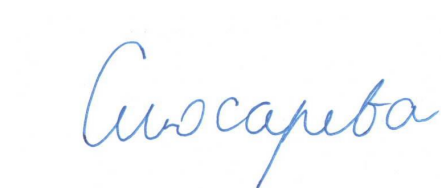


На правах рукописи



Слюсарева Евгения Алексеевна

**ФОТОНИКА ФЛУОРОНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ В ГОМОГЕННЫХ И
ГЕТЕРОГЕННЫХ БИОПОЛИМЕРНЫХ СРЕДАХ**

01.04.05 – Оптика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора физико-математических наук

Томск – 2014

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский федеральный университет», на кафедре фотоники и лазерных технологий.

Научный консультант: доктор физико-математических наук, профессор
Слабко Виталий Васильевич

Официальные оппоненты:

Шапарев Николай Якимович, доктор физико-математических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт вычислительного моделирования Сибирского отделения Российской академии наук, отдел вычислительной физики, заведующий отделом,

Мартынович Евгений Федорович, доктор физико-математических наук, профессор, Иркутский филиал федерального государственного бюджетного учреждения науки Института лазерной физики Сибирского отделения Российской академии наук, заведующий филиалом,

Пономарев Юрий Николаевич, доктор физико-математических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт оптики атмосферы им. В.Е. Зуева Сибирского отделения Российской академии наук, заместитель директора по научному направлению.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физики им. Л.В. Киренского Сибирского отделения Российской академии наук (г. Красноярск).

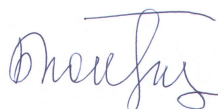
Защита состоится 26 июня 2014 г. в 14 час. 30 мин. на заседании диссертационного совета Д 212.267.04, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» по адресу: 634050, г. Томск, пр. Ленина 36, ауд. 119.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке и на сайте федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» www.tsu.ru.

Материалы по защите диссертации размещены на официальном сайте ТГУ:
http://www.tsu.ru/content/news/announcement_of_the_dissertations_in_the_tsu.php

Автореферат разослан 24 марта 2014 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Пойзнер Борис Николаевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Применение красителей, иммобилизованных внутри или адсорбированных на поверхности биополимеров, в технике и науках о жизни обуславливает интерес к фотофизическим и фотохимическим свойствам таких систем. Так, желатина до настоящего времени является самой востребованной матрицей, используемой в сенсibiliзированных регистрирующих средах для оптической записи информации [Zhu J.H., 2004]. Полисахариды, полипептиды находят широкое применение при создании разнообразных тонкопленочных нанокомпозитных структур, использующих красители в качестве оптически активного компонента [Wang Z.F, 2008, Shchipunov Y.A., 2011]. Известны примеры практического использования сенсibiliзированных систем на основе крахмала и желатины в качестве чувствительных элементов химических и биохимических сенсоров [Kratasyuk V., 2003]. Сенсibiliзация красителями используется также в медицине для локальной фотодеструкции таких биологически важных макромолекул как белок или ДНК [Mohammad T., 2000]. Возможность эффективного связывания аминополисахарида хитозана с анионными соединениями легла в основу технологии очистки сточных вод текстильной промышленности [Ngah W. S. W., 2011]. Способность хитозана образовывать нано- и микрочастицы широко используется при микрокапсулировании фармацевтических препаратов для регуляции их доставки и временного дозирования в организме [Berger J, 2004]. При этом энергия и механизм межмолекулярных взаимодействий красителей - прототипов анионных соединений - с биополимером являются первостепенными факторами, определяющими их эффективное совместное использование.

Красители обладают выраженными спектрально-флуоресцентными характеристиками, в которых отражены индивидуальные свойства электронной структуры молекул и черты их межмолекулярных взаимодействий с оптически прозрачными в видимой и ближней УФ областях биополимерами. Стремление автора повысить информативность спектральных методов исследования привело к необходимости поиска гомологичного ряда красителей, обладающих набором постепенно изменяющихся физико-химических свойств, влияющих на их межмолекулярные взаимодействия с биополимерами.

С этой целью в настоящей работе был выбран ряд флуороновых красителей, уникальный в плане реализации последовательного замещения атомов водорода атомами галогенов (флуоресцеин, 4',5'-дибромфлуоресцеин, 2',4',5',7'-тетрабромфлуоресцеин, 2',4',5',7'-тетрайодфлуоресцеин, 4,5,6,7-тетрахлор-2',4',5',7'-тетрайодфлуоресцеин). Галогензамещение в структуре хромофора приводит к перераспределению частичных зарядов между атомами, изменению электронной и пространственной структур, вероятностей излучательных и безызлучательных

переходов, сдвигу спектральных, кислотно-основных, гидрофильно-гидрофобных и др. свойств. Возможность плавного варьирования широкого набора физико-химических свойств позволяет применять ряд флуороновых красителей в качестве эффективного многофункционального исследовательского инструмента, впервые используемого для изучения различных аспектов взаимодействия с биополимерами. Традиционные направления использования флуороновых красителей связаны с применением отдельных представителей этого ряда в качестве флуоресцентных меток, компонентов активных сред перестраиваемых лазеров и фотоинициаторов химических процессов.

Таким образом, актуальность исследования ряда флуороновых красителей в гомогенных и гетерогенных биополимерных средах высока и обусловлена:

- возможностью исследования процессов межмолекулярного взаимодействия красителей с биополимерами с применением методов корреляционного анализа в тенденции постепенного изменения физико-химических свойств в ряду красителей;
- необходимостью характеристики оптико-спектральных свойств практически применяемых красителей в биополимерах различной химической природы (полипептиды, полисахариды, аминопалисахариды);
- возможностью использования красителей в качестве модельных объектов фармацевтических препаратов анионной природы, связанных с хитозаном и частицами на его основе.

Цель работы и задачи исследования

Цель работы: выявление роли физико-химических свойств флуороновых красителей в явлениях их адсорбции, иммобилизации и фотохимического обесцвечивания в гомогенных и гетерогенных системах на основе жидких и твердых растворов биополимеров.

Для достижения цели решались следующие задачи.

1. Установление связи спектрально-люминесцентных свойств флуороновых красителей с их конформационными изменениями, вызванными галогензамещением в структуре хромофора.

2. Получение и анализ спектрально-люминесцентных и фотофизических характеристик флуороновых красителей, иммобилизованных в биополимерных пленках желатины, крахмала, хитозана.

3. Создание кинетической модели лазерного обесцвечивания красителей в водородосодержащей матрице с учетом реакционноспособных первых и высших триплетных состояний и получение аналитического решения, применимого для анализа экспериментальных данных.

4. Оценка реакционной способности первого и высших триплетных состояний флуороновых красителей в ходе лазеро-индуцированной реакции их обесцвечивания

в полимере на основе кинетических измерений и анализа результатов с помощью созданной модели.

5. Применение установленных кинетических закономерностей фотохимической реакции флуороновых красителей в полимерных пленках для решения ряда научных и прикладных задач.

6. Синтез частиц полиэлектролитных комплексов (ПЭК) на основе хитозана и анализ эффективности и механизма адсорбции флуороновых красителей на хитозане в истинном растворе и синтезированных частицах полиэлектролитных комплексов на основе хитозана в коллоидном растворе.

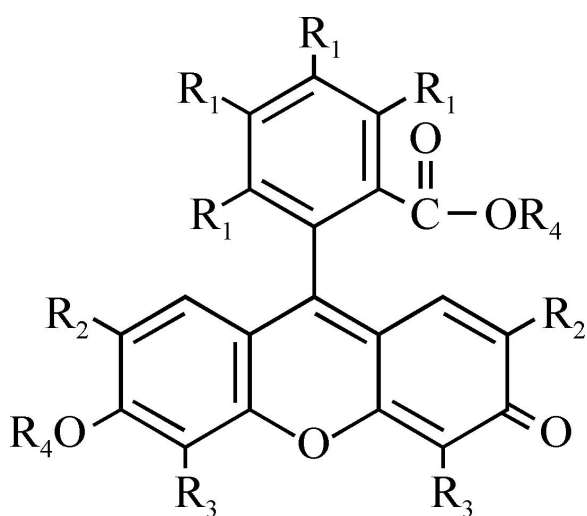


Рис. 1. Флуоресцеин ($R_1=R_2=R_3=H$, $R_4=Na$), 4,5-дибромфлуоресцеин ($R_1=R_2=R_4=H$, $R_3=Br$), эозин Y ($R_1=H$, $R_2=R_3=Br$, $R_4=Na$), эритрозин B ($R_1=H$, $R_2=R_3=I$, $R_4=Na$), (полисахарид), хитозан (аминополисахарид). Частицы двух видов полиэлектролитных комплексов синтезировались на основе поликатиона хитозана и двух полисахаридов анионной природы – хондроитин сульфата А и гиалуроната.

Методы исследования

В работе применялись следующие основные оптико-спектральные методы: абсорбционная, флуоресцентная и фосфоресцентная (в том числе поляризационная и разрешенная во времени) спектроскопия, лазерная фотохимия, динамическое светорассеяние. В качестве дополнительных методов использовались: электронная сканирующая микроскопия, электрофоретический метод определения ζ -потенциала, теоретические методы: квантово-химические расчеты конфигурации и электронных спектров красителей, моделирование кинетики лазеро-индуцированной химической реакции.

Объекты исследования

Объектами исследования являются флуороновые красители, рис. 1, – флуоресцеин и его галогенпроизводные: 4',5'-дибромфлуоресцеин, 2',4',5',7'-тетрабромфлуоресцеин (эозин Y), 2',4',5',7' - тетрайодфлуоресцеин (эритрозин B), 4,5,6,7 - тетрахлор-2',4',5',7' - тетрайодфлуоресцеин (бенгальский розовый), в биополимерных матрицах и коллоидных растворах на основе полисахаридов. Для приготовления пленочных образцов использовались биополимеры различной химической природы: желатина (денатурированный коллаген, фибриллярный белок), крахмал

Защищаемые положения

1. Замещение атомами брома, йода, хлора в структуре флуоресцеина вызывает в ряду дианионов (флуоресцеин - бенгальский розовый) изменения конфигурации и жесткости их ядерной системы, проявляющиеся в вариации сечения поглощения, батохромном сдвиге спектров поглощения, уменьшении Стоксова сдвига в метаноле, увеличении гидродинамического радиуса в воде. Соотношение эффективных зарядов атомов кислорода боковых групп, а также экранирование галогенами соседнего атома кислорода приводят к тому, что ионы флуоресцеина диссоциированы преимущественно по карбоксильной группе, а его галогензамещенные производные – по гидроксильной.

2. Внутренний эффект тяжелого атома и различие заряда анионов флуоресцеина, 4',5'-дибромфлуоресцеина, эозина Y, эритрозина B, бенгальского розового являются основными причинами вариабельности амплитуды и ширины их спектров поглощения и люминесценции, квантового выхода флуоресценции и фосфоресценции, степени поляризации флуоресценции и флуоресцентного времени жизни в пленках желатины, крахмала, хитозана.

3. В системе балансных уравнений для четырехуровневой (S_0, S_1, T_1, T_n) схемы красителя в резонансном поле лазерного излучения с учетом первого и высших химически активных триплетных состояний в водородосодержащей матрице суммарная населенность исходной формы красителя является медленно изменяющейся величиной и эффективная мономолекулярная константа скорости химической реакции необратимого обесцвечивания (k) связана с константами скоростей поглощения на $S_0 - S_1$ и $T_1 - T_n$ переходах ($I\sigma_1, I\sigma_2$), интеркомбинационной конверсией (k_{isc}) и внутренней конверсии из высоковозбужденного в нижнее триплетное состояние (k_{ic}), фотохимической реакции первого и высших триплетных состояний (k_{ch_1}, k_{ch_2}), временами жизни фосфоресцентного и флуоресцентного состояний (τ_{ph} и τ_n) формулой:

$$k = \left(1 + \frac{1}{\tau_{ph} \tau_n k_{isc} I \sigma_1} \right)^{-1} \left(k_{ch_1} + \frac{k_{ch_2} I \sigma_2}{k_{ic}} \right).$$

4. Константы скорости лазероиндуцированной химической реакции триплетных состояний, заселяемых в процессе двухступенчатого поглощения флуоресцеина, 4',5'-дибромфлуоресцеина, эозина Y, эритрозина B, бенгальского розового, коррелируют с энергией этих состояний и на девять порядков превышают аналогичные константы скоростей первых триплетных состояний.

5. В биополимерной матрице, содержащей донорно-акцепторную пару красителей, происходит замедление скорости фотохимической реакции обесцвечивания донора, что выражается в зависимости отношения эффективной

константы скорости обесцвечивания в отсутствие акцептора (k_0) к аналогичной константе в присутствии фотостабильного акцептора (k) от его концентрации $[A]$:

$$\frac{k_0}{k} = 1 + \frac{\tau_{fl}}{1 + \tau_{ph} \tau_{fl} k_{isc} I \sigma_1} k_{et} [A].$$

Эта зависимость позволяет измерять константы скорости безызлучательного переноса энергии k_{et} (напр., для системы эозин Y (донор) – родамин С (акцептор) в желатине $k_{et} = (0,8 \pm 0,1) \cdot 10^{11} \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$).

6. Использование сенсibilизированных эозином К желатиновых пленок в качестве регистрирующей среды, чей логарифм оптической плотности линейно зависит от экспозиции (при значении константы скорости поглощения не более 10^3 с^{-1}), позволяет путем фотометрирования фотохимической решетки, полученной в схеме деления волнового фронта, находить распределение интенсивности и степени пространственной когерентности лазерного излучения.

7. Синтез электростатически стабильных полиэлектролитных комплексов на основе хитозана/хондроитин сульфата с размером 0,4 мкм в ацетатном буфере (рН 3,8, 4,6, 5,6 и ионной силой 0,01, 0,05, 0,09 М, соответственно) достигим при добавлении 0,125% (рН=3,8, 4,6), 0,1% (рН=5,6) раствора хондроитин сульфата капельным способом в 0,1% раствор хитозана в объемном соотношении хитозана к хондроитин сульфату 2:1 (рН 3,8), 2,5:1 (рН 4,6), 10:1 (рН 5,6). Синтез полиэлектролитных комплексов на основе хитозана/гиалуроната с аналогичными размерами достигим при добавлении тем же способом 0,02% (рН=3,8), 0,03% (рН 4,6), 0,04% (рН 5,6) раствора гиалуроната в 0,1% раствор хитозана в объемном соотношении хитозана к гиалуронату 3:4 (рН 3,8), 1:1 (рН 4,6), 3:1 (рН 5,6).

8. Синтезированные по П. 7 полиэлектролитные комплексы в коллоидных растворах, по сравнению с хитозаном в истинном растворе обладают повышенной адсорбционной емкостью по отношению к эозину Y и эритрозину В (например, для рН 4,6 в 6-10 раз), достигаемой оптимизацией площади и качества поверхности. Притяжение разноименных зарядов красителей и хитозана является не единственным механизмом адсорбции, а константа связывания флуороновых красителей с полиэлектролитными комплексами коррелирует с эффективностью диполь-дипольных и гидрофобных адсорбат-адсорбент взаимодействий.

Достоверность полученных результатов определяется:

- 1) высокой воспроизводимостью (относительное отклонение не более 5%), результатов контрольных оптико-спектральных и хроноскопических измерений, реализованных при использовании различных экспериментальных установок (П. 1, 2);
- 2) получением необходимой статистической выборки при измерениях кинетических параметров фотохимической реакции (3-5), П. 4, оптической плотности

образцов микрофотометрическим методом (8-12), П. 6, аттестации концентрации (3-5), размера и ζ -потенциала ПЭК (40), П. 7;

3) использованием пакета квантово-химических программ GAMESS, признанного международным научным сообществом (П. 1);

4) непротиворечивостью результатов, полученных различными экспериментальными методами: для размеров ПЭК с использованием метода динамического светорассеяния и электронной микроскопии (П. 7), для константы безызлучательного переноса энергии в донорно-акцепторной паре красителей, полученные фотохимическим методом и методом электронной спектроскопии (П. 5), построением равновесных изотерм адсорбции с помощью двух методов количественного спектрального анализа (П. 8);

5) высоким коэффициентом корреляции экспериментальных данных и результатов квантово-химических расчетов размера молекул, положения спектров и сечения поглощения, Стоксова сдвига (0,82-0,99, П. 1), экспериментальных зависимостей и зависимостей, полученных в рамках моделирования кинетики фотообесцвечивания красителей ($> 0,94$, П. 3, 4);

6) величиной вероятности, с которой найденные коэффициенты корреляции признаков являются по критерию Стьюдента достоверными: параметр спин-орбитальной связи атомов в молекуле и квантовый выход флуоресценции (98%), П. 2; энергия высших триплетных уровней и константа скорости фотохимической реакции (99%), П. 4; дипольный момент связи С-Н, С-галоген красителя и константа связывания с ПЭК (56%), П. 6; коэффициент распределения (мера гидрофобности) красителя и константа связывания с ПЭК (77%), П. 6.

7) сходимостью полученных результатов и данных других авторов: оптическо-спектральные свойства флуороновых красителей в метаноле и желатине [M.Martin, 1975, G.R. Fleming, 1977, S.K. Lam, 1997] (П. 1, 2), константы диссоциации флуороновых красителей [H.O. Мчедлов-Петросян, 2004, N. Klonis, 1996] (П. 1), характеристики близких по структуре ПЭК [S. Boddohi, 2009] (П. 7), адсорбционные характеристики хитозана и частиц на его основе [W.L. Du, 2008, X.-Y. Huang, 2011, S. Chatterjee, 2005] (П. 8).

Научная новизна защищаемых положений и других результатов состоит:

1) в использовании корреляционных методов анализа связи физико-химических свойств флуороновых красителей в ряду из трех-пяти гомологичных соединений с параметрами адсорбционных и фотохимических процессов с участием данных красителей и биополимеров (2009-2013 г.);

2) в выявлении влияния заместителей-галогенов на структуру и жесткость молекул флуороновых красителей (флуоресцеин, 4',5'-дибромфлуоресцеин, эозин Y, эритрозин В, бенгальский розовый) и их спектральные свойства (2012 г.);

3) в выявлении влияния химической природы биополимерных пленок (полипептиды, полисахарид, аминопалисахарид) на спектрально-люминесцентные и фотофизические свойства иммобилизованных флуороновых красителей (2009 г.);

4) в применении при решении системы балансных уравнений для красителя в непрерывном резонансном поле лазерного излучения приближения, основанного на выделении медленно меняющейся в ходе фотохимической реакции величины, имеющей смысл суммарной населенности исходной формы красителя (2000 г.);

5) в выявлении роли триплетных состояний различного уровня возбуждения в фотохимической реакции обесцвечивания флуороновых красителей (флуоресцеин – 4',5'-дибромфлуоресцеин – эозин Y – эритрозин B – бенгальский розовый) в биополимерной матрице (2012 г.);

6) в обосновании и реализации фотохимического способа исследования быстрого (порядка 10^{-8} с) безызлучательного переноса энергии в донорно-акцепторной паре красителей в полимере путем анализа медленной (порядка 10^3 с) кинетики фотохимической реакции донора от концентрации фотостабильного акцептора (2009 г.);

7) в обосновании и реализации фотохимического способа измерения распределения интенсивности и степени пространственной когерентности лазерного излучения, который основан на линейной связи логарифма оптической плотности с экспозицией в пленочных образцах сенсibilизированной эозином K желатины (Патент РФ №2234064 от 10.08.2004);

8) в выявлении роли гомогенности/гетерогенности адсорбента (коллоидный раствор структурированного в форме ПЭК хитозана, либо истинный раствор хитозана) в эффективности адсорбции флуороновых красителей (флуоресцеин, эозин Y, эритрозин B) (2013 г.).

Научная ценность:

1) выполненные совместно с экспериментальными исследованиями квантово-химические расчеты для ряда флуороновых красителей (флуоресцеин – 4',5'-дибромфлуоресцеин – эозин Y – эритрозин B – бенгальский розовый) прогнозируют конфигурацию и спектрально-флуоресцентные свойства других галогензамещенных производных флуоресцеина, напр. 2,7-дихлорфлуоресцеина, 3,4,5,6-тетрахлор-2',5',7'-тетрабромфлуоресцеина (флоксина B);

2) ряд флуороновых красителей (флуоресцеин – 4',5'-дибромфлуоресцеин – эозин Y – эритрозин B – бенгальский розовый) с широким набором постепенно изменяющихся физико-химических свойств позволяет применять методы корреляционного анализа для изучения адсорбции широкого круга объектов катионной природы, напр. мицеллярных сред, искусственных полимеров;

3) полученная по П. 3 формула обладает функциональной простотой и универсальностью по отношению к другим классам органических красителей,

проявляющих способность необратимо фотообесцвечиваться (напр. тиазиновые или акридиновые красители);

4) предложенный метод измерения константы скорости безызлучательного переноса энергии электронного возбуждения в пленках, содержащих донорно-акцепторную пару красителей, на основе анализа зависимости кинетики фотохимической реакции донора от концентрации фотостабильного акцептора обладает рядом преимуществ по сравнению с традиционным спектральным методом на основе тушения флуоресценции (не используются дорогостоящие детекторы с высоким временным разрешением, сохраняется возможность исследования образцов, для которых применение спектрального метода затруднено эффектом реабсорбции).

Практическая значимость:

1) полученная база данных в виде спектров поглощения и люминесценции, а также таблиц, содержащих спектрально-люминесцентные и фотофизические характеристики флуороновых красителей в практически применяемых биополимерах, содержит информацию, востребованную при разработках биомаркеров, биопленочных функциональных элементов, оптических сенситизаторов;

2) информация о химической активности как первых, так и высших триплетных состояний красителей открывает возможность регулирования фотостабильности (фотоактивности) полимерных растворов красителей в задачах создания активных компонентов лазерных сред, повышения чувствительности регистрирующих систем;

3) найденные интервалы интенсивности, обеспечивающие линейную связь логарифма оптической плотности пленок флуороновых красителей в биополимере с экспозицией, позволяют использовать фотометрический метод для измерения интенсивности излучения, применяя при этом светочувствительные среды, не содержащие серебра и методики, исключаящую этап проявления «скрытого» изображения;

4) синтезированные на основе хитозана/гиалуроната и хитозана/хондроитин сульфата полиэлектролитные комплексы биосовместимы и биodeградебельны и имеют ряд преимуществ перед хитозаном: высокую (в 6-10 раз выше) адсорбционную емкость для анионных красителей и на порядок меньшие размеры. Такие ПЭК пригодны для инкапсуляции фармацевтических препаратов анионной природы в биомедицине.

Личный вклад автора

Автору принадлежат постановка цели и задач исследования, выбор путей и методов их решения, формулировка защищаемых положений.

Приготовление жидких, пленочных полимерных образцов и синтез частиц полиэлектролитных комплексов выполнено автором лично. Весь комплекс спектральных измерений выполнен либо лично автором, либо совместно со ст.

преподавателем М.А. Герасимовой, аспирантами и магистрантами А. Тиаги, А.Д. Цыгановым, Е. А. Макаровой. В обсуждении полученных экспериментальных результатов вместе с автором участвовали проф. А.Г. Сизых, проф. Университета г. Регенсбург, ФРГ А. Пенцкофер, ст. преподаватель М.А. Герасимова, проф. В.В. Слабко. Эксперименты по лазерному обесцвечиванию пленочных образцов красителей в биополимерах проводились совместно с проф. А. Г. Сизых, магистрантом А.А. Гайсиным. Морфологические исследования ПЭК методом электронной микроскопии проводились вместе с инженером-исследователем КНЦ СО РАН И. Немцевым.

Постановка задачи для квантово-химических расчетов производилась автором. Выбор методов квантово-химических расчетов и анализ полученных результатов производился в сотрудничестве с проф. А.Г. Сизых, с.н.с. Ф.Н. Томилиным. Реализация расчетов принадлежит с.н.с. Ф.Н. Томилину, аспиранту Е.Ю. Танкевич. Моделирование кинетики лазеро-индуцированного обесцвечивания красителя выполнено автором лично. Обоснование применяемых приближений выполнено аспирантом А.А. Глушковым под руководством автора.

Автором выполнен комплексный анализ представленных результатов и сделаны выводы к работе. Из материалов совместных публикаций в работе использованы результаты, в которых личный вклад автора был определяющим.

Связь с плановыми работами и возможность внедрения результатов работы. Работа выполнялась в рамках:

грантов Германской службы академических обменов (DAAD): стажировка в университет г. Регенсбург, ФРГ, 2007 г. (стипендия «Михаил Ломоносов»), стажировка в Гельмгольцевском Центре г. Берлин, ФРГ, 2011 г. (стипендия «Михаил Ломоносов II»), гранта Американского фонда гражданских исследований и развития (CRDF), 2004-2007 гг., № Y2-BP-02-06, стажировка в НОЦ «Енисей» СФУ;

грантов Министерства образования и науки РФ, АВЦП «Развитие научного потенциала высшей школы», мероприятие 2: «Исследование возбужденных состояний ксантовых красителей и их приложение для диагностики биополимерных и биолюминесцентных сред», 2006-2008 гг. «Образование микро- и наночастиц хитозана в присутствии внешних полисахаридов и ксантонов» (№ 15105), 2009-2011 гг., гранта РФФИ № 98-02-18054-а (1998);

Программы развития СФУ ИОП-27 «Развитие инженерно-физического образования СФУ», 2007-2008 гг., государственного задания на оказание услуг СФУ: г/б тема "Фотоника наноструктурированных неоднородных сред" (Ф-15), 2012-2014 гг., г/б тема "Характеристика динамики белковых макромолекул, сопряженной с выполнением биологической функции» (Б-14), 2013 г.

Полученные результаты могут быть использованы в организациях и учреждениях, занимающихся исследованиями и разработками в области молекулярной спектроскопии, фотофизики и фотохимии органических красителей,

физики и химии биополимеров, лазерной физики: Институте физики им. Л.В. Киренского СО РАН, Институте биофизики СО РАН, Сибирском физико-техническом институте при Томском государственном университете, Институте физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси, Харьковском национальный университете им. В.Н. Каразина, Институте микро- и нанотехнологий Оренбургского государственного университета, Иркутском институте химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Красноярском государственном медицинском университете им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого и др., а также учебном процессе институтов Инженерной физики и радиоэлектроники и Фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета.

Апробация работы

Результаты работы представлялись, докладывались и обсуждались на Первом, Втором Всероссийском семинаре «Моделирование неравновесных систем» (Красноярск, Россия, 1998, 1999 гг.), Четвертом Китайско-Российско-Корейском Симпозиуме по лазерной физике и лазерным технологиям (Harbin, China, 1998), Пятом Российско-Китайский симпозиуме по лазерной физике и лазерным технологиям (Томск, Россия, 2000), XVI Международной конференции по когерентной и нелинейной оптике (Москва, Россия, 1998), XIX Международной конференции по когерентной и нелинейной оптике (Минск, Белоруссия, 2007), IX, X, XI, XII, Международной школе-семинаре по люминесценции и лазерной физике (Иркутск, Россия, 2004, 2006, 2008, 2010 гг.), Международной молодежной конференции по люминесценции и лазерной физике (Иркутская обл., 2012), VI, VIII, IX, X, XI Международных конференциях по импульсным лазерам на переходах атомов и молекул (Томск, Россия, 2003, 2007, 2009, 2011, 2013 гг.), Международной конференции «Высокие технологии XXI века» (Москва, Россия, 2011), Семинаре для стипендиатов программы «Михаил Ломоносов» «Модернизация и инновации – совместные Германо-Российские перспективы» (Москва, Россия, 2012), на научных семинарах в университете г. Регенсбург (ФРГ, 2007), в Гельмгольц-центре г. Берлин (ФРГ, 2011).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 55 работ, из них 18 статей (13 статей в журналах из списка ВАК, 5 в рецензируемых зарубежных журналах), 1 патент, 16 работ в научных сборниках и материалах международных конференций, 20 работ в форме тезисов международных конференций.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, шести оригинальных глав, каждую из которых предваряет обзор литературы по рассматриваемому кругу вопросов, заключения и списка литературы. Содержание работы изложено на 230 страницах, включая 87 рисунков, 28 таблиц. Список цитированной литературы содержит 245 наименований.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** обоснована актуальность проблемы в целом, определены цели и задачи исследования, сформулированы основные положения, выносимые на защиту, рассмотрена научная новизна работы, ее научная ценность и практическая значимость, представлен личный вклад автора в работу и ее апробация, изложено краткое содержание по главам.

В **первой главе «Влияние галогензамещения на структуру и электронные спектры дианионов флуороновых красителей»** путем сравнения экспериментальных результатов, полученных методами электронной спектроскопии, и результатов квантово-химического расчета выявлено влияние заместителей-галогенов на пространственную структуру и электронные спектры дианионов флуороновых красителей при переходе из основного состояния в возбужденное и смене растворителя (вакуум-метанол).

В **обзорном разделе 1.1** отмечается, что квантово-химические расчеты являются информативным инструментом для выявления взаимосвязи между атомным составом, пространственной структурой молекул и их электронными спектрами. Большинство известных работ по квантово-химическим расчетам электронных спектров посвящено флуоресцеину и его производным, не содержащим тяжелых атомов, в то время как его галогенпроизводные замещенные исследованы значительно меньше. Возможность выполнения расчетов для больших органических молекул, содержащих тяжелые атомы, связано с прогрессом вычислительной техники, достигнутым в последние годы.

В **разделе 1.2** представлены экспериментальные методы и методы квантово-химических расчетов. Поиск устойчивой конфигурации дианионов флуороновых красителей в основном состоянии в вакууме и в растворителе состоял в оптимизации геометрии молекулы методами B3LYP/6-311** и PCM//B3LYP/6-311**. Энергии синглет-синглетных переходов и их силы осцилляторов рассчитывались с помощью методов TD-B3LYP/6-311** и PCM//TD-B3LYP/6-311**. Выбор методов обусловлен их высокой результативностью, сравнимой с возможностями самых сложных пост-хартрифовских приближений. Учет влияния среды осуществляется посредством метода самосогласованного реактивного поля (модель Томаса-Онзайгера)

В **разделе 1.3** представлены экспериментальные результаты, полученные методами абсорбционной и флуоресцентной (в т.ч. поляризационной) спектроскопии. Их анализ показал: 1) увеличение гидродинамического радиуса молекул флуоронов по мере галогензамещения в структуре молекул (в воде); 2) близкие значения сечений поглощения для большинства флуоронов (в метаноле); 3) красный сдвиг спектров поглощения (рис. 2) и люминесценции в ряду флуоресцеин - бенгальский розовый с его максимальным значением у бенгальского розового (в метаноле); 4) уменьшение Стоксова сдвига в ряду флуоресцеин – бенгальский розовый (в метаноле). Был отмечен различный характер поведения спектров поглощения при уменьшении pH

растворителя у флуоресцеина (гипсохромное смещение) и его галогензамещенных производных - эозина Y и эритрозина B (батохромное смещение).

В разделе 1.4 приведены результаты квантово-химических расчетов частичных зарядов на атомах (по Малликену), валентные углы, постоянные дипольные моменты, дипольные моменты переходов (силы осцилляторов), электронные спектры

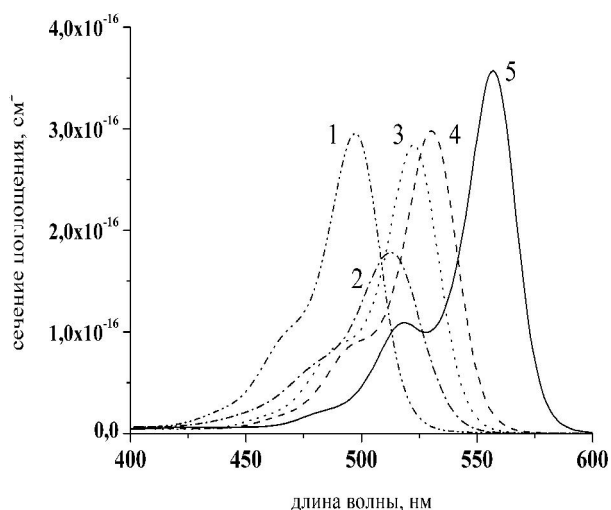


Рис. 2. Спектры поглощения флуороновых красителей в метаноле (1 - флуоресцеин, 2 - дибромфлуоресцеин, 3 - эозин Y, 4 - эритрозин B, 5 - бенгальский розовый)

флуороновых красителей. Расчет показывает, что атомы (обозначения приведены на рис. 3) трицикла молекул флуоронов не лежат в одной плоскости, а два его приблизительно плоских фрагмента образуют двугранный угол α с ребром C(10)-O(17) (рис. 4). При возбуждении, а также при смене растворителя происходит изменение значений всех трех углов (как правило) и молекулы переходят в группу симметрии C_1 . Для розового бенгальского, в отличие от других его гомологов, характерна конформация с перпендикулярным расположением группы $-COO^-$ относительно плоскости моноцикла.

Замещение галогенами приводит к перераспределению зарядов на большинстве атомах молекул флуоронов. Частичные заряды на атомах кислорода в положении O(24) уменьшаются при переходе от флуоресцеина к его галогензамещенным производным. Влияние растворителя (метанола) на частичные заряды атомов кислорода заключается в увеличении отрицательного заряда в пределах $0,04-0,06 e^-$ на атомах O(8), O(9), O(24). Частичный заряд у флуоресцеина на O(24) больше, чем на O(9), тогда как у остальных галогенпроизводных соотношение обратное. Пространственная структура флуоронов при переходе от флуоресцеина к бенгальскому розовому претерпевает значительные изменения. Длины связей C-H, C-Cl, C-Br, C-I увеличиваются и принимают значения 1,09; 1,74; 1,93; 2,14 Å соответственно, при этом происходит увеличение размера молекулы.

При учете растворителя (метанол) наблюдается увеличение постоянного дипольного момента, моментов перехода, сил осцилляторов. Сольватохромный «красный» сдвиг при учете растворителя в спектрах поглощения и флуоресценции в ряду красителей изменяется немонотонно. Направление сдвига характерно для $\pi-\pi^*$ -переходов при увеличении полярности растворителя.

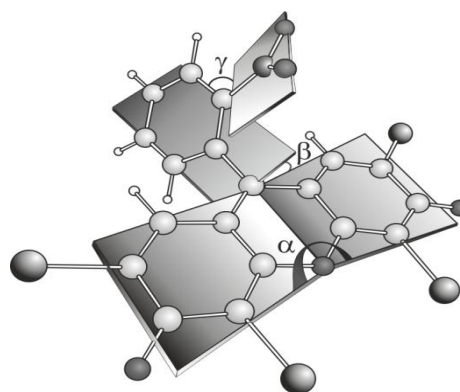
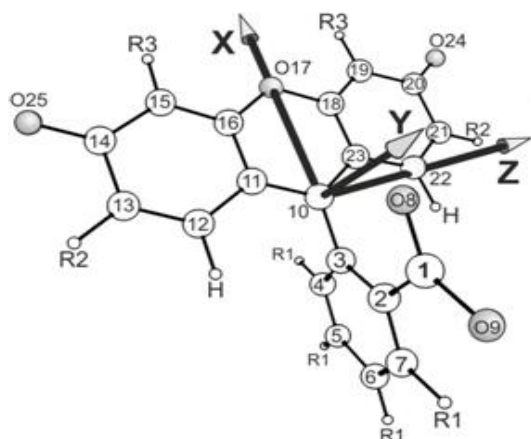


Рис. 3. Молекулярная система координат (X, Y, Z) и пространственная структура трицикла, моноцикла и группы -COO^- флуоронов

В разделе 1.5 приведено сравнение результатов эксперимента и квантово-химических расчетов (табл. 1). Результаты расчета размера молекул флуороновых красителей (расстояние между самыми удаленными атомами) коррелируют с результатами поляризационных измерений гидродинамических диаметров флуоронов (коэффициент корреляции 0,99).

Таблица 1. Характеристики дианионов флуороновых красителей в вакууме и жидких растворах (в скобках приведены экспериментальные результаты)

краситель Хар-ка	Флуоресцеин	Дибромфлуоресцеин	Эозин Y	Эритрозин В	Бенгальский розовый
Длина молекулы (гидродинамический диаметр), Å, в воде	9,7 (8,6±0,4)	-	10,8 (10,6±0,7)	11,2 (11±1)	-
λ_{0-0} (вакуум), нм	422	430	443	447	461
λ_{0-0} (метанол), нм	468 (508±1)	470 (526±1)	478 (534±1)	482 (540±2)	514 (565±2)
f_a (вакуум)	0,537	0,454	0,378	0,391	0,456
f_a (метанол) (σ_{0-0} , 10^{-16} , см ²)	1,053 (1,8±0,2)	0,976 (1,4±0,1)	1,099 (2,3±0,2)	1,146 (2,7±0,2)	1,155 (2,5±0,2)
$\Delta\tilde{\nu}_{St}$ (метанол), см ⁻¹	1682 (930±80)	1669 (940±70)	1312 (740±70)	1253 (720±100)	833 (560±120)

В рассчитанных спектрах поглощения при переходе от флуоресцеина к бенгальскому розовому наблюдается «красный» сдвиг, аналогичный экспериментальному (λ_{0-0} - длина волны 0-0 перехода), коэффициент корреляции 0,99. Вычисленная разница длин волн поглощения флуоресцеина и бенгальского розового (1910 см^{-1}) согласуется с экспериментальным результатом (2200 см^{-1}).

Наиболее существенное среди всего рассматриваемого ряда изменение положения спектра между эритрозином В и бенгальским розовым, наблюдаемое экспериментально, также подтверждается расчетами. Это «скачкообразное» изменение положения спектра бенгальского розового связано с обнаруженным отличным от других гомологов расположением группы -COO^- относительно плоскости моноцикла. Разница в абсолютных значениях между результатами расчета и экспериментальными результатами обусловлена, по-видимому, систематической погрешностью расчета, связанной с недостаточным учетом влияния межмолекулярных взаимодействий и пренебрежением роли вибронных состояний. Значения измеренных сечений поглощения в метаноле на частоте 0-0 перехода (σ_{0-0}) и расчетных значений сил осцилляторов (f_a) также хорошо коррелируют между собой (коэффициент корреляции 0,98).

Уменьшение Стоксова сдвига ($\Delta\tilde{\nu}_{St}$) в ряду флуоресцеин - бенгальский розовый согласуется с результатами расчетов (коэффициент корреляции 0,99). Уменьшение Стоксова сдвига при последовательном замещении молекул флуорофоров более тяжелыми галогенами в метаноле связано с постепенным затуханием конформационных изменений молекул при электронном возбуждении, что увеличивает подобие потенциальных кривых в основном и возбужденном состояниях.

Различный характер поведения спектров поглощения при уменьшении рН растворителя у флуоресцеина (гипсохромное смещение) и его галогензамещенных - эозина Y и эритрозина В - (батохромное смещение) объясняется наличием таутомерных форм анионов, образованных присоединением водорода на одном из двух групп атомов: -O^- (в трицикле флуоресцеина) и COO^- (в моноцикле галогензамещенных). Это различие объясняется как сравнением частичных зарядов на атомах кислорода дианионов в положении O(24) и O(9) (у флуоресцеина заряд на O(24) больше чем на O(9), тогда как у остальных галогенпроизводных соотношение обратное), так и экранированием галогенами кислорода гидроксильной группы.

В **выводах к первой главе** говорится, что, несмотря на приближенный характер выполненных квантово-химических расчетов (учитываются только излучательные электронные синглет-синглетные переходы, учет среды осуществляется в рамках модели поляризованного континуума), полученные закономерности (вероятности длинноволнового перехода, «красный» сдвиг спектров поглощения, уменьшение Стоксова сдвига) демонстрируют высокий коэффициент корреляции (0,98-0,99) с экспериментальными результатами. Обнаруженные корреляции позволяют выделить доминирующую причину спектральных изменений, которая заключается в изменении жесткости, пространственной и зарядовой структуры флуороновых красителей. Распределением зарядов на атомах кислорода, экранированием галогенов соседних атомов кислорода и увеличением длины связи

C-H, C-Cl, C-Br, C-I объясняется различие спектральных свойств анионов флуоресцеина и его галогенпроизводных, а также увеличение гидродинамического размера молекул. Построение более полной картины событий возможно при учете безызлучательных (интеркомбинационная, внутренняя конверсия) переходов, колебательной структуры, а также учете растворителя в явном виде.

Во второй главе «Спектральные и фотофизические свойства флуороновых красителей в биополимерных пленках» приведены результаты спектральных и хроноскопических измерений пленочных образцов растворов красителей: флуоресцеина, дибромфлуоресцеина, эозина Y, эритрозина B и бенгальского розового и проведен их анализ. В качестве матрицы использованы биополимеры различной химической природы: желатина (полипептиды), хитозан (аминополисахарид), крахмал (полисахарид). Для обсуждения влияния кислотности окружения на свойства красителей были использованы спектральные данные для красителей в основном (с 10^{-4} М NaOH), нейтральном и кислом (с 10^{-4} М HCl) метаноле, полученные в первой главе.

В **обзорном разделе 2.1** отмечается, что, несмотря на большое количество экспериментальных данных по спектральным свойствам флуороновых красителей в большинстве известных растворителей, сравнительное спектроскопическое исследование флуороновых красителей в биополимерах и жидких растворах разной основнойности является актуальным. Знание спектральных характеристик красителей в растворах биополимеров различной химической природы (полипептиды, полисахариды, аминополисахариды) является предпосылкой для их успешного использования в биомаркировании, оптической сенсibilизации и создании химических сенсоров.

В **разделе 2.2** приведена информация о методике приготовления пленочных образцов красителей в биополимерах, материалах и методах исследования (абсорбционная, флуоресцентная, фосфоресцентная, поляризационная спектроскопия, наносекундная, миллисекундная хроноскопия). Исследованные полимеры прозрачны в видимой области спектра, растворимы при комнатной температуре в воде (желатина), слабой кислоте (хитозан), в воде при нагревании до 80°C (крахмал), достаточно эластичны для их использования в виде твердых пленок.

В **разделе 2.3** приведены экспериментальные результаты. Методом стационарной спектроскопии были измерены: спектры поглощения (максимум $\lambda_{a, \max}$, сечение поглощения в максимуме $\sigma_{a, \max}$, ширина спектра на полувысоте $\Delta\nu_{\text{abs}}$), спектры флуоресценции (максимум $\lambda_{F, \max}$, ширина спектра на полувысоте $\Delta\nu_F$) и фосфоресценции, рассчитаны Стоксовы сдвиги, частоты 0-0 перехода, квантовые выходы флуоресценции (Φ_F), квантовые выходы фосфоресценции (Φ_P), степени поляризации флуоресценции (P_F). Времена жизни флуоресцентного (τ_f) и фосфоресцентного состояний были измерены методом хроноскопии флуоресценции.

Радиационные времена жизни и константы скорости интеркомбинационной конверсии (k_{isc}) были определены из результатов измерения времен жизни флуоресцентного и фосфоресцентного состояний, положения и интенсивности спектров фосфоресценции и замедленной флуоресценции, квантового выхода флуоресценции и фосфоресценции. Основные результаты измерения и расчета спектральных и фотофизических характеристик флуороновых красителей приведены в таблицах 2-6.

Таблица 2. Спектральные и фотофизические характеристики флуоресцеина в метаноле и полимерных матрицах

Параметры	Желатин	Крахмал	Хитозан	Метанол		
				Основной	Нейтральный	Кислый
$\lambda_{a, \max, \text{нм}}$	502±1	496±1	502±1	496±1	495±1	482±1
$\sigma_{a, \max, 10^{-16} \text{ см}^2}$	1,0±0,1	1,0±0,1	1,8±0,2	1,72 ±0,04	0,88±0,02	0,62±0,03
$\Delta\nu_{\text{abs}}, \text{ см}^{-1}$	2670±80	2490±80	1770±80	1450±70	3000±90	3560±90
$\lambda_{F, \max, \text{нм}}$	522±1	519±1	524±1	520±1	519±1	516±1
$\Delta\nu_F, \text{ см}^{-1}$	1730±70	1670±70	1690±70	1570±70	1690±70	2350±70
Φ_F	0,64±0,03	0,71±0,03	0,85±0,04	0,97±0,04	0,75±0,04	0,53±0,03
Φ_P	$< 1 \times 10^{-4}$	$< 1 \times 10^{-4}$	$< 1 \times 10^{-4}$	-	-	-
P_F	0,27 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,25 ± 0,03	0,04 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,09 ± 0,01
$\tau_F, \text{нс}$	4,53 ± 0,03	5,05 ± 0,02	4,10 ± 0,04	5,49 ± 0,04	5,19 ± 0,04	4,56 ± 0,07
$k_{isc}, 10^8 \text{ с}^{-1}$	-	-	-	-	-	-

Таблица 3. Спектральные и фотофизические характеристики дибромфлуоресцеина в метаноле и полимерных матрицах

Параметры	Желатин	Крахмал	Хитозан	Метанол		
				Основной	Нейтральный	Кислый
$\lambda_{a, \max, \text{нм}}$	519±1	514±1	518±1	513±1	513±1	468±1
$\sigma_{a, \max, 10^{-16} \text{ см}^2}$	2,1±0,2	1,4±0,1	2,3±0,2	2,53±0,05	1,85±0,04	0,11±0,01
$\Delta\nu_{\text{abs}}, \text{ см}^{-1}$	1420±80	1630±80	1519±80	1420±80	3000±90	3560±90
$\lambda_{F, \max, \text{нм}}$	544±1	541±1	543±1	539±1	543±1	538±1
$\Delta\nu_F, \text{ см}^{-1}$	1570±70	1730±70	1640±70	1610±70	1460±70	2530±70
Φ_F	0,55±0,03	0,36±0,02	0,57±0,03	0,62±0,03	0,61±0,03	0,12±0,02
Φ_P	0,0034	0,0022	0,0030	-	-	-
P_F	0,19 ± 0,04	0,18 ± 0,03	0,21 ± 0,03	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,22 ± 0,03
$\tau_F, \text{нс}$	2,89 ± 0,02	2,49 ± 0,04	2,62 ± 0,03	3,46 ± 0,04	3,05 ± 0,04	1,42 ± 0,04
$k_{isc}, 10^8 \text{ с}^{-1}$	0,51	1,0	0,67	-	-	-

Таблица 4. Спектральные и фотофизические характеристики эозина Y в метаноле и полимерных матрицах

Параметры	Желатин	Крахмал	Хитозан	Метанол		
				Основной	Нейтральный	Кислый
$\lambda_{a, \max}$, нм	531±1	526±1	530±1	523±1	523±1	524±1
$\sigma_{a, \max}$, 10^{-16} см ⁻¹	2,9±0,3	3,4±0,3	3,3±0,3	3,53±0,05	3,45±0,05	3,32±0,05
$\Delta\nu_{\text{abs}}$, см ⁻¹	1140±75	1210±70	1140±70	1060±70	1050±70	1100±75
$\lambda_{F, \max}$, нм	546±1	545±1	548±1	544±1	545±1	550±1
$\Delta\nu_{F, \text{см}^{-1}}$	1470±70	1600±70	1540±70	1360±70	1270±70	1300±70
Φ_F	0,60±0,03	0,58±0,03	0,61±0,03	0,67±0,03	0,69±0,03	0,60±0,03
Φ_P	0,0064	0,0055	0,0055	-	-	-
P_F	0,28 ± 0,03	0,21 ± 0,01	0,24 ± 0,06	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,03
τ_F , нс	2,91 ± 0,03	2,20 ± 0,04	2,39 ± 0,03	3,42 ± 0,04	3,31 ± 0,02	3,51 ± 0,06
k_{isc} , 10^8 с ⁻¹	0,61	1,0	0,7	-	-	-

Таблица 5. Спектральные и фотофизические характеристики эритрозина В в метаноле и полимерных матрицах

Параметры	Желатин	Крахмал	Хитозан	Метанол		
				Основной	Нейтральный	Кислый
$\lambda_{a, \max}$, нм	539±1	536±1	539±1	530±1	530±1	532±1
$\sigma_{a, \max}$, 10^{-16} см ²	4,7±0,5	4,6±0,5	3,8±0,4	4,0±0,1	3,6±0,1	3,3±0,1
$\Delta\nu_{\text{abs}}$, см ⁻¹	1070±70	1160±70	1140±70	1020±70	1040±70	1030±70
$\lambda_{F, \max}$, нм	554±2	553±2	558±2	551±2	557±2	554±2
$\Delta\nu_{F, \text{см}^{-1}}$	1350±90	1250±90	1310±90	1470±90	1430±90	1380±100
Φ_F	0,22±0,02	0,13±0,01	0,16±0,01	0,13±0,02	0,12±0,01	0,12±0,01
Φ_P	0,046	0,060	0,049	-	-	-
P_F	0,37 ± 0,05	0,34 ± 0,02	0,34±0,03	0,18 ± 0,02	0,18 ± 0,02	0,17 ± 0,1
τ_F , нс	0,65±0,05	0,35±0,05	0,55±0,05	0,45±0,05	0,45±0,05	0,45±0,05
k_{isc} , 10^8 с ⁻¹	5,6	16	8,7	-	-	-

Таблица 6. Спектральные и фотофизические характеристики бенгальского розового в метаноле и полимерных матрицах

Параметры	Желатин	Крахмал	Хитозан	Метанол		
				Основной	Нейтральный	Кислый
$\lambda_{a, \max}$, нм	565±1	561±1	565±1	557±1	557±1	557±1
$\sigma_{a, \max}$, 10^{-16} см ²	3,5±0,4	3,4±0,3	2,8±0,3	3,6±0,4	4,3±0,4	4,3±0,4

$\Delta\nu_{\text{abs}}, \text{ см}^{-1}$	902±65	1012±64	1060±63	870±64	840±64	840±65
$\lambda_{\text{F, max}}, \text{ нм}$	578±2	576±2	576±2	575±3	577±2	578±2
$\Delta\nu_{\text{F}}, \text{ см}^{-1}$	1170±90	1120±90	1360±90	1210±100	1050±90	1020±90
Φ_{F}	0,18±0,02	0,09±0,01	0,16±0,01	0,09±0,01	0,12±0,01	0,11±0,01
Φ_{P}	0,028	0,027	0,011	-	-	-
P_{F}	0,39 ± 0,08	0,40 ± 0,01	0,37 ± 0,06	0,22 ± 0,03	0,24 ± 0,02	0,17 ± 0,01
$\tau_{\text{F}}, \text{ нс}$	0,85±0,05	0,45±0,05	0,85±0,05	0,55±0,05	0,55±0,05	0,55±0,05
$k_{\text{isc}}, 10^8 \text{ с}^{-1}$	9,5	18	8,0	-	-	-

В разделе 2.4 проводится анализ полученных экспериментальных результатов. В зависимости от кислотности среды красители могут пребывать в различных зарядовых состояниях (дианионном, ионном, нейтральном, катионном) с существенно различающимися спектральными свойствами. На примере уменьшения квантового выхода флуоресценции флуоресцеина и дибромфлуоресцеина в кислом метаноле по сравнению с основным видно, что зарядовое состояние флуороновых красителей (в особенности флуоресцеина) в биополимерах может быть определено из интенсивности флуоресценции. В хитозане квантовый выход флуоресценции имеет высокое значение, так же как в основном растворителе, показывая преимущественное пребывание флуоресцеина в дианионном состоянии. Абсорбционные свойства флуоронов в исследованных биополимерах подобны свойствам дианионов в основном метаноле. Для флуоресцеина в желатине и крахмале и для дибромфлуоресцеина в крахмале наблюдается уменьшение сечения поглощения и уширение контура подобно поведению в кислом метаноле. Такое поведение красителя характерно при сдвиге его зарядового состояния в сторону анионного.

В ряду красителей флуоресцеин - бенгальский розовый происходит увеличение энергии спин-орбитального взаимодействия за счет эффекта внутреннего тяжелого атома. Замещающие тяжелые атомы возмущают систему π -электронов молекул красителя, приводя к смешению синглетных и триплетных состояний. Следствием этого эффекта является уменьшение флуоресцентного времени жизни и квантового выхода флуоресценции и рост квантового выхода фосфоресценции и вероятности интеркомбинационной конверсии. Коэффициент линейной корреляции $\Sigma\zeta^2$ (суммы квадратов констант спин-орбитальной связи атомов в молекуле) и Φ_{F} по Пирсону составляет -0,96, что говорит о высокой степени их обратной связи (при увеличении одного параметра второй уменьшается). Достаточно сильную обратную связь имеют параметры $\Sigma\zeta^2$ и флуоресцентное время жизни. Показано, нет строгой корреляции величин Φ_{F} и τ_{F} с действием определенного растворителя, и влияние величины спин-орбитального взаимодействия на фотофизические характеристики в среднем сильнее, чем действие межмолекулярных сил. Вклад фосфоресценции оказался ярко выраженным в биополимерах, так как безызлучательные каналы дезактивации

триплетного состояния более активны в жидкостях из-за наличия тушения кислородом и внутренней конверсии. Коэффициент линейной корреляции k_{isc} и $\Sigma\zeta^2$ составляет 0,99, Φ_F и $\Sigma\zeta^2 - 0,94$, показывая сильную прямую связь рассматриваемых параметров. Обращает на себя внимание существенное различие поведения ряда фотофизических характеристик эритрозина В и бенгальского розового.

Формы спектров испускания в биополимерах и основном метаноле также подобны. Квантовый выход флуоресценции в хитозане оказался близок по величине квантовому выходу в основном метаноле. Наибольшая зависимость квантового выхода от типа биополимера наблюдается для флуоресцеина. Галогензамещенные флуоресцеина имеют квантовый выход, слабо зависящий от типа растворителя. Флуоресцентное время жизни не слишком различается для флуороновых красителей в биополимерах и основном метаноле. Время жизни существенно зависит от типа атома в положениях 4', 5' ксантового трицикла. Тушение флуоресценции интеркомбинационной конверсией примерно одинаково для 4', 5'-дибромфлуоресцеина и 2,4,5,7-тетрабромфлуоресцеина (эозина Y) с одной стороны и для эритрозина В и бенгальского розового, с другой. Степень поляризации флуоресценции демонстрирует ожидаемую (в соответствии с уравнением Перрена) зависимость от вязкости растворителя и времени жизни флуоресцентного состояния.

В выводах ко второй главе отмечается, что проведенное комплексное исследование показывает существенную зависимость спектральных и фотофизических свойств флуороновых красителей в жидких растворах от ионной природы растворителя (основная, нейтральная, кислая). По ряду оптико-спектральных характеристик (форма спектров поглощения и флуоресценции, квантовый выход флуоресценции) хитозан ведет себя как основной растворитель, желатина и крахмал как нейтральный. Внутримолекулярный эффект тяжелого атома активно проявляет себя независимо от типа растворителя (жидкий, твердый). Не обнаружено дополнительного специфического тушения флуоресценции красителей компонентами полимера, что позволяет использовать исследованные биополимеры в качестве инертных матриц. Представленное исследование ряда флуороновых красителей в биополимерных пленках дает основу для их совместного использования в технических, химических и фотобиологических приложениях.

В третьей главе «Моделирование кинетики лазеро-индуцированного обесцвечивания красителя в водородосодержащей матрице» представлена четырехуровневая схема красителя (рис.5), приведено обоснование учета фотохимических и фотофизических процессов, происходящих под действием непрерывного лазерного излучения в полосе поглощения красителя, получено аналитическое решение системы балансных уравнений, рассмотрены границы применимости приближения однородного по интенсивности, деполяризованного излучения.

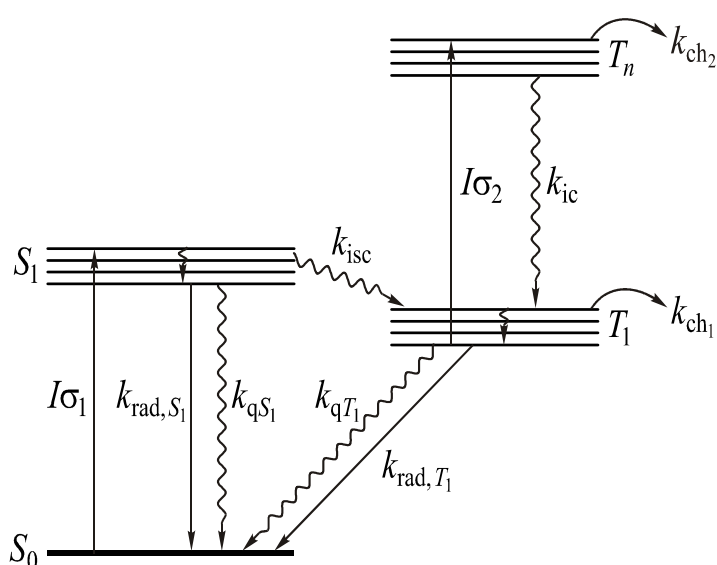


Рис 5. Четырехуровневая схема красителя

В разделе 3.1, содержащем обзор литературы, отмечается, что фотообесцвечивание красителя становится возможным, если происходит сенсibilизированный возбужденным красителем отрыв водорода от полимерной матрицы. Наиболее реакционноспособными являются триплетные состояния красителя [А.Н Теренин, 1967]. Схему реакции красителя K без детализации уровня его возбужденного состояния водородосодержащими группами

полимера H_2R можно представить в следующем виде:



Поскольку водородосодержащие группы биополимера находятся в избытке, то такая реакция имеет квазипервый порядок. Учитывая, что энергии возбуждения первого триплетного состояния (около 190 кДж/моль) недостаточно для отрыва водорода (для связей С-Н, N-Н полимера энергия отрыва водорода лежит в пределах 380-460 кДж/моль), уместно предположить, что исходными для протекания химической реакции могут являться высшие триплетные состояния. В рассматриваемой модели учитывается химическая реакция как с участием первых, так и высших триплетных состояний с константами скоростей k_{ch1} и k_{ch2} , соответственно.

Обзор методов моделирования динамики населенностей красителей в поле лазерного излучения показал, что создание кинических моделей фотохимических процессов, соответствующих временному разрешению экспериментальной установки и имеющих простое аналитическое решение, актуально для решения обратных задач химической кинетики

В разделе 3.2 приведена система уравнений материального баланса для четырехуровневой схемы, которая имеет следующий вид:

$$\begin{cases} \frac{d[S_0]}{dt} = -I\sigma_1[S_0] + (k_{\text{rad}, S_1} + k_{qS_1})[S_1] + (k_{\text{rad}, T_1} + k_{qT_1})[T_1], \\ \frac{d[S_1]}{dt} = I\sigma_1[S_0] - (k_{\text{rad}, S_1} + k_{\text{isc}} + k_{qS_1})[S_1], \\ \frac{d[T_1]}{dt} = k_{\text{isc}}[S_1] - (k_{\text{rad}, T_1} + k_{qT_1} + I\sigma_2)[T_1] + k_{\text{ic}}[T_n] - k_{\text{ch}_1}[T_1], \\ \frac{d[T_n]}{dt} = -(k_{\text{ic}} + k_{\text{ch}_2})[T_n] + I\sigma_2[T_1]. \end{cases} \quad (2)$$

Здесь $[S_0]$, $[S_1]$, $[T_1]$, $[T_n]$ – концентрации основного, синглетного и триплетных возбужденных состояний; I – квантовая интенсивность лазерного излучения, σ_1 , σ_2 – сечения поглощения на синглет-синглетных и триплет-триплетных переходах. В системе уравнений (2) использованы константы скоростей излучательного (k_{rad, S_1}), безызлучательных (k_{qS_1}) переходов с первого синглетного уровня, интеркомбинационной конверсии T_1-S_1 (k_{isc}); излучательного (k_{rad, T_1}) и безызлучательного перехода (k_{qT_1}) из первого триплетного состояния; внутренней конверсии из высоковозбужденных в нижнее триплетное состояние (k_{ic}). Все рассматриваемые процессы носят мономолекулярный характер.

При решении системы (2) принято во внимание, что суммарная населенность исходной формы красителя является самой медленно изменяющейся в системе величиной (с характерным временем изменения $\sim 10^3$ с), что позволяет получить выражение для константы, характеризующей экспоненциальную убыль исходной формы красителя:

$$k = \alpha \left(k_{\text{ch}_1} + \frac{k_{\text{ch}_2} \sigma_2}{k_{\text{ic}}} I \right) \quad (3)$$

где

$$\alpha = \left(1 + \frac{1}{\tau_{\text{ph}} \tau_{\text{fl}} k_{\text{isc}} I \sigma_1} \right)^{-1}. \quad (4)$$

Здесь учтено, что $1/(k_{\text{rad}, T_1} + k_{qT_1}) = \tau_{\text{ph}}$ и $1/(k_{\text{rad}, S_1} + k_{qS_1} + k_{\text{isc}}) = \tau_{\text{fl}}$ – времена жизни фосфоресцентного и флуоресцентного состояний, соответственно.

Выражение (3) содержит экспериментально измеряемую величину k , имеющей смысл эффективной константы скорости фотохимической реакции. Из рис. 6 видно, что ее зависимость от интенсивности имеет две линейных области: область малой интенсивности (с тангенсом угла наклона γ_1 , равным $\tau_{\text{ph}} \tau_{\text{fl}} k_{\text{isc}} k_{\text{ch}_1}$) и большой интенсивности (с тангенсом угла наклона γ_2 , равным $\frac{k_{\text{ch}_2} \sigma_2}{k_{\text{ic}} \sigma_1}$). Параметр α (4) содержит экспериментально измеряемые константы скоростей фотопроцессов и при высоких значениях интенсивности накачки стремится к единице.

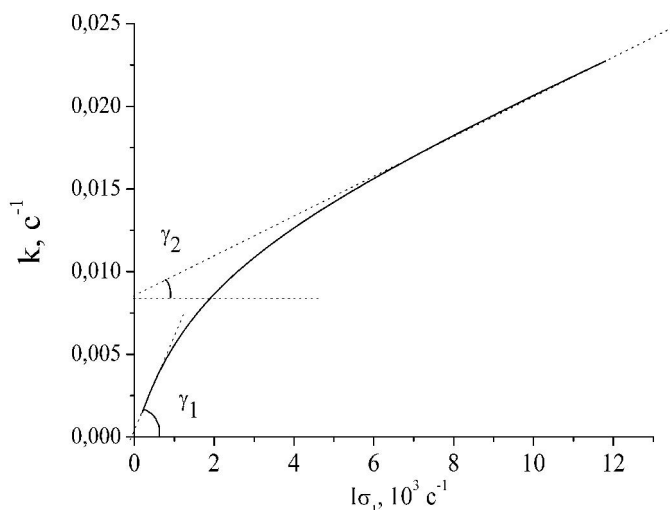


Рис. 6. Зависимость эффективной константы скорости фотохимической реакции от константы скорости поглощения (использованы данные для эозина Y в желатине)

Полученная модель может быть расширена за счет введения безызлучательного переноса энергии, если изучаемый твердый раствор красителя в полимере дополняется введением фотостабильного акцептора энергии электронного возбуждения. В растворах, содержащих донорно-акцепторную пару, межмолекулярный перенос энергии (с бимолекулярной константой скорости k_{et}) уменьшает населенность возбужденных флуоресцентных

состояний донора, замедляя тем самым скорость его фотообесцвечивания. По результатам решения системы балансных уравнений (2) получено отношение мономолекулярных констант скорости фотообесцвечивания красителя в отсутствие (k_0) и присутствии (k) акцептора от его концентрации $[A]$:

$$\frac{k_0}{k} = 1 + \frac{\tau_{fl}}{1 + \tau_{ph}\tau_{fl}k_{isc}I\sigma_1} k_{et}[A]. \quad (5)$$

Полученное отношение доступно для экспериментальной проверки, линейно зависит от концентрации акцептора аналогично соотношению Штерна-Фольмера для отношения интенсивностей флуоресценции в отсутствие (Φ_0) и присутствии (Φ) тушителя:

$$\frac{\Phi_0}{\Phi} = 1 + \tau_{fl}k_{et}[A] \quad (6)$$

В разделе 3.3. отмечается, что приближение однородного по интенсивности, деполаризованного возбуждающего излучения в системе (2) не может быть выполнено из-за существования модовой структуры и линейной поляризации излучения лазера. Для определения границ применимости этих приближений было осуществлено моделирование кинетики обесцвечивания твердых растворов красителей при учете неоднородного по координате r распределения интенсивности в ТЕМ₀₀ моде лазерного излучения

$$I(r) = I_0 \exp\left(-\frac{r^2}{r_0^2}\right). \quad (7)$$

Было показано, что использование диафрагмы с радиусом меньшим, чем $0,25 r_0$ экспериментальная зависимость оптической плотности $D(t)$ от времени облучения будет соответствовать типу фотохимической реакции первого порядка, а экспериментально полученная константа скорости - значению эффективной константы скорости фотохимической реакции.

Для поляризованного излучения необходимо учитывать дифференциальное сечение поглощения линейно поляризованного излучения, которое связано с сечением поглощения деполаризованного излучения соотношением:

$$\sigma(\theta) = 3 \cdot \sigma \cdot \cos^2(\theta), \quad (8)$$

где θ – угол между направлением диполя поглощения и направлением вектора поляризации возбуждающего излучения. Решение системы (2) с учетом (8) и последующим усреднением по всем ориентациям диполей поглощения позволяет получить зависимость изменения оптической плотности от времени для случая деполаризованного, линейно-поляризованного и эллиптически поляризованного излучения. Было показано, что циркулярно-поляризованный свет является наиболее близким аналогом деполаризованной радиации в задачах анализа кинетики фотохимической реакции в твердых растворах красителей. Использование линейно-поляризованного излучения приводит к относительному отклонению значения измеряемой эффективной константы скорости реакции от этого значения в случае деполаризованного излучения на величину, превышающую 13%.

В выводах к третьей главе говорится, что созданная кинетическая модель фотообесцвечивания красителя в полимерной матрице учитывает четырехуровневую схему красителя и процессы, происходящие в результате двухступенчатого синглет-синглетного и триплет-триплетного фотовозбуждения: интеркомбинационная конверсия, внутренняя конверсия из высоковозбужденного в нижнее триплетное состояние, флуоресценция, фосфоресценция, тушение первых синглетных и триплетных состояний, химическая реакция обесцвечивания через первое и высшие триплетные состояния с участием водородосодержащих групп полимера. Учет контраста скоростей различных процессов позволил получить аналитическое выражение для определения убыли концентрации исходной формы красителя, содержащее простую функциональную зависимость от интенсивности излучения и позволяющее при анализе экспериментальных данных разграничить роль первого и высших триплетных состояний в фотохимической реакции. Полученная формула является универсальной для всего ряда красителей, а индивидуальность свойств каждого красителя задается набором соответствующих фотофизических констант, получаемых независимыми оптико-спектральными методами. Сформулированы

рекомендации к проведению эксперимента для корректного решения обратной задачи химической кинетики, которые заключаются в повышении пространственной однородности излучения и его деполаризации.

Четвертая глава «Экспериментальное исследование кинетики фотохимической реакции в полимерных пленках флуороновых красителей» посвящена изучению фотообесцвечивания твердых пленок пяти флуороновых красителей в матрице хитозана с использованием метода лазерного фотолиза, спектральных методов и кинетической модели.

В **разделе 4.1** приведен обзор литературы, где показано, что фотохимия флуоронов, входящих в более широкий класс ксантовых красителей, широко обсуждается в литературе. Практический интерес к фотообесцвечиванию красителей сосредоточен в области физики лазеров на красителях, в конфокальной микроскопии, в технологии создания регистрирующих сред для оптической записи информации, для аккумуляции солнечной энергии, в фотодинамической терапии. Фотообесцвечивание флуороновых красителей связывают с протеканием окислительно-восстановительных реакций с участием триплетных состояний, однако кинетические исследования химической реакции квазипервого порядка проводятся без детализации роли различных возбужденных состояний.

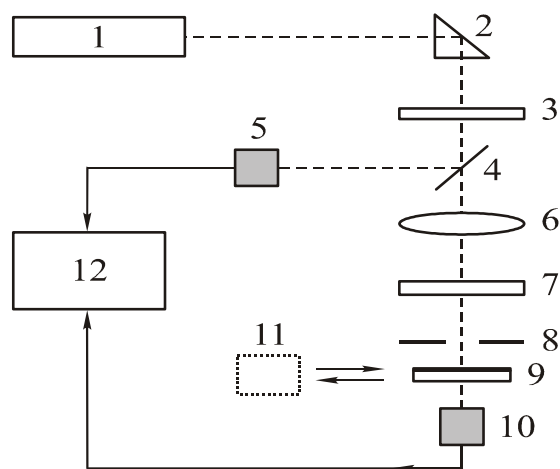


Рис. 7. Схема экспериментальной установки. 1-лазер Millennia 5s, 2- призма полного внутреннего отражения, 3-светофильтр, 4-полупрозрачное зеркало, 5-фотодиод ФД-24К, 6-линза, 7 - пластинка $\lambda/4$, 8-диафрагма, 9- образец, 10- фотодиод ФД-24К, 11 - тепловой фотоприемник 407A Spectra-Physics, 12 - осциллограф NI PXI 5122.

Материалы, методика приготовления пленочных образцов красителей в хитозановой матрице, экспериментальная установка для лазерного фотолиза (рис. 7) и спектральные методы исследования представлены в **разделе 4.2**. Для минимизации искажения измеряемой кинетики фотохимической реакции, обусловленной поляризацией и модовым составом лазерного излучения были использованы пластинка $\lambda/4$ и диафрагмирование луча.

Экспериментальные результаты и их анализ представлены в **разделе 4.3**. Первые полосы поглощения исследованных красителей лежат в видимой области спектра, но сдвинуты друг относительно друга. Сечение поглощения красителей (σ_1) на длине волны

лазера (532 нм) является наибольшим для эозина Y и эритрозина B и почти на порядок меньшим для бенгальского розового и флуоресцеина. Для всех красителей

под действием непрерывного лазерного излучения (при использованных интенсивностях 0,7 до 11,9 Вт/см²) наблюдается эффект необратимого обесцвечивания.

Кинетика изменения оптической плотности D пленок под действием лазерного излучения различной интенсивности на примере пленок эритрозина В показана на рис. 8. С увеличением интенсивности скорость обесцвечивания увеличивается. Аналогичные результаты получены для образцов всех флуороновых красителей. Зависимость эффективной константы скорости обесцвечивания пленок флуороновых красителей квазипервого порядка k от интенсивности лазерного излучения представлена на рис. 9. Полученные результаты обсуждаются с привлечением кинетической модели фотофизических процессов, полученной в третьей главе.

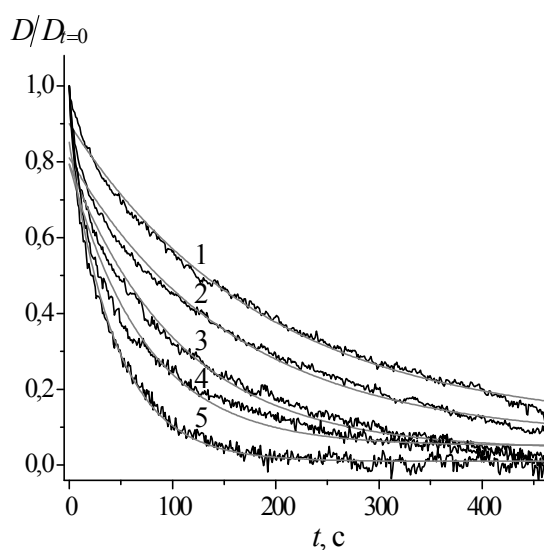


Рис. 8. Зависимость нормированной оптической плотности пленок эритрозина В в хитозане от времени облучения при разной интенсивности лазерного излучения: 1 – 0,7; 2 – 1,9; 3 – 4,5; 4 – 7,9; 5 – 11,9 Вт/см²

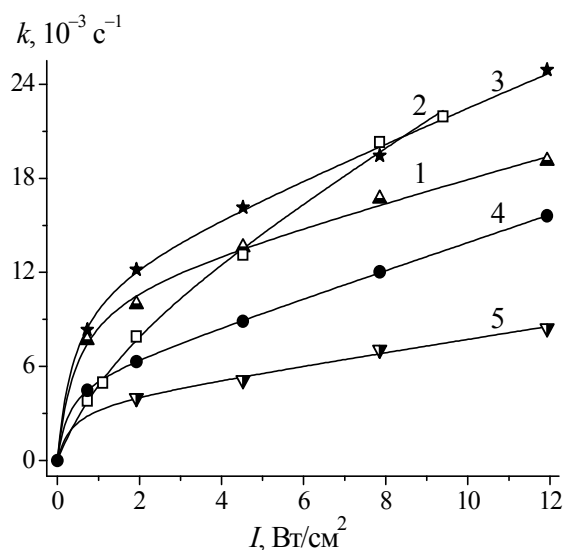


Рис. 9. Зависимость эффективной константы скорости обесцвечивания k от интенсивности лазерного излучения: 1 – флуоресцеин, 2 – дибромфлуоресцеин, 3 – эозин Y, 4 – эритрозин В, 5 – бенгальский розовый

В таблице 7 приведены результаты расчета параметра α по формуле (4), а также константы скоростей химической реакции с участием первого k_{ch1} и высоковозбужденного k_{ch2} триплетных состояний красителя, полученные путем аппроксимации экспериментальных результатов (рис. 9) с помощью формулы (3). Отношение констант составило примерно девять порядков для всех флуороновых красителей. В исследованном интервале интенсивностей отношение населенностей первого и высшего триплетных состояний ($[T_1]/[T_n] = k_q/I\sigma_2$) составляет величину $10^{11} \div 10^{10}$ и скорость химической реакции, которая определяется произведением константы скорости на населенность, оказывается выше для первых триплетных состояний, несмотря на высокое значение k_{ch2} .

Таблица 7. Параметр α и фотохимические константы флуороновых красителей

	Флуоресцин	Дибром-флуоресцеин	Эозин Y	Эритрозин В	Бенгаль-ский розовый
$\alpha_{0,7 \text{ Вт/см}^2} \div \alpha_{11,9 \text{ Вт/см}^2}$	0,07 ÷ 0,58	0,15 ÷ 0,77	0,25 ÷ 0,86	0,14 ÷ 0,75	0,02 ÷ 0,26
$k_{ch1}, 10^{-3} \text{ с}^{-1}$	11,7 ± 1,6	11,6 ± 2,0	13,8 ± 1,4	5,4 ± 0,9	3,9 ± 1,1
$k_{ch2}, 10^6 \text{ с}^{-1}$	10,5	16,9	10,3	18,6	3,9

Анализ результатов показывает, что обесцвечивание флуороновых красителей происходит в результате следующей последовательности событий: поглощение лазерного излучения на синглет-синглетном переходе (S_0-S_1), интеркомбинационная конверсия в первое триплетное состояние T_1 , триплет-триплетное поглощение в состояния T_n . Фотообесцвечивание красителей состоит в переносе водорода от полимерной матрицы к красителю, находящемуся в триплетном состоянии и модификации структуры молекул в бесцветную форму. Возможным механизмом является переход из дианионной формы в нейтральную лактонную или цвиттерионную форму, однако окончательное подтверждение этой версии может быть осуществлено только специализированными методами, такими, как ИК-спектроскопия, хроматография и др. Неоспоримым фактом является то, что цветная и бесцветная формы разделены энергетическим барьером, на преодоление которого расходуется энергия света. Результаты расчета линейного коэффициента корреляции энергии первых триплетных уровней и константы скорости химической реакции первого триплетного состояния, k_{ch1} , ($r=0,64$), а также энергии высших триплетных состояний и константы скорости химической реакции этих состояний, k_{ch2} , ($r=0,84$) говорит о прямой связи между энергией уровня и его реакционной способностью. Показано, что взаимодействие красителя с матрицей хитозана в процессе фотообесцвечивания может корректировать энергетический баланс реакции за счет образования водородных связей, а также снижать населенность возбужденных состояний за счет тушения аминогруппами.

В выводах к четвертой главе говорится, что кинетика лазерного фотообесцвечивания флуороновых красителей (флуоресцеина, дибромфлуоресцеина, эозина Y, эритрозина В, бенгальского розового) в хитозановой матрице имеет квазипервый порядок при исследованных интенсивностях лазерного излучения от 0,7 до 11,9 Вт/см². Результаты, проанализированные с помощью кинетической модели, построенной на основе четырехуровневой (S_0, S_1, T_1, T_n) схемы красителя показали, что константы скорости химической реакции высших триплетных состояний составляют величину $(3,9 \div 18,6) \cdot 10^6 \text{ с}^{-1}$ для исследованных красителей, что на девять порядков превышает аналогичны величины для первых триплетных состояний. Скорость реакции первых триплетных состояний оказалась на один-два порядка выше, чем высших триплетных состояний из-за низкой населенности высших

триплетных состояний. Высокие положительные коэффициенты корреляции энергии триплетных уровней и соответствующих констант скоростей химической реакции (0,64 для первого и 0,84 для высшего триплетного состояния) говорят о прямой связи между энергией уровня и его реакционной способностью.

В пятой главе «Научно-практические приложения фотохимии флуороновых красителей в биополимерных пленках» приводятся два примера использования выявленных кинетических закономерностей фотохимической реакции флуороновых красителей в пленочных образцах (на примере эозина Y, K в желатине) для решения исследовательских и технических задач, а именно: для измерения степени пространственной когерентности лазерного излучения и при изучении безызлучательного переноса энергии электронного возбуждения в донорно-акцепторной паре красителей.

В обзорном разделе 5.1 даны основные понятия, связанные с явлением безызлучательного переноса энергии электронного возбуждения и представлены традиционные оптико-спектральные методы его исследования, а также дан обзор систем и материалов, традиционно используемых для фотографической и голографической записи информации.

В разделе 5.2 исследована кинетика фотохимической реакции в полимерных пленках, содержащих донорно-акцепторную пару красителей с учетом процесса переноса энергии. В качестве донора выбран эозин Y, в качестве акцептора - фотохимически стабильный родамин С. Красители имеют существенное перекрытие спектров люминесценции донора и спектра поглощения акцептора, обеспечивающие эффективный безызлучательный перенос энергии электронного возбуждения (критический радиус переноса около $55 \text{ \AA}$). Наличие переноса энергии было подтверждено разгоранием сенсibilизированной люминесценции акцептора и уменьшением флуоресцентного времени жизни донора с увеличением концентрации акцептора.

Изменение оптической плотности в процессе лазерного фотолиза ($\lambda=488 \text{ нм}$) образцов (эозин Y + родамин С) в желатиновой матрице представлено на рис. 10. При увеличении концентрации акцептора в донорно-акцепторной системе эффективная константа скорости химической реакции k уменьшается. Полученное отношение эффективных констант скорости фотообесцвечивания красителя в отсутствие (k_0) и присутствии (k) акцептора имеет линейную зависимость от концентрации акцептора (рис. 11). Используя полученное ранее соотношение (5) была рассчитана константа скорости k_{et} синглет-синглетного безызлучательного переноса энергии электронного возбуждения. Найденная величина k_{et} , равная $(0,8 \pm 0,1) \cdot 10^{11} \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$, оказалась близка в пределах порядка к значению константы скорости, полученной с использованием соотношения Штерна-Фольмера (6) для тушения флуоресценции. Проанализированы

причины расхождения результатов, которые заключаются в ограничениях применимости использованных методов.

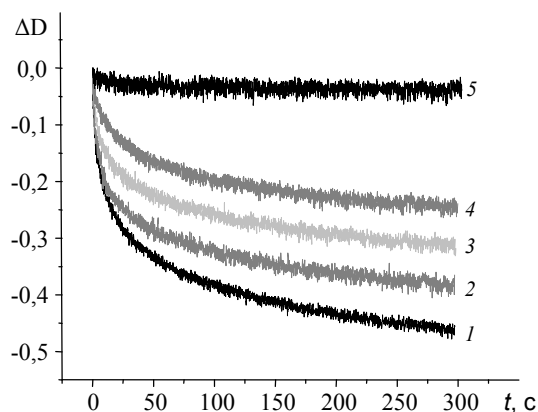


Рис. 10. Изменение оптической плотности образцов красителей в желатине в процессе обесцвечивания: 1 – эозин Y ($2,16 \cdot 10^{-2}$ М); 2 – эозин Y : родамин С (1:0,01); 3 – эозин Y : родамин С (1:0,1); 4 – эозин Y : родамин С (1:1); 5 – родамин С ($2,16 \cdot 10^{-2}$ М).

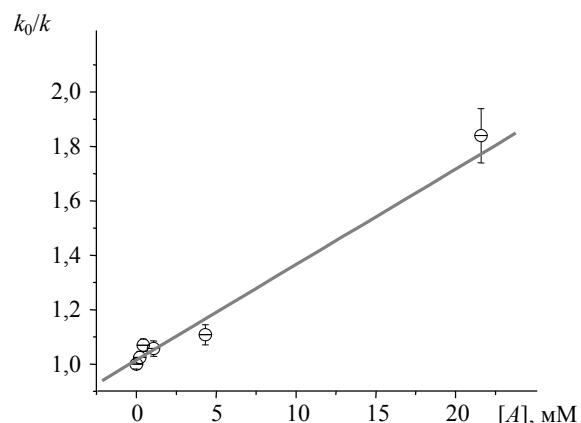


Рис. 11. Отношение эффективных констант фотообесцвечивания красителя в присутствии (k) и отсутствие (k_0) акцептора от его концентрации.

В разделе 5.3 показана возможность использования метода светоиндуцированных фотохимических решеток для измерения распределения степени пространственной когерентности и интенсивности лазерного излучения, а также обсуждены характеристики регистрирующих сред на основе флуороновых красителей в сравнении с традиционными галоидосеребряными материалами и материалами на основе бихромированной желатины.

Схема установки для записи фотохимических решеток методом деления волнового фронта представлен на рис. 12.

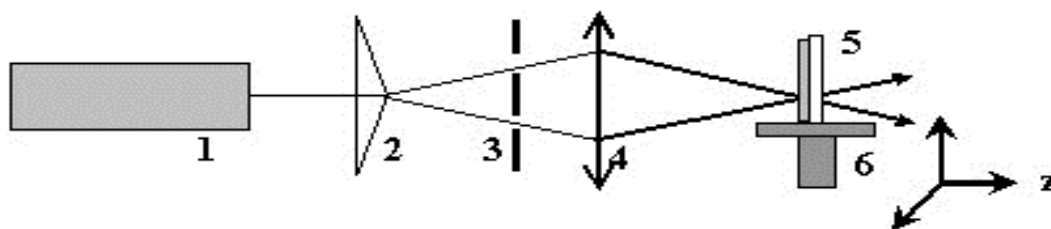


Рис. 12. Схема экспериментальной установки. 1- Ar – лазер ($\lambda=488$ нм), 2- бипризма Френеля, 3- двойная диафрагма, 4 – линза, 5 – пленочный образец эозина Y в желатине, 6 – предметный столик

Результат фотометрирования записанных в интерференционном поле

$$I(x) = 2I_0 \left[1 + V \cos \left(\frac{2\pi x}{\Lambda} \right) \right] \quad (9)$$

с помощью двух равных по интенсивности (I_0) лазерных пучков фотохимических решеток представлен на рис. 13, где V – видность интерференционной картины с периодом Λ . При равенстве интенсивности записывающих пучков видность интерференционной картины однозначно определяет степень пространственной когерентности лазерного излучения.

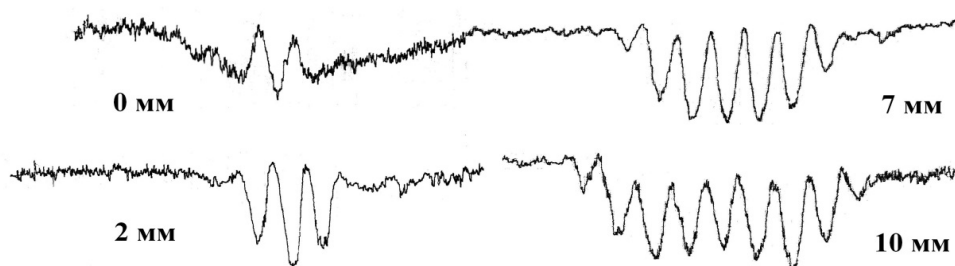


Рис. 13. Микрофотограммы светоиндуцированных решеток при различном положении предметного столика вдоль оптической оси установки

Согласно результатам, полученным в третьей главе (3-4), при использовании невысоких интенсивностей накачки ($I\sigma_1 < 10^3 \text{ с}^{-1}$) выполняется условие линейной зависимости эффективной константы скорости реакции от времени облучения (k' зависит от констант фотопроцессов):

$$\frac{D(x)}{D_0} = \exp(-I(x)k't), \quad (10)$$

из которого с учетом (9) получаются следующие выражения:

$$V = -\ln \left(\frac{D_{\max}}{D_{\min}} \right) / \ln \left(\frac{D_{\max} D_{\min}}{D_0^2} \right) \quad (11)$$

$$I_0 = -\frac{\ln \left(\frac{D_{\max} D_{\min}}{D_0^2} \right)}{2k't} \quad (12)$$

Формулы (11-12) связывают значение видности интерференционной картины и интенсивности лазерных пучков с тремя экспериментально измеряемыми оптическими плотностями: минимальной ($D_{\min}$), максимальной ($D_{\max}$) и оптической плотностью необлученной части образца (D_0).

Из рис. 13 видно, что по мере перемещения предметного столика регистрируется постепенный переход от частичного пересечения пучков к полному. Полученные параметры интерференционного поля (ширина около 0,3 мм, глубина около 15 мм) соответствуют реальной геометрии эксперимента. Распределение интенсивности вдоль волнового вектора решетки передает профиль лазерной моды TEM_{10} . Максимальная величина видности (степени пространственной когерентности излучения TEM_{10} моды аргонового лазера), измеренная предложенным методом, составила $0,81 \pm 0,09$.

В **выводах к пятой главе** отмечается, что преимуществом метода изучения безызлучательного переноса энергии в бинарной системе красителей на основе анализа кинетики фотохимической реакции донора является относительная простота используемого оборудования (в отличие от хроноскопического метода), а также возможность исследования образцов, для которых применение спектрального метода затруднено эффектом реабсорбции.

Полученная в рамках моделирования линейная зависимость логарифма оптической плотности от экспозиции в пленочных образцах эозина К в желатине при низких интенсивностях лазерного излучения ($I\sigma_1 < 10^3 \text{ с}^{-1}$) подтверждена измерением величины видности интерференционной картины и распределения интенсивности в широком интервале экспозиций. Полимерные пленки, сенсibilизированные флуороновым красителем, могут быть использованы в качестве регистрирующей среды с известной функциональной зависимостью оптической плотности от экспозиции.

В **шестой главе «Адсорбция флуороновых красителей на хитозане и частицах полиэлектролитных комплексов на основе хитозана»** представлены результаты синтеза и характеристики частиц полиэлектролитных комплексов на основе поликатиона хитозана и полианионов хондроитин сульфата (ПЭК1) и гиалуроната (ПЭК2) при значениях pH 3,8, 4,6, 5,6. Для исследования эффективности и механизма адсорбции флуороновых красителей (флуоресцеина, эозина Y, эритрозина В) на хитозане (pH 4,6), ПЭК1 и ПЭК2 (pH 3,8, 4,6, 5,6) применен анализ равновесных изотерм.

В обзорном **разделе 6.1** отмечается, что хитозан благодаря своей поликатионной природе в кислых средах обладает уникальными адсорбционными свойствами. Структурирование хитозана в виде частиц полиэлектролитных комплексов позволяет оптимизировать транспортные, поверхностные и адсорбционные свойства, сохраняя его биodeградируемость и биосовместимость. Такие ПЭК могут быть с успехом применены для решения задач реконструкции тканей и создания систем контролируемой доставки лекарственных средств.

В **разделе 6.2** приведено описание материалов, методики приготовления растворов хитозана и синтеза ПЭК1 и ПЭК2, который был реализован тщательным

подбором концентраций поликатиона и полианионов, а также соотношения их объемов при смешивании, представлены экспериментальные методы (динамическое рассеяние света, электронная сканирующая микроскопия, абсорбционная и флуоресцентная спектроскопия, электрофоретический метод измерения ζ -потенциала).

В разделе 6.3 приведены характеристики синтезированных ПЭК. Методом динамического рассеяния света получено, что распределения частиц ПЭК1 и ПЭК2 по размерам являются мономодальными с близкими значениями средней величины размера частиц при всех значениях pH (табл. 8). Существенная ширина распределения (указана вместе с размером) обусловлена изначальным большим разбросом хитозана по молекулярной массе. Величина ζ -потенциала увеличивается с уменьшением pH растворителя, что связано с протонированием свободных аминогрупп хитозана в кислой среде.

Таблица 8. Характеристики ПЭК1 и ПЭК2

	pH	Размер, мкм	ζ -потенциал, мВ	Выход, вес %	Концентрация, г/мл
ПЭК1	3,8	$0,47 \pm 0,09$	$+48,3 \pm 3,6$	$\leq 1\%$	$\leq 2 \cdot 10^{-5}$
	4,6	$0,35 \pm 0,07$	$+34,8 \pm 4,0$	53%	$(5 \pm 1) \cdot 10^{-4}$
	5,6	$0,40 \pm 0,07$	$+26,5 \pm 3,1$	19%	$(1,3 \pm 0,5) \cdot 10^{-4}$
ПЭК2	3,8	$0,39 \pm 0,08$	$+46,1 \pm 5,3$	$\leq 1\%$	$\leq 2 \cdot 10^{-5}$
	4,6	$0,34 \pm 0,06$	$+38,5 \pm 5,0$	49%	$(3,3 \pm 0,7) \cdot 10^{-4}$
	5,6	$0,40 \pm 0,09$	$+23,5 \pm 4,1$	38%	$(3,3 \pm 0,9) \cdot 10^{-4}$

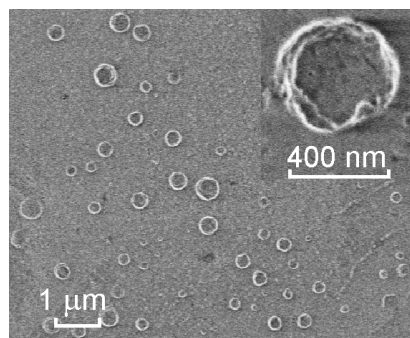


Рис. 14. Микрограммы ПЭК1, pH 4,6. Форма и характерный размер частиц ПЭК1 показаны на врезке.

Результаты, полученные методом электронной сканирующей микроскопии (рис. 14), согласуются с данными, полученными методом динамического рассеяния света.

Спектры поглощения флуоресцеина, эозина Y, эритрозина В в присутствии ПЭК (на примере ПЭК1, pH 4,6) показаны рис. 15. Для всех красителей, кроме флуоресцеина, характерно наличие изобестической точки, что свидетельствует о присутствии двух состояний красителя – адсорбированного и неадсорбированного на ПЭК1.

Аналогичное поведение спектров эозина Y и эритрозина В наблюдается при добавлении ПЭК2, а также неструктурированного хитозана.

Модели адсорбции основаны на анализе функциональной связи удельной концентрации адсорбированного вещества (q_e) с равновесной концентрацией неадсорбированного (C_e). В работе равновесная концентрация C_e определялась двумя способами: с применением метода седиментации и путем разделения спектров

красителей на две составляющие (адсорбированный и неадсорбированный краситель) с последующим определением их амплитуды.

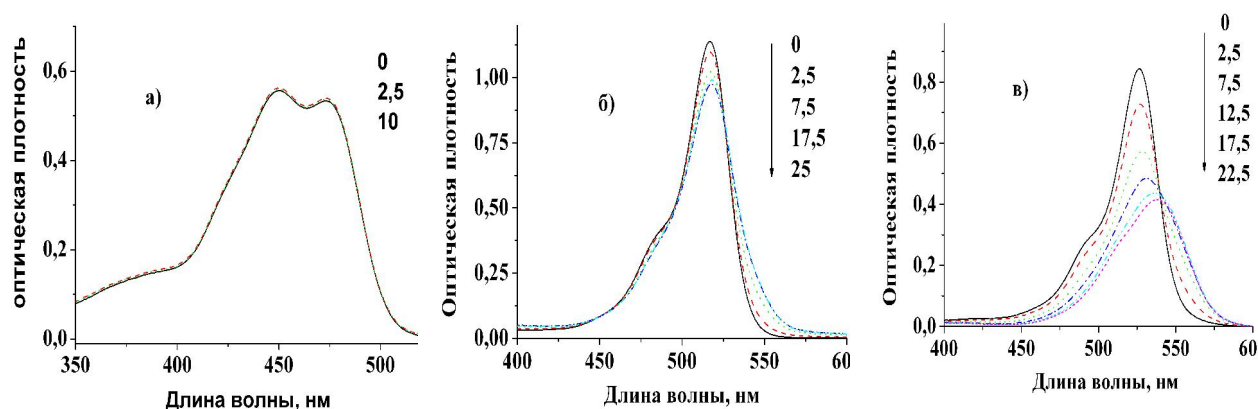


Рис. 15. Спектры поглощения флуороновых красителей при добавлении ПЭК1 при pH 4,6: а) флуоресцеин, б) эозин Y, в) эритрозин В. Указана величина отношения $\gamma(\text{ПЭК1}) / \gamma(\text{красителя})$ и направление изменения максимума спектра.

С помощью обоих методов не удалось обнаружить адсорбцию флуоресцеина на хитозане и обоих ПЭК при использованных концентрациях адсорбента и адсорбата. Наилучшее соответствие экспериментальных результатов для адсорбции эозина Y и эритрозина В на ПЭК достигнуто в рамках модели адсорбции Ленгмюра-Фрейндлиха:

$$q_e = \frac{q_m (K_{LF} C_e)^{n_{LF}}}{1 + (K_{LF} C_e)^{n_{LF}}}, \quad (13)$$

на хитозане в рамках модели Ленгмюра:

$$q_e = q_m \frac{K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (14)$$

где q_m - максимальная адсорбционная емкость, K_L и K_{LF} - константы связывания, n_{LF} - фактор гетерогенности. В табл. 9 и 10 приведены результаты, полученные с использованием метода разделения спектров.

Таблица 9. Константы изотермы Ленгмюра-Фрейндлиха адсорбции эозина Y и эритрозина В на ПЭК

Краситель	pH	ПЭК	q_m , мг/г	K_{LF} , л/мг	n_{LF}	R^2
Эозин Y	3,8	ПЭК1	4310 ± 240	$0,28 \pm 0,01$	$5,3 \pm 0,9$	0,974
		ПЭК2	2020 ± 70	$0,24 \pm 0,01$	$7,5 \pm 1,0$	0,987
	4,6	ПЭК1	31 ± 2	$0,21 \pm 0,01$	$9,4 \pm 1,7$	0,969
		ПЭК2	43 ± 7	$0,14 \pm 0,01$	$8,2 \pm 2,8$	0,958
	5,6	ПЭК1	115 ± 58	$0,14 \pm 0,02$	$9,3 \pm 3,0$	0,977
		ПЭК2	63 ± 28	$0,10 \pm 0,02$	$4,6 \pm 0,8$	0,972
Эритрозин В	4,6	ПЭК1	64 ± 7	$0,60 \pm 0,01$	$3,4 \pm 0,3$	0,996

		ПЭК2	164 ± 9	$0,34 \pm 0,06$	$5,2 \pm 0,4$	0,994
	5,6	ПЭК1	416 ± 21	$0,25 \pm 0,08$	$5,0 \pm 0,4$	0,996
		ПЭК2	179 ± 6	$0,23 \pm 0,01$	$4,9 \pm 0,3$	0,998

Таблица 10. Константы изотермы Ленгмюра адсорбции эозина Y и эритрозина В на хитозане (буферный раствор pH 4,6)

Краситель	q_m , мг/г	K_L , л/мг	R^2
Эозин Y	$4,0 \pm 0,4$	$0,38 \pm 0,05$	0,940
Эритрозин В	11 ± 1	$0,46 \pm 0,04$	0,972

В разделе 6.4. обсужден механизм формирования ПЭК - электростатическое притягивание между катионными NH_3^+ группами хитозана и анионными группами других полиэлектролитов ($-\text{COO}^-$, $-\text{OSO}_3^-$ для хондроитин сульфата и $-\text{COO}^-$ для гиалуроната).

В работе обсуждаются результаты по адсорбции красителей, которые оказались независимы от метода получения C_e , а именно: увеличение константы связывания (K_{LF} или K_L) для эритрозина В в сравнении с эозином Y при одних и тех же pH, максимальная адсорбционная емкость (q_m) эозина при pH 3,8; отсутствие адсорбции флуоресцеина. Как показали измерения ζ -потенциала, поверхность ПЭК1 и ПЭК2 положительно заряжена. Предполагая, что электростатический механизм связывания играет основную роль, мы ожидали обнаружить адсорбцию всех трех анионных красителей на ПЭК. Однако выявить связывание флуоресцеина в исследованном диапазоне концентраций с ПЭК1 и ПЭК2 не удалось. Следует отметить, что в ряду флуороновых красителей анион флуоресцеина диссоциирован по карбоксильной группе, тогда как анионы эозина Y и эритрозина В по гидроксильной (подробно обсуждено в первой главе). Это означает, что эозин Y и эритрозин В притягиваются к протонированному хитозану фрагментом молекулы, относящимся к ксантеновому трициклу, а флуоресцеин более подвижным фрагментом, относящимся к карбоксифенильному моноциклу. Стерический фактор может играть решающую роль, если имеют место вторичные взаимодействия, такие как диполь-дипольное и гидрофобное притяжение ксантенового трицикла и гликозаминового кольца полисахарида ПЭК. Полученные коэффициенты корреляции (0,68, 0,86) говорят о высокой прямой связи между факторными признаками (диполь-дипольные и гидрофобные взаимодействия) и результативным признаком – константой связывания. Достоверность полученных результатов может быть существенно повышена за счет увеличения числа исследованных красителей до четырех-пяти.

Принадлежность адсорбции красителей на ПЭК1 и ПЭК2 к модели Ленгмюра-Фрейндлиха ($n_{LF} > 1$) предполагает наличие кооперативных процессов,

обусловленных как первичными, так и вторичными адсорбент-адсорбат, адсорбат-адсорбат взаимодействиями, в то время как адсорбция красителей на хитозане (модель Ленгмюра, $n_{LF} = 1$) говорит об однослойной адсорбции и структурной однородности адсорбента. Адсорбционная емкость галогензамещенных флуоресцеина на хитозане оказалась в 6-10 раз меньше, чем для ПЭК при тех же условиях, что говорит об оптимальных свойствах поверхности ПЭК, имеющих форму «шариков» с рельефной структурой поверхности. Так, для водных растворов эритрозина В при добавлении ПЭК1 была обнаружена фосфоресценция при комнатной температуре, интенсивность которой увеличивалась с ростом концентрации ПЭК1. При добавлении хитозана вместо ПЭК фосфоресценция не была обнаружена. При адсорбции эритрозина В поверхность ПЭК со множеством «карманов» защищает хромофор молекулы от тушения кислородом, поэтому становится возможным наблюдение фосфоресценции.

В **выводах к шестой главе** говорится, что синтезированные электростатически стабильные частицы двух видов полиэлектролитных комплексов на основе природных полисахаридов – хитозана/хондроитин сульфата и хитозана/гиалуроната имеют близкие размеры (около 0,4 мкм) и положительное значение ζ -потенциала. Спектральными методами обнаружена адсорбция эозина Y и эритрозина В на хитозане и обоих ПЭК, адсорбции флуоресцеина обнаружено не было. Анализ равновесных изотерм показал, что удовлетворительное описание адсорбции галогензамещенных флуоресцеина на ПЭК может быть достигнуто в рамках модели Ленгмюра-Фройндлиха, а на хитозане в рамках модели Ленгмюра. Механизм адсорбции красителей на полиэлектролитных комплексах включают как первичные (ион-ионные), так и вторичные (наиболее вероятно диполь-дипольные и гидрофобные) взаимодействия молекул красителей с ПЭК. ПЭК в коллоидных растворах по сравнению с хитозаном в буферном растворе обладают повышенной адсорбционной емкостью по отношению к эозину Y и эритрозину В (например, для pH 4,6 в 6-10 раз), достигаемой оптимизацией площади и качества поверхности ПЭК.

В **заключении** отмечается, что ряд флуороновых красителей с широким перечнем постепенно изменяющихся физико-химических свойств, обусловленных галогензамещением в структуре хромофора, является весьма эффективным инструментом исследования межмолекулярных взаимодействий с биополимерами в явлениях адсорбции, иммобилизации и фотохимического превращения в истинных жидких и твердых растворах, в явлениях адсорбции на частицах в коллоидных растворах. Удачный выбор ряда заключается в возможности проведения однотипных исследований для трех-пяти гомологичных красителей, имеющих градации в распределении зарядов на атомах, вероятности излучательных и безызлучательных процессов, кислотно-основных, гидрофильно-гидрофобных и др. свойствах. Это позволило применить методы корреляционного анализа для поиска значимых факторных признаков в явлениях взаимодействия красителя с биополимером.

Благодаря использованию взаимодополняющих оптико-спектральных методов удалось существенно повысить информативность данных о зарядовом состоянии красителей, развитии их внутримолекулярного спин-орбитального взаимодействия, реакционной способности триплетных состояний, эффективности и механизмах адсорбции на молекулах и частицах полимеров. Результативность интерпретации экспериментальных исследований была существенно повышена за счет применения теоретических расчетов. Для более глубокого понимания связи структурных изменений флуороновых красителей, вызванных галогензамещением, с их спектрально-люминесцентными характеристиками были проведены квантово-химические расчеты. Для решения обратной задачи фотохимической кинетики была создана единая для всех флуороновых красителей модель, в которой индивидуальность каждого красителя задается набором кинетических констант, а само решение математически компактно и позволяет получать важные для регулирования фотостабильности кинетические параметры. Найденные кинетические закономерности фотохимической реакции красителя в биополимере были использованы в практических приложениях: для нахождения степени пространственной когерентности лазерного излучения и при изучении безызлучательного переноса энергии электронного возбуждения в донорно-акцепторной паре красителей.

Применение ряда флуороновых красителей как инструмента исследования процессов взаимодействия с биополимерами в растворах, различающихся химической природой и наличием границы раздела фаз (жидкая-твердая), обеспечило качественно новый уровень исследования, недостижимый при использовании структурно разрозненных соединений. Развитие настоящей работы видится как в направлении расширения круга изучаемых явлений при использовании новых систем краситель-биополимер, так и в увеличении градации факторных признаков за счет расширения гомологического ряда флуороновых красителей.

ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Slyusareva E.** Spectral study of fluorone dyes sorption on chitosan-based polyelectrolyte complexes / **Slyusareva E.**, Gerasimova M., Plotnikov A., Sizykh A. // J. Colloid and Interface Sci. – 2014. – V. 417. – P. 80–87. – 0,9 / 0,3 п.л.
2. **Слюсарева Е.А.** Зависимость от pH абсорбционных и флуоресцентных свойств водных растворов флуороновых красителей / **Слюсарева Е.А.**, Герасимова М.А. // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2013. – Т. 56, № 12. – С. 48–54. – 0,5 / 0,25 п.л.
3. Глушков А.А. Роль поляризации лазерного излучения при анализе кинетики фотообесцвечивания красителей / Глушков А.А., **Слюсарева Е.А.**, Сизых А.Г. // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2013. – Т. 56, № 2/2. – С. 102–106. – 0,3 / 0,1 п.л.

4. Томилин Ф.Н. Квантово-химическое изучение влияния растворителя и галогензамещения на электронные спектры молекул флуоронов / Томилин Ф.Н., Танкевич Е. Ю., **Слюсарева Е.А.**, Сизых А.Г., Овчинников С.Г. // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2013. – Т. 56, № 2/2. – С. 308–314. – 0,4 / 0,1 п.л.
5. **Слюсарева Е.А.** Лазерный фотолиз флуороновых красителей в хитозановой матрице / **Слюсарева Е.А.**, Сизых А.Г., Герасимова М.А., Слабко В.В., Мысливец С.А. // Квантовая электроника. – 2012. – Т. 42, № 8. – С. 687–692. – 0,75 / 0,2 п.л.
6. Глушков А.А. Влияние пространственного распределения интенсивности лазерного излучения на кинетику фотообесцвечивания красителя в полимерной матрице / Глушков А.А., Простакишин А.С., **Слюсарева Е.А.**, Сизых А.Г. // Журнал Сибирского федерального университета. Математика и физика. Journal of Siberian Federal University. Mathematics & Physics. – 2012. – Т. 5, № 1. – С. 57–62. – 0,4 / 0,1 п.л.
7. **Слюсарева Е.А.** Влияние галогензамещения на структуру и электронные спектры флуороновых красителей / **Слюсарева Е.А.**, Томилин Ф.Н., Сизых А.Г., Танкевич Е.Ю., Кузубов А.А., Овчинников С.Г. // Оптика и спектроскопия. – 2012. – Т. 112, № 4. – С. 555–563. – 0,75 / 0,2 п.л.
8. **Слюсарева Е.А.** Спектрально-флуоресцентная индикация кислотно-основных свойств биополимеров / **Слюсарева Е.А.**, Герасимова М.А., Сизых А.Г., Горностаев Л.М. // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2011. – Т. 54, № 4. – С. 81–87. – 0,5 / 0,2 п.л.
9. Tsuboi T. Photoluminescence properties of fluorone dyes in bio-related films at low temperatures / Tsuboi T., Penzkofer A., **Slyusareva E.**, Sizykh A. // J. Photochem. Photobiol. A: Chem. – 2011. – V. 222. – P. 336–342. – 0,8 / 0,2 п.л.
10. Глушков А.А. Влияние эффекта реабсорбции флуоресценции на кинетику фотопроцессов в ксантовых красителях / Глушков А.А., **Слюсарева Е.А.**, Сизых А.Г. // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2011. – Т. 54, № 2/2. – С. 121–125. – 0,3 / 0,1 п.л.
11. Penzkofer A. Phosphorescence and delayed fluorescence properties of fluorone dyes in bio-related films / Penzkofer A., Tyagi A., **Slyusareva E.**, Sizykh A. // Chem. Phys. 2010. – V. 378. – P. 58–65. – 0,8 / 0,2 п.л.
12. **Slyusareva E.** Spectral and photophysical properties of fluorone dyes in bio-related films and methanol / **Slyusareva E.**, Sizykh A., Tyagi A., Penzkofer A. // J. Photochem. Photobiol. A: Chem. – 2009. – V. 208. – P. 131–140. – 1,0 / 0,25 п.л.
13. Gerasimova M.A. The role of energy transfer in bioluminescence quenching by xanthene dyes / Gerasimova M.A., Sizykh A.G., **Slyusareva E.A.** // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. – 2009. – V. 97. – P. 117–122. – 0,72 / 0,24 п.л.

14. Сизых А.Г. Фотофизические процессы в бинарных растворах ксантовых красителей в биополимере / Сизых А.Г., Цыганов А.Д., Макарова Е.А., **Слюсарева Е.А.** // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2009. – Т. 52, № 12/3. – С. 299–305. – 0,44 / 0,2 п.л.
15. Сизых А.Г. Спектральные и фотофизические свойства ксантовых красителей с различной степенью развития спин-орбитального взаимодействия / Сизых А.Г., Герасимова М.А., **Слюсарева Е.А.** // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2009. – Т. 52, № 12/3. – С. 306–314. – 0,6 / 0,2 п.л.
16. Сизых А.Г. Application of light-induced gratings for measurement of laser irradiation characteristics / Сизых А.Г., **Слюсарева Е.А.** // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2008. – Т. 51, № 10/2. – С. 74–79. – 0,28 / 0,14 п.л.
17. Сизых А.Г. Пат. 2234064 Российская Федерация, 7 G01J 9/00. Способ измерения степени пространственной когерентности лазерного излучения / Сизых А.Г., **Слюсарева Е.А.**; заявитель и патентообладатель Красноярский гос. ун.-т – опубл. 10.08.2004, Бюл. № 22. – 4 с.
18. Сизых А.Г. Лазерно-индуцированное восстановление растворенного в полимере красителя с высоким выходом в триплетное состояние / Сизых А.А., Тараканова (**Слюсарева**) Е.А., Татаринова Л.Л. // Квантовая электроника. – 2000. – Т. 30, № 1. – С. 40–44. – 0,6 / 0,3 п.л.
19. Сизых А.Г. Фотоиндуцированные процессы в твердых полимерных растворах красителей в интерференционном поле лазерного излучения / Сизых А.Г., Тараканова (**Слюсарева**) Е.А. // Квантовая электроника. – 1998. – Т. 25, № 12. – С. 1126–1130. – 0,48 / 0,24 п.л.