных компонентов, способствующих тушению люминесценции или же люминесцирующих компонентов. В случае водонерастворимых КТ могут быть использованы гексан «чда» или толуол «чда».
3. КТ обладают интенсивной люминесценцией, поэтому рекомендуемое напряжение прибора составляет 600-700 В.

В данной методичке рассмотрено получение спектров жидких
образцов. В этом случае нужно:

- ✓ Приготовить разбавленный раствор КТ
- ✓ Использовать стандартные 10 мм квадратные люминесцентные кюветы Perkin Elmer
- ✓ Стенки кювет должны иметь высокую пропускающую способность, поэтому перед измерениями необходимо проверить их чистоту
- ✓ Использовать держатель для кювет

Спектр люминесценции КТ представляет собой относительно узкую полосу, положение максимума которой зависит от среднего размера КТ, а ширина определяется разбросом КТ по размерам. Обычно характерный разброс не превышает 5-10%, в результате чего эта полоса значительно уже, чем у большинства люминесцирующих органических молекул. На рисунке представлен спектр люминесценции КТ CdSe. Задавались следующие параметры съемки:

длина волны возбуждения 400 нм, интервал съемки 450-700 нм, ширина щелей 5 нм.

Таблица 4.1 Условия съемки

Режим	Scan-single
Длина волны возбуждения	400 нм
Интервал длин волн люминесценции	450-700 нм
Входная щель	5 мм
Выходная щель	5 мм
Напряжение	650 В
Фильтр	430 nm cut-off

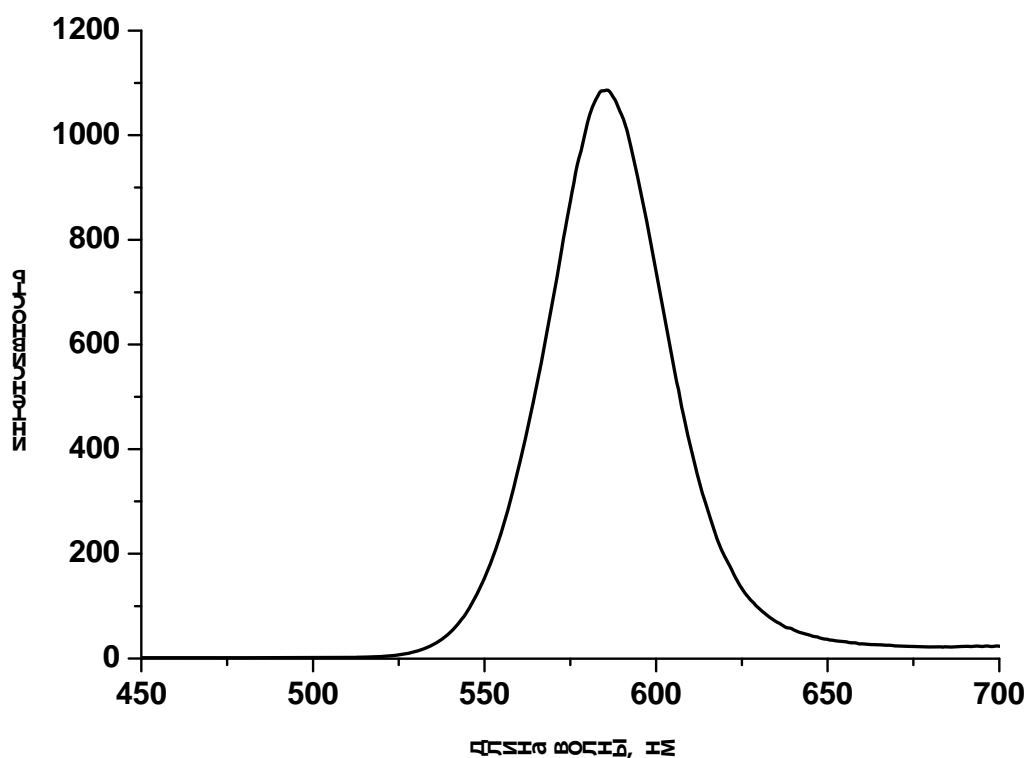


Рис 4.1. Спектр люминесценции коллоидных нанокристаллов CdSe.

В рамках задачи спецпрактикума было проведено исследование люминесценции *in situ* в процессе роста эпитаксиальной структуры CdSe/CdS. Синтез КТ осуществлялся методом послойного наращивания. Первоначальный спектр КТ CdSe содержит один максимум люминесценции (рис. 4.1). После добавления прекурсоров, наблюдается сдвиг максимума люминесценции в красную область, что свидетельствует о образовании оболочки CdS на

поверхности CdSe. При дальнейшем прикапывании прекурсоров на спектре наблюдается появление второго максимума, положение которого также сдвигается в красную область и увеличивается интенсивность. Появление второго максимума люминесценции относится к люминесценции КТ CdS, образующихся в процессе синтеза (рис. 4.2).

Таблица 4.2 Условия съемки

Режим	Scan-single
Длина волны возбуждения	400 нм
Интервал длин волн люминесценции	450-700 нм
Входная щель	5 мм
Выходная щель	5 мм
Напряжение	650 В
Фильтр	430 nm cut-off

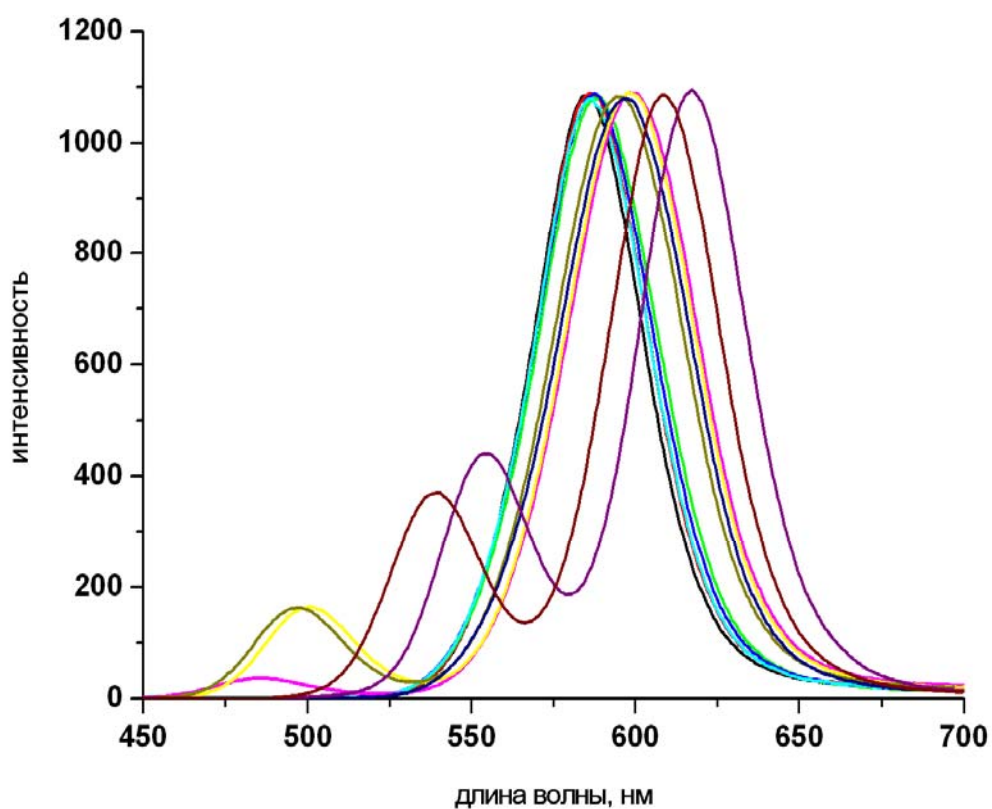


Рис. 4.2 Спектры люминесценции серии CdSe/CdS

Возможность варьирования ширины щели и напряжения позволяет регистрировать люминесценцию частиц малой концентрации. Так в образце КТ CdSe/CdS было обнаружено содержание частиц CdS исходя из спектра люминесценции образца.

Таблица 4.3 Условия съемки

Режим	Scan-single
Длина волны возбуждения	400 нм
Интервал длин волн люминесценции	450-700 нм
Входная щель	5 мм
Выходная щель	5 мм
Напряжение	650 В (а), 850 В (б)
Фильтр	430 nm cut-off

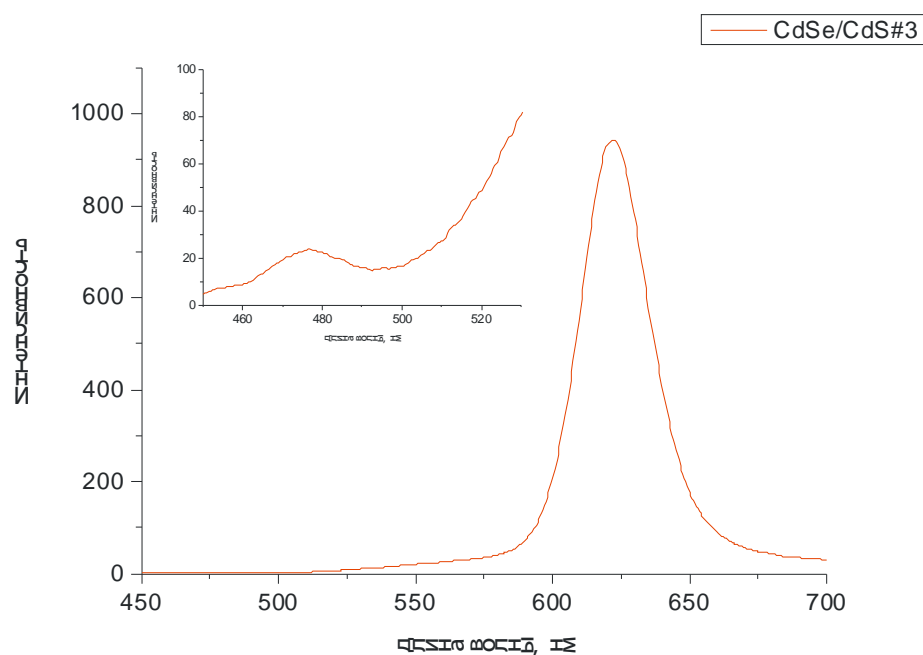


Рис. 4.3 Спектр люминесценции образца CdSe/CdS (а)650В, (б) 850 В

Верхний спектр люминесценции был получен при напряжении 850 В и ширине щелей 10 нм. Основной спектр люминесценции был получен при напряжении 650 В и ширине щелей 5 нм.

Методика исследования люминесценции комплексов Zn(II) с основаниями Шиффа.

Краткие теоретические сведения

Координационные соединения переходных металлов, проявляющие люминесцентные свойства, представляют интерес, поскольку могут быть использованы в качестве электролюминесцентных материалов в структуре органического электролюминесцентного материала. Среди различных классов координационные соединения цинка (II) особое место занимают комплексы с органическими лигандами, содержащими азометиновую связь – основания Шиффа. Пример структурной формулы основания Шиффа представлен на рис. 4.6.

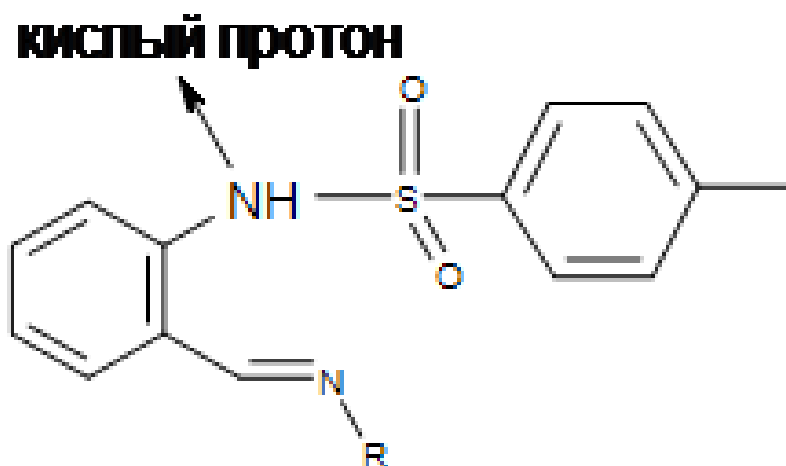


Рис. 4.6 Структуры тозильных оснований Шиффа

Люминесцентные свойства комплексов цинка (II) определяются только органическими лигандами из-за полностью заполненной d – оболочки центрального иона. Возможно целенаправленное варьирование функциональных свойств координационных соединений цинка (II) за счет введения различных заместителей в органические лиганды.

При получении спектров комплексов Zn(II) с основаниями Шиффа следует придерживаться нескольких правил:

1. Все рассмотренные основания Шиффа и комплексы на их основе при возбуждении в УФ- светом люминесцируют в видимой области спектра и обладают широкой полосой люминесценции.
2. Для сравнения интенсивности люминесценции образцов оснований Шиффа и комплексов цинка (II) на их основе необходимо фиксировать ширину щелей на подаваемое напряжение.
3. Рекомендуется прессовать образцы в таблетки одинаковой массы и диаметра. Это нужно для того, чтобы таблетки были с одинаковой площадью и шероховатостью поверхности при условии использования одной и той же прессформы.

В данной методичке рассмотрено получение спектров образцов виде таблеток. В этом случае нужно:

- ✓ Использовать держатель для твердых образцов.
- ✓ Закрепить образец на держателе с помощью углеродного скотча, стараясь закрыть таблеткой кусочек скотча полностью.

Изучение люминесценции оснований Шиффа

Цель: изучить влияние заместителей и депротонирования на спектры люминесценции, определить оптимальные длины волн возбуждения.

Таблица 4.5 Условия съемки

Режим	Scan – 3D
Интервал длин волн возбуждения	200-400 нм
Шаг	2 нм
Интервал длин волн люминесценции	300-600 нм
Входная щель	10 мм
Выходная щель	10 мм
Напряжение	750 В

В задаче рассмотрены следующие основания Шиффа и их соли с цинком:

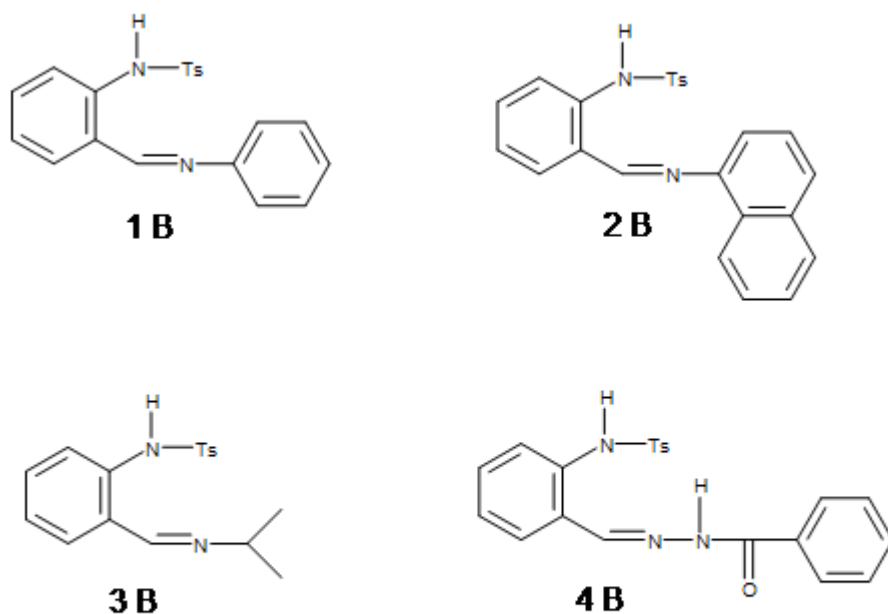


Рис. 4.7 Структуры изучаемых оснований Шиффа и их обозначения

Во всех полученных спектрах наблюдается одна широкая полоса в сине-зеленой области. Видно, что депротонирование оснований Шиффа приводит к смещению полосы в синюю область. Известно, что депротонирование органических лигандов и образование комплексов с d^{10} -металлами значительно уменьшает энергетическую щель между НОМО и LUMO. Результаты теоретического моделирования и сравнение величин энергий граничных орбиталей оснований Шиффа, находящихся в исходном состоянии – форма енол-енол- и комплексов цинка (II) подтверждают эту закономерность[1]. Однако, при анализе экспериментальных данных обнаружен обратный эффект. Это нарушение было описано [2] и объяснено внутримолекулярным переносом протона в молекуле исходного основания Шиффа, находящейся в возбужденном состоянии, что приводит к батохромному сдвигу максимума люминесценции, при комплексообразовании происходит разрушение таутомерных форм и, как следствие, наблюдается гипсохромный сдвиг максимума излучения в спектрах фотолюминесценции комплексов цинка (II) по сравнению с исходными основаниями Шиффа.

Алкильные заместители являются п-акцепторами, поэтому сильнее оттягивают на себя электронную плотность. Это приводит к тому, что переход электрона через запрещенную зону должен сопровождаться большим выделением (поглощением) энергии. Люминесценция оснований Шиффа с алкильным заместителем гораздо интенсивнее, чем в случае арильных заместителей.

Во всем диапазоне длин волн возбуждения наблюдается только одна полоса люминесценции, причем она не сдвигается при изменении длины волны возбуждения. Видно, что можно эффективно возбуждать изучаемые образцы в диапазоне длин волн, близком к видимому.

1В

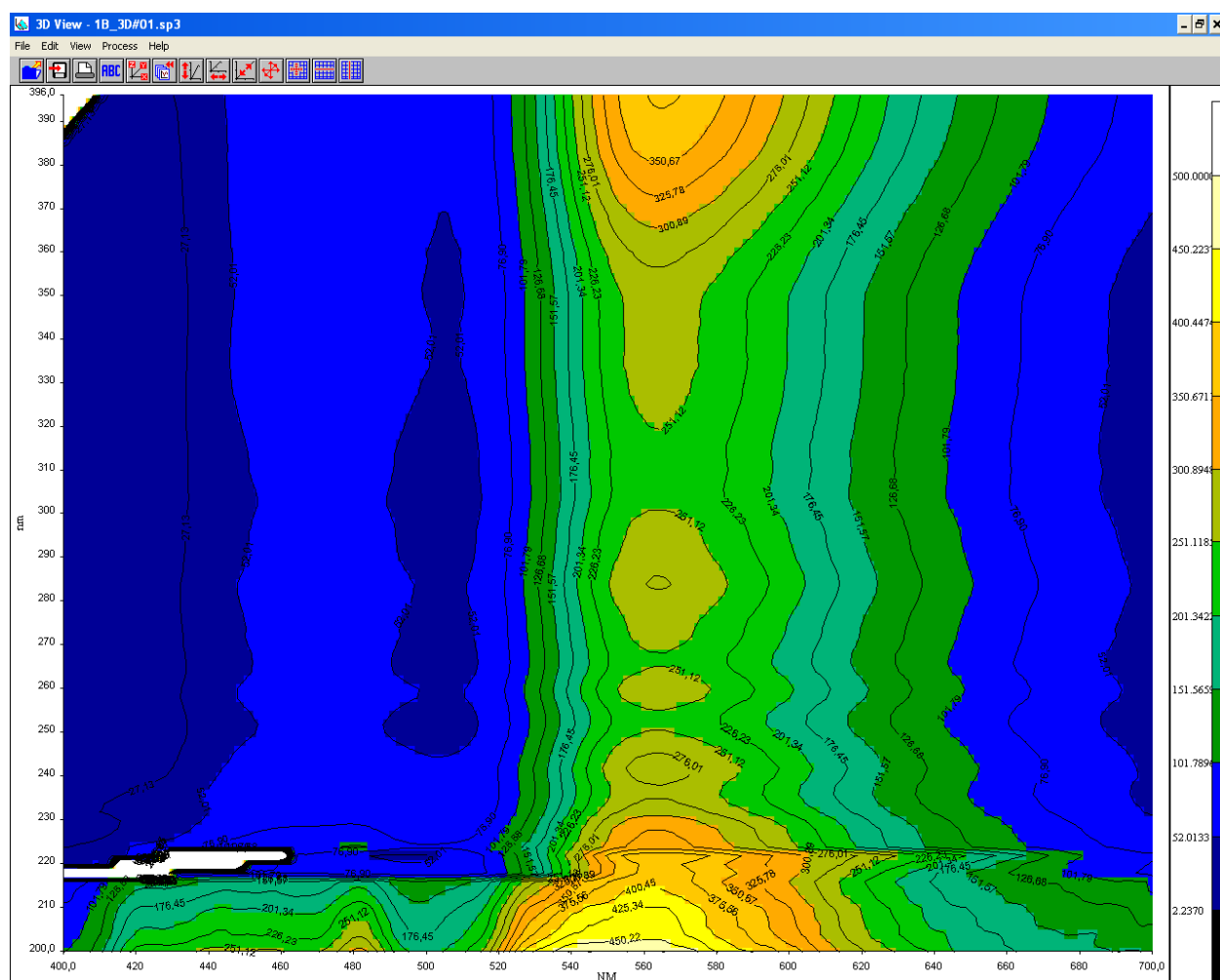
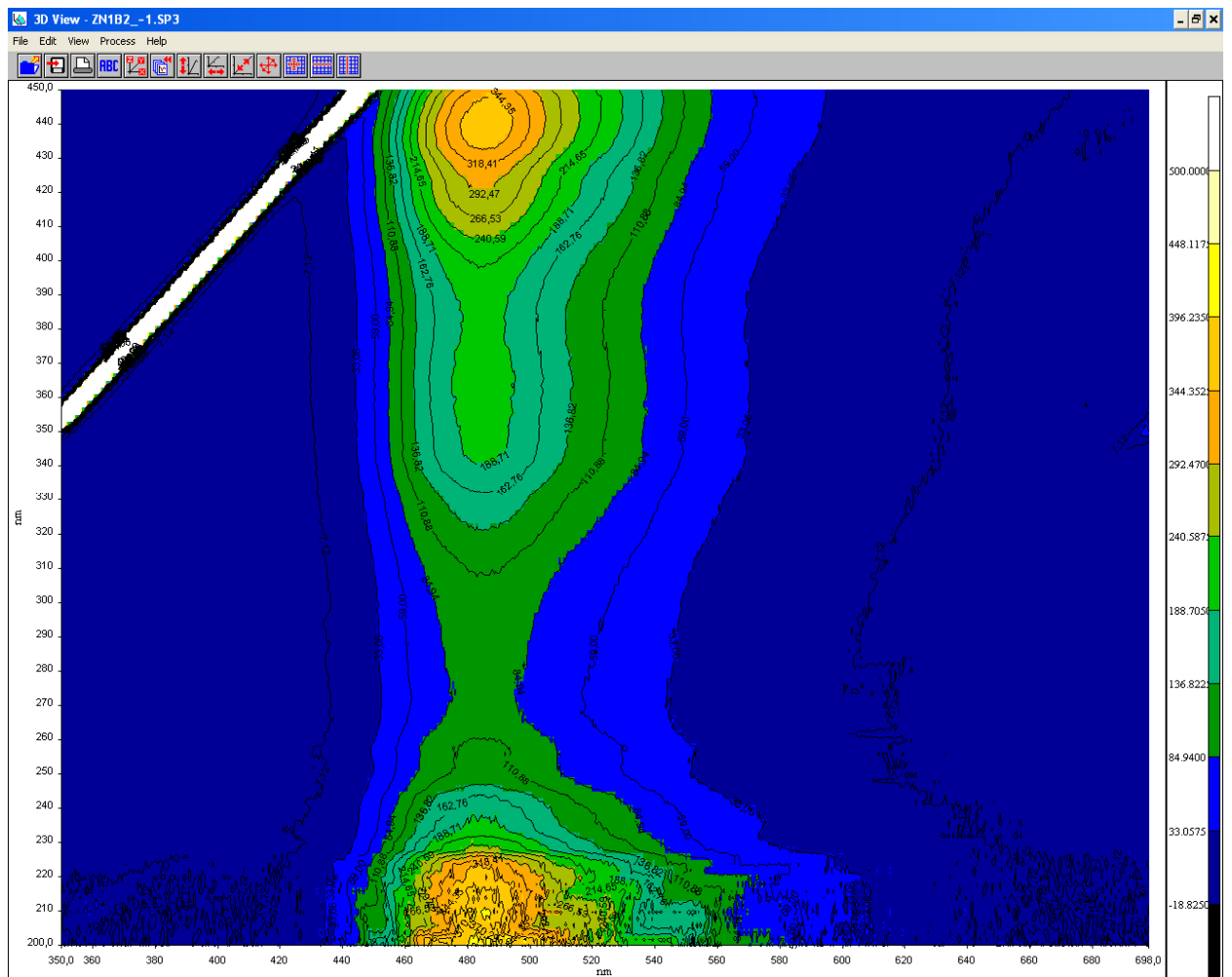
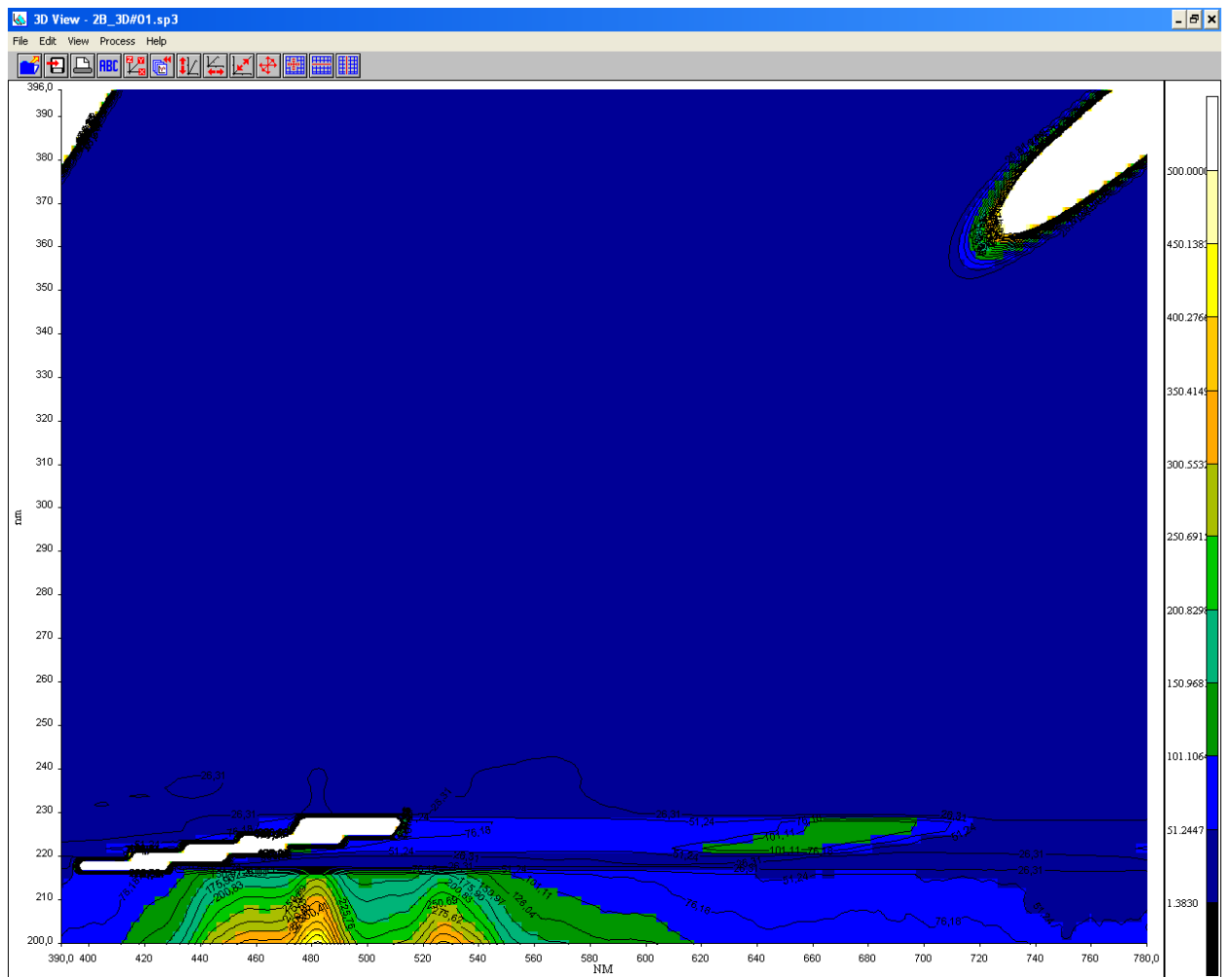


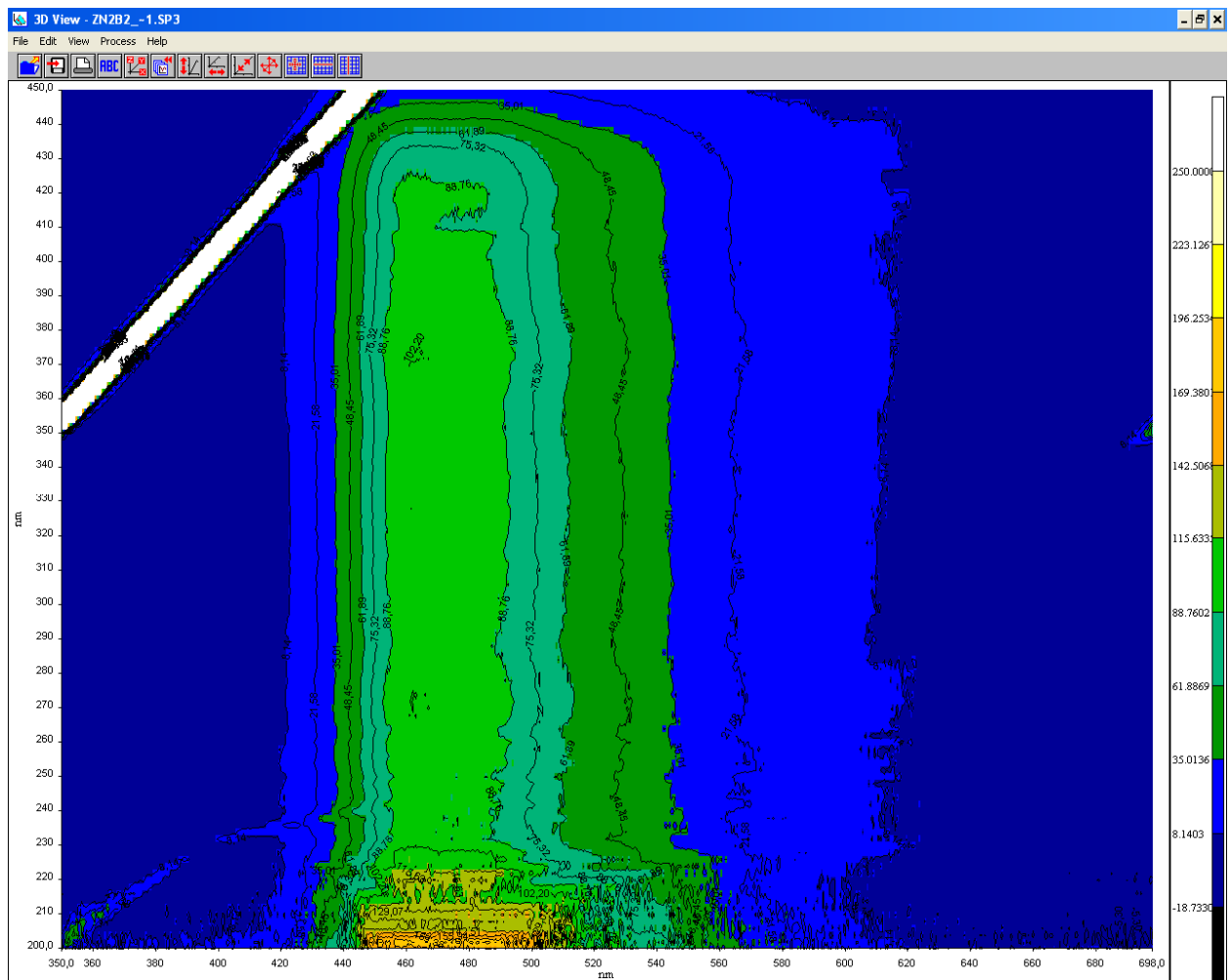
Рис. 4.8 Спектры люминесценции оснований Шиффа и их солей с цинком.



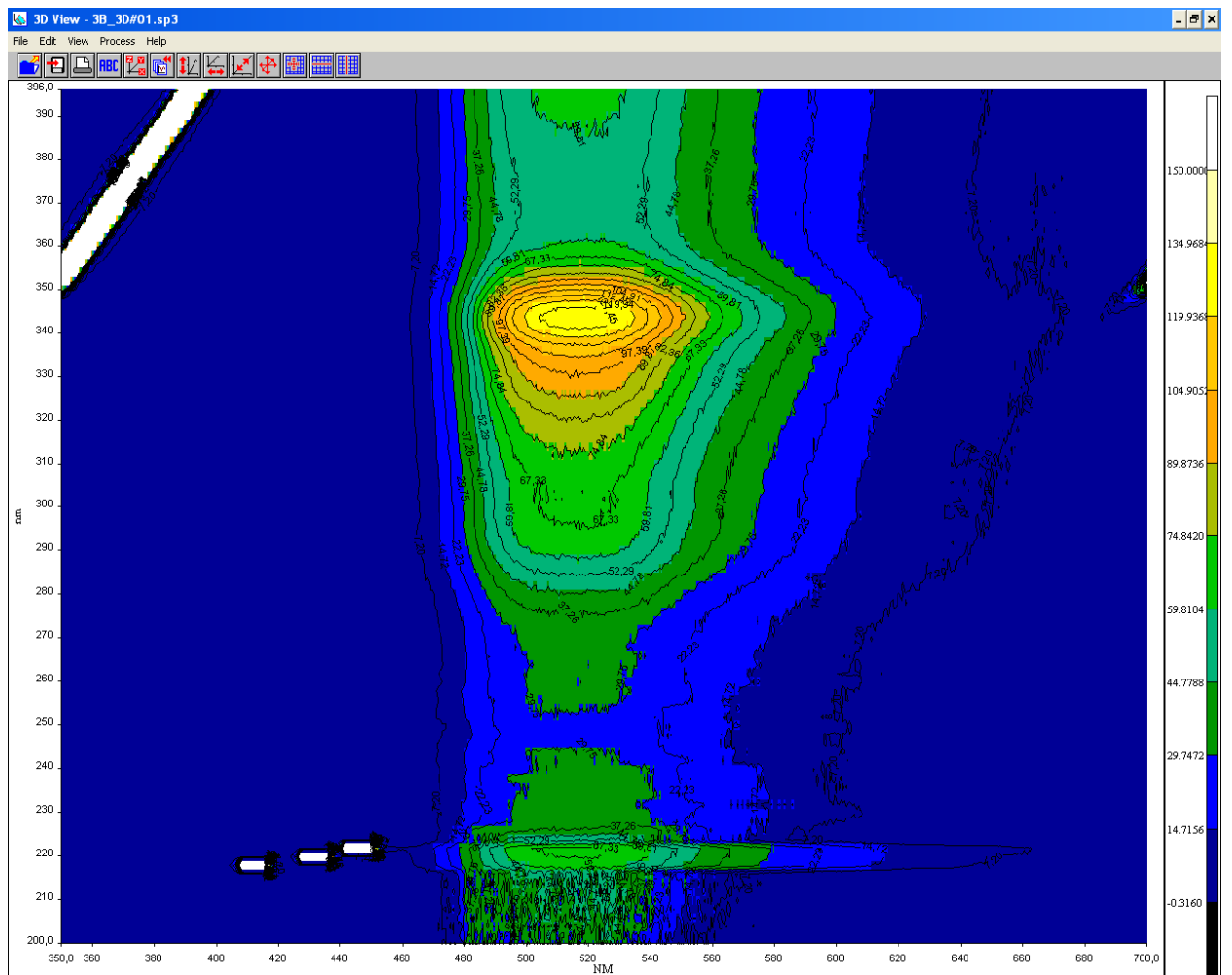
Zn(1B)2



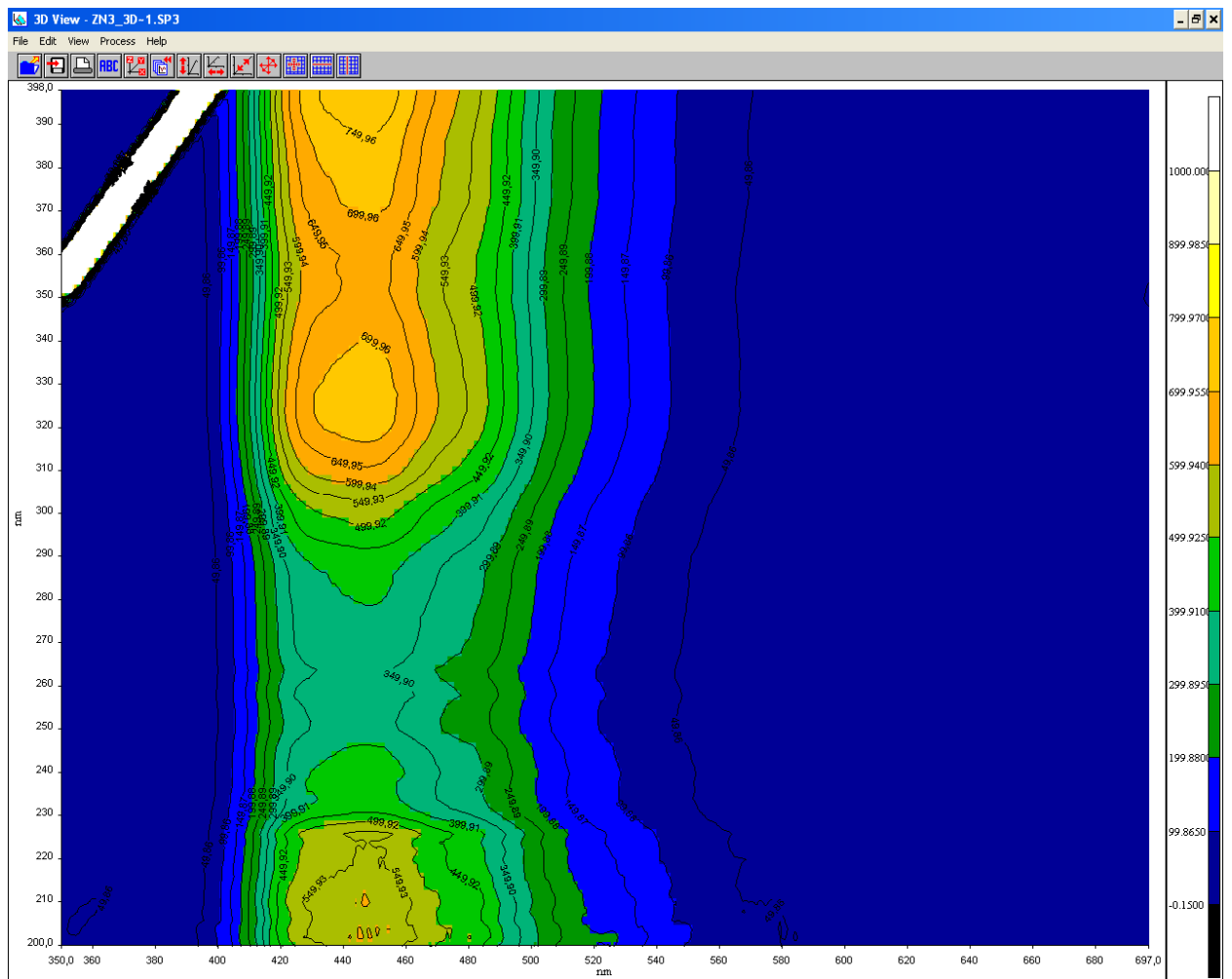
2B



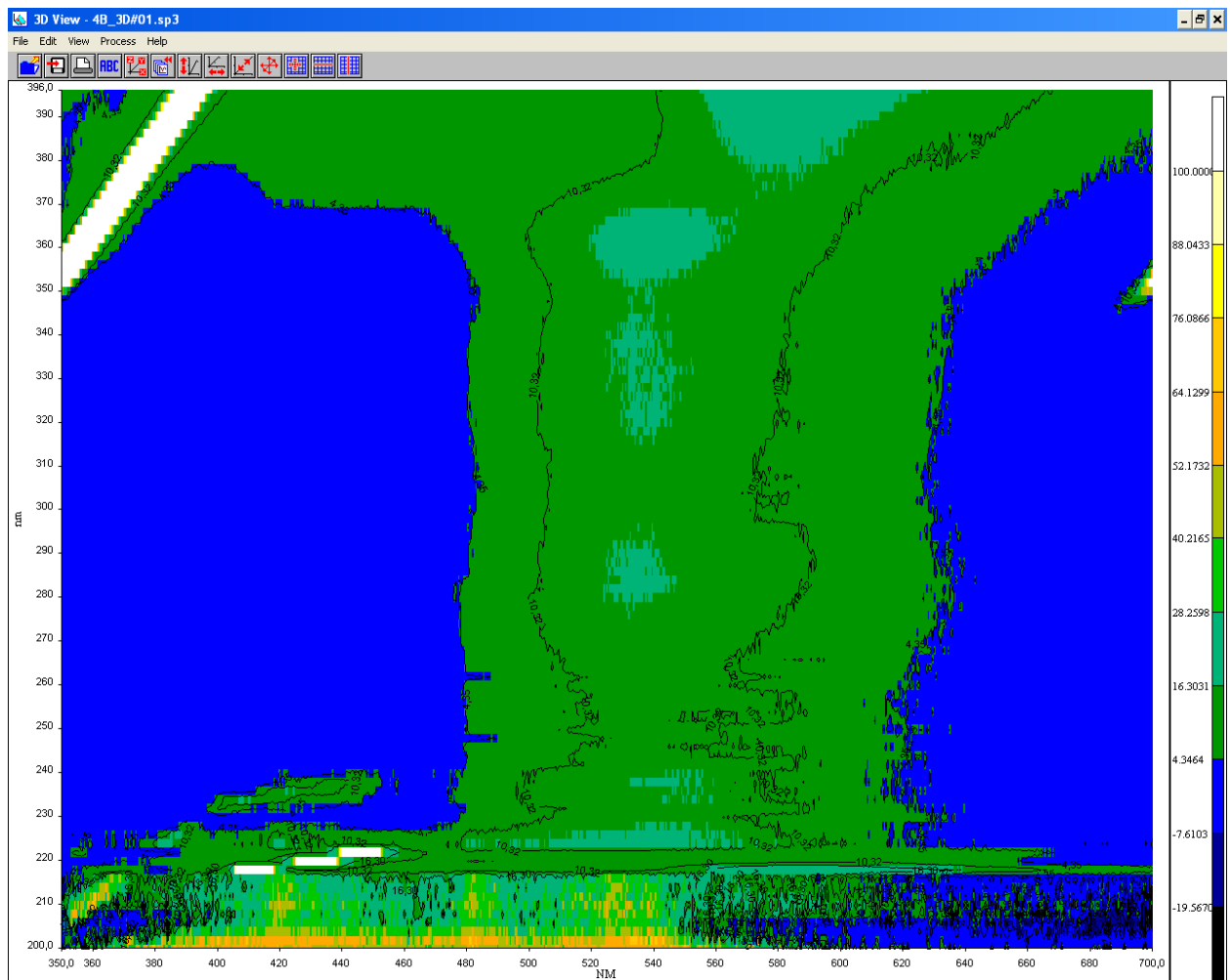
Zn(2B)2



3B

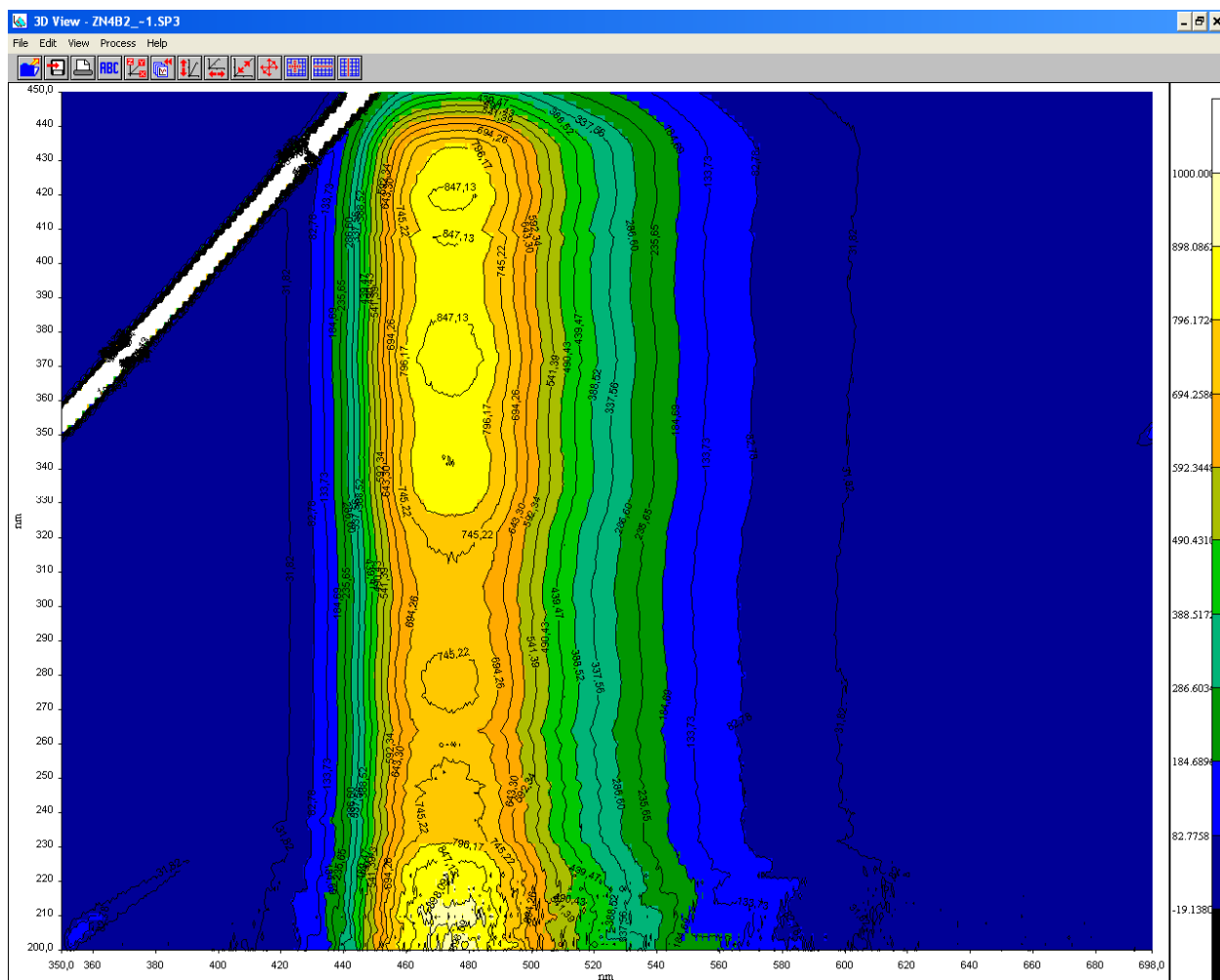


$Zn(3B)2$



4B

Zn(4B)2



Список литературы.

1. О.В. Котова и др. Комплексы цинка (II) с основаниями Шиффа, производными этилендиамина и салицилового альдегида: синтез и фотолуминесцентные свойства, Известия Академии наук. Серия химическая, 2008, №9, с. 1
2. Y.-P.Tong, S.-L. Zheng, X.-M. Chen, J. Mol. Struct., 2007, 826, 104.

Методика исследования соединений Eu, Tb и Tm.

При получении спектров РЗЭ следует придерживаться нескольких правил:

1. Интенсивность люминесценции РЗЭ, как правило, достаточно велика, поэтому не следует устанавливать слишком высокое напряжение прибора. Может быть достаточно до 750 В.
2. Переходы типа f-f сравнительно узкие, поэтому широкая щель может привести к тому, что некоторые полосы трудно будет различить. С другой стороны, когда нужно четче увидеть составляющие одной полосы, можно уменьшить щель. (Различить составляющие полосы удастся далеко не всегда, так как прибор работает только при комнатной температуре)
3. Во избежание искажения спектров (чаще – в коротковолновой области) лучше пользоваться эмиссионным фильтром UG5.

Люминесценция европия:

Ион Eu^{3+} обладает ярко-красным свечением, но в зависимости от симметрии окружения наиболее интенсивной будет полоса 590 нм или 614 нм. В случае центросимметричного окружения ярче проявляется переход при 590 нм. Если окружение нецентросимметрично – переход при 614 нм (рис. 4.9). Это важно учитывать при получении спектров возбуждения (рис. 4.10). Люминесценцию европия можно снимать, возбуждая полосу переноса заряда при 250 нм, а можно использовать собственный переход иона при 396 нм.

Люминесценция тербия:

Люминесценцию тербия часто наблюдают при возбуждении энергией УФ-диапазона. Можно пользоваться энергией, близкой по величине к УФ. В области 200-250 нм можно видеть полосу переноса заряда, она гораздо интенсивнее собственных переходов Tb^{3+} (рис. 4.11). Тербий люминесцирует зеленым цветом, наиболее интенсивный переход при 543 нм (рис. 4.12).

Люминесценция туллия:

Спектры возбуждения и люминесценции туллия сравнительно просты: виден один наиболее яркий переход. В спектре возбуждения виден переход при 362 нм (рис. 4.13). В спектре люминесценции- при 451 нм (рис. 4.14).

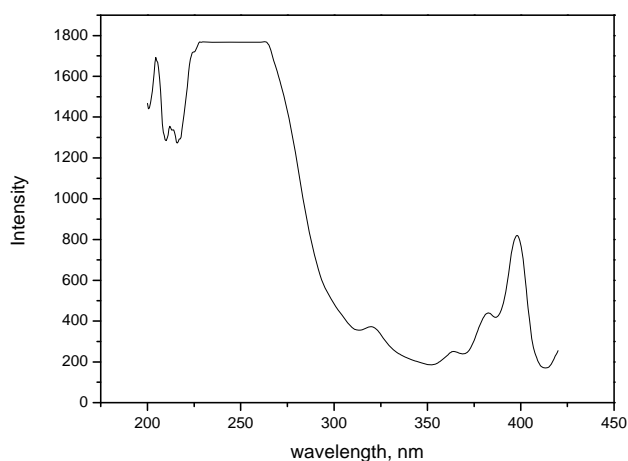


Рис. 4.9 Спектр возбуждения иона Eu^{3+} $\lambda_{\text{ex}}=614$ нм.

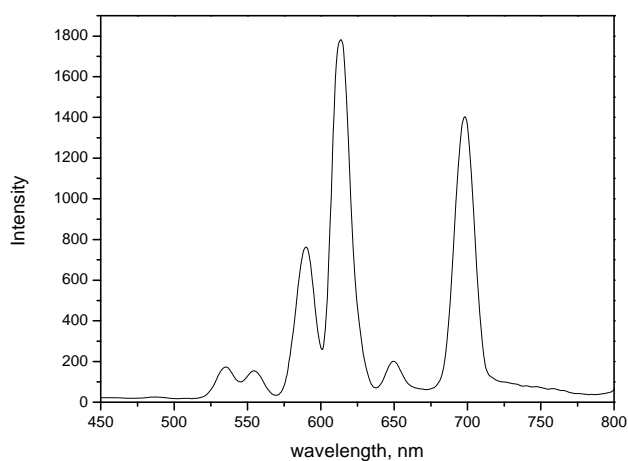


Рис. 4.10 Спектр люминесценции иона Eu^{3+} $\lambda_{\text{ex}}=396$ нм.

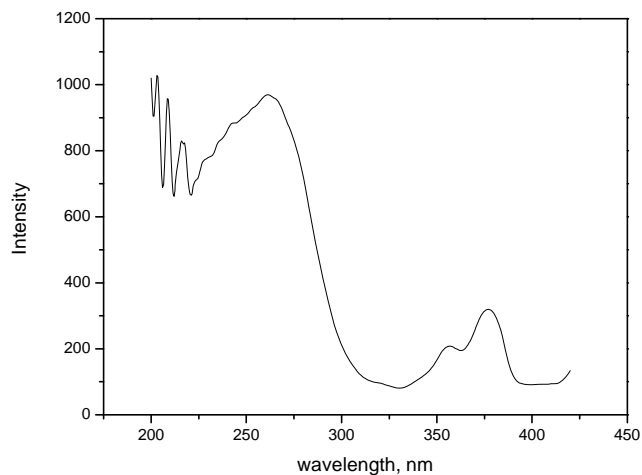


Рис. 4.11 Спектр возбуждения иона Tb^{3+} $\lambda_{\text{ex}}=543$ нм.

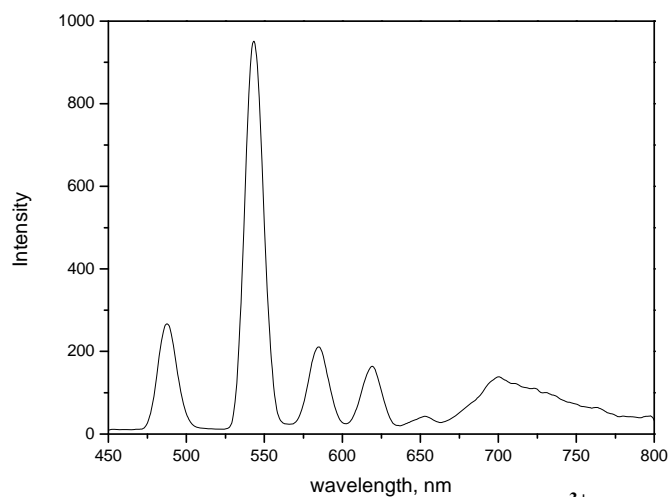


Рис. 4.12 Спектр люминесценции иона Tb^{3+} $\lambda_{ex}=362$ нм.

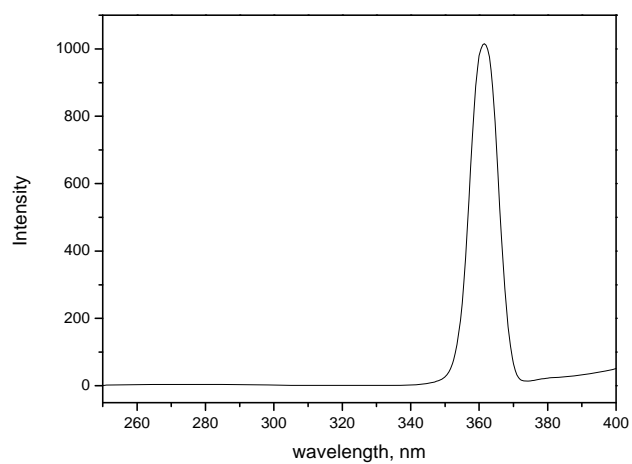


Рис. 4.13 Спектр возбуждения иона Tm^{3+} $\lambda_{ex}=451$ нм.

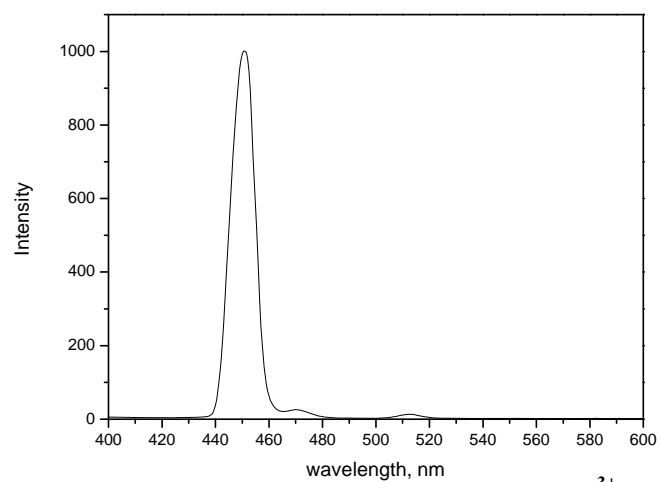


Рис. 4.14 Спектр люминесценции иона Tm^{3+} $\lambda_{ex}=362$ нм.

Изучение люминесценции соединений европия.

Таблица 4.6 Условия съемки

Режим	Scan-single
Длина волны возбуждения	309 нм
Интервал длин волн люминесценции	450-800 нм
Входная щель	10 мм
Выходная щель	10 мм
Напряжение	750 В
Фильтр	430 nm cut-off

Частичное замещение фосфат-анион на ванадат-анион не только увеличивает интенсивность люминесценции в целом, но и относительную интенсивность перехода $^5D_0-^7F_2$.

Рост общей интенсивности можно объяснить непосредственным присутствием VO_4^{3-} -аниона, так как в этом случае энергия излучения передается от редкоземельного элемента матрицы (Y) не сразу центрам люминесценции, как это бывает в фосфатах РЗЭ, а через ванадат-анионы, что гораздо более эффективно.

Электродипольные переходы европия крайне чувствительны к симметрии координационного окружения: чем ниже симметрия, тем выше интенсивность этих переходов. Поэтому понижение симметрии в данной ситуации должно благоприятно повлиять и на соотношение интенсивности переходов, а именно – усилить переход $^5D_0-^7F_2$, что, в свою очередь, должно привести к улучшению качества цвета свечения люминофора. Именно к искажению тригон-додекаэдра $M^{III}O_8$ и понижению его симметрии может привести частичное замещение PO_4^{3-} на VO_4^{3-} , который существенно больше по размерам, при образовании твердого раствора $K_2M^{III}(MoO_4)(PO_4)_{1-y}(VO_4)_y$ ($M^{III}=Y, Eu$). В результате должен наблюдаться рост относительной интенсивности перехода $^5D_0-^7F_2$. Поскольку такая ситуация имеет место (Рис. 5.7), можно заключить, что при замещении фосфат-аниона на ванадат-анион образуются твердые растворы.

Помимо роста интенсивности переходов с уровня 5D_0 в композициях $K_2Y_{1-x}Eu_x(MoO_4)(PO_4)_{0.9}(VO_4)_{0.1}$ наблюдаются менее вероятные переходы с уровня 5D_1 : $^5D_1-^7F_1$ и $^5D_1-^7F_2$ (Рис. 5.7). Это может свидетельствовать об эффективной передаче энергии центрам люминесценции.

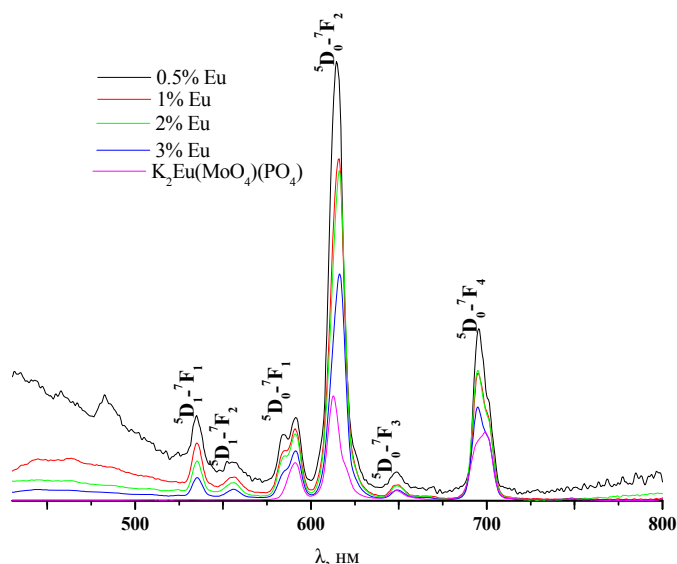


Рис. 4.15. Спектры люминесценции $K_2Y_{1-x}Eu_x(MoO_4)(PO_4)_{0.9}(VO_4)_{0.1}$

Изучение люминесценции соединений тербия.

Таблица 4.7 Условия съемки

Режим	Scan-single
Длина волны возбуждения	250 нм
Интервал длин волн люминесценции	450-700 нм
Входная щель	10 мм
Выходная щель	10 мм
Напряжение	750 В
Фильтр	430 nm cut-off

В отличие от образцов с европием в той же самой матрице, в образцах, допированных тербием не наблюдается эффект концентрационного тушения (рис. 4.16).

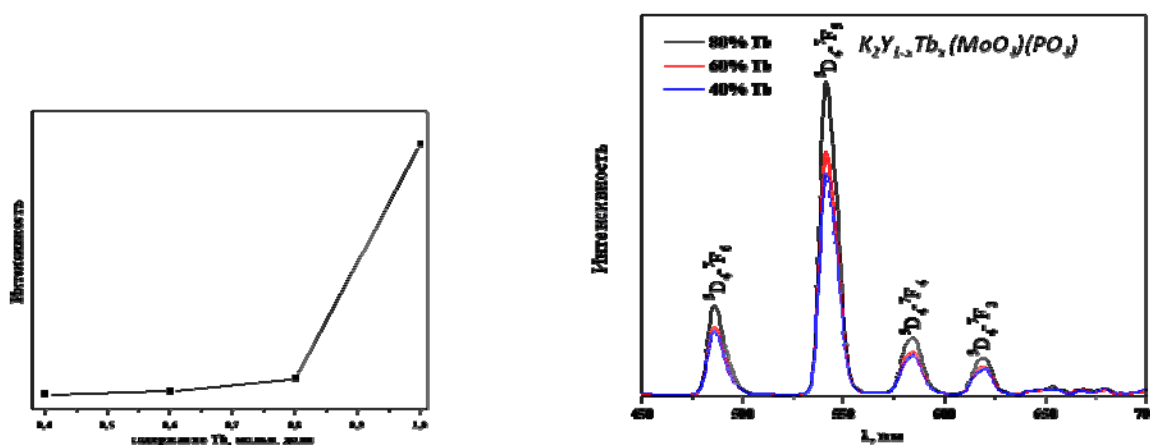


Рис. 4.16 Зависимость интенсивности люминесценции от концентрации тербия и спектры люминесценции $K_2Y_{1-x}Tb_x(MoO_4)(PO_4)$.

Соотношение полос не меняется при изменении содержания ионов активатора (табл. 4.7).

Таблица 4.8 Относительные интенсивности переходов.

Образец	Относительная интенсивность переходов			
	$^5D_4-^7F_6$	$^5D_4-^7F_5$	$^5D_4-^7F_4$	$^5D_4-^7F_3$
100% Tb	0.30	1	0.20	0.13
80% Tb	0.30	1	0.22	0.14
60% Tb	0.30	1	0.22	0.14
40% Tb	0.31	1	0.22	0.14

Изучение люминесценции соединений туллия.

Таблица 4.9 Условия съемки

Режим	Scan-single
Длина волны возбуждения	250 нм
Интервал длин волн люминесценции	400-600 нм
Входная щель	5 мм
Выходная щель	5 мм
Напряжение	650 В
Фильтр	390 nm cut-off

В спектрах люминесценции $K_2Y_{1-x}Tm_x(MoO_4)(PO_4)$ (рис. 4.17) наблюдается один наиболее интенсивный f-f-переход при 450 нм, синий цвет. Также присутствует эффект концентрационного тушения: наибольшая интенсивность люминесценции в образце с 4% мольн. Tm.

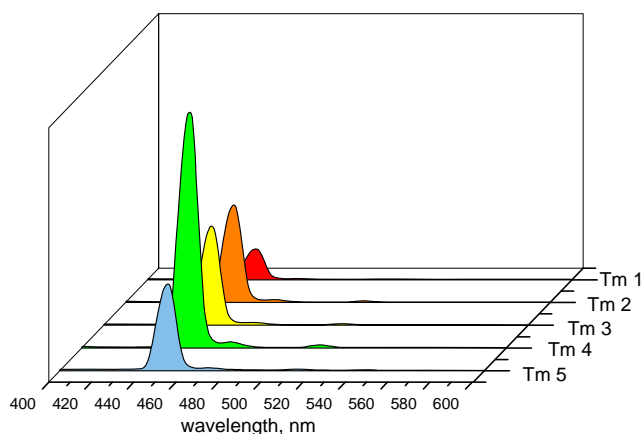


Рис. 4.17 Спектры люминесценции $K_2Y_{1-x}Tm_x(MoO_4)(PO_4)$

Определение родамина 6Ж в растворе этанола методом градировочного графика.

1. Назначение метода

Настоящая методика устанавливает порядок выполнения измерений по определению следующих характеристик твердого люминесцирующего вещества: положение полос в спектре, их полуширина и интенсивность. Измерения проводятся методом люминесцентной спектроскопии.

Методика выполнения измерений предназначена для изучения люминофоров, содержащих различные редкоземельные элементы:

- ☐ Люминесцирующие в видимой области РЗЭ в оксидной матрице
- ☐ Люминесцирующие в видимой области РЗЭ в матрице $M^{III}PO_4$
- ☐ Люминесцирующие в видимой области РЗЭ в матрице $M^{III}VO_4$

по показателям: положение полос в спектре, их полуширина и интенсивность.

Люминесценцией называют такое излучение, которое вещество испускает после предварительного возбуждения без всякой помощи тепловой энергии. О люминесценции можно говорить тогда, когда какие-либо вещества светятся при обычной температуре среды, причем подобное излучение вызывается не температурой излучающего тела. Здесь также возможен вариант, когда возбужденная молекула безизлучательно передают свою энергию другим молекулам, которые затем испускают свет. В зависимости от того или иного механизма возбуждения возможны различные виды люминесценции (таб. 1)

Таблица 1. Разные виды люминесценции

<i>Виды люминесценции</i>	<i>Механизм возбуждения</i>	<i>Пример</i>
Радиолюминесценция	Воздействие высокоэнергетических частиц или гамма-излучения радиоактивных процессов	Самосветящиеся цифры на циферблатах часов
Электролюминесценция	Воздействие электрических полей	Свечение газоразрядных ламп
Хемилюминесценция	Излучение, возбужденное химическими реакциями	Окисление белого фосфора на воздухе

Биолюминесценция	Био-химические процессы	Светящиеся рыбы, жуки, бактерии
Триболюминесценция	Механическое воздействие	Растирание или разбивка кристаллов сахара
Кристалло-люминесценция	Кристаллизация	Окислы мышьяка
Фотолюминесценция	Поглощение света УФ/видимый или ИК-области спектра	Флуоресценция и ИК-фосфорисценция

В зависимости от продолжительности процесса излучения, в случае фотолюминесценции, различают фосфоресценцию и флуоресценцию. Флуоресценция возникает, когда участвующие возбужденные состояния имеют в качестве исходной точки фотоэмиссии среднее время жизни порядка 10^{-8} с, фосфорисценция имеет место, когда это время 10^{-3} с и более.

Поглощенная энергия в большинстве случаев вновь отдается путем безызлучательной дезактивации, причем следует делать различие между межмолекулярными и внутримолекулярными процессами. Люминесценцию характеризуют спектром испускания (фотолюминесценцию - также спектром возбуждения), квантовым выходом, поляризацией, кинетикой затухания.

Так как излучение флуоресценции всегда вызывается переходом из низшего колебательного уровня первого возбужденного состояния, то внешние формы спектра излучения всегда одинаковы и в принципе не зависят от длины возбуждающего света. Графическое представление интенсивности излучения на оси у относительно длины волны, отложенной на оси х при заданной длине волны возбуждения, обозначается как спектр флуоресцентной эмиссии. Если изменить длину волны возбуждения и отложить интенсивность излучения пробы относительно длины волны возбуждения, получится спектр возбуждения флуоресценции

Определение концентрации родамина 6Ж в спиртовых растворах.

Родаминовые красители относятся к группе ксантеновых красителей. Их растворы в этаноле обладают интенсивной флуоресценцией. Способность родаминов к флуоресценции объясняется наличием кислородных мостиков, придающих их молекулам необходимую жесткость. Родамины интенсивно поглощают электромагнитное излучение видимого и УФ диапазонов спектра. Поэтому для возбуждения флуоресценции можно применять источник как видимого, так и УФ света. В процессе работы с родаминовыми

красителями нередко приходится сталкиваться с задачей определения концентрации красителя в растворе. Эта задача успешно решается в рамках люминесцентного анализа.

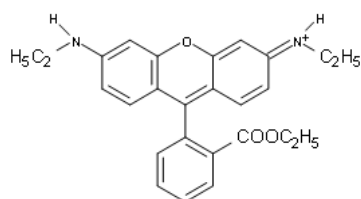
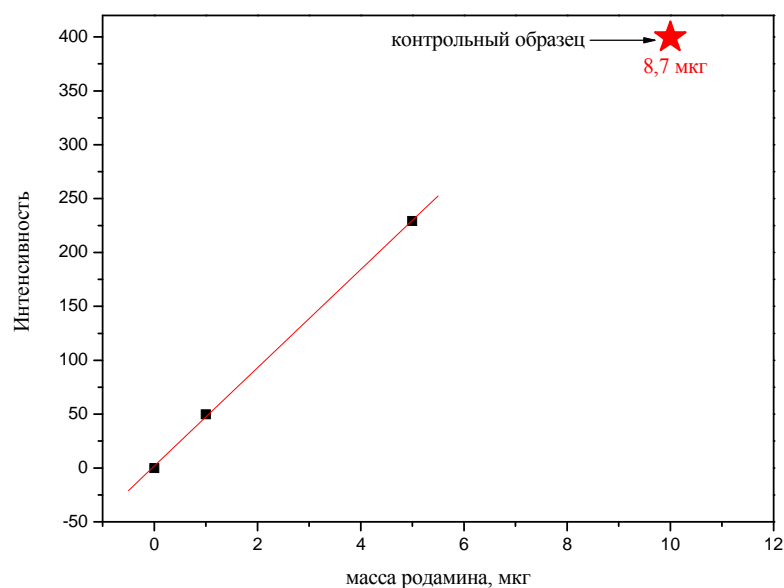


Рис. 1 Родамин 6Ж

Для определения родамина 6Ж (рис. 1) строят градуировочный график, с помощью которого определяют концентрацию искомого раствора по формуле:

$$s = \left[\sum_i (I - I_i)^2 / (n - 1) \right]^{1/2}$$

где \bar{I} – среднее значение интенсивности люминесценции контрольного опыта; I_i – значение интенсивности люминесценции i -го контрольного опыта; $n=10$ – число измерений.



2. Показатели точности

Погрешность измерений ($P=0.95$) соответствует характеристикам, приведенным в таблице 1.

Таблица 1. Сведения об оценке показателей точности МВИ

Наименование показателей и единиц измерений	Оценка показателя воспроизводимости \square_R , отн. %	Оценка показателя правильности* $\pm \square_c$, отн. %	Оценка показателя точности $\pm \square$, отн. %
Спектральное положение полосы люминесценции	1	± 2 нм	± 3 нм
Полуширина полосы на полувысоте	0	± 1 нм	± 1 нм
Интенсивность	4	-	-

методики с принятой вероятностью $P = 0,95$

3. Условия измерений

При выполнении измерений необходимо соблюдать следующие условия:

- ☐ Температура окружающего воздуха 15-30°C
- ☐ Атмосферное давление 700-770 мм. рт. ст.
- ☐ Относительная влажность воздуха 20-80%
- ☐ Напряжение электрической сети 220±10В

4. Образцы для измерений

Родамин 6Ж.

5. Средства измерений, посуда, реактивы, вспомогательное оборудование, материалы

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, посуду, вспомогательное оборудование и материалы:

5.1 Средства измерения

Люминесцентный спектрометр Perkin Elmer LS-55.

Технические характеристики:

- ☐ Однолучевой люминесцентный спектрометр, работающий в режимах флуоресценции, фосфоресценции, хеми- или биолюминесценции;
- ☐ Монохроматоры типа Монка-Джиллисона;
- ☐ Диапазон длинны волны - возбуждение 200 - 800 нм, эмиссия: 200 - 900 нм;

- ☐ Спектральная линия щели – возбуждение 2,5 - 15 нм, эмиссия 2,5 - 30 нм;
- ☐ Точность установки длины волны $\pm 1,0$ нм;
- ☐ Скорость сканирования 10 - 1500 нм/мин;
- ☐ Эмиссионные фильтры 290, 350, 390, 430, 515 нм;
- ☐ Точность установки длины волны ± 1 нм
- ☐ Воспроизводимость установки длины волны ± 0.5 нм
- ☐ Источник 150 Вт ксеноновая лампа, работающая в пульсирующем режиме с частотой 50 Гц;
- ☐ 4-позиционный термостатируемый держатель кювет с перемешиванием;
- ☐ Управление осуществляется с персонального компьютера с помощью программы FL WinLab

5.2 Вспомогательное оборудование, посуда

5.2.1 Этанол.

5.2.2 Колбы емкостью 25 мл.

5.2.3 Держатель для жидкостей.

5.2.4 Пипетка.

6. Требования по безопасности

При выполнении измерений необходимо соблюдать требования промышленной безопасности в соответствии с действующими инструкциями при работе с электрооборудованием по ГОСТ 12.1.019-79, баллонами со сжатыми и сжиженными газами по ГОСТ 1586-84.

7. Требования к квалификации персонала

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются лица, имеющие специальное высшее образование, имеющие навыки работы в лаборатории, прошедшие краткосрочное (двухнедельное) обучение на данном приборе и прошедшие инструктаж по безопасности выполняемых работ.

8. Подготовка и выполнение измерений

8.1 Подготовка прибора

Подготовку прибора Perkin Elmer LS-55 к работе проводят согласно «Руководству оператора»

8.2 Подготовка пробы

Приготовить растворы родамина 6Ж с фиксированным количеством растворяемого вещества: 50 мкг, 25 мкг, 10 мкг, 5 мкг, 1 мкг. Держатель для кювет позволяет осуществлять изучение жидких образцов и растворов. Кювета заполняется раствором, объем которого равен 2 мл, затем кювета помещается в держатель и

закрепляется.

8.3 Проведение измерений

1. Включить прибор. После включения прибора дать ему прогреться в течение 15 минут.
2. Открыть программу FL WinLab.
3. В меню Application выбрать Instrument Status. Появится окно Status.
4. Установить характеристики источника излучения. Доступны три опции: fluor (флуоресценция), phos (фосфоресценция) и biolum (биолюминесценция).
5. Выбрать длину волны возбуждения 400 нм (при съемке спектра люминесценции) или люминесценции 552 нм (при съемке спектра возбуждения).
6. Выбрать ширину щелей возбуждения – спектральная ширина полосы частот монохроматора возбуждения – и эмиссии – спектральная ширина полосы частот эмиссионного монохроматора. Ширина щелей 5 мм.
7. Выбрать эмиссионный фильтр 430 нм. Колесо фильтров, прилагаемое к эмиссионному монохроматору, имеет пять фильтров (они пропускают свет выше заданной длины волны и поглощают излучение с длиной волны ниже этой границы).
8. Выбрать напряжение фотоумножителя 775 В.
9. Для сбора различных типов спектральных данных в нескольких режимах (флуоресценция, фосфоресценция и биолюминесценция) используйте приложение Scan. Имеются четыре режима сканирования, которые можно выбрать. Используйте режим Scan-Single

Имеются пять типов сканирования, доступных в этом режиме:

- Спектр возбуждения записывается с использованием фиксированной длины волны эмиссии. Начальная и конечная длина волны относятся к монохроматору возбуждения.
- Спектр эмиссии записывается с использованием фиксированной длины волны возбуждения. Начальная и конечная длина волны относятся к монохроматору эмиссии.
- Синхронная развертка, когда оба монохроматора сканируют одновременно с постоянной разностью между длинами волн монохроматоров возбуждения и эмиссии. Эта

методика используется для быстрого анализа окружающей среды, например, для идентификации различных типов сырой нефти, а также значительно упрощает анализ спектров сложных смесей с перекрытием спектральных компонент. При синхронной развертке, начальная и конечная длина волны всегда относятся к монохроматорам возбуждения и эмиссии. Кроме того, процесс всегда начинается с более высокой длины волны, чем у монохроматора возбуждения.

- Синхронная развертка, когда оба монохроматора сканируют одновременно с постоянной разностью энергии между излучениями монохроматоров возбуждения и эмиссии. Монохроматор эмиссии ускоряется относительно монохроматора возбуждения. При синхронной энергетической развертке, спектр регистрируется в единицах разности энергии (волновых числах) между возбуждением и эмиссией. Эта методика может использоваться для исследования очень сложных смесей, где спектральная чувствительность при постоянной разности длины волны слишком низка. Сканирование при постоянной энергетической разности между монохроматорами имеет преимущество по отношению к регистрации спектров при постоянной разности длины волны из-за более высокой спектральной разрешающей способности и более низкой фоновой флюоресценции.

- Предварительное сканирование, использующее или один, или оба монохроматора, может применяться для определения оптимальной длины волны возбуждения и эмиссии для неизвестного образца.

8.5 Формирование отчета

Окно **Graph** используется, чтобы показать и отредактировать спектральные кривые с помощью команд меню **View**. Окно графика **Graph1** появляется автоматически при запуске программного обеспечения. Чтобы показать другое окно графика, выберите пункт **New Graph** в меню **View**.

Окно **Results** - часть окна приложений. Оно появляется автоматически, когда Вы выбираете команды **List** или **Peak**. Окно приводит численные результаты, собранные в таблице. Вы можете скопировать эти результаты в другую программу через буфер обмена Windows, для чего выберите текст, который Вы хотите копировать, а затем в меню **File** выберите **Copy to Clipboard**.

Программа управления спектрометром FL Winlab позволяет сформировать отчет, который содержит следующие данные:

- 1) Метод, по которому проводилось измерение

- 2) Условия съемки образца
- 3) Полученные спектры
- 4) Результаты дополнительных расчетов, если таковые были проделаны

9. Обработка результатов измерений

Результаты измерений рекомендуется обрабатывать в соответствии с приложением В.

10. Оформление результатов измерений

Результаты измерений оформляют с помощью пакета программ FL Winlab , можно дополнительно использовать пакет программ Origin Pro и MS Office Excel.