

535.371

ВЫХОД ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ РАСТВОРОВ КРАСИТЕЛЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДЛИНЫ ВОЛНЫ ВОЗБУЖДАЮЩЕГО СВЕТА. II *)

C. И. Вавилов

Измерен выход флуоресценции раствора флуоресцина в области поглощения от 250 до 540 мк. От 250 до 430 мк выход пропорционален длине волн. Далее, примерно до длины волны, соответствующей максимуму спектра флуоресценции, выход почти постоянен, затем он резко падает. Выход флуоресценции раствора эскулина не зависит от длины волны в интервале от 250 до 405 мк. Результаты истолковываются по аналогии с некоторыми фотохимическими соображениями Дж. Франка.

Несколько лет тому назад мною была опубликована статья под таким же названием¹, в которой я пришел к выводу, что флуоресцентная способность разбавленных растворов в исследованной спектральной области не зависит от длины волны возбуждающего света. В случае флуоресцина исследованный интервал распространялся от 446 до 519 мк и выход оставался постоянным с точностью примерно до 8%. Позже появилась работа Валентинера и Рёссигера², в которой были подтверждены мои результаты в исследованном мною участке длин волн, но в той области, где у разбавленных растворов поглощение и соответственно флуоресценция очень малы и где я поэтому не смог произвести измерений, эти авторы нашли быстрый спад выхода флуоресценции. Впоследствии мне стало известно, что еще в 1888 г. существование порога флуоресценции было открыто Вальтером³ очень наглядным и убедительным способом. Существование порога флуоресценции есть очевидное следствие квантовой теории, поскольку мы имеем дело со спектром, не зависящим от длины волны возбуждающего света. С другой стороны, найденное мною постоянство выхода, по-видимому, противоречит другому следствию квантовой теории, а именно пропорциональности выхода длине волны возбуждающего света, как, впрочем, и было подчеркнуто в моей первой работе. Но тогда исследованная спектральная область и точность измерений не были достаточны, чтобы можно было сделать окончательный вывод. Мне казалось, что этот вопрос должен быть еще раз исследован в возможно более широкой области длин волн.

М е т о д. В моей первой работе я применял для возбуждения флуоресценции в различных областях поглощения количественный метод светофильтров. Измерения и вычисления, при помощи которых определяется выход этим путем, очень сложны и, кроме того, дают только среднее значение. Поэтому в настоящей работе вместо светофильтров был применен малый кварцевый монохроматор Шмидта и Хэнша. В качестве источника света в видимой области служила кинолампа Филипса, 500 вт, 110 в постоянного тока. В ультрафиолетовой области применялась кварцевая ртутно-дуговая лампа Гереуса.

В моей первой работе, так же как и в работе Валентинера и Рёссигера, применялись только весьма разбавленные растворы. Все опыты настоящей работы проведены на сравнительно концентрированных растворах (10^{-3} — 10^{-2} г/см³) по следующим причинам. В таких растворах возбуждающий свет в области от 250 мк примерно до 520 мк фактически

*) Впервые опубликовано в Zs. Phys. 42, 311 (1927). Статья является продолжением работы с тем же названием, опубликованной в Zs. Phys. 22, 266 (1924); в ней формулируется закон, получивший впоследствии название «закон Вавилова». Воспроизведется по Собр. соч., т. 1, М.—Л., Изд-во АН СССР, 1954, стр. 222.

полностью поглощается в очень тонком слое, и поэтому не требуется никаких измерений поглощения. Во-вторых, на концентрированных растворах вследствие большого поглощения можно еще достаточно хорошо исследовать флуоресценцию при длинноволновом возбуждении.

Простая установка схематически представлена на рис. 1. Возбуждающий примерно параллельный пучок света из щели монохроматора падает под углом около 45° на переднюю стенку кварцевой кюветы. Изображение флуоресцирующего пятна проектируется на одну из щелей спектрофотометра Кёнига — Мартенса. На другую щель фотометра посредством призмы направлялся свет возбуждающего источника.

Коротковолновая часть полосы флуоресценции значительно поглощается уже в тонком слое раствора, поэтому все измерения интенсивности

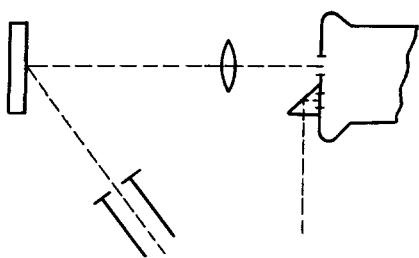


Рис. 1.

флуоресценции производились в длинноволновой части полосы, где нет сколько-нибудь заметного поглощения. Распределение энергии лампы Филипса было определено обычным способом по спектрофотометрическому сравнению со свечой Геффнера. Соответствующая кривая хорошо выражается формулой се-

$$A\lambda^{-5}e^{-\frac{4,97}{\lambda}}$$
 (λ в микронах). Ширина щели монохроматора оставалась одной и той же при возбуж-

дении флуоресценции различными участками спектра. При оценке относительной энергии, выходящей из монохроматора, необходимо принимать во внимание его дисперсию. Так как дисперсия монохроматора приближенно следует формуле Коши, то кривую распределения энергии нужно еще помножить на λ^3 .

В случае возбуждения кварцевой ртутной лампой выходящая из монохроматора энергия была рассчитана по данным Ладенбурга⁴. Кривая дисперсии прибора дает число ртутных линий, которые проходят через щель в различных спектральных областях. Из таблицы Ладенбурга сложением определяется общая выходящая энергия. Лампа горела при таком же напряжении и токе, как и у Ладенбурга. Ниже приведено одно косвенное доказательство, что полученное таким образом значение энергии не должно сильно отклоняться от действительного.

Пусть F_λ — относительная энергия флуоресценции при возбуждении длиной волны λ ; I_λ — соответствующая энергия, которая при этом была поглощена; тогда относительный выход флуоресценции

$$k_\lambda = \frac{F_\lambda}{I_\lambda}.$$

Результаты. В табл. I приведены результаты для видимого спектра флуоресцина + NH_4OH в воде при концентрации $2 \cdot 10^{-3} \text{ г/см}^3$. F_λ измерялась для $\lambda = 573 \text{ м}\mu$.

Последние числа табл. I неточны, так как свет из-за малой дисперсии здесь недостаточно монохроматичен и, кроме того, измерения в этой области несколько искажаются примесью рассеянного света и неполным поглощением. В табл. II приведен пример соответствующих измерений для флуоресцина в этиловом спирте при концентрации $1 \cdot 10^{-2} \text{ г/см}^3$.

Данные табл. I представлены на рис. 2. Видно, что во всем интервале от $400 \text{ м}\mu$ до $515 \text{ м}\mu$ выход имеет примерно одно и то же значение, хотя на коротковолновом конце он начинает несколько уменьшаться. Но около $515 \text{ м}\mu$ начинается крутой спад. Эта длина волны почти точно

соответствует максимуму спектра флуоресценции. В спиртовом растворе соответствующее место сдвинуто приблизительно до 530 мк, что согласуется со сдвигом максимума флуоресценции. Длинноволновая граница

Таблица I

$\lambda, m\mu$	k_λ	$\lambda, m\mu$	k_λ
401	0,94	510	0,97
415	0,98	518	0,97
425	0,98	524	0,69
445	1,00	531	0,69
456	1,02	538	0,42
482	1,00	546	0,16
502	0,98	550	0,10

Таблица II

$\lambda, m\mu$	k_λ	$\lambda, m\mu$	k_λ
401	0,84	527	1,00
456	1,00	534	1,03
492	1,02	546	0,87
502	0,97	550	0,64
518	1,02	560	0,10

излучения, способного возбуждать флуоресценцию, могла наблюдаться в концентрированных спиртовом и глицериновом растворах без каких-либо измерений, путем вращения барабана монохроматора и соответствующего изменения длины волны возбуждающего излучения. Начиная с определенной длины волны, интенсивность флуоресценции значительно уменьшается, хотя возбуждающий свет, как и прежде, полностью поглощается. При дальнейшем изменении длины волны флуоресценция полностью исчезает. Выгоднее употреблять для этих опытов спиртовые или глицериновые растворы, так как в концентрированных водных растворах флуоресценция очень сильно потушена.

Опыты были распространены и на ультрафиолетовую область, причем лампа Филипса была заменена ртутной лампой. Результаты этого опыта для флуоресцина в воде при концентрации $2 \cdot 10^{-3} \text{ г/см}^3$ приведены в табл. III. В первом столбце стоят средние длины волн пропускаемых

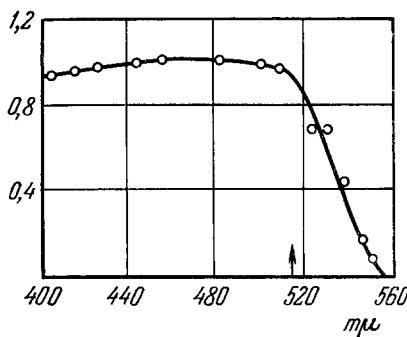


Рис. 2.

Таблица III

$\lambda, m\mu$	E_λ	k_λ	k_λ/λ
253	1,00	1,01	4,0
310	2,75	1,22	3,9
360	4,20	1,26	3,5
405	3,45	1,50	3,7
433	4,61	1,65	3,8

Таблица IV

$\lambda, m\mu$	E_λ	k_λ	k_λ/λ
253	1,00	0,65	2,6
310	2,75	0,76	2,4
360	4,20	0,83	2,3
405	3,45	0,90	2,2
433	4,61	1,12	2,6
535	6,50	0,71	1,3

линий Hg, во втором — соответствующая энергия, вычисленная по таблицам Ладенбурга вышеуказанным способом, в третьем — k_λ и в четвертом — отношение k_λ к λ .

В табл. IV приведены результаты подобных же измерений для спиртового раствора флуоресцина при концентрации $1 \cdot 10^{-2} \text{ г/см}^3$.

Из таблиц видно, что начинаяющееся уже в фиолетовой части спектра уменьшение k_λ продолжается в ультрафиолетовой области, причем выход здесь примерно пропорционален длине волны возбуждающего света. Чтобы проверить принятые значения энергии возбуждающего излучения в ультрафиолетовой области, были проделаны подобные же измерения для раствора эскулина. Если у красителя, поглощающего в видимой области, существует широкая область, простирающаяся примерно на 100 мкм от максимума флуоресценции, в которой выход примерно постоянен, то естественно предположить, что в случае эскулина, полоса поглощения которого находится в ультрафиолетовой области, выход флуоресценции подобным же образом не будет зависеть от длины волны. Как видно

из табл. V, в которой приведены результаты измерения для эскулина в воде при концентрации 10^{-3} г/см³, это предположение подтверждается. При этом возбуждающий свет, как и прежде, полностью поглощался в тонком слое раствора.

Этот результат подтверждает принятую нами оценку энергии возбуждающего излучения. С другой стороны, очевидно, что концентрированный раствор эскулина вследствие этого постоянства выхода флуоресценции может быть,

наоборот, применен для определения распределения энергии по крайней мере в интервале от 250 до 400 мкм. Эти данные, может быть, с пользой будут применены для спектрофотометрии и для измерений энергии в близкой ультрафиолетовой области.

О б ю ж д е н и е. Абсолютная величина выхода флуоресценции раствора флуоресцина была определена мною ранее. При освещении белым светом примерно 80% всей поглощаемой в разбавленном растворе энергии превращается в флуоресценцию. Точность этого значения невелика, но для последующих соображений она может быть достаточной. Основным предположением в моей упомянутой работе была независимость выхода от длины волны возбуждающего света. Во всей области, где разбавленные растворы значительно поглощают энергетически богатую часть белого света, это предположение вполне удовлетворительно оправдывается, так что относящиеся к этому возражения со стороны некоторых авторов не обоснованы.

Следовательно, мы можем приписать выходу одно и то же абсолютное значение, примерно 0,8 во всем интервале от 430 до 515 мкм. В соответствии с этим данное значение может быть применено в качестве единицы измерения для определения значения абсолютного выхода в ультрафиолетовой области. Сплошная кривая, представленная на рис. 3, получена на основании результатов табл. I и III. Ординаты обозначают здесь абсолютный выход флуоресценции. Если бы выход точно следовал закону эквивалентов Эйнштейна, то он должен был бы изменяться соответственно изображенной на рис. 3 пунктирной линии. Место спада должно было бы соответствовать выходу, равному 1. Как видно из рисунка, выход флуоресценции в ультрафиолетовой области следует закону Эйнштейна не только по длинам волн, но также и по абсолютным значениям.

В видимой же области, вблизи критической точки, где закон Эйнштейна теряет смысл, наступают заметные отклонения от этого закона.

Полученную кривую естественно сопоставить с рассуждениями и схемой Франка, которые были предложены для объяснения фотохимической диссоциации. При этом процессе существуют, согласно Франку, также

Таблица V

$\lambda, \text{мкм}$	E_λ	k_λ	k_λ/λ
253	1,00	0,93	3,7
310	2,75	1,00	3,2
360	4,20	0,93	2,6
405	3,45	1,02	2,5

и другие возможности превращения энергии возбуждения. Если воспринятый квант существенно больше, чем работа диссоциации, то фотохимический выход должен быть близок к вычисленному из закона эквивалентов, так как, несмотря на рассеяние энергии, еще остается достаточно энергии для диссоциации. В случае флуоресценции известный факт существования антистоксовой области в ее спектре уже говорит о том, что тепловая энергия растворителя может добавляться к кванту энергии молекулы красителя. В соответствии с этим, конечно, должно иметь место из-за условий равновесия также и соответствующее уменьшение квантов энергии. Если величина энергии возбуждения близка к критическому значению, то это уменьшение может уничтожить флуоресценцию, т. е. уменьшить выход.

Трудно более или менее точно учесть все обстоятельства в нашем сложном случае. Однако приведенные рассуждения качественно объясняют необходимость выравнивания кривой выхода.

Это выравнивание, по-видимому, представляет собой общий случай. Неизменность фотохимического выхода при выцветании красителей⁸ есть, вероятно, только выражение этого выравнивания. Постоянство фотоэлектрического выхода при освещении кристалла каменной соли⁹ может быть, по-видимому, истолковано таким же образом. Если эти представления правильны, то можно ожидать, что в более коротковолновой области в этих случаях будет наблюдаться лучшее согласие с законом эквивалентов.

Предложенное толкование не есть единственное возможное. Можно, например, ход кривой выхода формально объяснить наложением отдельных широких полос поглощения с различной активностью. Но совпадение абсолютных значений выхода в ультрафиолетовой области с теоретическими делает это объяснение мало правдоподобным.

Все описанные опыты и рассуждения основываются на предположении, что спектр флуоресценции всегда одинаков при возбуждении различными лучами. В видимой области это было установлено в свое время Никольсом и Мерритом¹⁰. Я также проверил это спектрофотометрически и фотографически в широком интервале длин волн для флуоресцина. Однако пока еще не выяснено, остается ли спектр точно таким же и в той области, где выход быстро падает. Если бы это было так, то это было бы связано с сильным нарушением закона Стокса, как предполагают Валентинер и Рессигер. Более подробное исследование спектра флуоресценции при различном возбуждении, особенно вблизи критической точки, я оставляю до следующего сообщения.

Я хотел бы здесь выразить мою глубокую благодарность директору Института проф. П. П. Лазареву за любезное предоставление всех необходимых средств для этой работы.

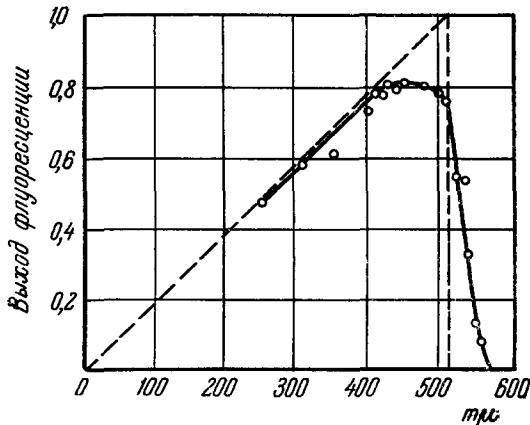


Рис. 3.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. И. В а в и л о в, Phil. Mag. **43**, 307 (1922).
2. S. Valentine r, M. R ö s s i g e r, Berl. Ber. 210 (1924); Zs. Phys. **36**, 81 (1926); ср. также: С. И. В а в и л о в, Zs. Phys. **32**, 236 (1925).
3. L. W a l t e r, Wied. Ann. **34**, 322 (1888); **36**, 522 (1889).
4. E. La denburg, Phys. Zs. **5**, 525 (1904); ср. также: И. П л о т н и к о в, Фотохимическая экспериментальная техника, 1912, стр. 16.
5. С. И. В а в и л о в, Zs. Phys. **22**, 266 (1924).
6. F. Schmiede r, Ann. d. Phys. **77**, 381 (1925).
7. J. F r a n c k, Zs. phys. Chem. **120** (1926); J. F r a n c k, P. Jord a n, Anregung von Quantensprungen durch Stösse, 1926, стр. 289.
8. П. П. Л а з а р е в, Ann. d. Phys. **24**, 661 (1907).
9. A. A р с е ньев а, Zs. Phys. **37**, 701 (1926).
10. E. L. N i c h o l s, E. Merritt, Studies in Luminescence, 1910, стр. 5.