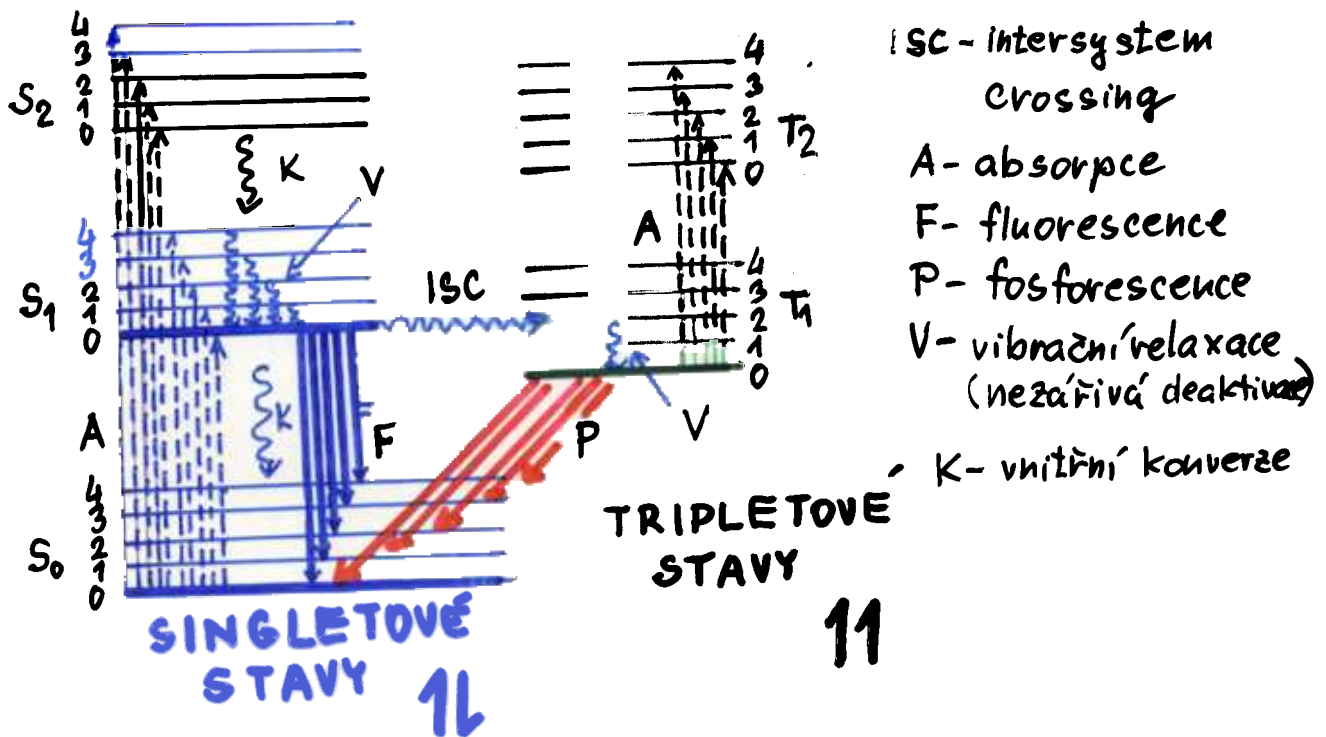


LUMINISČENČNÍ SPEKTROSKOPIE

PODSTATA LUMINISČENCE

FOTOLUMINISČENCE - Sekundární záření po absorpci primárního (budícího, excitačního) záření z UV, VIS

FLUORESCENCE FOSFORESCENCE } podle DOBY DOSVITU
 $10^{-6} \text{ s} - 10^{-9} \text{ s}$ $10^{-6} - 10^{+2} \text{ s}$



- 1) EXCITACE $\sim 10^{-15} \text{ s}$ FRANCK-CONDONŮV PRINCIP $S_0 \rightarrow S_1, S_2$
- 2) VNITŘNÍ KONVERZE $\sim 10^{-12} - 10^{-14} \text{ s}$ $S_2 \rightarrow S_1$
- 3) VIBRAČNÍ RELAXACE $\sim 10^{-12} - 10^{-13} \text{ s}$ $V=4,3,2,1 \rightarrow V=0$ (SRÁŽKY)

PŘECHODY $S_1 \rightarrow S_0$

- 1) NEZÁŘIVÁ VNITŘNÍ KONVERZE $\sim 10^{-5} - 10^{-7} \text{ s}$ (SRÁŽKY \Rightarrow TEPLO)
 - 2) ZÁŘIVÝ PŘECHOD - FLUORESCENCE $\sim 10^{-6} - 10^{-9} \text{ s}$
 - 3) INTERSYSTEM CROSSING $S_1 \rightarrow T_1$ $\sim 10^{-7} - 10^{-11} \text{ s}$
 - 4) ZÁŘIVÝ PŘECHOD - FOSFORESCENCE $T_1 \rightarrow S_0$ $\sim 10^{-6} - 10^2 \text{ s}$
- ⊛ NEZÁŘIVÁ DEAKTIVACE - FOTOCHEMICKÉ REAKCE - PŘEMĚNA M.

FLUORESCENČNÍ SPEKTROSKOPIE

EMISE UV, VIS ZÁŘENÍ PŘI PŘECHODU Z VIBRAČNÍ HLADINY $v=0$ EXCITOVANÉHO SINGLETOVÉHO STAVU S_1 DO RŮZNÝCH VIBRAČNÍCH HLADIN ZÁKLADNÍHO STAVU S_0

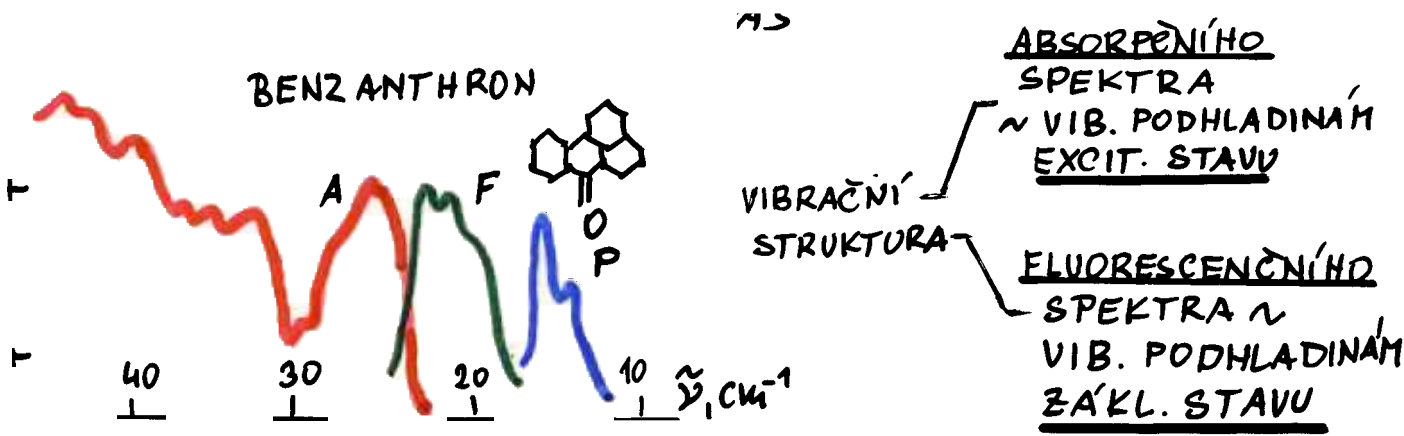
BEZE ZMĚNY MULTIPLICITY: SINGLET \rightarrow SINGLET
 $S_1 \rightarrow S_0$ AZULEN $S_2 \rightarrow S_0$

Fluorescenční spektrum (λ_{max} , tvar pásu) nezávisí na vlivové délce budícího záření (to však musí mít určitou minimální energii)

EXCITACE (ABSORPCE): $S_0, \underline{v=0} \rightarrow S_1, \underline{v=0,1,2,3,4,\dots}$
FLUORESCENCE (EMISE): $S_1, \underline{v=0} \rightarrow S_0, \underline{v=0,1,2,3,4,\dots}$ } \Rightarrow

- 1) FLUORESCENČNÍ SPEKTRUM JE DLOUHOVLNNĚJŠÍ NEŽ EXCITAČNÍ
- 2) PŘECHODY ($S_0, v=0 \rightarrow S_1, v=0$) a ($S_1, v=0 \rightarrow S_0, v=0$) (TJ. PŘECHODY $0 \rightarrow 0$) MAJÍ TEORETICKY STEJNOU λ

PLATÍ



PODOBNE
 1) VIBRAČNÍ PODHLADINY STAVŮ S_0 a S_1
 2) PODOBNÁ GEOMETRIE STAVŮ S_0 a S_1 } \Rightarrow ZRCADLOVĚ SYMETRICKÉ PÁSY A F

$\lambda_F(0-0) > \lambda_A(0-0)$

bathochromní posun z interakce

\Rightarrow

FRANCK-CONDONŮV PRINCIP: v okamžiku vybuzení má molekula v excit. stavu stejnou strukturu ^{vekolí} jako ve stavu základním, tato struktura má vyšší energii než rovnovážné uspořádání, do kterého molekula přejde dobře. Z rovnováž. uspořádání dochází k fluorescenci \Rightarrow při fluorescenci je menší ΔE mezi S_1 a S_0 menší než při absorpci \Rightarrow $\lambda_F(0-0) > \lambda_A(0-0)$

DOBA ŽIVOTA FLUORESCENCE τ_F - doba vyhasínání excit. stavu

$\tau_F = \frac{1}{\sum_i k_i}$, k_i - rychlostní konstanty relaxačních procesů (fluoresc., vnitř. konverze, mezisyst. přechod, zhasnutí, fotochem. reakce....)

$k_F \sim f_{mm}$ (síla oscilátoru) $\sim E_{max}$, τ_{OF} - skutečná

doba trvání fluorescence: $\tau_{OF} = \frac{10^{-9}}{E_{max}}$

KVANTOVÝ VÝTĚŽEK FLUORESCENCE $Q_F = \frac{k_F}{\sum_i k_i} = \frac{\tau_F}{\tau_{OF}}$

$Q_F = 0,0001 - 1$

POMĚR MEZI POČTEM EMITOVANÝCH A ABSORBOVANÝCH KVANT (PODÍL EL., KTERÉ SE VRACEJÍ DO S_0 S VYZÁŘENÍM FOTONU)

INTENZITA FLUORESCENCE je úměrná kvantovému výtěžku

a absorbovanému toku záření

$$I_F = k \cdot g_F \cdot (\Phi_0 - \Phi) = k \cdot g_F \cdot \Phi_0 \cdot [1 - 10^{-\epsilon \cdot l \cdot c}]$$

Φ_0 - dopadající tok, Φ - zeslabený tok

exponenciální závislost - limita $I_{F,0} = k \cdot g_F \cdot \Phi_0$

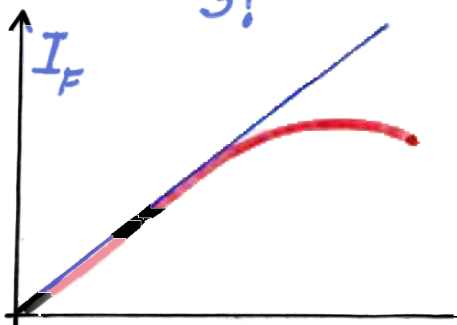
$$I_F / I_{F,0} - 1 = -10^{-\epsilon \cdot l \cdot c}$$

$$\log \frac{I_{F,0}}{I_{F,0} - I_F} = \epsilon \cdot l \cdot c \quad \text{- linearizace } I_F = f(c)$$

Rozvoj v řadu:

$$I_F = \Phi_0 \cdot g_F \cdot k \left[1 - 1 + 2,303 \epsilon \cdot l \cdot c - \frac{(-2,303 \epsilon l c)^2}{2!} + \frac{(-2,303 \epsilon l c)^3}{3!} \dots \right] \Rightarrow I_F = 2,303 \cdot k \cdot \epsilon \cdot l \cdot c \cdot g_F \cdot \Phi_0$$

PRO $A < 0,02$



1) ZHAŠENÍ FLUORESCENCE

- MOLEKULY AKCEPTORU, KTERÝ ODNÍMÁ ENERGIÍ EXCITOVANÉ MOLEKULE,
- AKCEPTOR MŮŽE MÍT VLASTNÍ FLUORESCENCI

ZHAŠENÍ - JEHO PRAVDĚPODOBNOST ROSTE S DOBOU τ_F

- KYSLÍK (odstranění z rozpouštědla probubláváním inert. p.)
SKUPINA $>C=O$, (v rozpouštědlech)

IONTY: stupeň zhašení roste s polarizovatelností a deformabilitou iontů (zhašejících), tj. s rostoucí kovalent. charakt.

ANIONTY: $F^- < NO_3^- < SO_4^{2-} < ac^- < (COO)^{2-} < Cl^- < Br^- < SO_3^-$

KATIONTY: $Cu^{2+}, Ni^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Mn^{2+}$ (vakuční d-orb.)

2) SAMOZHAŠENÍ FLUORESCENCE

a) KONCENTRAČNÍ ZHAŠENÍ (VAVILOV)

$$I_F = 2,303 I_{F,0} \cdot 10^{-k'(c-c_0)} \Rightarrow \text{NELINEARITA}$$

pokles kvantového výtěžku od prahové hodnoty c_0

$$I_F = 2,303 \cdot k \cdot \Phi_0 \cdot I_{F,0} (1 - 10^{-\epsilon c l}) \cdot 10^{-k'(c-c_0)}$$

b) VNITŘNÍ KONVERZE MOLEKUL – disipace energie na nezdělitelné formy, roste s teplotou rostoucí, závisí na viskozitě roztoku a koncentraci

c) VNITŘNĚ FILTRAČNÍ EFEKT – budící záření Φ_0 se příchodem vzorkem zeslabuje, je-li překryv excitačního (absorpčního) a fluorescenčního spektra \Rightarrow zeslabení I_F částečnou reabsorpcí.

EXCITAČNÍ $I_F = f(\lambda_{ex})$
měří se při konst. λ_{em}

SPEKTRUM FLUORESCENČNÍ

EMISNÍ $I_F = f(\lambda_{em})$

$\lambda_{ex} = \text{konst.}$
budící záření

EXCITAČNÍ SP. JE TOTOŽNÉ S ABSORPČNÍM


PLATÍ PRO ČISTOU LÁTKU – JE TO KRITÉRIUM ČISTOTY

TROJROZMĚRNÉ DIAGRAMY $I_F = f(\lambda_{em}, \lambda_{ex})$

FLUORESCENCE A CHEMICKÁ STRUKTURA

PŘEDPOKLAD: přítomnost systému snadno delokalizovatelných elektronů – konjugovaného systému π -elektronů
KVANTOVĚ CHEMICKÉ VÝPOČTY, EMPIRICKÁ PRAVIDLA

EMPIRICKÁ PRAVIDLA PRO FLUORESCENCI

- 1) Není-li silná absorpce $< 250\text{ nm} \Rightarrow$ není fluorescence
- 2) Jestliže nejdélnovlnnější abs. pás $> 250\text{ nm}$ a odpovídá $\pi \rightarrow \pi^* \Rightarrow$ molekula fluoreskuje (z pravidla někdy kondenzovaných jader )
- 3) Jestliže nejdélnovlnnější pás absorpce $\sim n \rightarrow \pi^* \Rightarrow$ velmi slabá fluorescence, neboť má malou přechodovou pravděpodobnost, naopak ISC $\Rightarrow T_1 \Rightarrow$ FOSFORESCENCE (aromatické aldehydy, ketony, karboxové kyseliny)
- 4) Čím je větší E_{max} nejdélnovlnnějšího abs. pásu $\pi \rightarrow \pi^* S_0 \rightarrow S_1$ a čím je tento pás více posunut k delším λ , tím větší I_F .

Nejběžnější příklady:

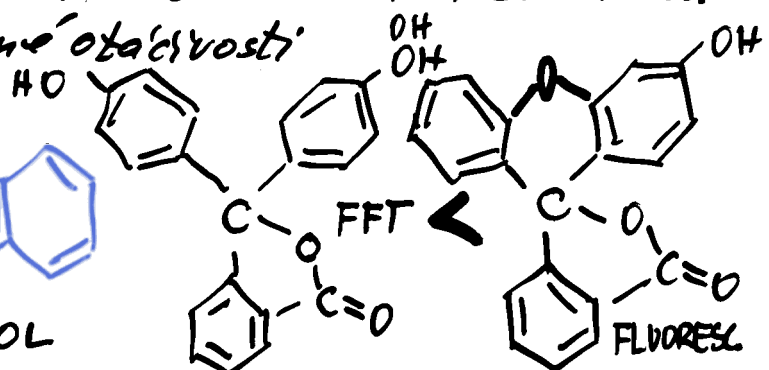
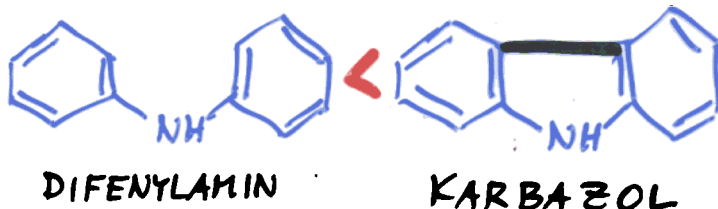
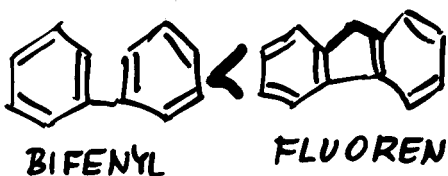
\Rightarrow kondenzovaných jader
 \Rightarrow BATHOCHROMNÍ


fenanthren $\lambda_{\text{max}} = 347\text{ nm}$

ZVĚTŠENÍ KONJUGACE: SUBSTITUCE ARYLEM \Rightarrow prohloubení konjugace a zvýšení fluorescence X sterické bránění

2) STABILIZACE KOPLANÁRNÍ POLONY 

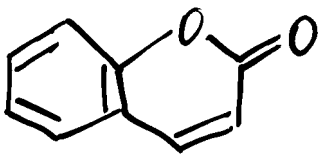
vazbou nebo můstkem \Rightarrow zabránění volné otáčivosti



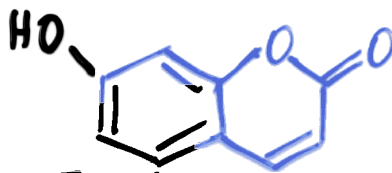
5) Substituce  substituenty, které poskytují elektrony ke konjugaci s π -el. systémem \Rightarrow BATHOCHROMNÍ A HYPERCHROMNÍ POSUN
POTLAČENÍ VIBRAČNÍ STRUKTURY

Také indukčním efekt

Pořadí vlivu: $CR_3 < CH_3 < SR < SH < NH_2 < OR < OH$



KUMARIN



7-HYDROXYKUMARIN

(UMBELLIFERON)

$g_F \approx 0,0001$
VLIUVY

$g_F = 0,5$

VNĚJŠÍ

a) vliv pH, - excit. stav může mít jinou kyselost než zákl.

Vliv fixace polohy - součástí molekuly tvorbou chelátů molekula sama nefluoreskuje, ale fluoresk. chelát: zabráni se volné odátivosti.

Kationty s 2, 8 a 18 elektrony ve vnější slupce

Be^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , Sc^{3+} , Ba^{3+} .

azolátky, azomethinová barviva ... analytické využití

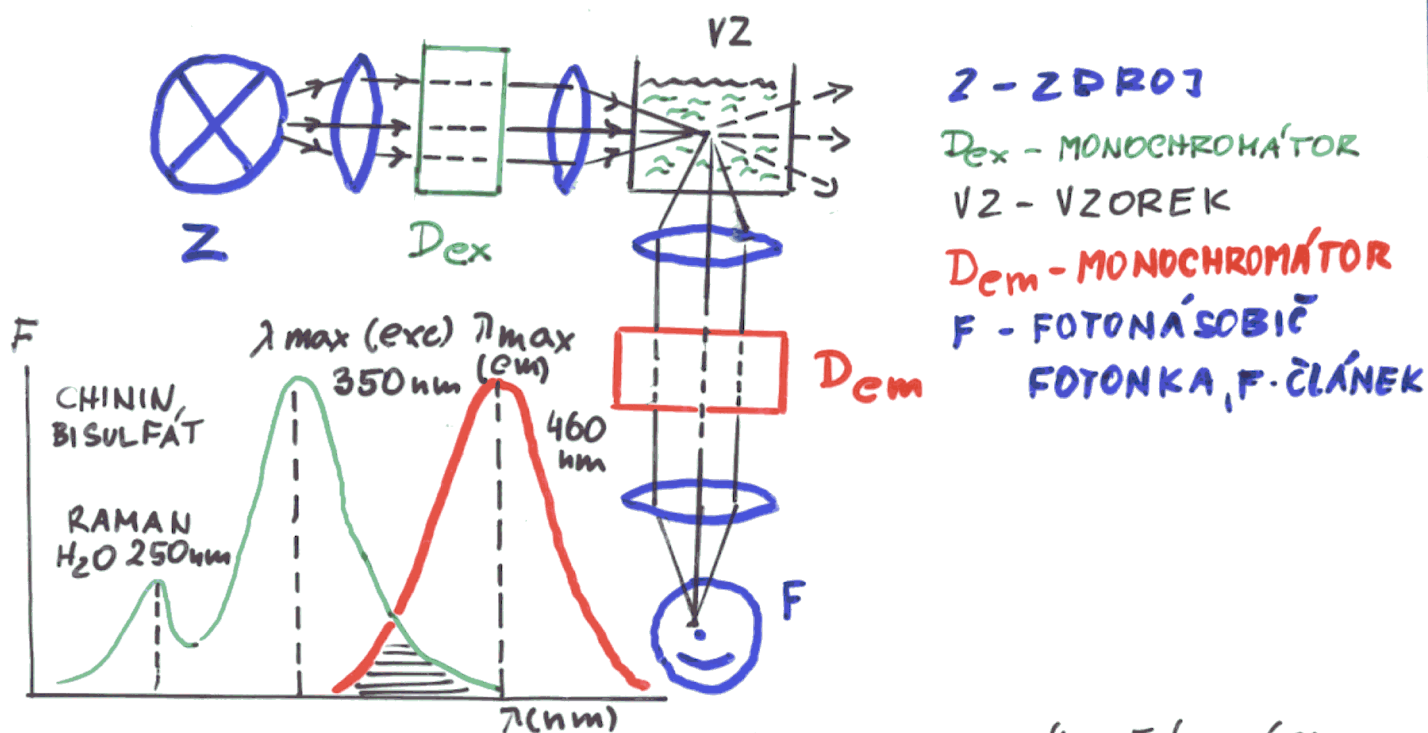
Vliv rozpouštědel - halogenovaná rozpouštědla (CH_2Cl_2 , $CHCl_3$) a rozp. s karbonyl. sk. (acetou) \Rightarrow snížení a zhašení fluorescence.

Polarita (permitivita) rozpouštědel \Rightarrow energetické změny stavů $S \rightarrow \pi^*$, $S \rightarrow \pi \pi^*$ - změna jejich pořadí \Rightarrow nefluoreskuje v nepolárním a fluoreskuje v polárním
 CHINDOLIN $\sim \ominus$ v HEXANU, fluoresk. v C_2H_5OH

INSTRUMENTACE PRO FLUORESCENČNÍ SPEKTROSKOPII

* FLUORIMETRY

* SPEKTRÁLNÍ FLUORIMETRY - měření spekter ^{EXCITAČNÍCH} ~~FLUORESCENČNÍCH~~



ZDROJ: * UV ~ D₂ nebo Xe výbojka, Hg výb. - čárové sp.

* VIS ~ W lampa

* laditelné barvivové Lasery

● excit. sp. ovlivněno emisní spekt. charakt. Xe lampy

DISPERSNÍ PRVKY

* interferenční filtry } JEDNODUCHÉ
 * skleněné filtry } FLUORIMETRY

(měří pouze intenzitu záření, nikoli spektra)

* sady excit. a emisních interf. filtrů
 * mřížkový monochromátor pro fluorescenční z.
 * 2 mřížkové monochrom. pro excit. i fluor. zář.

DETEKTORY PMT (FN) - má vlastní spekt. charakteristiku

- emisní spektrum ovlivněno proměnlivou citlivostí detektoru s vlnovou délkou.

81

Korigovaná spektra

- ✓ korekce emisního spektra ocejchovááním fotonašobiče na fluorescenční standard: CHININ BISULFÁT (tabel. hodnoty)
- ✓ korekce excitačního spektra na spektrální charakteristiky Xe lampy s použitím referenčního fotonašobiče s plochou sp. odezvou \Rightarrow vstup. šterbina proměnlivé sítě

METODIKA MĚŘENÍ

F - relativní veličina.

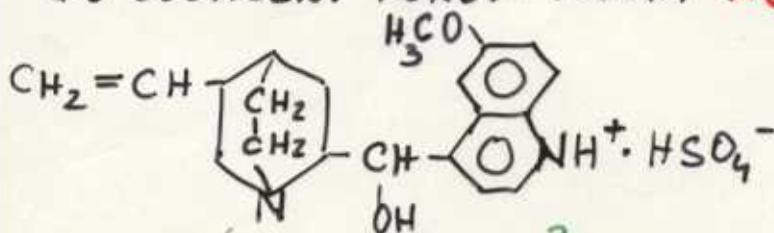
Pevné fluorescenční standardy nebo roztoky - nastavení výšky na 100 (maximum) např. na nejkonc. št. bisulfát chininu, fluorescein a Na, rhodamin B.

POSTUP:

EXCIT. SPEKTRUM - se registruje při pokusném nastavení $\lambda_{em} \approx \lambda_{em} max$ změnou λ excitačního monochromátoru s nalezeným $\lambda_{ex} max$ se registruje

EMISNÍ (FLUORESC.) SPEKTRUM - změna λ_{em} emisního monochromátoru \Rightarrow nalezení $\lambda_{em} max$

CELÝ POSTUP SE OPAKUJE: $\lambda_{em} max_1 \Rightarrow \lambda_{ex} max_1$
DO DOSAŽENÍ KONST. POLOHY $\lambda_{em} max_2 \leq \lambda_{ex} max_1$



BISULFÁT CHININU

modra, časově
stálá fluorescence

$\rho = 0,51$ v $0,5M$
 H_2SO_4

$\lambda_{max exc} = 355 nm$
 $\lambda_{max em} = 445 nm$

STANOVENÍ KVANTOVÉHO VÝTĚŽKU FLUORESCENCE (CHBS - standard)

62

$$Q_x = Q_{ST} \frac{\int F_x}{\int F_{ST}} \cdot \frac{A_{ST}}{A_x} \quad (\text{PARKER})$$

$$\lambda_{EXC}(ST) = \lambda_{EXC}(X)$$

$A \sim$ absorbance
 $\int F \sim$ plochy fluoresc. sp.

nebo

$$Q_x = Q_{ST} \frac{\int F_x}{\int F_{ST}} \cdot \frac{A_{ST}}{A_x} \cdot \frac{\lambda_x(\text{max, em})}{\lambda_{ST}(\text{max, em})} \quad (\text{BABKO})$$

Fluorescenční standard musí mít aktivní absorpční maximum a fluorescenční maximum blízké látce, jejíž kvant. výtěžek se určuje.

APLIKACE FLUORIMETRIE

OBLAST	VZORKY	PŘÍKLADY
<u>ANORGAN.</u>	anionty kationty	CN^- , SiO_3^{2-} , SO_4^{2-} , F^- Al^{3+} , Be^{2+} , Co^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , REM, Zn^{2+}
<u>KLINICKÁ</u> (BIOCHEM.)	elektrolyty steroidy lipidy proteiny aminokys. imunologic. enzymy drogy metabolity vitamíny léčiva	Ca^{2+} , Mg^{2+} , PO_4^{3-} estrogen, progesteron, testosteron cholesterol, triglyceridy albumin tryptofan, tyrosin, fenylalanin fluoresk. antigeny, protilátky dehydrogenázy, transaminázy, fosfatázy barbituráty, salicyláty, LSD krevní cukr, porfyriny A, B ₁ , B ₂ , B ₆ , C, D, E antibiotika, antimalarika
<u>ZEMĚDĚLSTVÍ</u>	jako ANORG.	
<u>POTRAVINY</u>	+ příb. látky proteiny v mléce pesticidy	chlorofyl, pigmenty DDT

OBLAST	VZORKY / METODY	PŘÍKLADY
<u>PÉČE O ZDRAVÍ</u> (<u>EKOLOGIE</u>)	kontaminované mat. bakteriolog. vz. intoxikované - TK imunolog. vz screening	insekticidy, počítání bakterií Be, Cd, Pb protilátky histidinemie
<u>PRŮMYSL</u>	stopovací techniky	měření rychlosti průtoku, míchání, oběh (cirkulace) LSD, salicyláty quinacrin (atebrin) přirozená fluorescence střelné zbraně, oběti
<u>SOUDNÍ EXPERTIZY</u>	drogy jedy stáří orgánů oleje, tuky, mazací	DDT rychlost průtoku pyren, chrysen, benzopyren
<u>ZNEČIŠTĚNÍ VODY A VZDUCHU</u> (<u>ENVIRONMENT. ANALÝZA</u>)	kationty, anionty pesticidy stop. techniky aromaťy vesp. arom.	

PŘÍKLADY METOD

1) STANOVENÍ PRVKŮ NA BÁZI CHELÁTŮ S ORG. ČINIDLY NEBO TERNAŘNÍCH KOMPLEXŮ

ČINIDLA: POLYHYDROXYFLAVONY, 8-HYDROXYCHINOLIN, DIHYDROXY-AZO BARVIVA, AZOMETHINY OD AROMATICKÝCH HYDROXYALDEHYDŮ (SALICYLALDEHYD), HYDROXYARYLHYDRAZONY, RHODAMIN B, POLYFENOLY, FENOLKARBONOVÉ KYSELINY, BENZOIN

VHODNÉ IONTY PRVKŮ: el. konfigurace $s^2p^6 s^2p^6d^{10}$
žádné vakantní d-orbitály: Al^{3+} , Ga^{3+} , In^{3+} , Be^{2+} , $B(III)$, $Zr(IV)$, $Hf(IV)$, $Th(IV)$, Sc^{3+} , $Ge(IV)$, $Sn(IV)$, Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , La^{3+} , Y^{3+} , Lanthanoidy.

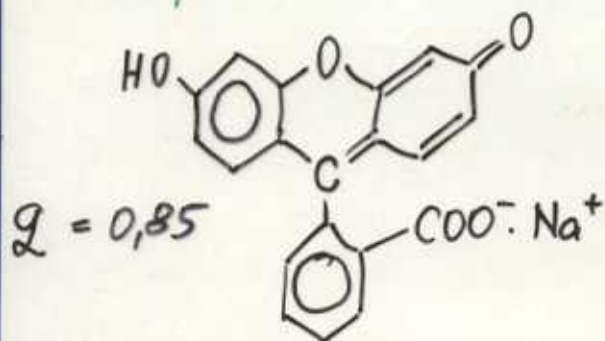
Lanthanoidy (Tb, Eu) s polyfenoly, 1,10-phenanthroline, 1,3-enoliz. diketony, 2-thienyltrifluoroacetony

SKLENĚNÉ KYVETY - fial. fluorescence - nelze použít
 i KŘEMENNÉ KYVETY ~ 380nm, když $\lambda_{exc} \sim 220-280nm$

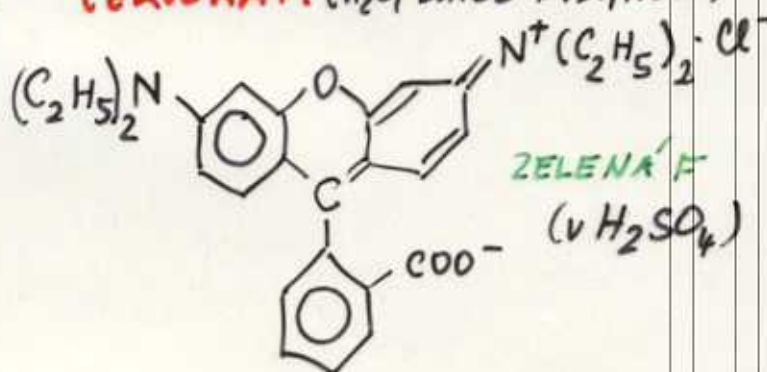
64

ZHAŠENÍ F.: VODA Z PE STRIČEK, NEČISTOTY
 (I VZNIK NEŽÁDOUCÍ F.)

FLUORESCĚINAN SODNÝ
 ZELENÁ, ŽLUTOZEL. FLUORESC.



CHLORID RHODAMINU B
 ČERVENÁ F. (H₂O, SLABĚ KYS., ALK.)



0,1M NaOH; 0,05M Na₂CO₃

$\lambda_{exc, max} = 495nm$

$\lambda_{em, max} = 508nm$

VÝTĚŽEK FLUORESCENCE

KVANTOVÝ VÝTĚŽEK

$$g_{kv} = N_{EM} / N_{ABS} \sim I_{EM} / I_{ABS} = I_{em} / (I_0 - I)$$

ENERGETICKÝ VÝTĚŽEK

$$g_{ERG} = E_{EM} / E_{EXC} = \frac{N_{EM} \cdot h \cdot \nu_{EM}}{N_{EXC} \cdot h \cdot \nu_{EXC}} \leq 1$$

$$g_{ERG} = N_{EM} \cdot h \cdot \nu_{EM} / N_{EXC} \cdot h \cdot \nu_{EXC} = \nu_{EM} \cdot g_{kv} / \nu_{EXC}$$

$$\nu_{EXC} > \nu_{EM} \sim \lambda_{EM} > \lambda_{EXC} \text{ (STOKES)} \Rightarrow \underline{g_{ERG} < g_{kv}}$$

2) FLUORIMETRICKÁ INDIKACE EKVIVALENČNÍHO BODU PŘI EDTA TITRACI.

65

Stanovení Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} v přítomnosti fluorexonu při $\text{pH} = 12$, fluoreskují chelátový indikátory

3) FLUORESCENČNÍ ACIDOBAZICKÉ INDIKÁTORY

α -NAFTYLAMIN $\text{pH} 3,4 - 4,8$, kys. f. (-) \rightarrow alk. f. fialová / fluov.
CHININ BISULFÁT $\text{pH} 3,0 - 5,0$ kys. f. modrá \rightarrow alk. f. fialová
AKRIDIN $\text{pH} 4,8 - 6,6$ kys. f. zelená \rightarrow alk. f. modrá

4) REDUKČNÍ FLUORESCENCE

Některé ionty přechod. prvků po redukci NH_2OH nebo amalg. Zn (Cu^+ , Fe^{2+} , V^{2+}) redukuje aromatické karbové kyseliny (kys. fialová, benzoová, 1,3-benzen-dikarbová) na radikál, \Rightarrow peroxokyselina (modrá f.) stanoví paramagnetických iontů

5) OXIDAČNÍ FLUORESCENCE

Hg^{2+} oxiduje Thiamin ($\text{pH} = 7-8$) \Rightarrow Thiochrom (fluor)

6) STANOVENÍ ORGANICKÝCH SLOUČENIN

Xanthenové deriváty (fluorescein, rhodamin)
porfyrin, alkaloidy, hormony, vitamíny, anthracen, fenanthren, salicylan, acetylsalicylová kyselina...



2) KVAZIČAROVÁ MOLEKULOVÁ FLUORESCENCE (EFEKT ŠPOLSKÉHO)

NÍZKÉ TEPLoty (77K , $10-15\text{K}$) - JEJNA STRUKTURA EMISNÍCH (FLUORESCENČNÍCH) MAXIM NA POZADÍ EMISNÍHO PÁSU. AROMÁTY, POLYKONDENZÁTY

MĚŘENÍ VE ZTUŽENÉM STAVU ROZPOUŠTĚDEL (N-ALKANY)
ŠÍŘKA MAXIM 10 cm^{-1} , MĚŘÍ SE: NAFTALEN V N-PENTANU
BENZOPYREN, ANTRACEN V N-HEPTANU

POLYKONDENZOVANÉ NAFTACEN V N-NONANU

KANCEROBENŇNÍ UHLOVODÍKY PYREN V N-HEXANU

$C_D = 10^{-11} \text{ g}$ org. sloučeniny KORONEN V N-OKTANU

EXPERIMENTÁLNÍ USPOŘÁDÁNÍ:

✓ EXCITAČNÍ ZDROJ: LASER

✓ DISPERSNÍ ZARÍŽENÍ: MRÍŽKOVÉ MONOCHROMÁTORY

✓ KYVETA: $\varnothing 3 \text{ mm}$ KŘEMENNÁ TRUBIČKA (DO DEWAR. NÁDOBY)

VHODNÉ JAKO DETEKCE K SEPARAČNÍM METODÁM:

TLC, GC, HPLC

3) FLUORESCENCE V PEVNÉ FÁZI

a) TAVENINY

Intenzivní zeleno-žlutá fluorescence UO_2^{2+} v taveninách
 $30\% \text{ NaF} + 70\% (\text{Na-K}) \text{CO}_3$; $98\% \text{ NaF} + 2\% \text{ LiF}$, $10\% \text{ NaF} + 45\% \text{ K}_2\text{CO}_3$; roztavená směs se zahřívá 10 minut při 650°C a nechá se pomalu vyohladnout.

EXCITACE 300 nm , EMISE $538, 555, 576, 601 \text{ nm}$

$C_D = 10^{-8} \text{ g U}$ v 50 mg taveniny, využívá některé kovy
GEOLOGIE, BIOL. TEKUTINY

b) NOSIČE POLOVODIČOVÉHO TYPU V PŘÍTOMNOSTI STOPOVÝCH AKTIVÁTORŮ (IONTY PŘECHODNÝCH PRVKŮ)

Vznik luminiscence po vpravení malého množství analytu jako aktivátoru do nosiče polovodičového typu a po jeho vyžáření při zvýšené nebo vysoké teplotě.

NOSIČE: CaO , CaSO_4 , NaF , $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, BaSO_4 , CaCO_3 67

Příklad: vyžehang rozetřecý CaO s malým množstvím H_2O , pokropen roztokem vzorku, po excitaci UV \Rightarrow emise žlutozelena pro Sb (III), modrotialová pro Bi (III), po vyžehnutí na 900°C

AKTIVÁTOŘI (ANALYTI): Tl , Sn , Sb , Bi , lanthanoidy
např. vakuařit Ca aktivovaný po 60min žehnutí
při 1000°C lanthanoidy \Rightarrow emise:
červenooranžová - Sm , Eu } $10^{-4}\%$
žlutá - Dy

VÝKLAD JEVO: Aktivátor v polovodičovém nosiči umožňuje lokalizaci energetických hladin v zakázaném pásmu.

Luminiscenční centra (L) - donory elektronů

Metastabilní hladiny (M) - akceptory elektronů

Při excitaci el. z valenčního do vedivostního pásu (UV zář.) zůstává kladná díra ve val. pásmu, která postupuje vzhůru a přitom rekombinuje s elektrony z (L) v zakázaném pásmu. Tím umožní fluorescenci, t.j.

přechod původního elektronu z vodivostního pásma do (L)
Jestliže přejde elektron do (M), pak umožní fosforescenci při zpětném přechodu přes vodivostní pásmo do (L).

FOSFORESCENČNÍ SPEKTROSKOPIE (FOSFORIMETRIE)

68

EMISE UV-VIS ZÁŘENÍ PŘI PŘECHODU Z NULOVÉ VIBRAČNÍ HLADINY EXCITOVANÉHO TRIPLETOVÉHO STAVU T_1 DO RŮZNÝCH VIBRAČNÍCH HLADIN ZÁKLADNÍHO SINGLETOVÉHO STAVU S_0 .

ZMĚNA MULTIPLICITY - ZAKÁZANÝ PŘECHOD \times SPIN-ORBITÁLNÍ INTERAKCE \Rightarrow KAŽDÁ VLN. FUNKCE S URČITÝM SPINEM ZÍSKÁ I SLOŽKU JINÉ MULTIPLICITY \Rightarrow SINGLETOVÉ A TRIPLETOVÉ STAVY SE SMÍŠÍ

✓ FLUORESCENČNÍ (ANI FOSFORESCENČNÍ) SPEKTRUM NEZÁVISÍ NA VLNOVÉ DÉLCE BUDÍCÍHO ZÁŘENÍ!

✓ FOSFORESCENČNÍ SPEKTRUM POSUNUTO K VYŠŠÍM λ
(TRIPLETOVÉ STAVY MAJÍ NIŽŠÍ ENERGIÍ NEŽ SINGLETOVÉ)

✓ FOSFOR. SPEKTRUM MÁ VIBRAČNÍ STRUKTURU (JAKO FLUOR.)

✓ DOBA ŽIVOTA 10^{-6} S AŽ 10^2 S. \Rightarrow VELKÁ PRAVDĚPODOBNOST ZTRÁTY ENERGIE NEZÁRIVÝM PŘECHODEM

* VNITŘNÍ KONVERZÍ

* SRAŽKAMI S MOLEKULAMI

* FOTOCHEMICKOU REAKCÍ

} **NELZE MĚŘIT PŘI
LABORATORNÍ TEPLOTĚ**

ZHAŠENÍ - PARAMAGNETICKÝMI LÁTKAMI (KYSLÍK) \Rightarrow JE NUTNÉ ROZTOKY DOKONALE ODVZDUŠNIT.

MĚŘENÍ: PŘI 77K (KAPALNÝ N_2) \Rightarrow TUHÝ SKLOVITÝ PRŮSVITNÝ ROZTOK. SMĚS ROZP.: $(C_2H_5)_2O$, ISOPENTAN, ELOH
5 2 ; 5 ; 2

INSTRUMENTACE - FOSFOROSKOPY A FLUORIMETRY S NÁSTAVCEM

VZOREK V ÚZKÉ KŘEMENNÉ KYVETĚ ULOŽENÉ V DEWAROVĚ
NÁDOBĚ (N_2 kapalný)

VYUŽITÍ DLOUHÉHO TRVÁNÍ FOSFORESCENCE

VZOREK SE STRÍDAVĚ EXCITUJE A PAK EMITUJE:

a) BECQUERELŮV FOSFORIMETR - MECHANICKÝ ROTUJÍCÍ
PŘERUŠOVAČ ~ 1000 ot/min, KONTINUÁLNÍ ZDROJ =
VYSOKOTLAKÁ HG LAMPA ČASOVĚ

b) PULSNÍ ZDROJ (Xe lamp) μs - pulsy

APLIKACE

ALKALOIDY, PESTICIDY, LÉČIVA, AMINOKYSELINY, PROTEINY

KINETIKA: 1. řádu: $F_t = F_0 \exp(-t/\tau)$

τ - střední doba trvání dosvitu (fosforescence)

$\tau = t$ při $F_t = F_0/e$

ZÁVISLOST NA DOBĚ OZÁŘOVÁNÍ:

$$F = F_{\max} [1 - \exp(-t/\tau)]$$

FOSFORESCENCE SMĚSI ANALYTŮ - METODA ČASOVÉHO
ROZLIŠENÍ

$$F_t = F_0 \exp(-t/\tau)$$

$$F_t = \sum_{i=1}^n F_t(i)$$