

**КИНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ
УФ/ H_2O_2 ДЕГРАДАЦИИ
ОРГАНИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛ
В РАСТВОРАХ**

Учебно методическое пособие

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

**КИНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ УФ/ H_2O_2
ДЕГРАДАЦИИ ОРГАНИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛ
В РАСТВОРАХ**

Учебно методическое пособие по курсу «Физика атомов и молекул для студентов физического факультета направления подготовки 03.04.02 «Физика» по программам «Фундаментальная и прикладная физика» и «Биофотоника»

Томск
2018

РАССМОТРЕНО И УТВЕРЖДЕНО методической комиссией
физического факультета.

Протокол № 1-2-2018 от «22» февраля 2018 г.

Председатель МК ФФ Н.Г. Дмитриева

Пособие составлено в соответствии с тематикой лабораторных занятий и программой курсов: «Межмолекулярные взаимодействия», «Физико-химические методы анализа» и «Физические поля и их действие на биосистемы» для студентов физического факультета направления подготовки 03.04.02 «Физика» по программам «Фундаментальная и прикладная физика» и «Биофотоника». Особое внимание уделено исследованию деградации органических молекул под действием ультрафиолетового излучения и окислителя.

Подготовлено при финансовой поддержке грантов Минобрнауки России (госзадание №4.6027.2017/8.9).

Для преподавателей, аспирантов, магистрантов и слушателей ФПК.

СОСТАВИТЕЛИ: *О.Н. Чайковская, В.С. Краюхина*

Тема: Кинетическая модель УФ/ H_2O_2 деградации органических молекул в водных растворах.

Цель работы: Изучение основ фотодegradации органических молекул в растворах под действием ультрафиолетового излучения в присутствии окислителя

Задание:

1. Изучить теорию электронной спектроскопии.
2. Познакомиться с принципом действия прибора *СМ2203*.
3. Составить уравнения кинетической модели фотораспада органической молекулы в водных растворах.
4. Получить графики зависимости конверсии от времени облучения и концентрации перекиси водорода в водно-этанольных растворах.

В результате выполнения лабораторной работы студент должен:

Знать:

- физические явления, лежащие в основе метода исследования состава, структуры и свойств вещества;
- принцип работы и конструкцию устройств и прибора, используемого в данном методе исследования;
- практические возможности метода.

Уметь:

- проводить необходимые эксперименты;
- получать результаты, их обрабатывать и анализировать в рамках используемого метода;
- дать оценку использования полученных результатов в практических целях.

Введение

По оценкам, к 2050 г. численность населения Земли достигнет 10 миллиардов человек. Для организации их жизнеобеспечения потребуются необходимые объемы питьевой воды, а также соответствующий уровень промышленного и сельскохозяйственного производства, достижение которого будет невозможным в свою очередь без водообеспечения. При этом решение данных проблем только за счет природных источников воды вряд ли будет реальным. В этой связи, безусловно, в будущем окажется безальтернативной практика очистки бытовых и промышленных сточных вод с организацией их повторного использования, например, медицинские и социальные учреждения. Необходимо также учитывать, что рост масштабов производства, мероприятия по повышению продолжительности и качества жизни с неизбежностью приведут к увеличению загрязнения природных и сточных вод разнообразными химическими загрязняющими веществами.

Вместе с тем результаты мониторинга, проводившегося на протяжении нескольких лет Геологической службой США в г. Атланта, засвидетельствовали увеличение загрязнения питьевой воды галогенированными углеводородами, ароматическими соединениями, пентахлорфенолом, пестицидами, гербицидами и лекарственными препаратами практически в той же мере, в какой возросло загрязнение этими веществами природных вод в данном регионе. Это свидетельствует о том, что традиционная схема водоподготовки (коагуляция – отстаивание – фильтрация – обеззараживание) уже сейчас не обеспечивает надлежащего уровня удаления загрязняющих веществ. Аналогичная ситуация характерна и для очистки сточных вод. Достаточно упомянуть такую отрасль как текстильная промышленность, где образуются наибольшие их объемы. Как правило, схемы, основанные на биодеградации, не обеспечивают здесь степень удаления всех видов красителей, необходимую для организации повторного использования сточных вод. Считается, что справиться с обрисованными вызовами окажется возможным только в результате широкомасштабного применения инновационных технологических схем, а именно так называемых новых окислительных технологий (англ. *Advanced oxidation process*, сокращенно *AOP*), к которым относят гомогенные и гетерогенные фотокаталитические процессы, озонирование, варианты процесса Фентона, ультразвуковая обработка, мокрое окисление,

электрохимические процессы, окисление в суперкритической воде, плазменные процессы, ферратную и персульфатную технологии, использование ионизирующего излучения и микроволновой обработки.

Эта тема является одной из наиболее широко представленных в зарубежной периодической научно-технической литературе. Так уже в период 2005–2017 гг. в соответствии с Указателем библиографических ссылок в научной литературе (Science Citation Index) свыше 6500 работ было посвящено таким процессам как фотокатализ, озонирование, процесс Фентона, мокрые окислительные процессы и ультразвуковая обработка. При этом в 25% публикаций рассматривались фотокаталитические процессы. Разработанные в последние 10–15 лет процессы *ULTROX*, *WEDECO*, *UVOX*, *ECOCLEAR*, *BioQuint* и ряд других процессов прочно вошли в промышленную практику.

Взаимодействие между оптическим излучением и веществом приводит к превращению энергии излучения в энергию, отличающуюся по спектральному распределению, или другую форму энергии. Общий физический принцип разложения органических молекул в воде под УФ-излучением заключается в том, что после поглощения кванта света молекула переходит в возбужденное состояние. Одним из основных каналов перераспределения энергии возбуждения является переход молекулы в фотодиссоциативное состояние, эффективное заселение которого приводит к фотореакции разрыва химической связи. При поглощении света в молекулах происходит изменение физических и химических свойств по сравнению с основным состоянием. Для повышения эффективности фотолитиза устойчивых соединений требуются знание зависимостей эффективности фоторазложения токсикантов от параметров возбуждающего излучения и изучение каналов деградации энергии возбуждения.

1. ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1.1. Объекты исследования

Изучение фотопроцессов, протекающих в молекулах класса фурукумаринов (ФК), привлекает ученых всего мира в связи с тем, что с их помощью проводят лечение раковых заболеваний кожи. Однако множество из используемых сегодня методов хирургического, лучевого и лекарственного воздействий не обладают определенной избирательностью, то есть при воздействии на опухоль здоровые ткани так же повреждаются. Поэтому ведется активный поиск более эффективных и безвредных методов лечения. В настоящее время одним из таких методов является фотодинамическая терапия, которая имеет явное преимущество перед лучевой и химиотерапией тем, что отсутствуют местные и системные осложнения органов и тканей, что дает возможность проводить повторные процедуры.

В 20х годах ученые обнаружили, что раковые опухоли способны накапливать порфирины крови. Аулер и Банцер выявили, что введенный в вену животному гематопорфирин тоже накапливается в таких опухолях. В обогащённых гематопорфирином опухолях при облучении определенной длиной волны генерировался синглетный кислород или кислородсодержащие свободные радикалы и опухоли через некоторое время отмирали.

Для проведения фототерапии используют препарат, получаемый из растений – псорален, давая проглотить его в капсуле или нанеся на кожу, и спустя некоторое время, поврежденный участок облучают УФ светом (так как этот препарат поглощает именно его). Пигментация кожи восстанавливается уже после нескольких сеансов.

Ещё одно применение ФК – при добавлении небольшого количества в воду на свету происходит очистка от бактерий, грибов, личинок насекомых, а также от фенолов и пестицидов.

Псорален (или фурукумарин) – это природное соединение, которое получают из растений, представляет собой молекулу кумарина с присоединённым к ней фурановым кольцом (рис. 1.1).

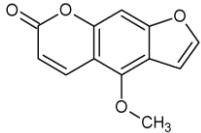
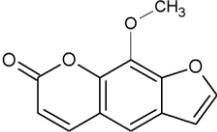
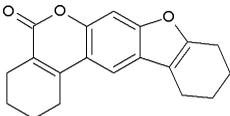
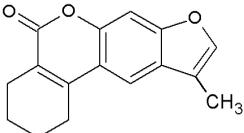
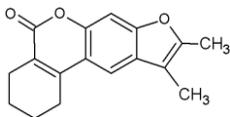
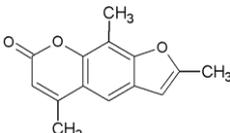
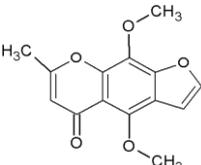


Рис. 1.1. Структурные формулы фурукумарина (*a*) и кумарина (*б*)

ФК (табл. 1.1) обладают разной физиологической активностью, они являются фотостабильными, повышают чувствительность организма как животных так и человека к солнечным лучам.

Таблица 1.1

Исследуемые соединения

№	Соединение (Обозначение)	Структурная формула
1	5-метоксипсорален (5-МОП)	
2	8-метоксипсорален (8-МОП)	
3	3,4-фенил-4',5'-циклогексилпсорален (КС3)	
4	4'-метил-,3,4-циклогептилпсорален (КС4)	
5	4',5'-диметил-3,4-циклогексилпсорален (КС5)	
6	4,5',8-триметилпсорален (КС6)	
7	Хеллин (КС7)	

1.2. Общая характеристика новых окислительных технологий

Данные технологии обеспечивают деградацию и минерализацию органических соединений в различных условиях в водной среде при взаимодействии с гидроксильными радикалами, озоном, кислородом, пероксидом водорода, ферратами. Основную роль в этих процессах играют гидроксильные радикалы, характеризующиеся величиной стандартного восстановительного потенциала 2,7 В, превосходящей этот показатель для озона (2,07 В) и уступающей только токсичному фтору. Озон, кислород и пероксид водорода могут непосредственно взаимодействовать с органическими соединениями или участвовать в трансформациях, приводящих к образованию гидроксильных радикалов. Высокореакционными промежуточными продуктами подобных трансформаций, помимо гидроксильных радикалов, являются и ряд других кислородных соединений.

Гидроксильные радикалы в водной среде образуются также и в ходе физических процессов воздействия ультрафиолетового облучения, ионизирующего излучения, ультразвуковой, плазменной или микроволновой обработки. Помимо деградации органических соединений НОТ могут стать альтернативой или дополнением к традиционным процессам обезвреживания (с применением хлора и хлорсодержащих реагентов).

1.3. Уравнения кинетической модели фототрансформации молекул

Формула, используемая для теоретических расчетов. В работе [10] аналитически было получено уравнение для вещества, перешедшего под действием облучения в другое состояние, которое соответствует равенству (1.1):

$$X = X_{lim}(1 - e^{-k_r t}), \quad (1.1)$$

где X_{lim} – предельная конверсия,

$k_r = \frac{kV_r}{V_T C_0}$ – постоянная реакции,

V_r – объем зоны где протекала реакция,

V_T – объемом сосуда,

k – некоторая константа,

C_0 – первоначальная концентрация.

С помощью уравнения (1.1) были посчитаны теоретические кривые проходящей реакции, которые показывают изменение конверсии, при увеличении времени облучения соединений, и эти кривые в последствии сравнивались с практическими значениями, полученными в ходе проведения эксперимента.

Для обработки экспериментальных данных, было использовано программное обеспечение *SigmaPlot* V8.0, с формулой (1.1), модифицированной следующим образом:

$$X = a(1 - e^{-bt}), \quad (1.2)$$

где $a = X_{Lim}$, $b = k_r$.

Кинетическая модель фотодеградациии.

Модель основывается на следующих гипотезах:

1. Необходимость для фотодеградациии перекиси водорода.
2. В отсутствии воды фотодегградация неэффективна.
3. Если фотохимическая реакция состоялась, то имеет место псевдо первый порядок кинетики.
4. Так как во время облучения часть объема раствора теряется на аналитическую процедуру, объем раствора не является постоянным во время облучения.

Вывод основного уравнения модели. Общий баланс массы фурукумарина в единицу времени может быть выражен как показано в равенстве (1.3):

$$\text{Вход} - \text{Выход} + \text{Накопления} - \text{Образования} = 0 \quad (1.3)$$

Принимая во внимание предыдущие гипотезы и принятые обозначения, мы можем написать выражения (1.4) – (1.7):

$$\text{Вход} = 0 \quad (1.4)$$

$$\text{Выход} = 0 \quad (1.5)$$

$$\text{Накопление} = \frac{d(VC)}{dt} \quad (1.6)$$

где V – объем реактора (мл),

C – концентрация фурукумарина в момент времени t (мг/мл),

t – время реакции (мин).

$$\text{Образования} = -Vr \quad (1.7)$$

где r – скорость реакции (мг/мл мин).

Подставляя эти значения в уравнение баланса массы, получим:

$$\frac{d(VC)}{dt} + Vr = 0 \quad (1.8)$$

Уравнение (1.8) является основным дифференциальным уравнением процесса деградации кумарина.

1.4. Применение модели к этанольным растворам

В тех случаях, когда в образец не добавлялась вода, фотохимическая реакция для некоторых кумаринов (8-МОР и 5-МОР) не протекала, а для других кумаринов она проходила менее активно, чем в присутствии воды. В этой ситуации, если не происходит химическая реакция, имеет место равенство (1.9):

$$r = 0 \quad (1.9)$$

И уравнение (1.9) упростится до (1.10):

$$\frac{d(Vc)}{dt} = 0 \quad (1.10)$$

При интегрировании уравнения (1.10) получим (1.11):

$$VC = const \quad (1.11)$$

Равенство (1.10) так же может быть выражено соответственно (1.12):

$$VC = V_0C_0, \quad (1.12)$$

где V_0 – первоначальный объем реактора (мл),

C_0 – первоначальная концентрация кумарина, (мг/мл).

И из равенства (1.12) следует (1.13):

$$\frac{c}{c_0} = \frac{V_0}{V} \quad (1.13)$$

Теперь необходимо ввести некоторые дополнительные гипотезы, чтобы получить уравнение для объема V в момент времени t . Мы должны принимать во внимание то, что из-за испарения этанола происходит уменьшение объема и за время эксперимента, существенно повлиять на изменение объема раствора может только испарение этанола. С другой стороны, поверхность жидкости является постоянной, поскольку сечение сосуда также постоянно и, поэтому, можно считать, что процесс испарения должен зависеть только от температуры образца, которая должна быть некоторой функцией от времени облучения. Как следствие, если мы рассмотрим зависимость мощности между скоростью и временем испарения, можем сформулировать эмпирическое дифференциальное уравнение (3.15) для изменения объема жидкости с течением времени:

$$\frac{dV}{dt} = -k_V t^n \quad (1.14)$$

где k – константа псевдо первого порядка (мин^{-1}).

При интегрировании (1.14) получаем (1.15):

Если новые параметры a и b определить согласно (1.16) и (1.17):

$$a = \frac{k_V}{V_0(n+1)} \quad (1.16)$$

$$b = n+1 \quad (1.17)$$

Равенство (1.15) может быть переписано как (1.18):

$$V = V_0(1 - at^b) \quad (1.18)$$

Подставив уравнение (1.18) в (1.13) получится (1.19):

$$\frac{c}{c_0} = \frac{1}{(1-at^b)} \quad (1.19)$$

Конверсия кумаринов определяется согласно (1.19):

$$X = \frac{c_0 - c}{c_0} = 1 - \frac{c}{c_0} \quad (1.20)$$

И из равенств (1.19) и (1.20) получаем (1.21):

$$X = 1 - \frac{1}{(1-at^b)} \quad (1.21)$$

Эксперименты для растворов с различной концентрацией воды

При наличии воды в образце в нем всегда протекает фотохимическая реакция. В этой ситуации предполагается, что реакция следует из псевдо-первого порядка кинетики:

$$r = -kC \quad (1.22)$$

И равенство (1.8) сводится к (1.23):

$$\frac{d(VC)}{dt} = -kVC \quad (1.23)$$

При интегрировании (1.23) получаем (1.24):

$$VC = V_0 C_0 e^{-kt} \quad (1.24)$$

И из равенства (1.24) получим (1.25):

$$\frac{c}{c_0} = \frac{V_0}{V} e^{-kt} \quad (1.25)$$

Теперь, если ту же самую гипотезу, которая предполагает отсутствие воды применить для объема образца, соответствующего уравнению (1.19), получим:

$$\frac{c}{c_0} = \frac{e^{-kt}}{(1-at^b)} \quad (1.26)$$

Теперь конверсия определяется следующим выражением (1.27):

$$X = 1 - \frac{e^{-kt}}{(1-at^b)} \quad (1.27)$$

Экспериментальные данные, полученные для образцов с водой, хорошо подходят для уравнения (1.27) со значением параметра b практически равным 1 и очень малыми значениями параметра a , который близок или равен 0 в большинстве экспериментов, дает возможность упростить уравнение (1.27) к одному из псевдо-первого порядка кинетики с постоянным объемом реакции (1.28):

$$X = 1 - e^{-kt} \quad (1.28)$$

1.5. Расчет необходимого количества перекиси водорода

Для определения количества перекиси водорода, которое необходимо взять для того, чтобы одна молекула полностью распалась при облучении, были сделаны следующие математические расчеты.



С помощью этих расчетов вычисляли, какое количество перекиси водорода необходимо добавить в раствор для того, чтобы полностью распалась одна молекула исследуемого соединения. Следовательно, если такая пропорция будет соблюдена, то в результате все молекулы фурукумаринов распадутся на углекислый газ (CO_2) и воду (H_2O), реакция будет протекать наиболее эффективно.

1.6. Поглощение света молекулой. Поглощение и пропускание монохроматического света растворами

Закон Бугера – Ламберта – Бера. При распространении электромагнитных волн и, в частности, световых в любой среде наблюдается более или менее значительное уменьшение их интенсивности из-за взаимодействия электрического и магнитного полей волны с атомами и молекулами среды: рассеяние, люминесценция, фотохимическое разложение вещества и др. Если прохождение света через некоторую среду свет не вызывает необратимых изменений, т. е. не происходят фотохимические реакции, и вещество достаточно однородно, так что можно пренебречь рассеянием, то изменение интенсивности света обусловлено превращением энергии электромагнитного поля волны в другие виды энергии (чаще всего в энергию хаотического теплового движения атомов и молекул вещества) и называется поглощением света. Интенсивность излучения (I) – модуль среднего по времени значения плотности потока энергии. Плотность потока энергии (J) – поток энергии (Φ) через единичную площадку, расположенную перпендикулярно к направлению, в котором переносится энергия:

$$J = \frac{\Phi}{\Delta t \Delta S_{\perp}}$$

где J – вектор Умова – Пойтинга, который, как известно из курса общей физики, можно найти как произведение плотности энергии (ω) на скорость волны (v):

$$J = \omega v.$$

Законы поглощения света основываются на общих положениях молекулярной оптики и квантовой механики. Возникновение электронных представлений дало возможность детально изучить взаимодействие световой волны и вещества. Это взаимодействие сводится к возбуждению колебаний электронов, входящих в состав атомов и молекул: со стороны электромагнитного поля на электрон будет действовать переменная сила, которая заставит его совершать колебательное движение. Основной закон поглощения света в однородном материале может быть выведен независимо от модельных представлений о деталях взаимодействия света с веществом на основе энергетических соображений: пусть параллельный пучок монохроматического излучения с частотой ν и начальной

интенсивностью I_0 нормально падает на плоский слой изотропного однородного вещества толщиной l (рис. 1.2). Начальная и конечная интенсивности должны быть измерены с учетом отражения света от границ слоя вещества. Так как величина отраженной части энергии не зависит от толщины слоя, то при достаточно толстых слоях отражением можно пренебречь по сравнению с поглощением излучения. Будем считать, что молекулы хромофоров распределены в растворе равномерно, а падающий на образец свет является монохроматическим. В растворе под действием измеряющего света не протекают фотохимические превращения хромофоров. Интенсивность светового пучка, падающего на исследуемый образец, не слишком высока, что исключает возможность нескольким фотонам попадать на молекулу за время жизни ее возбужденного состояния. Если в образце происходит поглощение света, то в результате интенсивность света уменьшится до величины I . Отношение этих величин называют пропусканием T :

$$T = \frac{I}{I_0}$$

Поглощением называется величина:

$$1 - T = \frac{I_0 - I}{I_0} = \frac{I_{\Pi}}{I_0}$$

где I_{Π} – количество света, поглощаемого в единицу времени.

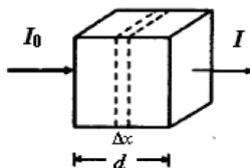


Рис. 1.2. Изменение интенсивности параллельного пучка света в плоском слое изотропного однородного вещества

Увеличение концентрации поглощающего вещества или толщины кюветы с раствором приводит к увеличению поглощения света, т. е. величины $(1 - T)$, и уменьшению пропускания образца T , которые не пропорциональны ни концентрации раствора, ни толщине кюветы и поэтому не слишком удобны для количественного описания поглощения растворов. Логарифм величины, обратной коэффициенту пропускания, называется оптической плотностью D :

$$D = lg \frac{I_0}{I} = lg \frac{1}{T}.$$

И коэффициент пропускания и оптическая плотность есть величины безразмерные. Найдем зависимость T от концентрации и толщины раствора. Разделим весь слой вещества на элементарные слои толщиной dx , которые будем считать физически бесконечно узкими, так, что изменение интенсивности световой волны dI_x за счет поглощения в таком малом слое мало по сравнению с самой интенсивностью I_x . В 1729 году французский физик Пьер Бугер установил, что относительное изменение интенсивности света dI_x/I_x в каждом таком слое dx не зависит от интенсивности и пропорционально толщине этого слоя:

$$\frac{dI_x}{I_x} = -k_v dx,$$

где k_v – коэффициент пропорциональности, знак «минус» соответствует уменьшению интенсивности.

Для вычисления полного поглощения света в слое вещества конечной толщины проинтегрируем обе части полученного выражения:

$$\int_{I_0}^{I_l} \frac{dI_x}{I_x} = - \int_0^l k_v dx.$$

В результате интегрирования получим:

$$\ln \frac{I_l}{I_0} = -k_v l,$$

Проведем дальнейшие преобразования полученного выражения:

$$I_l = I_0 e^{-k_v l},$$

Полученное выражение называется законом Бугера, где величина k_v – коэффициент поглощения. Коэффициент поглощения вещества в системе СИ имеет размерность $[м^{-1}]$ и характеризует такую толщину слоя любого вещества, которая ослабляет интенсивность проходящего через нее монохроматического излучения в e раз. Эта величина характеризуется сильной и специфической для каждого вещества зависимостью от частоты света. Зависимость коэффициента поглощения от частоты определяет спектр поглощения данного вещества и часто имеет очень сложный вид.

Найдем связь между коэффициентом поглощения и коэффициентом пропускания:

$$\ln \frac{I_l}{I_0} = -k_v l, \Rightarrow k_v = -\frac{1}{l} \ln T \text{ или}$$

$$k_v = -\frac{\lg T_1}{lge},$$

а также между коэффициентом поглощения и оптической плотностью:

$$D = \lg \frac{1}{T} \Rightarrow k_v = \frac{D}{lge} = \frac{D}{0,43l} = 2,3 \frac{D}{l}$$

Оптическая плотность – особенно удобная характеристика при количественном молекулярном анализе, так как оптическая плотность смешанного раствора равна сумме оптических плотностей всех компонент при отсутствии взаимодействия между компонентами.

Следующая закономерность, связанная с поглощением света, предложена Бером в 1852 году. Бер установил, что поглощение света тонким слоем однородной среды пропорционально числу содержащихся в нем молекул, а, следовательно, числу их в единице объема среды, т. е. Их концентрации. В случае слабых растворов при непоглощающем растворителе коэффициент поглощения пропорционален концентрации – закон Бера:

$$k_v = \chi_v \cdot c,$$

где χ_v – коэффициент пропорциональности, зависящий от частоты и свойств молекул растворенного вещества, c – концентрация.

Закон Бера имеет гораздо более узкие границы применимости, чем закон Бугера, так как наблюдаются многочисленные отступления от него, особенно при больших концентрациях, часто коэффициент зависит от природы растворителя. При небольших концентрациях взаимодействие молекул в растворе мало и закон Бера обычно выполняется. В этом случае закон Бугера – Ламберта – Бера имеет вид

$$I_l = I_0 e^{-k_v l},$$

Ламберт в 1760 году независимо от Бугера получил и исследовал закон поглощения света. Если концентрация поглощающих свет молекул равна n , то согласно теории мишеней, каждая молекула характеризуется эффективным сечением s (см^2), называемым поперечным сечением поглощения, при попадании в которое происходит поглощение фотона. Для этого выделим в объеме образца тонкое сечение dx , перпендикулярное направлению l . Суммарная площадь мишеней, приходящаяся на 1 см^2 раствора толщиной dx , будет равна $nsdx$. Ослабление интенсивности света слоем dx равно:

$$dI = I ns dx.$$

Разделив переменные и проинтегрировав, получаем:

$$\ln \frac{I_l}{I_0} = nsl,$$

откуда и найдем зависимость T от концентрации и толщины раствора:

$$T = \frac{I}{I_0} = e^{-nsl}.$$

Перейдя к более распространенным размерностям концентрации c (моль/л) и десятичному логарифму, получим выражение для оптической плотности и еще одну удобную форму записи закона Бугера – Ламберта – Бера:

$$D = -\lg T = \epsilon lc,$$

где ϵ – молярный коэффициент поглощения ($\text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$), равный оптической плотности 1 М раствора, измеренной при $l = 1$ см. Коэффициент молярного поглощения связан с s соотношением:

$$T = e^{-nsl} = 10^{-\epsilon c l}.$$

Из закона Бугера – Ламберта – Бера, основного закона поглощения света веществом, следует, что T и $1 - T$ зависят от концентрации раствора (n или c) и длины оптического пути l экспоненциально.

1.7. Зависимость поглощения света от химического состава, концентрации и геометрических факторов молекул

Взаимодействие света и живой материи начинается с акта поглощения фотонов и перехода молекул в возбужденное состояние. Процесс поглощения света зависит от многих фактор, определяющими из которых являются химический состав, концентрация, геометрическая конфигурация молекул и других факторов.

Зависимость оптической плотности D какого-либо объекта, например раствора, от длины волны λ света называют спектром поглощения данного объекта. Спектр раствора индивидуального соединения принято нормировать к единице концентрации и длины кюветы, т. е. спектром поглощения индивидуального вещества называют зависимость от длины волны измеряющего света молярного коэффициента поглощения ϵ . В качестве меры поглощательной способности образца при построении спектров поглощения используют величины T , D , k_v и ϵ : T и D – чаще для измерений в ИК-спектре, а k_v и ϵ – в УФ-спектре. Спектром пропускания называют зависимость пропускания образца T от длины волны λ . Спектр пропускания обычно используют для характеристики светофильтров, но не веществ, так как форма этих кривых зависит как от концентрации вещества, так и от толщины кюветы. Следует отметить, что оптическая плотность D есть величина аддитивная: оптическая плотность смеси двух растворов равна сумме оптических плотностей каждого из них, поскольку каждый вид частиц поглощает в растворе независимо от других (в отсутствие химических реакций). С увеличением концентрации раствора c или длины l оптического пути света оптическая плотность растет линейно, тогда как зависимость поглощения ($1 - T$) приближается к линейной только в начале графика, т. е. при малых концентрациях и оптических плотностях (рис. 1.2). Это обусловлено тем, что передние слои ослабляют свет, доходящий до задних слоев раствора. В тонких слоях раствора или в растворах низкой концентрации этим явлением можно пренебречь и зависимость поглощения от концентрации вещества (или толщины кюветы) имеет линейный характер. Количественно связь $1 - T$ и D может быть представлена в виде

$$1 - T = 1 - 10^D.$$

Приближенное значение $1 - T$ при малых величинах находят как первый член степенного ряда:

$$1 - T \approx \ln 10 D \approx 0,4343 D.$$

Эта формула тем точнее, чем меньше оптическая плотность раствора.

Закон Бугера – Ламберта – Бера, а значит, и представленные на рис. 1.3 зависимости выполняются не всегда. Закон Бугера – Ламберта – Бера справедлив для плоскопараллельного пучка монохроматического света, проходящего через гомогенную изотропную среду при незначительной заселенности возбужденного энергетического уровня. Нарушения этих условий приводят к кажущимся отклонениям от закона Бугера – Ламберта – Бера. В частности, коэффициент ϵ перестает быть постоянным, а увеличивается с ростом концентрации (положительные отклонения) или уменьшается (отрицательные отклонения). Наблюдаемые отклонения от закона могут, с одной стороны, служить помехой при количественном анализе, с другой – давать дополнительную информацию о свойствах исследуемые объектов.

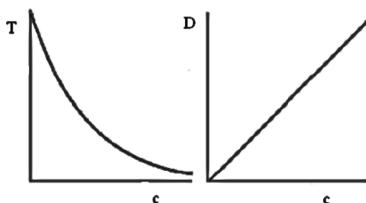


Рис. 1.3. Зависимость пропускания (Т) и оптической плотности (D) от концентрации (с) хромофора в растворе

Наиболее часто встречающиеся причины отклонения от закона Ламберта – Бугера – Бера можно разделить на физико-химические (связанные со свойствами вещества или раствора), инструментальные (связанные с особенностями данного спектрофотометра) и причины, связанные с анизотропией изучаемого объекта. Закон Бугера – Ламберта – Бера может не выполняться по следующим причинам:

- Хромофор распределен неравномерно, что может приводить к занижению оптической плотности вследствие эффекта сита. Занижение тем выше, чем больше оптическая плотность раствора.

- При повышении концентрации характер взаимодействия между хромофорами меняется (например, происходит агрегация молекул), то фотофизические свойства молекул, в том числе и значение коэффициента экстинкции, будут изменяться.

- Зависимость D от c может отклоняться от линейной при использовании немонохроматического света.

- В растворе под действием измеряющего света протекают фотохимические превращения хромофоров, что также будет приводить к изменению оптической плотности.

- При очень высоких интенсивностях измеряющего светового пучка не один, а несколько фотонов будут попадать на молекулу за время жизни ее в возбужденном состоянии, в результате поглощения света концентрация невозбужденных молекул может снизиться, что приведет к видимому уменьшению оптической плотности раствора.

- Рассеивание света образцом приведет к завышению D , а люминесценция образца – к занижению.

Поглощение света, как правило, одностадийный дискретный процесс длительностью $< 10^{-14}$ с, что является проявлением квантовой природы света (рис. 1.4). Поглощение достигается в результате взаимодействия электронного облака молекулы с вектором электрического поля световой волны E (взаимодействие магнитного поля H волны мало), что является проявлением волновой природы света.

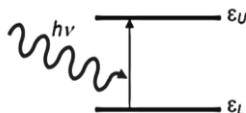


Рис. 1.4. Процесс поглощения света

Все вещества состоят из атомов, атомы же состоят из электронов и ядер. Взаимодействие видимого или ультрафиолетового света и молекул – это взаимодействие фотонов с электронами. Электроны располагаются на определенных орбиталях в атомах и молекулах, характеризующихся определенными значениями энергии. Так как энергия квантуется, то условие совпадения $h\nu$ и ΔE – основная причина возникновения спектров поглощения.

Взаимодействие между оптическим излучением и веществом приводит к превращению энергии излучения в энергию, отличающуюся по спектральному распределению, или в другую форму энергии. Переход с нижнего уровня на верхний соответствует увеличению энергии системы, т. е. поглощению внешнего фотона. Внутренняя энергия молекулы определяется запасом энергии: в электронах, в колебаниях ядер скелета молекулы, в различных вращательных движениях (рис. 1.5).

Уровни энергии, связанные с расстоянием электронных орбиталей от ядер, называют электронными уровнями энергии. Энергии переходов между уровнями для электронов внутренних оболочек лежат в диапазоне от десятков эВ до десятков кэВ (рентгеновский диапазон), переходы валентных (внешних) электронов соответствуют энергии оптического диапазона (единицы эВ).

Колебательные уровни молекул соответствуют энергии колебательных движений ядер и молекул около некоторых равновесных положений. Энергия зависит от частоты колебаний, которая, в свою очередь, определяется длиной и прочностью химических связей. Переход от колебания с одной частотой на колебания с другой сопровождается выделением или поглощением энергии, которую называют энергией колебательных переходов. Для органических молекул она лежит в пределах от 0,025 до 0,5 эВ, что соответствует поглощению квантов излучения в инфракрасной области спектра.

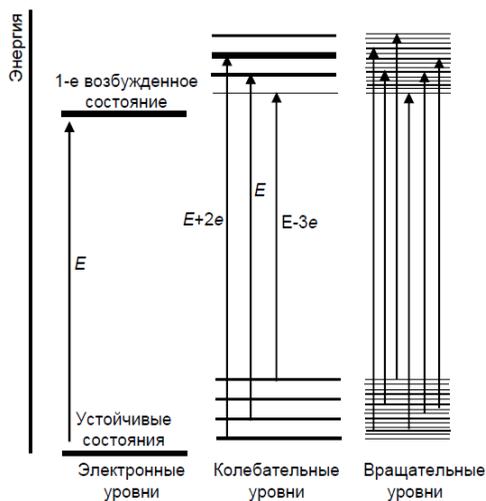


Рис. 1.5. Поглощение света

Вращательные уровни молекул связаны с вращательным движением молекулы как целого. Энергии таких переходов невелики – от сотых до

сотысячных долей эВ. Такие переходы соответствуют далекой инфракрасной и микроволновой области.

Так как электронная энергия имеет порядок нескольких эВ, колебательная – десятых и сотых долей эВ, вращательная – тысячных и десятитысячных долей эВ. Именно это различие приводит к тому, что электронные, колебательные и вращательные спектры сами по себе лежат в разных спектральных диапазонах (рис. 1.6).

Дискретность энергий колебательных и вращательных переходов определяется тем, что сами энергии колебательных и вращательных уровней квантуются, т. е. могут принимать лишь определенные значения, соответствующие условиям формирования стоячих волн движущимися заряженными частицами. Совокупность таких переходов дает спектр поглощения.

При электронных переходах имеет место суммирование энергий чисто электронных переходов и энергий колебательных и вращательных. В результате такого суммирования (с положительным или отрицательным знаком) каждому электронному уровню соответствует целый набор близко расположенных к нему колебательных подуровней, а каждому колебательному подуровню – набор еще более тесно сгрудившихся вращательных подуровней.



Рис. 1.6. Идеализированный спектр поглощения

Поскольку число всех уровней, подуровней весьма велико, то в молекулярных спектрах в газах наблюдается не одна или несколько, а множество отдельных линий. В растворах энергии электронных переходов изменяется под влиянием электростатического воздействия молекул растворителя, энергия которого не квантуется, благодаря чему

спектры в растворах всегда представлены сплошными полосами. Схема оптических переходов в молекуле и соответствующие им спектры представлены на рис. 1.7.

Схема на рис. 1.7 изображена с учетом переходов:

$$h\nu = (E_{эл1} - E_{эл2}) + (E_{колv'} - E_{колv''}) + (E_{врj'} - E_{врj''}) = \Delta E_{эл} + E_{кол} + E_{вр} = h\nu_{эл} + h\nu_{кол} + h\nu_{вр},$$

если $\Delta E_{эл} = \Delta E_{кол} = 0$ – вращательный переход между вращательными подуровнями какого-либо электронно-колебательного состояния, наблюдаем спектральные линии в дальнем ИК-спектре;

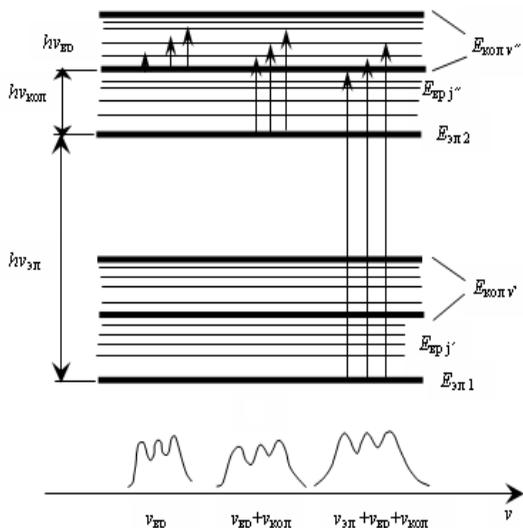


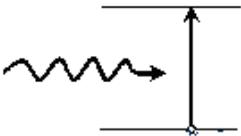
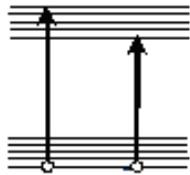
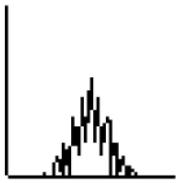
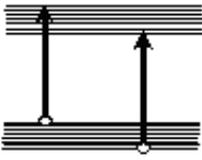
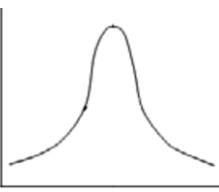
Рис. 1.7. Схема оптических переходов в молекуле и соответствующие им спектры

если $\Delta E_{эл} = 0$, $\Delta E_{кол} \neq 0$, $\Delta E_{вр} \neq 0$ – колебательно-вращательный переход между вращательными подуровнями разных колебательных состояний при неизменном электронном состоянии – коротковолновый ИК-спектр; если $\Delta E_{эл} \neq 0$, $\Delta E_{кол} \neq 0$, $\Delta E_{вр} = 0$ – электронно-колебательно-вращательный переход – видимый или УФ-спектр.

Формы спектров поглощения дают информацию о структуре электронных молекулярных состояний, а значит, качественный и количественный анализ объекта. Для атомов и простейших молекул характерно небольшое число энергетических переходов и спектры, состоящие из небольшого числа линий – линейчатые спектры (табл. 1.2).

Таблица 1.2

Формы спектров поглощения для атома, молекулы и вещества

Поглощающий объект	Энергетический спектр	Форма спектра поглощения
Атом		
Молекула		
Сложная молекула		

Для более сложных молекул число спектральных линий велико, они сливаются, образуя отдельные полосы – полосатые спектры. Для сложных молекул спектр становится сплошным.

1.8. Спектры поглощения и химическая структура биологически важных соединений

Спектры поглощения биологически важных веществ представляют собой сравнительно плавные кривые с одним или несколькими максимумами. Максимум на этой кривой (λ_{\max}) соответствует наиболее вероятной, усредненной величине энергии электронного перехода E , которая может быть вычислена по уравнению $E = h\nu = hc/\lambda$. Каждая полоса поглощения в абсорбционном спектре, помимо положения максимума, может быть охарактеризована еще тремя величинами: площадью под кривой поглощения, амплитудой (оптическая плотность в максимуме поглощения) и полушириной полосы поглощения (расстояние между точками на кривой поглощения, соответствующее половине амплитуды, т.е. $\varepsilon/2$) (рис. 1.8).

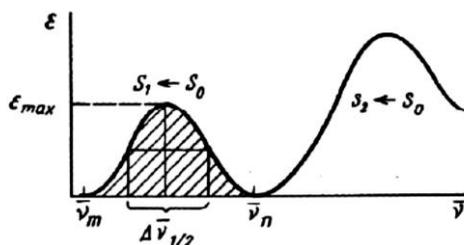


Рис. 1.8. Характеристики спектров поглощения

Площадь под кривой поглощения прямо пропорциональна безразмерной величине, называемой силой осциллятора f , которая характеризует вероятность электронных переходов в результате захвата квантов света данным хромофором:

$$f_{G \rightarrow A} = 4,32 * 10^{-9} F \int_{\nu_1}^{\nu_2} \varepsilon_{\nu} d\nu,$$

где $\int_{\nu_1}^{\nu_2} \varepsilon_{\nu} d\nu$ — интегральный молярный коэффициент поглощения, равный площади под соответствующей кривой поглощения; F — поправочный множитель, близкий к 1.

Электрон, поглощая фотоны той или иной энергии, может переходить на разные возбужденные электронные уровни (S_0^* , S_1^* и т. д.), при этом в

спектре поглощения вещества будет наблюдаться несколько полос. Если сложить площади полос поглощения, обусловленных переходами электронов с одной и той же электронной орбитали (одноэлектронный переход), то выполняется правило сумм Томаса Куна: $f=1$, если все полосы поглощения обусловлены одноэлектронным переходом, то сила осциллятора по всем этим полосам будет равна 1, при двух электронном переходе $f=2$ и т. д.

Интенсивность полос поглощения является характеристикой того, с какой вероятностью происходит электронный переход из основного состояния в возбужденное. Мерами интенсивности поглощения являются молярный коэффициент поглощения ε (экспериментально) сила осциллятора f (величина безразмерная). С позиции классической физики сила осциллятора служит мерой эффективного числа электронов, колебания которых обуславливают данную полосу поглощения или излучения.

Из спектров поглощения некоторых биологически важных соединений (рис. 1.9) видно, что чем больше в молекуле число сопряженных двойных связей, тем больше длина волны максимума поглощения данного вещества. В этом случае реализуются $\pi-\pi^*$ -переходы, причем сопряжение двойных связей вызывает сдвиг энергии перехода в длинноволновую область. Молекулы пероксидов жирных кислот содержат две сопряженные двойные связи (диеновые конъюгаты), максимум в спектре поглощения лежит при 233 нм.

Продукты пероксидного окисления липидов, содержащие три сопряженные двойные связи (триеновые конъюгаты), имеют максимум поглощения 260–280 нм. Ретиналь, молекулы которого содержат 6 сопряженных двойных связей, характеризуется максимумом поглощения 360 нм. Спектры поглощения трех ароматических аминокислот представлены на рис. 1.9. Максимумы поглощения и коэффициенты молярной экстинкции для биологически важных молекул представлены в табл. 1.3.

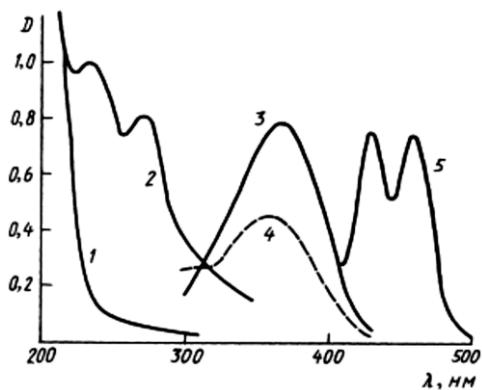


Рис. 1.9. Зависимость положения длинноволнового максимума поглощения от числа сопряженных двойных связей (N) в молекуле: 1 – фосфолипиды, выделенные из мозга ($N = 1$); 2 – окисленные фосфолипиды: диеновые конъюгаты $\lambda_{\text{max}} = 233$ нм ($N = 2$), триеновые конъюгаты $\lambda_{\text{max}} = 270\text{--}280$ нм ($N = 3$) и, частично, карбонильные соединения; 3 – полностью-транс-ретинол $\lambda_{\text{max}} = 360$ нм ($N = 6$); 5 – каротиноиды ($N = 11$)

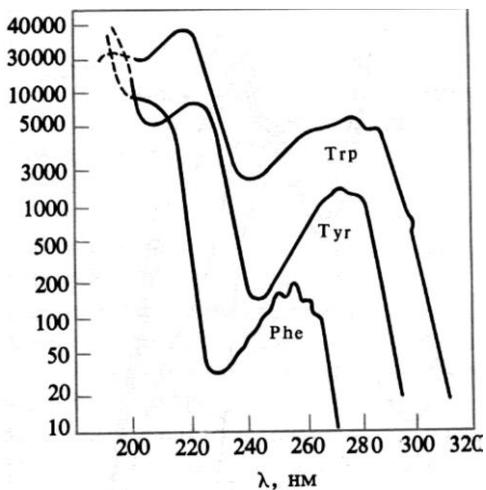


Рис. 1.10. Спектры поглощения трех ароматических аминокислот

Таблица 1.3

Максимумы поглощения и коэффициенты молярной экстинкции для биологически важных молекул

Соединение	λ_{max} , нм	ϵ при λ_{max} ($\times 10^{-3}$)
Триптофана	280	5,6
	219	47,0
Тирозина	274	1,4
	222	8,0
	193	48,0
Фенилаланина	257	0,2
	206	9,3
	188	60,0
Гистидина	211	5,9
Цистеина	250	0,3
Аденин	260,5	13,4
Аденозин	259,5	14,9
Гуанин	246	10,7
Гуанозин	252,5	13,6
Цитозин	267	6,1
Цитидин	271	9,1
Урацил	259,5	8,2
Уридин	261,1	10,1
Тимин	264,5	7,9
Тимидин	267	9,7
ДНК	258	6,6
РНК	258	7,4

При переходе молекулы из основного состояния в возбужденное в ней происходит перераспределение зарядов, вызванное поглощением энергии света. Лишь переходы, вызывающие такое перераспределение, обладают заметной интенсивностью.

1.9. Формы спектров поглощения

Спектральные линии имеют конечную ширину, так как ширина уровней энергии, между которыми происходит оптический переход, имеет конечное значение, которое объясняется механизмом естественного уширения, основанным на квантово-механическом принципе неопределенности Гейзенберга с использованием коэффициента Эйнштейна, выражающего мощность спонтанного излучения и соответствующего электрическим дипольным переходам. Дополнительные механизмы уширения спектральных линий включают в себя: ударный, доплеровский механизмы и межмолекулярные взаимодействия в конденсированной среде.

В случае ударного механизма за счет столкновений система может переходить из основного состояния в возбужденное и наоборот, при этом ширина спектральных линий на несколько порядков выше естественной (рис. 1.11).

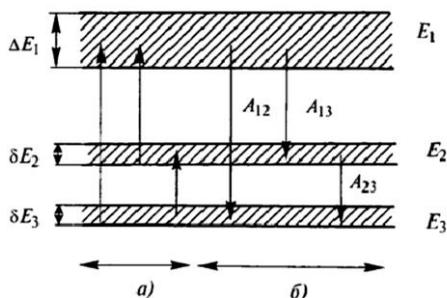


Рис. 1.11. Оптические переходы между энергетическими уровнями конечной ширины: а – поглощение; б – излучение

Доплеровское смещение частот происходит за счет теплового движения атомов (молекул) и рассчитывается по формулам для эффекта Доплера для неподвижного наблюдателя. Так как скорости распределены по закону Максвелла, то спектральная полоса ансамбля систем со смещенными частотами имеет гауссов контур (рис. 1.12).

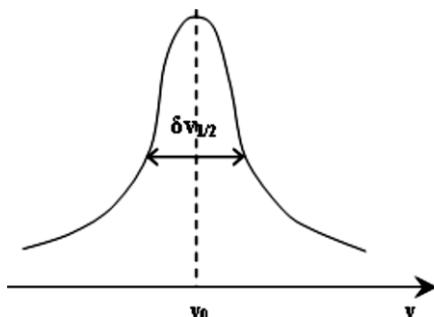


Рис. 1.12. Дисперсионный контур спектральной линии

Межмолекулярные взаимодействия в конденсированной среде могут быть классифицированы на два типа: вандерваальсовские (диполь-дипольные, диполь-индукционные и дисперсные) и специфические (водородная связь, комплексообразование и др.). Возникающий в этом случае потенциал межмолекулярных взаимодействий приводит к смещению уровней энергии системы, между которыми происходят оптические переходы.

Смещение возбужденного энергетического уровня происходит на большую величину, чем основного, так как возбужденное состояние соответствует менее связанному состоянию системы. Кроме того, потенциал межмолекулярных взаимодействий флуктуирует из-за флуктуаций межмолекулярного расстояния, локального изменения состава ближайшего окружения молекул и др., что также приводит к уширению уровней энергии.

Узкие линии атомов и молекул в газовой фазе превращаются в широкие (размытые) спектры поглощения, характерные для растворов биомолекул. Спектры поглощения вещества в газовом состоянии и в растворе представлены на рис. 1.13.

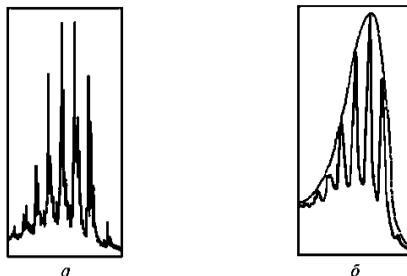


Рис. 1.13. Спектры поглощения: а – паров бензина; б – раствора бензина в спирте

Наблюдаемый эффект объясняется тем, что в растворителе и биологических системах каждая молекула хромофора окружена несколькими полярными молекулами среды, дипольные моменты которых создают локальные электрические поля. Энергия электронных переходов при наличии внешнего электрического поля несколько изменяется, а следовательно, происходит изменение длины волны света, поглощаемого при данном электронном переходе. Эти сдвиги в энергии электронного перехода для каждой молекулы зависят от ориентации молекул среды и расстояния до них в момент поглощения кванта. Величины энергии сдвигов не квантуются, они могут принимать (в определенных пределах) любые значения. Суперпозиция огромного числа смещенных линий поглощения, каждая из которых как бы соответствует индивидуальным молекулам, приводит к появлению плавной кривой поглощения раствора в целом.

Смещение уровней энергии, конденсированных по сравнению с газовой фазой, приводит к соответствующему смещению частот оптических переходов с поглощением и излучением, как правило, в длинноволновую область. Уширение уровней энергии вызывает уширение спектральных линий. Изменение частоты и полуширины спектральной линии при переходе газ – конденсированная среда представлены на рис. 1.14.

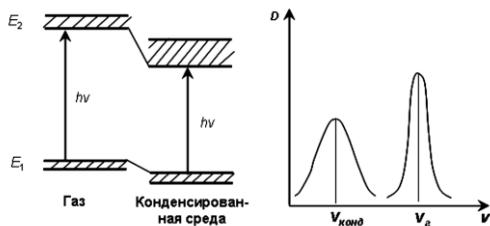


Рис. 1.14. Изменение частоты и полуширины спектральной линии при переходе газ – конденсированная среда

Электронные полосы поглощения имеют полуширину порядка десятков нанометров. За счет флуктуации межмолекулярных взаимодействий происходит уширение колебательно-вращательных линий и их слияние. Так как в конденсированной среде вращение заторможено, то интенсивность вращательных переходов ниже, чем в газе.

1.10. Электронно-возбужденные состояния молекул. Схема Яблонского

Первичными стадиями фотобиофизического процесса являются поглощение света хромофорной группой и образование электронно-возбужденных состояний (ЭВС). При поглощении света молекулы, ионы, атомы, радикалы и другие типы частиц, участвующих в химических превращениях, могут переходить в электронно-возбужденные состояния. В них происходит изменение физических и химических свойств молекул по сравнению с основным состоянием. Меняются дипольный момент, геометрия, распределение электронной плотности, кислотно-основные свойства и т. д., и молекулы в возбужденном состоянии обладают иной реакционной способностью, что проявляется не столько в изменении скорости реакции, сколько в их ином, по сравнению с основным состоянием, направлении. Поглощение и испускание света хорошо иллюстрирует диаграмма уровней энергии, предложенная Яблонским (рис. 1.13).

В основном состоянии все электроны занимают самые низшие электронные уровни и расположены на орбиталях попарно, причем их спины имеют противоположное направление (антипараллельны). Такое состояние молекулы называют синглетным невозбужденным (основным) состоянием и обозначают как S_0 . Так же обозначают энергетический уровень невозбужденной молекулы.

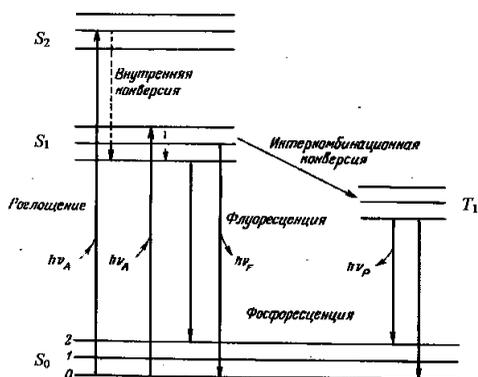


Рис. 1.13. Упрощенная диаграмма Яблонского

При поглощении света происходит переход одного из электронов на вышележащую орбиталь, но его спин не меняется. Такое состояние молекулы и ее энергетический уровень обозначают как S_1 или S_2 в зависимости от того, на какой уровень перешел электрон. Это синглетное возбужденное состояние иногда обозначают как S^* . Основное, первое и второе электронные состояния обозначают S_0 , S_1 , и S_2 соответственно. Каждый из этих уровней энергии может состоять из множества колебательных энергетических уровней, обозначаемых 0, 1, 2 и т. д. Влияние растворителя в данной схеме во внимание не принимается. Переходы между различными электронными уровнями обозначены вертикальными линиями. Такое представление используется, чтобы наглядно показать мгновенную природу поглощения света. Этот процесс происходит примерно за 10^{-15} с – время, слишком короткое для заметного смещения ядер (принцип Франка – Кондона).

Отношение R числа молекул в двух состояниях с разностью энергий ΔE определяется

$$R = e^{-\Delta E/kT},$$

где k – константа Больцмана; T – абсолютная температура, К. При комнатной температуре 300 К отношение R равно $\sim 0,01$. Следовательно, большинство молекул будет находиться в самом нижнем колебательном состоянии; именно такие молекулы и поглощают свет. Из-за большой разности энергий между уровнями S_0 и S_1 , по существу, ни у каких флуорофоров состояние S_1 не может быть заселено термическим путем. Даже малое термически активированное заселение первого возбужденного колебательного состояния молекул можно зарегистрировать, используя различные спектры поглощения при разных температурах. Потенциальные кривые основного и возбужденного состояния двухатомной молекулы и форма полосы поглощения представлены на рис. 1.14.

Относительные интенсивности переходов между колебательными уровнями двух электронных состояний, проявляющиеся в спектрах поглощения или испускания объясняются в рамках принципа Франка – Кондона.

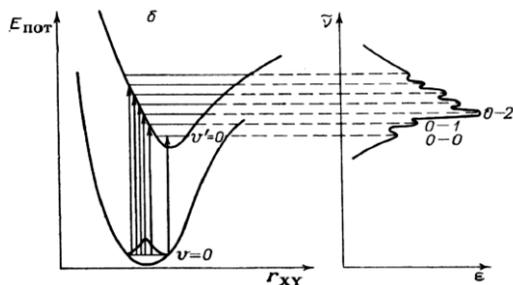


Рис. 1.14. Потенциальные кривые основного и возбужденного состояния двухатомной молекулы и форма полосы поглощения

Принцип Франка – Кондона состоит в том, что электронные переходы являются настолько быстрыми (10^{-14} – 10^{-15} с) по сравнению с движением ядер в молекуле (10^{-12} – 10^{-13} с), что за время электронного перехода относительное расположение ядер и их кинетическая энергия практически не изменяются (рис. 1.15). Отсюда следует, что переход можно представить вертикальной линией, соединяющей различные поверхности потенциальной энергии, причем наиболее вероятным окажется переход на тот колебательный уровень, который имеет то же значение межъядерного расстояния в точке поворота колебаний. Только в том случае, если равновесные межъядерные состояния в основном и возбужденном состоянии равны, то наиболее интенсивным является 0–0-переход. На рис. 1.15 показано, что наиболее вероятными переходами являются 0–0 и 0–2 при поглощении. Иные переходы менее вероятны, поскольку в них молекула должна мгновенно приобрести избыток кинетической энергии.

Поскольку с увеличением энергии колебательные уровни сближаются вплоть до достижения континуума и, кроме того, в многоатомной молекуле кривая потенциальной энергии переходит в многомерную поверхность, то данному электронному переходу соответствует множество колебательных переходов, расположенных достаточно близко и перекрывающихся с образованием широкой полосы поглощения. Общая форма полосы поглощения определяется принципом Франка – Кондона, а ее огибающая называется огибающей Франка – Кондона.

За поглощением света обычно следует несколько других процессов. Возбуждение флуорофора, как правило, происходит до некоторого

высшего колебательного уровня состояний (S_1 либо S_2). За некоторыми редкими исключениями для молекул в конденсированной фазе характерна быстрая релаксация на самый нижний колебательный уровень состояния S_1 . Этот процесс называется внутренней конверсией и происходит большей частью за 10^{-2} с. Поскольку типичные времена затухания флуоресценции близки к 10^{-8} с, внутренняя конверсия обычно полностью заканчивается до процесса испускания.

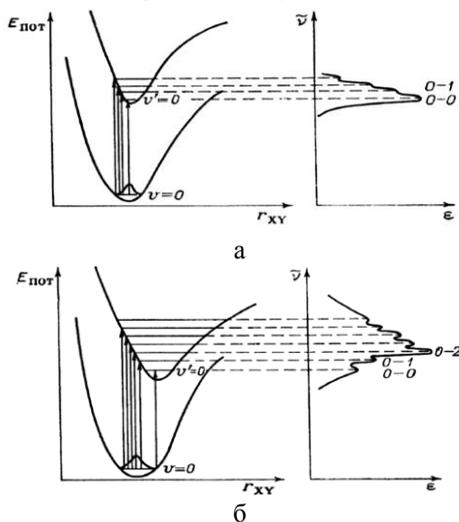


Рис. 1.15. Потенциальные кривые основного и возбужденного состояний двухатомной молекулы XY и форма полос поглощения: а – в случае одинаковых межъядерных расстояний; б – в случае различных межъядерных расстояний в основном и возбужденном состояниях

Следовательно, испускание флуоресценции чаще всего осуществляется из термически равновесного возбужденного состояния.

Аналогично поглощению обратный переход электронов на самый нижний электронный уровень также приводит к колебательно-возбужденному состоянию. Термическое равновесие достигается за время порядка 10^{-12} с.

Интересным следствием из такого рассмотрения является то, что спектр поглощения молекулы отражает колебательную структуру возбужденных электронных состояний, а спектр испускания –

колебательную структуру основного электронного состояния. В большинстве случаев электронное возбуждение не сильно изменяет расположение колебательных уровней энергии. В результате этого колебательные структуры, проявляющиеся в спектрах поглощения и испускания, сходны.

Молекулы в состоянии S_1 могут также подвергаться конверсии в первое триплетное состояние T_1 . Конверсия из S_1 в T_1 называется интеркомбинационной конверсией. Переход из T_1 в основное состояние запрещен, в результате чего константа скорости такого испускания на несколько порядков меньше соответствующей константы для флуоресценции.

При определенных условиях может произойти обращение спина электрона, находящегося на верхней орбитали возбужденной молекулы, при этом часть его энергии теряется. Состояние молекулы, содержащей два электрона с параллельными спинами, называется триплетным состоянием, а энергетический уровень электрона с обращенным спином называют триплетным уровнем. Прямой переход электрона с триплетного уровня T_1 на основной уровень S_0 невозможен, так как в этом случае на одной и той же орбитали оказались бы два электрона с параллельными спинами, что противоречит квантово-механическому принципу Паули. При определенной конфигурации молекулы и окружения электрон все же спускается вниз с одновременным обращением спина с высвечиванием фотона с меньшей энергией. Замедленное и более длинноволновое излучение из T_1 , называемое фосфоресценцией, обычно сдвинуто в сторону больших длин волн (меньших энергий) по сравнению с флуоресценцией.

дифракционные решетки **7** и **9**. Диапазон раскрытия входной и выходной щелей монохроматора от 0 до 4 мм (ширина щелей), высота щелей - 3 мм.

Узел светофильтра **11** служит для устранения излучения высших порядков дифракции.

Кюветное отделение **III** служит для размещения исследуемого образца. С помощью плоскопараллельной пластинки **13** на фотодиод **14** (типа ФДУК-2) отводится часть излучения с целью контроля нестабильности источника (опорный канал). Излучение, прошедшее кювету **15** с исследуемым образцом, регистрируется фотоприемником **16** измерительного канала. В качестве фотоприемного устройства используется кремниевый фотодиод типа ФДУК-2. Промежуточная щель обозначена цифрой **17**.

Спектрофотофлуориметр *СМ 2203* является полностью управляемым от компьютера. Он может применяться как в ультрафиолетовой, так и видимой области спектра. *СМ 2203* обеспечивает высокочувствительные и стабильные измерения спектров возбуждения, испускания, синхронных, поляризации, температурных, квантового выхода, поглощения жидких и твердых образцов. Высокая чувствительность, надёжность, широкая спектральная область работы и универсальный набор измерительных и программных функций обеспечивают применение *СМ 2203* в различных областях: медицине, биохимии, фармакологии, пищевой промышленности, экологии, химии, криминалистике.

Программные функции:

- Коррекция спектров возбуждения и испускания;
- Дифференцирование, интегрирование, сглаживание, интерполяция
- Представление спектров в шкале длин волн или волновых чисел;
- Арифметические действия между спектрами;
- Автоматический поиск максимумов и минимумов в спектре;
- Автоматический и ручной выбор масштаба изображения;
- Вывод на принтер спектров, кинетических кривых, таблиц;
- Создание и хранение методик с последующим выполнением по ним конкретных заданий;
- Сохранение условий и результатов измерений.

Технические характеристики:

- Чувствительность отношение сигнал/шум - не менее 160 для Рамановского спектра воды (при выделяемой спектральной полосе пропускания монохроматоров 5 нм и времени усреднения сигнала 2 сек.);
- Монохроматор двойные со сложением дисперсии;
- Выделяемый спектральный интервал произвольный: 0...15 нм;
- Точность установки длины волны $\pm 0,5$ нм;
- Спектральный диапазон 200...820 нм;
- Кюветное отделение однопозиционный термоэлектрически термостатируемый в диапазоне температур 10...60°C кюветодержатель с управляемой магнитной мешалкой;
- Минимальный объём образца 1 мл в стандартной 10 мм кювете;
- Режим спектрофотометра:
 - Спектральный диапазон 200...1100 нм;
 - Фотометрический диапазон - 0,3...3 Б;
 - Точность фотометрирования $< 3\%$ (в зависимости от величины поглощения);
- Интерфейс RS232;
- Энергопотребление 220 ($\pm 10\%$) В, 50Гц, 350 ВА;
- Вспомогательное оборудование устройство для поляризационных измерений, держатель твёрдых образцов, оптоволоконный зонд для измерения люминесценции вне кюветного отделения, "стандартный" люминесцирующий образец с широкодиапазонным спектром люминесценции.

Измерительные функции:

- Измерение спектров испускания, возбуждения, поляризации, поглощения, пропускания и синхронных;
 - Определение концентрации при использовании фактора, калибровки по одной точке, многоточечной калибровочной кривой;
 - Кинетические измерения на одной, двух, трех длинах волн;
 - Измерения относительного квантового выхода;
 - Многоволновые измерения люминесценции и поглощения;
- Измерение спектров зависимости люминесценции от температуры.

2.2. Оценка необходимой степени точности

Данные физических или химических измерений неизбежно включают некоторые ошибки или погрешности. Результатом отдельного экспериментального наблюдения является *измеряемое* значение X . Разность между X и *истинным* значением X_0 данной величины представляет собой ошибку конкретного измерения. На практике, однако, невозможно выполнить бесконечно большое число измерений. Точность результата чаще всего выражают с помощью *стандартного отклонения* s , которое представляет собой квадратный корень из второго момента распределения относительно среднего значения и является мерой точности результатов измерения. Стандартное отклонение вычисляется по формуле:

$$s = \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

где X_i – конкретное измеряемое значение; \bar{X} – среднее арифметическое значение; N – число измерений.

Источники ошибок:

1. Неверный выбор режима работы прибора.
2. Случайные ошибки при закреплении образца.
3. Изменение температуры и влажности помещения в процессе эксперимента.

2.3. Охрана труда

Опасность представляет использование электроприборов, ультрафиолетового излучения, а также растворы используемых соединений. Электромагнитное излучение эксилампы может вызвать повреждение глаз и кожи, которое обусловлено фотохимическими и тепловыми эффектами. В связи с этим облучение образцов проводить в вытяжном шкафу с закрытой шторкой, обязательно иметь защитные очки перед включением источника излучения и закрыть незащищенные участки кожи.

Приготовление растворов, их смешивание и помещение в кювету следует проводить в вытяжном шкафу в резиновых перчатках. Перед началом работы необходимо убедиться в исправности приборов, а также проверить:

- отсутствие токоведущих частей, доступных случайному прикосновению;

- правильность заземления установки;

- наличие защитных средств (защитные очки).

Во время работы запрещается:

- облучать растворы без специальных очков и халата;

- открывать блоки питания;

- оставлять установку без присмотра;

- работать на установке в отсутствие руководителя.

После окончания работы следует выключить установку в соответствии с инструкцией или устными распоряжениями руководителя. В случае неисправности прибора во время работы необходимо:

- отключить силовой рубильник и прекратить работу до устранения неисправности;

- в случае поражения током обесточить установку, освободить пострадавшего от действия тока, оказать первую медицинскую помощь и вызвать врача.

2.4. Методика

В условиях комнатной температуры рабочие растворы исследуемых молекул при концентрации $5,5 \cdot 10^{-5}$ моль \cdot л $^{-1}$ поместить в стеклянных стаканах диаметром 4,6 см в фотореактор с KгCl эксилампой. Расстояние от эксилампы до облучаемого раствора составляет 4,5 см. Объем облучаемого раствора составлял $V=50$ мл. При постоянном перемешивании с помощью механической мешалки облучить исследуемый раствор с определенными интервалами (0, 1, 2.5, 5, 10, 20, 40 и 60 мин). За время облучения максимальная поглощенная исследуемым раствором энергия составляет не более 10 Дж/см 3 . Изменение объема и температуры раствора фиксировать в течении облучения. Убыль исследуемого соединения контролировать по изменению оптической плотности в спектрах поглощения на длине волны $\lambda=308$ нм.

Раствор с добавлением окислителя приготовить из 34% водного раствора H $_2$ O $_2$. Вычислить конверсию исследуемого соединения по формуле:

$$X = \frac{C_0 - C}{C_0} = 1 - \frac{C}{C_0}, \quad (3.1)$$

где C – концентрация исследуемого соединения в процессе облучения (мг/мл); C_0 – концентрация исходного соединения в начальный момент облучения (мг/мл).

2.5. Порядок выполнения работы

Предлагаемая работа может быть разделена на два этапа: расчет кинетических уравнений и получение экспериментальных кривых конверсии вещества.

1. Изучить инструкцию по безопасности. Расписаться в журнале по технике безопасности.
2. Изучить руководство по эксплуатации прибора СМ2203.
3. Получить «нулевую линию» – водный раствор.
4. Снять спектр поглощения необлученного образца, не забывая записывать «нулевую линию» после каждых 3 измерений.
5. Получить спектры поглощения исследуемого соединения в этанольном и водно-этанольном растворах в присутствии и отсутствии H_2O_2 .
6. Найти закономерные изменения в спектрах поглощения исследуемых растворов.
7. Облучить растворы в реакторе.
8. Построить кривые конверсии.
9. Сделать заключение.
10. С помощью рассматриваемого метода сделать выводы об изменении скорости конверсии исследуемого соединения при добавлении окислителя.

2.6. Контрольные вопросы

1. Что такое поглощение?
2. Назовите фотофизические процессы, которые происходят в молекуле после поглощения кванта света?
3. Какие изменения наблюдаются в спектрах поглощения и флуоресценции исследуемой молекулы при введении в раствор добавки?
4. Составьте уравнение фотодеградации молекулы в растворе.
5. Приведите основной вид кинетики фотораспада молекулы в растворе.
6. Перечислите основные части рабочей установки.
7. Для чего нужна «нулевая линия»?
8. Что такое фотосенсибилизатор? Псорален?

Список используемой литературы

1. Лакович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии. – М.: Мир, 1986. – 488 с.
2. Паркер С. Фотолюминесценция растворов. – М.: Мир, 1972. – 510 с.
3. Пентин Ю.А., Вилков Л.В. Физические методы исследования в химии // Резонансные и электрооптические методы. – М.: Высшая школа, 1989. – 288 с.
4. Непорент Б.С. Молекулярная фотоника / Под ред. А.А. Красновский. – Л.: Наука, 1970. – 440 с.
5. Теренин А.Н. Фотоника молекул красителей. – Л.: Наука, 1967. – 616 с.
6. Беккер Г.О. Введение в фотохимию органических соединений. – Л.: Химия, 1976. – 379 с.
7. Барлтроп Дж., Койл Дж. Возбужденные состояния в органической химии. – М.: Мир, 1978. – 445 с.
8. Крашенников А.А. Спектроскопия фотопревращений в молекулах. – Л.: Наука, 1977. – С. 46 – 61.
9. Шмидт В. Оптическая спектроскопия для химиков и биологов. – М.: Техносфера, 2007. – 368 с.
10. Фотобиофизика. Версия 1.0 [Электронный ресурс] : электрон. учеб. пособие / И. Е. Суковатая, В. А. Кратасюк, В. В. Межевикин и др. – Электрон. дан. (9 Мб). – Красноярск : ИПК СФУ, 2008.

Содержание

Введение.....	4
1. Теоретическая часть.....	6
1.1. Объекты исследования.....	6
1.2. Общая характеристика новых окислительных технологий.....	9
1.3. Уравнения кинетической модели фототрансформации молекул.....	10
1.4. Применение модели к этанольным растворам.....	12
1.5. Расчет необходимого количества перекиси водорода.....	14
1.6. Поглощение света молекулой. Поглощение и пропускание монохроматического света растворами.....	15
1.7. Зависимость поглощения света от химического состава, концентрации и геометрических факторов молекул.....	20
1.8. Спектры поглощения и химическая структура биологически важных соединений.....	27
1.9. Формы спектров поглощения.....	31
1.10. Электронно-возбужденные состояния молекул. Схема Яблонского.....	35
2. Техника и методика эксперимента.....	40
2.1. <i>UV-VIS</i> спектрометр <i>СМ 2203</i>	40
2.2. Оценка необходимой степени точности.....	43
2.3. Охрана труда.....	44
2.4. Методика.....	45
2.5. Порядок выполнения работы.....	46
2.6. Контрольные вопросы.....	47
Список используемой литературы.....	48

Издание подготовлено в авторской редакции

Отпечатано на участке цифровой печати
Издательского Дома Томского государственного университета

Заказ № 3037 от «22» февраля 2018 г. Тираж 50 экз.