

М. Д. ГАЛАНИН

КОНЦЕНТРАЦИОННАЯ ДЕПОЛЯРИЗАЦИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ПРИ ЗАТУХАНИИ

(Представлено академиком С. И. Вавиловым 23 VII 1947)

При любом процессе уменьшения поляризации флуоресценции, происходящей в течение времени возбужденного состояния, должно наблюдаться, как указал С. И. Вавилов⁽¹⁾, уменьшение степени поляризации по мере постепенного затухания свечения. Это приводит к различным законам затухания для компонент света флуоресценции, поляризованных параллельно и перпендикулярно электрическому вектору возбуждающего света: параллельная компонента должна затухать быстрее перпендикулярной. В случае вращательной деполаризации флуоресценции (вследствие броуновского вращения) теория этого явления дана Яблоньским⁽²⁾, а измерения проводились Шимановским⁽³⁾ и Кесселем⁽⁴⁾. Исследование соответствующего явления для случая концентрационной деполаризации имеет принципиальное значение для подтверждения всей концепции о миграции энергии возбуждения в растворах. Такое исследование, произведенное Севченко⁽⁵⁾ для люминесценции урановых стекол фосфороскопическим методом, подтвердило наличие деполаризации в течение затухания. В случае флуоресценции растворов, ввиду малой длительности возбужденного состояния, требуется флуорометрический метод, примененный в настоящей работе.

Исходя из общей теории, развитой С. И. Вавиловым^(6,7) и основанной на идее о резонансной передаче энергии возбуждения, можно получить следующие выражения для законов затухания параллельной и перпендикулярной компонент интенсивности флуоресценции при концентрации c :

$$J_{\parallel}(t) = \frac{J_0}{3} \left(e^{-t/\tau} + \frac{4p_0}{3-p_0} e^{-\omega t} + \frac{4p_1}{3-p_1} f \frac{c}{k_2} t e^{-\omega t} \right), \quad (1)$$

$$J_{\perp}(t) = \frac{J_0}{3} \left(e^{-t/\tau} - \frac{2p_0}{3-p_0} e^{-\omega t} - \frac{2p_1}{3-p_1} f \frac{c}{k_2} t e^{-\omega t} \right),$$

где τ — среднее время жизни при концентрации c ; $\omega = \frac{1}{\tau_0} + \frac{c}{k_1} + \frac{c}{k_2}$ — вероятность дезактивации; $\frac{1}{\tau_0}$ — вероятность излучения; $\frac{c}{k_1}$ и $\frac{c}{k_2}$ — вероятности переносов энергии с тушением и без тушения; $f = e^{-\omega_0 c}$ — вероятность отсутствия „мгновенного“ тушения; p_0 — предельная поляризация; p_1 — поляризация излучения после одного переноса энергии.

Как видно из (1), при экспоненциальном законе затухания суммарной интенсивности $J_{\parallel} + 2J_{\perp} = J_0 e^{-t/\tau}$ законы затухания отдельных

компонент оказываются более сложными. Вычисление средних времен жизни, соответствующих этим законам затухания, дает:

$$\tau_{\parallel} = \tau \frac{1 + \frac{4\rho_0}{3 - \rho_0} \frac{1}{\tau^2 \omega^2} + \frac{8\rho_1}{3 - \rho_1} f \frac{c}{k_2} \frac{1}{\tau^2 \omega^3}}{1 + \frac{4\rho_0}{3 - \rho_0} \frac{1}{\tau \omega} + \frac{4\rho_1}{3 - \rho_1} f \frac{c}{k_2} \frac{1}{\tau \omega^2}},$$

$$\tau_{\perp} = \tau \frac{1 - \frac{2\rho_0}{3 - \rho_0} \frac{1}{\tau^2 \omega^2} - \frac{4\rho_1}{3 - \rho_1} f \frac{c}{k_2} \frac{1}{\tau^2 \omega^3}}{1 - \frac{2\rho_0}{3 - \rho_0} \frac{1}{\tau \omega} - \frac{2\rho_1}{3 - \rho_1} f \frac{c}{k_2} \frac{1}{\tau^2 \omega^3}}. \quad (2)$$

Экспериментальная проверка различия τ_{\parallel} и τ_{\perp} и их зависимости от концентрации была произведена на флуорометрической установке Л. А. Тумермана (8) (рис. 1), в которую были внесены только несущественные конструктивные изменения, а также произведена замена

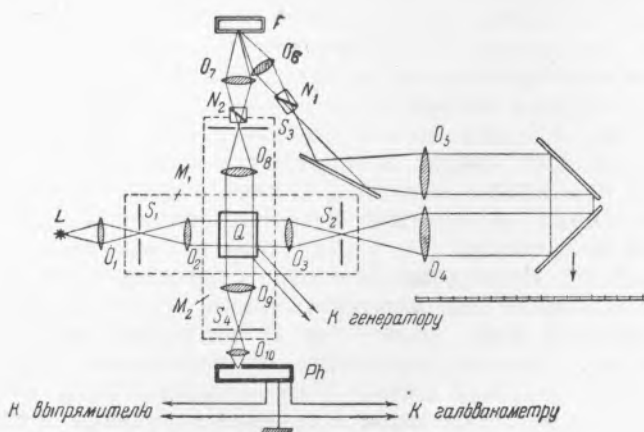


Рис. 1. Схема флуорометрической установки. *L*—лампа СВД-ш, *M*₁—модулирующее устройство (первая модуляция), *M*₂—вторая модуляция, *Q*—пьезокварц, *F*—кубета с флуоресцирующим раствором, *Ph*—трубка Кубецкого

визуального фотометра на фотоэлектронный умножитель Кубецкого, что значительно ускорило и облегчило измерения. При определении τ из наблюдаемого сдвига фаз флуорометрических кривых делалась поправка на неэкспоненциальность законов затухания (1). Возбуждение флуоресценции производилось поляризованным светом, а наблюдение—через параллельный или скрещенный анализатор *N*₂. Для исключения влияния вращательной деполяризации измерения проводились с растворами большой вязкости—в глицерине с вязкостью свыше 8 пуаз при 20° С. Вращательная деполяризация в таких растворах еще настолько мала, что эффект различия τ_{\parallel} и τ_{\perp} , рассчитанный по теории Яблоньского, не превышает 3%. Для контроля были сделаны измерения с твердыми сахарными растворами, давшие совпадающие результаты.

При сравнении теории с опытом значения констант, входящих в выражения для τ_{\parallel} и τ_{\perp} , могут быть определены из независимых измерений (6). Вероятность переноса с тушением $1/k_1$ и сфера действия ω_0 определяются из измерений концентрационного тушения или из уменьшения τ с концентрацией. Вероятность переноса без тушения

определяется из измерения концентрационной деполяризации. Полученные значения даны в табл. 1.

Когда такое определение констант сделано, то величины τ_{\parallel} и τ_{\perp} вычисляются однозначно по формулам (2).

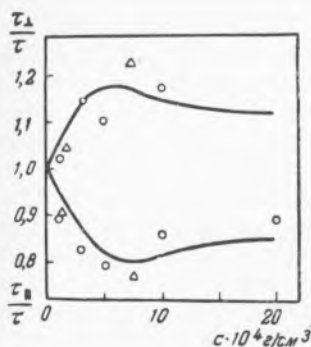


Рис. 2. Теоретические кривые и экспериментальные точки для отношений τ_{\parallel}/τ и τ_{\perp}/τ в зависимости от концентрации для растворов флуоресцеина в глицерине (○) и в сахаре (△)

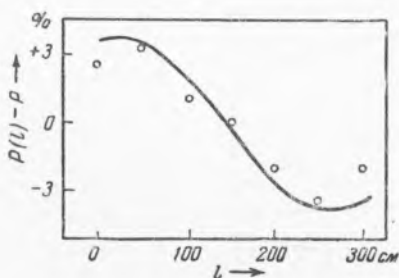


Рис. 3. Теоретическая кривая $P(l) - P$ и экспериментальные точки для глицеринового раствора флуоресцеина, $c = 3 \cdot 10^{-4}$ г/см³.

На рис. 2 показаны теоретические кривые для τ_{\parallel}/τ и τ_{\perp}/τ в зависимости от концентрации и экспериментальные точки для растворов флуоресцеина-На (щелочной раствор) в глицерине и в сахаре.

Можно применить несколько другой метод измерения — измерять на флуорометре непосредственно степень поляризации флуоресценции, соединив таким образом измерение τ_{\parallel} и τ_{\perp} в одном эксперименте.

Таблица 1

Вещество	$\frac{\tau_0}{k_1} \cdot 10^4$	$\omega_0 \cdot 10^4$	$\frac{\tau_0}{k_2} \cdot 10^4$ [$\frac{\text{г}}{\text{см}^3}$] ⁻¹
Флуоресцеин . . .	0,010	0,001	0,33
Родамин	0,010	0,006	0,25
Родулин-оранж . .	0,012	0,008	0,10

Такая возможность имеется в применявшемся флуорометре с модуляционным устройством, основанном на эффекте Дебая—Сирса⁽¹¹⁾, в противоположность флуорометрам с ячейкой Керра, где наблюдение производится всегда в поляризованном свете. Для этих измерений фотометр на флуорометрической установке был заменен поляриметром Савара, причем пластинка Савара и компенсирующая стопа ставились между O_7 и S_3 (рис. 1), чтобы избежать деполяризующего действия кварцевой пластинки. Ясно, что при наличии деполяризации в течение затухания степень поляризации должна зависеть от длины оптического пути l между первой и второй модуляцией. На рис. 3 показана теоретическая кривая для разности $P(l) - P$, где P — степень поляризации при постоянном возбуждении, и экспериментальные точки для раствора флуоресцеина в глицерине с концентрацией $3 \cdot 10^{-4}$ г/см³.

Описанный метод оказался очень удобным для исследования рассматриваемого явления. При измерениях определялась разность степеней поляризации ΔP в крайних симметричных точках кривой $P(I)$ (например 0 и 300 см). Результаты таких измерений для глицериновых растворов флуоресцеина-Na, родулин-оранжа NO и родамина 5G раз-

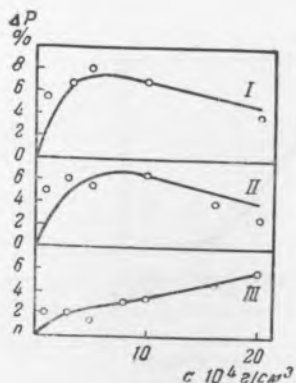


Рис. 4. Разность $P(0) - P(300)$ в зависимости от концентрации глицериновых растворов флуоресцеина (I), родамина 5G (II) и родулин-оранжа (III)

личной концентрации представлены на рис. 4 (кривые вычислены по константам табл. 1). Экспериментальные данные вполне удовлетворительно согласуются с теорией. Несколько большее отклонение экспериментальных точек для флуоресцеина и родамина при малых концентрациях должно быть приписано влиянию вторичной флуоресценции⁽¹⁾, что вполне согласуется с измеренным отношением степеней поляризации при наблюдении в тонком и толстом слое, характеризующем деполаризацию вследствие вторичной флуоресценции^(9,10). Это отношение равно 1,25 для флуоресцеина и родамина и 1,04 — для родулин-оранжа. В последнем случае мы имеем дело с практически чистым эффектом концентрационной деполаризации.

Количественное совпадение описанных опытов с теорией при определении постоянных из независимых измерений концентрационной деполаризации и тушения является веским подтверждением правильности основных представлений, положенных в основу теории С. И. Вавилова.

Приношу глубокую благодарность акад. С. И. Вавилу, по предложению которого сделана настоящая работа, и проф. Л. А. Тумерману за постоянное внимание и ряд ценных указаний.

Физический институт
им. П. Н. Лебедева
Академии Наук СССР

Поступило
23 VII 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ С. И. Вавилов, ДАН, 42, 344 (1944). ² A. Jablonski, Z. Phys., 95, 53 (1935). ³ W. Szymanowski, Z. Phys., 95, 466 (1935). ⁴ W. Kessel, Z. Phys., 103, 125 (1936). ⁵ А. Н. Севченко, ДАН, 42, 349 (1944). ⁶ С. И. Вавилов, ЖЭТФ, 13, 13 (1943). ⁷ С. И. Вавилов, ДАН, 45, № 1 (1944). ⁸ Л. А. Тумерман, ЖЭТФ, 11, 515 (1941). ⁹ С. И. Вавилов, ДАН, 16, 263 (1937). ¹⁰ П. П. Феофилов и Б. Я. Свешников, ЖЭТФ, 10, 1372 (1940). ¹¹ Л. А. Тумерман и В. В. Шимановский, ДАН, 15, 325 (1937).