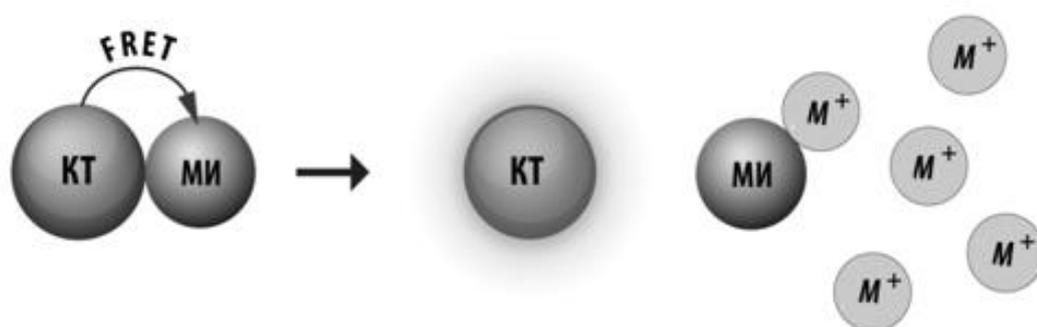


Ю.А. Громова, И. В. Мартыненко, А.О. Орлова

ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОСТРУКТУР

Лабораторный практикум



Санкт-Петербург

2014

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ, МЕХАНИКИ И ОПТИКИ**

Ю.А. Громова, И. В. Мартыненко А.О. Орлова

**ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ
НАНОСТРУКТУР**

Лабораторный практикум



Санкт-Петербург

2014

Громова Ю. А., Мартыненко И.В., Орлова А. О. Практическое использование наноструктур. – СПб: НИУ ИТМО, 2014. – 93 с.

Лабораторный практикум предназначен для обучения магистров по направлению 200700 Фотоника и оптоинформатика и содержит описание 9 лабораторных работ к дисциплине «Практическое использование наноструктур». Практикум также может быть рекомендован студентам старших курсов физико-технических специальностей, а также магистрантам, специализирующимся в области применения оптических методов в нанотехнологиях.

Рекомендовано к печати Ученым советом факультета Фотоники и оптоинформатики. Протокол совета №6 от 13.06.2013



© Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, 2014

© Громова Ю. А., Мартыненко И.В., Орлова А. О., 2014

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
Лабораторная работа №1 «Условия формирования и оптические свойства J-агрегатов псевдоизоцианина»	5
Лабораторная работа №2 "Измерение спектров поглощения и флуоресценции смешанных растворов полупроводниковых квантовых точек"	24
Лабораторная работа №3 "Оптические характеристики матриц с внедренными квантовыми точками"	34
Лабораторная работа №4 "Оптические характеристики многослойной полимерной люминесцентной метки на основе квантовых точек"	45
Лабораторная работа №5 Люминесцентные свойства многоцветной метки на основе квантовых точек в твердой матрице.....	50
Лабораторная работа №6 Оптические свойства водных растворов полупроводниковых квантовых точек и органических соединений.....	64
Лабораторная работа №7 «Оптические свойства комплексов квантовых точек с органическими молекулами в водных средах»	71
Лабораторная работа №8 «Условия формирования и характеристики металлокомплексов азокрасителей».....	82
Лабораторная работа №9 «Условия формирования и оптические характеристики комплексов квантовых точек с молекулами азокрасителя»	88

ВВЕДЕНИЕ

Лабораторный практикум к дисциплине «Практическое использование наноструктур» по магистерской программе «Оптика наноструктур» разработан с учётом специфики подготовки магистрантов по направлению «Фотоника и оптоинформатика».

Основная цель настоящего лабораторного практикума: привить студентам навыки научно исследовательской работы в области физики наноструктур и продемонстрировать широкие возможности использования методов оптической и люминесцентной микроскопии в различных научных экспериментах при исследовании наноструктурированных материалов. Кроме того, практикум позволяет продемонстрировать широкие возможности исследования квантовых точек в научных экспериментах различного назначения.

Описания лабораторных работ содержат краткие теоретические сведения. В их основу легли экспериментальные методики и результаты ряда научно-исследовательских работ, сравнительно недавно выполнявшихся Санкт-Петербургском национальном исследовательском университете информационных технологий, механики и оптики.

Лабораторная работа №1.

УСЛОВИЯ ФОРМИРОВАНИЯ И ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА J-АГРЕГАТОВ ПСЕВДОИЗОЦИАНИНА

ЦЕЛИ РАБОТЫ:

- приобретение навыков регистрации узкополосных спектров поглощения и люминесценции;
- определение концентраций псевдоизоцианина в электролите, достаточных для формирования J-агрегатов.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ:

- спектрофотометр UV Probe 3600 (Shimadzu, Japan);
- спектрофлуориметр Cary Eclipse (Varian, Australia);
- фотометрические кюветы;
- псевдоизоцианин иодид;
- диметилсульфоксид;
- электролит;
- дозаторы.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

1. Поглощение света веществом

Электронные спектры – это молекулярные спектры, обусловленные квантовыми переходами молекулы из одного электронного состояния в другое.

Электронные спектры поглощения органических соединений находятся в УФ и видимой областях спектра. В подавляющем большинстве случаев воспринимаемый нами цвет окрашенных предметов есть результат избирательного поглощения веществом определенных цветов в непрерывном спектре. Спектр поглощения и есть объективная характеристика поглощательной способности вещества по отношению к свету различных длин волн.

Согласно теории поглощения света молекула может поглотить только тот квант света, энергия которого соответствует разнице энергии между двумя энергетическими уровнями молекулы:

$$h\nu = E_i - E_j$$

Колебательное или вращательное движение молекул тоже квантуется, т.е. колебательная или вращательная энергия поглощается или теряется только дискретными порциями.

На рисунке 1.1 приведена упрощенная схема энергетических уровней органической молекулы. Основное электронное состояние обозначается как S_0 , возбужденные синглетные состояния как S_1 , S_2 и т.д. Каждому из этих состояний соответствует набор колебательных состояний, показанных на рисунке 1.1 тонкими линиями. Они, в свою очередь, расщепляются на тесно расположенные вращательные уровни (не показаны на рисунке).

При нормальных условиях большинство молекул находятся в основном электронном состоянии S_0 и при поглощении света переходят в одно из высших возбужденных состояний.

В электронных спектрах поглощения проявляются переходы из основного (S_0) в возбужденные состояний S_1 , S_2 , ..., S_n , но также могут проявляться полосы, соответствующие переходам на колебательные уровни возбужденных состояний.

Интенсивность полосы поглощения или, другими словами, поглощательную способность вещества на определенной длине волны характеризует молярный коэффициент экстинкции ϵ , который для органических молекул обычно лежит в пределах от 10^3 до 10^5 моль⁻¹см⁻¹.

Зависимость коэффициента экстинкции от длины волны падающего на образец излучения называется спектром поглощения вещества. В случае однокомпонентного раствора коэффициент экстинкции может быть выражен через зарегистрированную оптическую плотность образца с помощью закона поглощения света Бугера-Ламберта-Бера:

$$e = D / C \cdot l \quad (1.1),$$

$D = \lg(I_0 / I)$ – оптическая плотность; I_0 – интенсивность падающего излучения; I – интенсивность прошедшего через образец излучения; C – молярная концентрация (моль/литр); l – длина оптического пути (см).

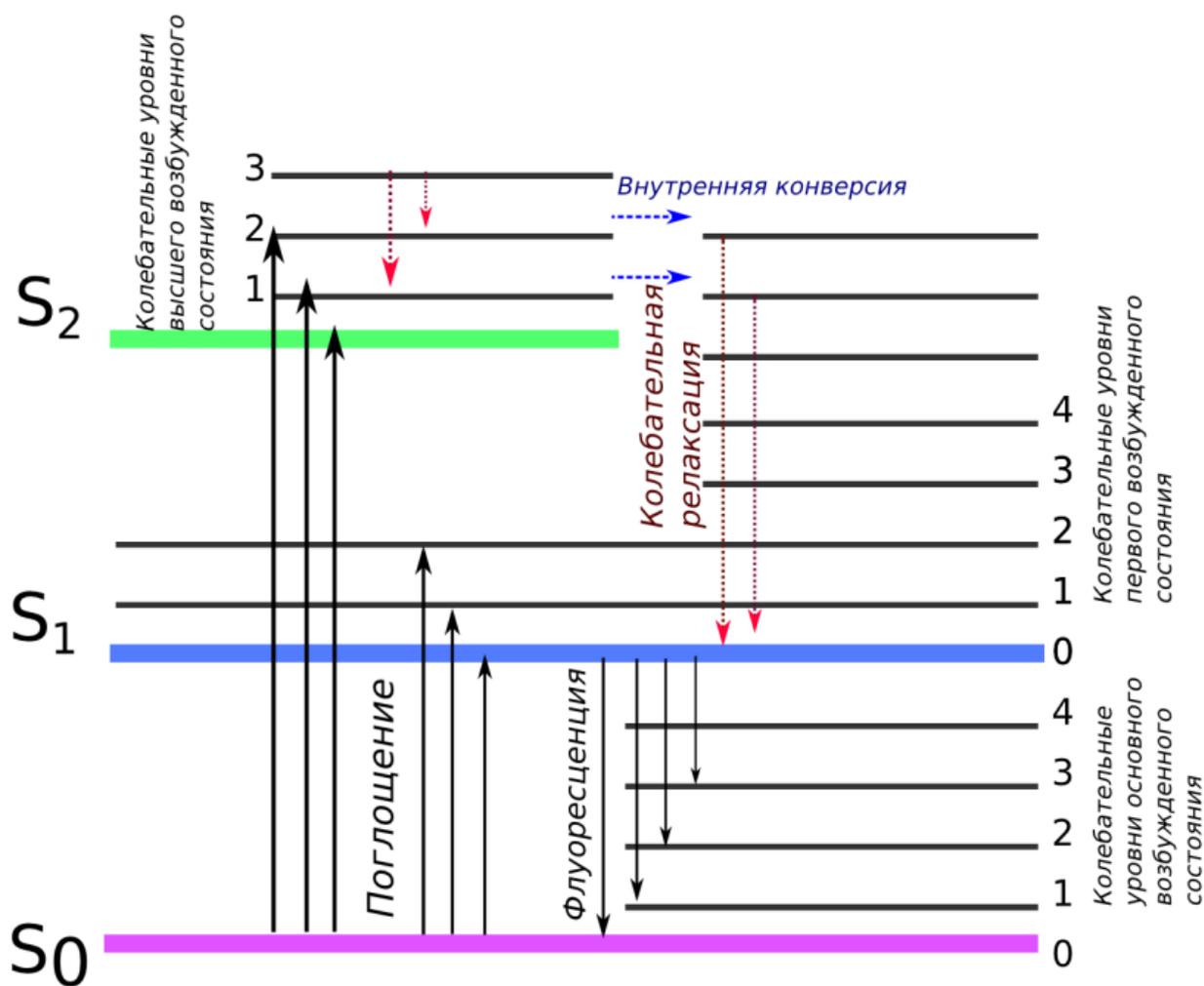


Рисунок 1.1. Схема энергетических уровней органических молекул.

2. Явление флуоресценции

При поглощении фотона электрон переходит на одну из свободных орбиталей (т.е. на новый энергетический уровень) и молекула оказывается в возбужденном состоянии. В зависимости от длины волны поглощенного излучения, молекула может оказаться в любом из возможных возбужденных состояний (см. рис. 1.1).

Молекула, попавшая на верхние колебательные уровни любого возбужденного состояния, быстро теряет избыток колебательной энергии при столкновениях с окружающими молекулами (этот процесс, называемый колебательной релаксацией, показан вертикальными пунктирными стрелками на рис. 1.1). В возбужденных состояниях выше первого возможна внутренняя конверсия – переход электрона с нижних колебательных уровней верхнего возбужденного состояния на равные по

энергии верхние колебательные уровни низшего возбужденного состояния. Как только происходит внутренняя конверсия, молекула теряет избыток колебательной энергии в результате колебательной релаксации. В результате этих процессов, имеющих высокие константы скоростей, молекула, находящаяся в любом из высших возбужденных состояний, быстро оказывается на нижнем колебательном уровне первого электронно-возбужденного состояния. Однако внутренняя конверсия из этого уровня в основное состояние – значительно более медленный процесс. Поэтому в первом электронном состоянии наблюдаются процессы испускания. Молекула испускает флуоресценцию при переходе с уровня 0 состояния S_1 на любой колебательный уровень основного состояния.

Образование электронно-возбужденных молекул может быть не только результатом поглощения ими квантов света, но и следствием химических реакций, электрического разряда и др. Поэтому в зависимости от источника энергии при возбуждении молекул говорят о разных типах люминесценции. Рассмотренная выше флуоресценция является одной из разновидностей фотолюминесценции, т.е. люминесценции, возбуждаемой светом.

Общее определение люминесценции было дано выдающимся советским ученым, академиком Сергеем Ивановичем Вавиловым: «Люминесценцией тела в данной спектральной области называют избыток излучения над температурным при условии, что это избыточное излучение обладает конечной длительностью, превышающей период световых колебаний».

Люминесценцию, возникшую в результате освещения молекул, называют фотолюминесценцией. Свечение, сопровождающее химические реакции, называется хемилюминесценцией (слабая хемилюминесценция сопровождает, например, свободно радикальное цепное окисление органических соединений, включая липиды). Многие живые организмы, например светляки, бактерии, некоторые морские организмы, способны испускать интенсивный свет в результате реакций, катализируемых специфическими ферментами; такое свечение называют биолюминесценцией. В физике известны явления термолюминесценции, электролюминесценции, сонолюминесценции, триболлюминесценции. Эти термины указывают на то, что причиной образования электронно-возбужденных молекул в этих случаях является нагревание образцов, пропускание электрического тока, воздействие ультразвуком, трение поверхностей.

3. Законы люминесценции

Схема на рис. 1.1 позволяет объяснить эмпирические законы люминесценции, которые и послужили основой для создания самой схемы.

Это правило Стокса-Ломмеля, правило Каши, правило Левшина и закон Вавилова.

3.1. Правило Стокса-Ломмеля

Спектром люминесценции (флуоресценции или фосфоресценции) называют зависимость:

$$I = f(\lambda) \quad (1.2),$$

где I – интенсивность люминесценции в относительных единицах, измеренная на длине волны λ . Согласно правилу Стокса-Ломмеля, максимум спектра люминесценции лежит в более длинноволновой области по сравнению с длинноволновой полосой поглощения того же соединения. Это означает, что средняя энергия квантов флуоресценции меньше средней энергии поглощенных квантов. Причина такого явления уже была отчасти рассмотрена выше – это превращение части энергии поглощенного фотона в тепловую энергию окружающих молекул. При комнатной температуре поглощение происходит с нулевого уровня основного с основного уровня основного состояния, а испускание – с нулевого уровня первого возбужденного состояния. Поэтому только один переход, называемый 0-0 переход, имеет одинаковые значения энергии для поглощения и флуоресценции, а остальным переходам соответствуют большие или меньшие энергии. Пересечение спектров поглощения и люминесценции соответствует длине волны 0-0 перехода.

3.2 Правило Каши

Правило Каши относится к форме спектра флуоресценции при возбуждении объекта светом разных длин волн. Как было рассмотрено выше, испускание кванта флуоресценции всегда происходит с первого возбужденного состояния, что определяется соотношением констант скоростей внутренней конверсии и колебательной релаксации с верхних состояний, и скоростей испускания. Это означает, что какой бы длиной волны ни была возбуждена молекула, излучение будет происходить из одного и того же состояния молекулы, и спектр флуоресценции во всех случаях будет одинаковым. Следовательно, спектр флуоресценции не зависит от длины волны возбуждающего излучения.

3.3 Правило Левшина

Правило Левшина, называемое также законом зеркальной симметрии, утверждает, что спектры флуоресценции по форме зеркально симметричны длинноволновой полосе спектра поглощения, если они построены в шкале частот (энергий). Иллюстрацией этого правила могут служить спектры поглощения и флуоресценции антрацена, приведенные на рис. 1.2. Форма

полос поглощения и флуоресценции определяется распределением колебательных уровней состояний S_0 и S_1 по энергиям и вероятности переходов на них. Это распределение часто одинаково для основного и первого возбужденного состояния и геометрия молекул в электронно-возбужденном состоянии мало изменяется по сравнению с основным состоянием.

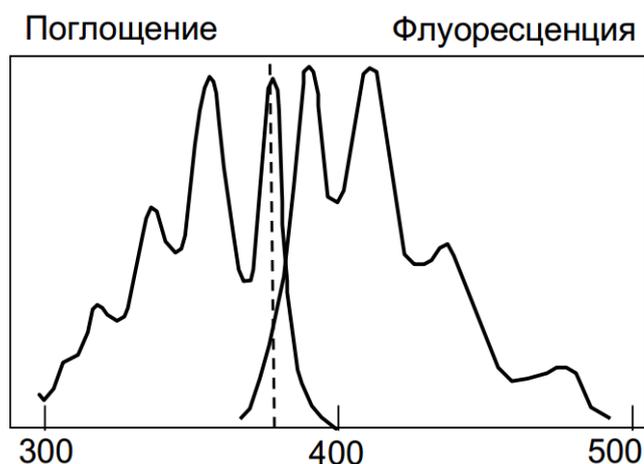


Рисунок 1.2. Правило зеркальной симметрии спектров поглощения и флуоресценции (правило Левшина).

3.4 Закон Вавилова

Закон Вавилова заключается в том, что квантовый выход флуоресценции не зависит от длины волны возбуждения люминесценции. Квантовым выходом люминесценции называют отношение числа квантов, высвеченных в виде люминесценции, к числу поглощенных образцом квантов. Очевидно, что эта величина может принимать значения от 0 до 1.

От чего зависит квантовый выход? Поглощение кванта света в области основного электронного перехода приводит к образованию молекулы в возбужденном состоянии (см. рис. 1.1) т. е. в состоянии S_1 . Вероятность перехода молекулы из состояния S_0 в состояние S_1 при поглощении фотона равна единице и не зависит от длины волны поглощенного фотона. Излучательный переход молекулы с нижнего подуровня возбужденного состояния происходит с вероятностью η , меньшей единицы, и сопровождается высвечиванием кванта флуоресценции. Очевидно, что η и есть квантовый выход флуоресценции. Он меньше единицы, поскольку есть некоторая вероятность $(1 - \eta)$ безызлучательных переходов в основное состояние непосредственно или через триплетное состояние, а также других способов растраты энергии.

$$n = \frac{\text{Число квантов флуоресценции}}{\text{Число поглощенных квантов}} \quad (3)$$

Сущность закона Вавилова состоит в том, что на каком бы уровне возбужденного состояния ни оказалась молекула при поглощении фотона (а это зависит от длины волны возбуждающего света), вопрос о том, быть ли переходу излучательным или нет, решается только после того как молекула растратила часть энергии возбуждения в тепло (разную в разных случаях) и оказалась на нижнем колебательном подуровне нижнего уровня возбужденного состояния (где она находится дольше всего).

4. *J*-агрегаты псевдоизоцианиновых красителей

Полиметиновые красители представляют важный класс органических соединений, имеющих большое практическое применение, прежде всего в фотографическом процессе. Одной из замечательных способностей молекул полиметиновых красителей является их ***склонность к агрегации путем самосборки***. В зависимости от строения молекул красителей и их окружения они образуют агрегаты различного строения и состава, начиная от простейших – димеров (сложных молекул, составленных из двух более простых молекул, называемых мономерами) и заканчивая сложными полимолекулярными образованиями, такими как *H*- и *J*-агрегаты.

Особый интерес представляют **J-агрегаты**. Последние имеют упорядоченную структуру и специфические свойства, что, в частности, проявляется в способности *J*-агрегатов выступать в качестве спектральных сенсбилизаторов в фотографическом процессе. В последнее время были найдены новые перспективные применения *J*-агрегатов. В частности, при создании светодиодных устройств, для преобразования частоты лазерного излучения и др. Оптические и транспортные свойства *J*-агрегатов помимо строения молекул красителей определяются их собственной морфологией и молекулярно-кристаллическим строением, поэтому получение достоверной информации о *J*-агрегатах необходимо для успешного создания оптоэлектронных наноматериалов с новыми полезными свойствами.

Механизм самообразования *J*-агрегатов заключается в образовании нитевидных макромолекул красителей псевдоизоцианонового ряда при больших концентрациях красителя в растворах в присутствии галоидных анионов (F^- , Cl^- , Br^- и т.п.). Плоские молекулярные катионы красителя в нитевидных макромолекулах ориентированы параллельно друг другу наподобие колоды карт. При этом они образуют в макромолекуле обобществленную электронную систему, составленную из сопряженных π -орбиталей отдельных молекул. Эта упорядоченная полимерная агрегация

обратимо переходит в состояние беспорядочной ассоциации или распадается при изменении условий (растворителя, температуры и т.п.).

При образовании макромолекул такого рода максимум полосы поглощения катионов исчезает, заменяясь исключительно узким и высоким пиком поглощения, сдвинутым в длинноволновую область относительно положения полос мономерной формы. Ширина этой новой полосы примерно в десять раз меньше мономерной полосы, значения коэффициента экстинкции составляют $4.3 \times 10^4 \text{ Мл}^{-1} \text{ см}^{-1}$ вместо обычного значения $0.5-1 \times 10^4 \text{ Мл}^{-1} \text{ см}^{-1}$. Природа аниона на положении максимума *J*-полосы не сказывается.

Спектр люминесценции *J*-агрегатов состоит также из очень узкого максимума, почти точно совпадающего с узким максимумом полосы поглощения. Следует отметить, что мономерные молекулярные ионы псевдоизоцианиновых красителей, на которые распадаются *J*-агрегаты, имеют достаточно низкий квантовый выход люминесценции. Поэтому, на практике не удастся зарегистрировать сигнал люминесценции от мономерной формы псевдоизоцианина.

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ:

- раствор ПИЦ в ДМСО;
- раствор *J*-агрегатов ПИЦ в электролите.

ОПИСАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ УСТАНОВОК

1. Спектрофотометр

Для измерений спектров поглощения в лабораторной работе используется спектрофотометр UV-probe 3600, который предназначен для проведения спектральных исследований в широкой области спектра – от УФ до ближнего ИК.

Спектрофотометр серии UV3600 имеет предварительный монохроматор с двумя решетками и основной монохроматор также с двумя решетками. Это и есть двойной монохроматор, в котором используется 4 решетки. UV3600 способен выполнять различные измерения в широком спектральном диапазоне от 185 нм в УФ области до 3300 нм в ближней ИК области.

На рисунке 1.3 приведена оптическая схема спектрофотометра. Свет от дейтериевой лампы (D2) или галогенной лампы (W1) собирается зеркалом M1 и проектируется на входную щель S1 (ширина и высота щели фиксированы). Переключение источников света полностью автоматическое – источник света выбирается в соответствии с длиной волны. После включения прибора и установки связи с программой UVProbe происходит инициализация прибора, при которой зеркало

поворачивается к источнику так, чтобы получить максимальный световой поток. Белый свет, проходя через щель S1, попадает в предварительный монохроматор, который состоит из зеркала и двух вогнутых дифракционных решеток, которые используются в зависимости от длины волны. Белый свет после щели S1 отражается и разлагается решеткой в спектр в плоскости промежуточной щели. Монохроматический свет через щель попадает в основной монохроматор типа Черни – Тернера, который содержит две плоских дифракционных решетки и два зеркала. Дифракционные решетки используются в зависимости от длины волны. Свет, разложенный основным монохроматором, собирается на выходной щели S2. Щели S2 и промежуточная работают вместе и могут переключаться в 11 положений. Свет, проходящий через выходную щель (S2), фильтруется от дифракционных максимумов более высокого порядка на фильтре F. Затем свет отражается на зеркале M2 и попадает на светоделитель, который состоит из зеркал (M3-5) и модулятора. Здесь свет делится модулятором на луч канала образца и канала сравнения.

В спектрофотометре UV-3600 используются три детектора: ФЭУ и полупроводниковые на InGaAs и PbS. Высокая чувствительность схемы измерения и крайне низкий уровень рассеянного света позволяют решать новые технологические задачи.

Программное обеспечение UV-Probe дает возможность работать в следующих режимах:

- спектральный - регистрация поглощения, пропускания или отражения, сканирование по длине волны с возможностью последующей обработки спектра (определение положения максимумов и минимумов, арифметические операции, расчет площади, сглаживание, обратные величины, логарифмирование, производная с 1 до 4 порядка);
- фотометрический (количественный) - измерение на одной или нескольких (до 3) выбранных длинах волн, построение градуировочной кривой методом К-фактора, одноточечным или многоточечным;
- кинетический - регистрация изменения измеряемой величины во времени;
- генератор отчетов - свободное или по шаблону размещение материала (спектры, таблицы, комментарии и др.).

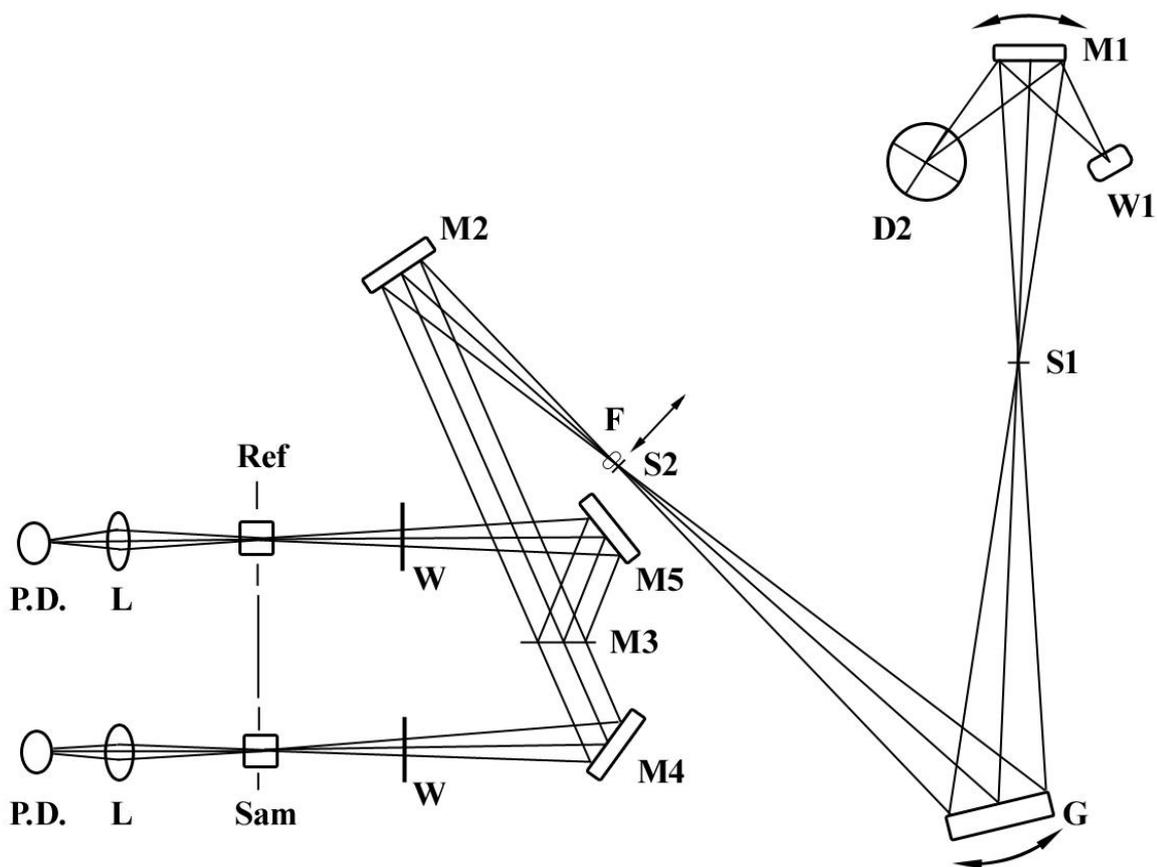


Рисунок 1.3. Оптическая схема спектрофотометра: D2 - Дейтериевая лампа; W1 - Галогенная лампа; F – Фильтр; G - Дифракционные решетки; S1 - Входная щель; S2 - Выходная щель; W - Window пластины; M1-M5 - Зеркала (M3 - полу-зеркало); L – Объектив; Ref – Канал сравнения; Sam - Канал образца; PD – Фотодиоды.

1.2 Подготовка спектрофотометра к работе

Перед проведением измерений прибор нужно включить и подготовить к работе следующим образом:

1. Включить прибор в сеть.
2. Включить компьютер, с которым связан прибор.
3. Запустить на компьютере программу для проведения измерений «UV-Probe», с помощью которой и осуществляется полное управление процессом работы прибора.
4. Нажать кнопку соединения с прибором «Connect», после чего запустится процесс инициализации, в ходе которого будет проверено состояние всех функциональных составляющих на готовность к работе (рис. 1.4).

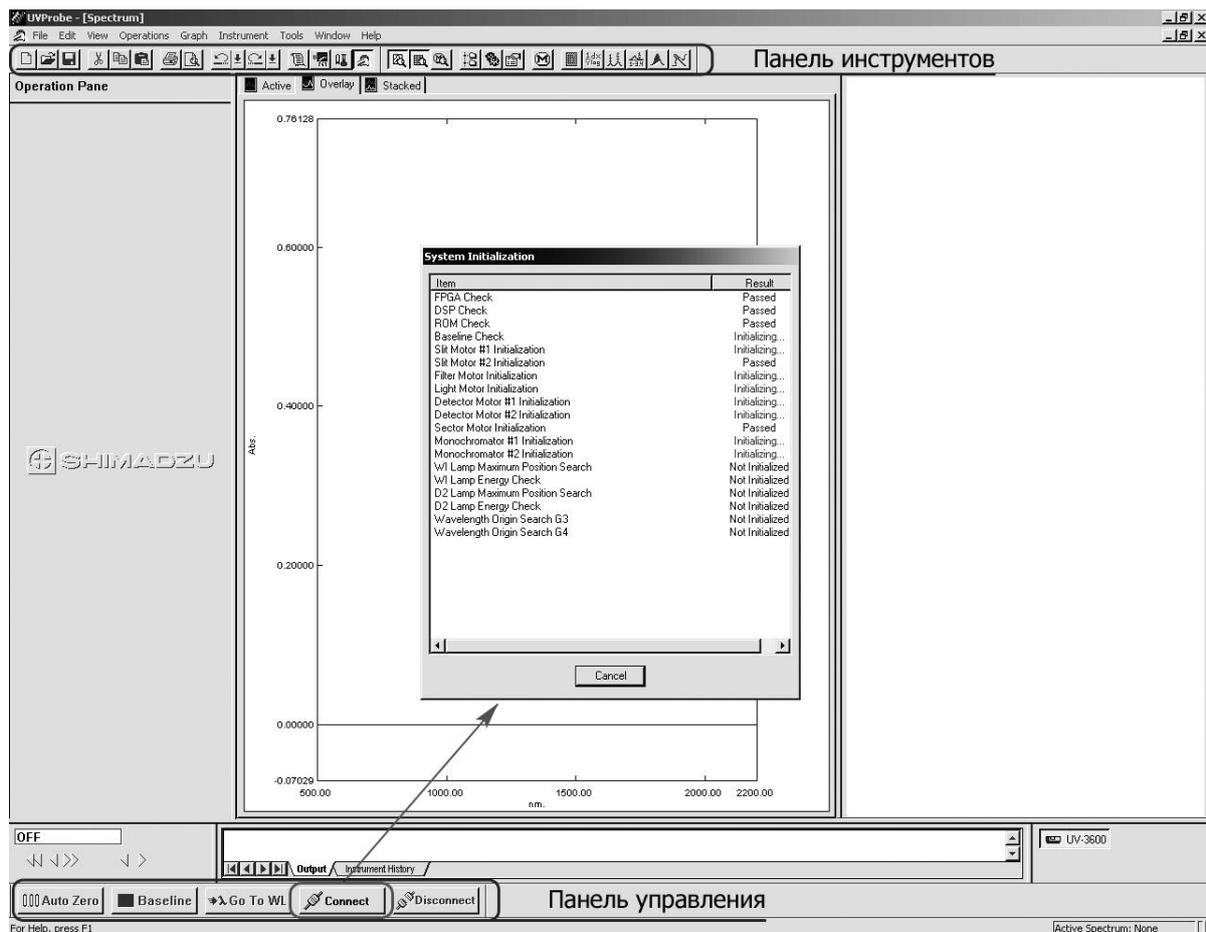


Рис.1.4. Вид главного окна программы управления спектрофотометром в процессе установки соединения прибора с компьютером.

5. Установить параметры регистрации в окне «Spectrum Method», вызываемым кнопкой «М» на панели инструментов (альтернативный путь: «Edit → Method...»), рисунок. 1.4. Необходимо установить следующие значения параметров (рис.1.5):

Wavelength range: Start 800 to End 200

Scan Speed: medium

Sampling interval: 1.0

Scan Mode: Single

6 Для изменения ширины щелей монохроматора необходимо в меню «Spectrum Method» перейти в раздел «Instrument Parameters» и в выпадающем списке 'Slit Width' выбрать необходимое значение (рис.1.6).

7. На панели управления нажать кнопку «Baseline», ввести диапазон измерений: от 800 до 200 нм, и прописать базовую линию, нажав кнопку «OK» диалогового окна.

8. Нажать кнопку «Go To WL» и перевести прибор на длину волны 500 нм.

9. Произвести обнуление, нажав кнопку «Auto Zero».

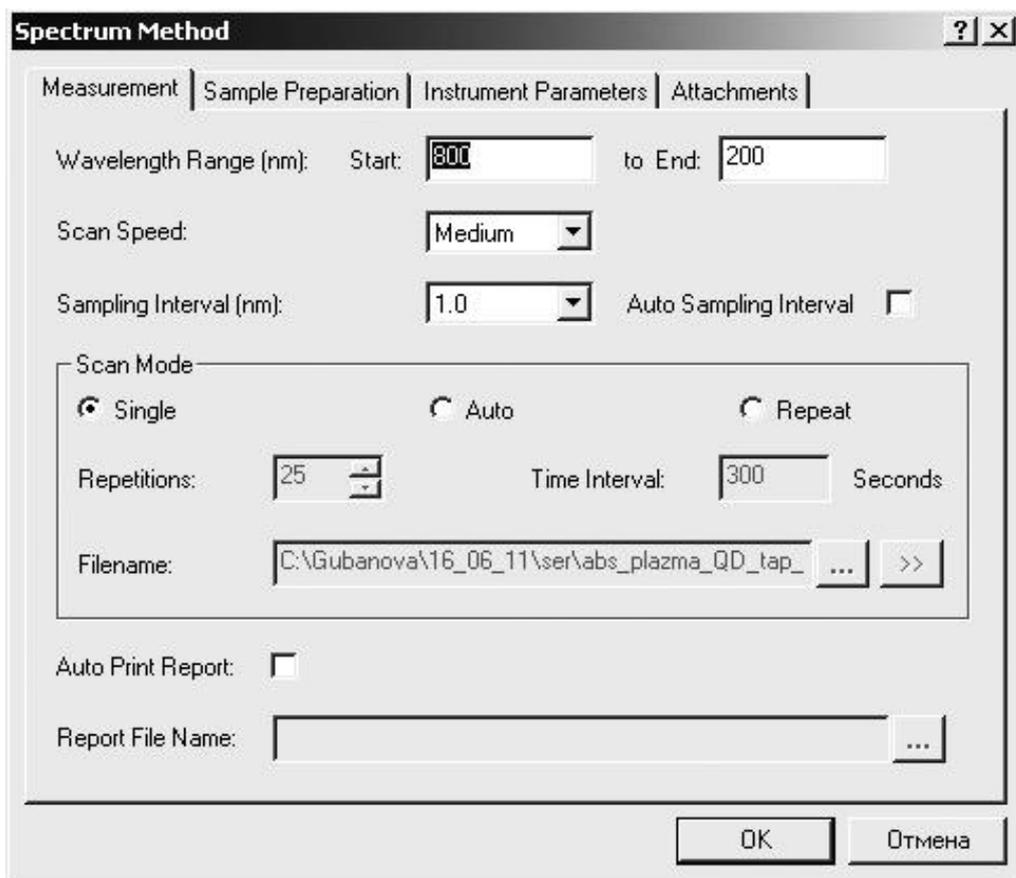


Рис.1.5. Вид окна программы управления спектрофотометром, в котором задается область сканирования спектров.

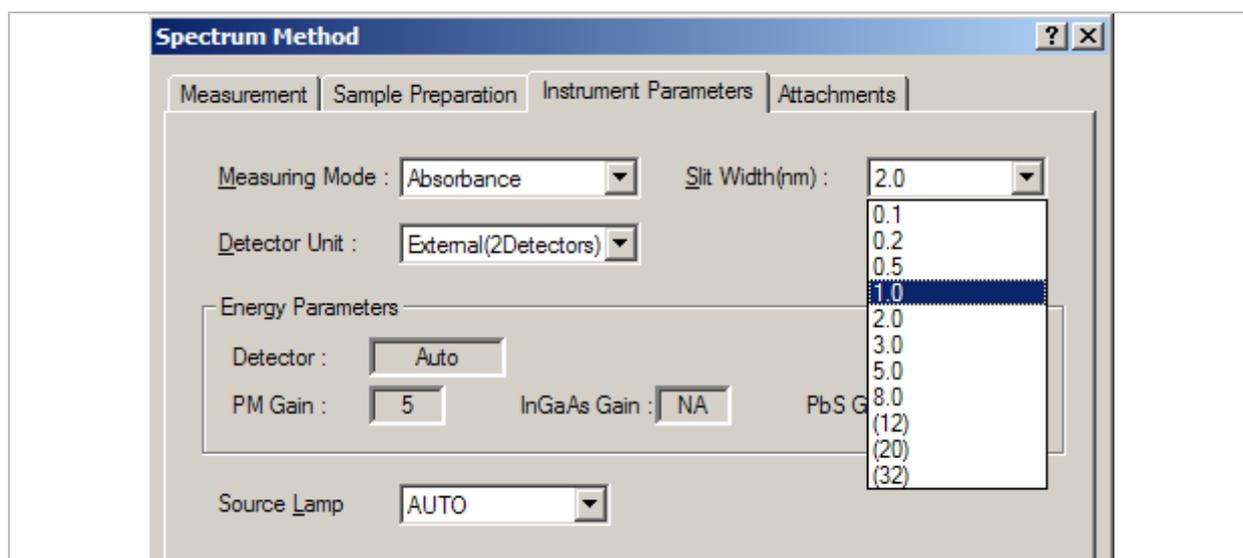


Рис.1.6. Вид окна программы управления прибором, в котором устанавливается ширина щели монохроматора.

10. После приведенной выше настройки и подготовки прибора, необходимо измерить спектр воздуха для контроля точности. Измерение спектров производится по нажатию кнопки «Start» на нижней панели. Сохранение полученного спектра выполняется в соответствии с пунктом 3 «Сохранение полученных данных».

После проведения вышеперечисленных действий прибор готов к работе.

1.2. Регистрация спектров поглощения

Для измерения спектральных характеристик образца необходимо установить в кюветное отделение прибора кювету с образцом. Кюветное отделение должно плотно закрываться крышкой до щелчка. После того, как образец установлен, произведена подготовка прибора и установлены нужные параметры, для начала измерения нужно нажать кнопку «Start» в программе «UV-Probe». Будет записан некоторый спектр, который необходимо сохранить.

1.3. Сохранение полученных данных

Сохранение в программе «UV-Probe» производится в два этапа:

1. Сразу после того, как измерение закончилось, на экране появляется диалоговое окно «New Data Set» (рис. 1.7), в котором нужно ввести имя файла и выбрать место предполагаемого сохранения, нажав кнопку «...». Далее после нажатия кнопки «ОК» в этом диалоговом окне, пользователь сохраняет файл в собственном формате программы.

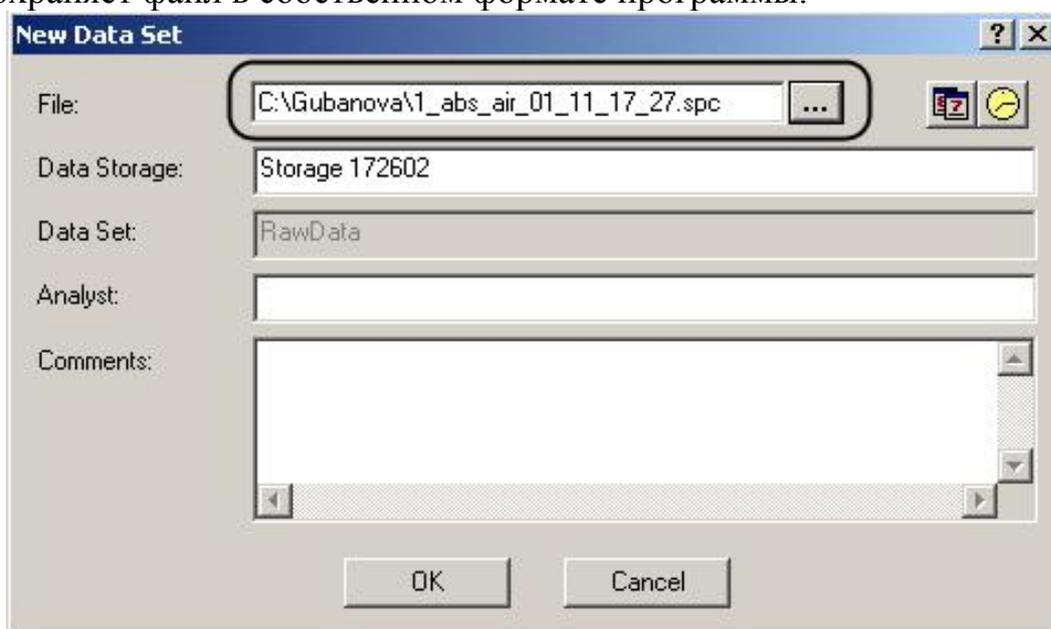


Рис.1.7. Вид окна программы управления спектрофотометром, которое открывается после окончания регистрации спектров.

2 После того, как спектр сохранен в формате программы, его нужно сохранить на жесткий диск или любой другой хранитель информации. Для этого нужно выполнить команду «File – Save as...». В открывшемся диалоговом окне убедиться (рисунок 8), что указано нужное имя файла и место сохранения, и сохранить файл в двух форматах: Spectrum Files (*.spc) и Data Print Table (*.txt). Первый тип файла сохраняет программный файл, а с помощью второго можно построить спектр в любой программе работы с графиками и произвести обработку данных.

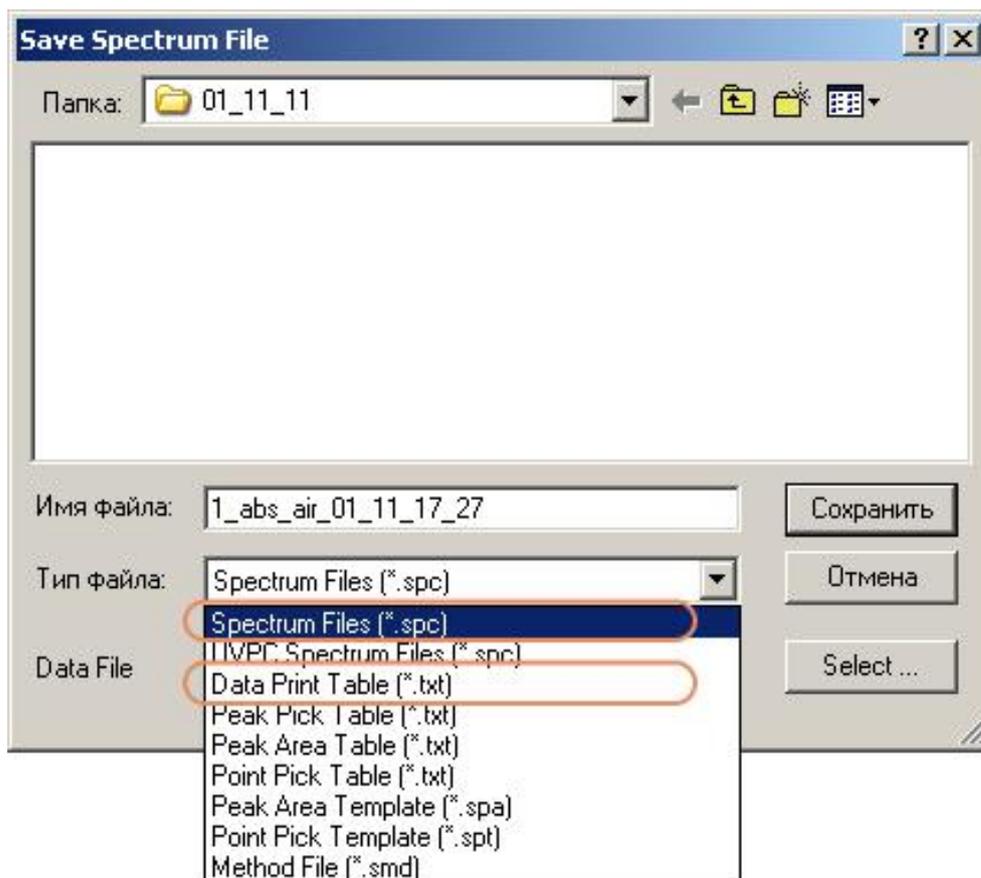
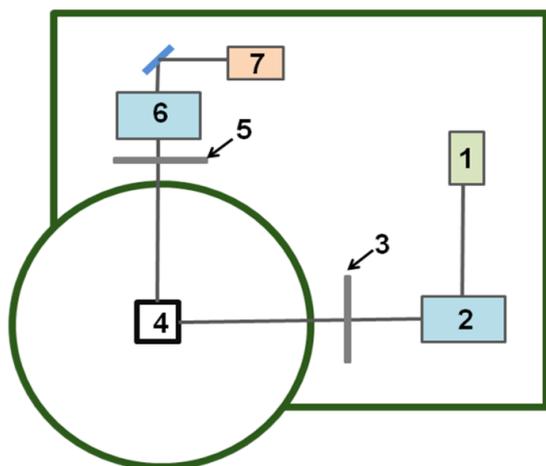


Рис.1.8. Вид окна программы управления спектрофотометром, в котором задается имя и тип файла для хранения зарегистрированных спектров.

2. Спектрофлуориметр

В работе регистрация спектров флуоресценции образцов производится на спектрофлуориметре Cary Eclipse (Varian). Принципиальная схема прибора приведена на рис. 1.9.



- 1 - источник излучения
- 2, 6 – монохроматоры
- 3, 5- система встроенных фильтров
- 4 – образец
- 7 – ФЭУ

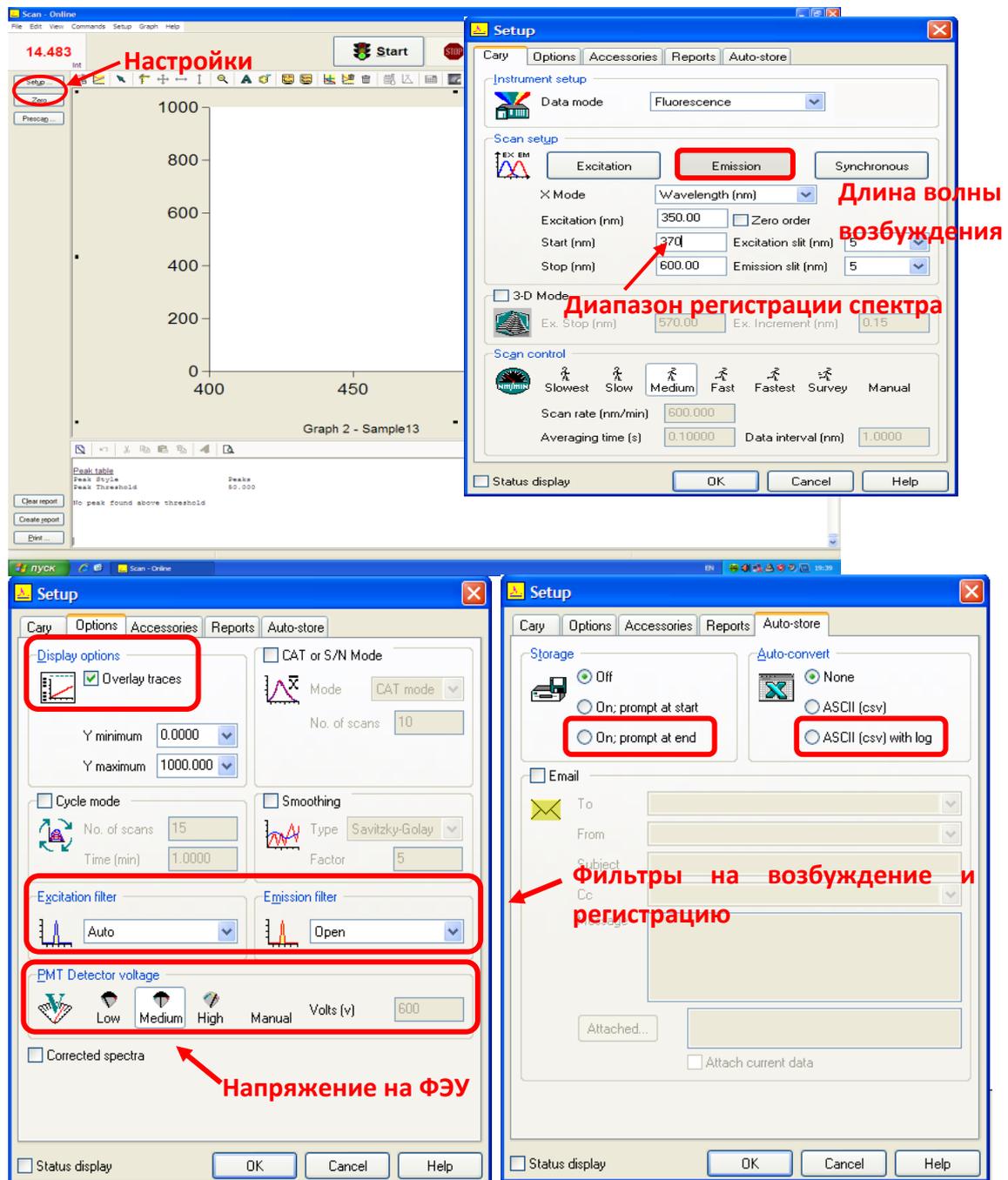
Рис. 1.9. Принципиальная схема спектрофлуориметра Cary Eclipse (Varian).

В качестве источника излучения используется ксеноновая импульсная лампа, свет от которой попадает на монохроматор Черни-Тернера, представляющей собой дифракционную решетку. В приборе реализована схема регистрации люминесценции под углом в 90 градусов. Излученный образцом свет так же проходит через монохроматор и подается на фотоэлектронный умножитель (ФЭУ).

2.1. Подготовка спектрофлуориметра к работе

1. Включить компьютер и прибор.
2. Запустить программу «Scan».
3. В меню настройки («Setup») выбрать регистрацию спектров флуоресценции и используя спектры поглощения исследуемых веществ, полученные в ходе выполнения первой части работы или предоставленные преподавателем перед началом работы, выбрать длину волны возбуждения флуоресценции образцов и спектральный диапазон регистрации спектра флуоресценции. Диапазон регистрации флуоресценции выбрать таким образом, чтобы зарегистрировать весь спектр флуоресценции. Для растворов флуорофоров длина волны возбуждения флуоресценции выбирается исходя из следующих условий: 1) поглощение флуорофора на данной длине волны отлично от нуля; 2) возбуждение флуоресценции на данной длине волны позволяет полностью зарегистрировать спектр флуоресценции.
4. Во вкладке «Options» поставить галочку перед «Overlay traces», в этом случае все регистрируемые спектры будут отображаться в одном окне. Для фильтров выбрать режим «Auto». В этой же вкладке, если при записи спектра произойдет переполнение ФЭУ и пики флуоресценции окажутся срезаны, можно снизить напряжение на ФЭУ. Во вкладке «Auto-

store» можно выбрать сохранение спектра после записи и автоматическое создание файла с расширением .csv.



5. Зарегистрировать спектры флуоресценции предложенных образцов. Для этого установить образцы в кюветное отделение, убедиться, что кювета установлена прозрачной стороной к возбуждающему свету и детектору. Закрывать крышку прибора и нажать кнопку «Start» в основном окне программы. Сохранить зарегистрированный спектр.

6. Для оформления отчета сохранить на электронном носителе (flash, CD, DVD) зарегистрированные в процессе работы спектры образцов в виде файлов с расширением .csv и файлы, содержащие спектры поглощения исследованных в работе веществ, ранее зарегистрированных в ходе проведения работы.

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

В работе исследуются оптические свойства молекул псевдоизоцианина иодида (ПИЦ) в диметилсульфоксиде и *J*-агрегатов ПИЦ в электролите.

1. Измерение спектра поглощения мономерной формы псевдоизоцианина в ДМСО

Измерение спектров поглощения раствора ПИЦ в ДМСО (образец «1») с помощью спектрофотометра UV-probe 3600.

Для этого нужно выполнить следующие действия.

1. Включить прибор и подготовить его к измерениям, как указано в разделе «Описание лабораторной установки», пункт 1.
2. Получить у преподавателя раствор ПИЦ в ДМСО.
3. Разбавить данный раствор в 100 раз (образец «1»).
4. Установить кювету с образцом «1» в кюветное отделение.
5. Приступить к измерению, нажав кнопку «Start» («Описание лабораторной установки», пункт 2).
6. Полученный спектр сохранить («Описание лабораторной установки», пункт 3).

2. Определение условий формирования и спектрально-люминесцентных свойств J-агрегатов

На этом этапе работы необходимо определить условия формирования *J*-агрегатов ПИЦ. Для этого необходимо сделать несколько последовательных добавок микроколичеств концентрированного раствора мономерной формы ПИЦ в ДМСО в кювету с электролитом и определить минимальную концентрацию молекул ПИЦ в смеси ДМСО и электролита, достаточную для образования *J*-агрегатов ПИЦ. После каждой добавки ПИЦ в электролит проводится регистрация спектров поглощения образца. При достижении необходимой концентрации ПИЦ в образце в спектре поглощения появится новая узкая полоса, соответствующая поглощению *J*-агрегатов. На этом шаге проведения измерений необходимо зарегистрировать спектр люминесценции образца на спектрофлуориметре Cary Eclipse (Varian).

Порядок проведения измерений:

1. Получить у преподавателя необходимые вещества, фотометрические кюветы с длинами оптического пути 0.2 и 1 см и дозаторы.

2. Приготовить раствор ПИЦ в электролите с минимальной концентрацией ПИЦ, заведомо недостаточной для образования J -агрегатов (образец «2»). Для этого налить в кювету с длиной оптического пути 1 см 3.5 мл электролита и добавить 5 мкл раствора ПИЦ.

3. Произвести измерение спектров поглощения образца «2» в соответствии с пунктами 1-5 предыдущего раздела (измерение спектров поглощения мономерной формы ПИЦ).

4. Постепенно увеличивая концентрацию ПИЦ в образце «2» путем добавления микроколичеств ПИЦ, добиться образования J -агрегатов с отчетливой узкой полосой поглощения. После каждой добавки регистрировать спектр поглощения. Необходимым требованием выполнения этого этапа работы является уменьшение ширины щелей монохроматора прибора до их минимальных значений, так как полоса поглощения исследуемых J -агрегатов является чрезвычайно узкой (см. описание лабораторной установки, пункт 1.6, выбрать ширину щелей «1»).

5. В случае формирования J -агрегатов в образце «2» после произведенных добавок ПИЦ (в спектре поглощения исследуемого раствора обнаружена отчетливая полоса J -агрегатов), необходимо измерить спектры люминесценции образца «2» на спектрофлуориметре Cary Eclipse Varian. Для этого необходимо выполнить следующие действия:

5.1 Перелить образец «2» в фотометрическую кювету с длиной оптического пути 0.2 см.

5.2. Включить прибор и подготовить его к измерениям, как указано в разделе «Описание лабораторной установки», пункты 2.1 – 2.3.

5.3. Установить кювету с образцом «2» в кюветное отделение под углом 45° к направлению распространения возбуждающего оптического излучения.

5.4 Приступить к измерению, нажав кнопку «Start» («Описание лабораторной установки», пункт 2.4).

5.5 Полученный спектр сохранить («Описание лабораторной установки», пункт 2.5).

После измерения спектров поглощения и люминесценции образцов получить у преподавателя значение коэффициента экстинкции мономерной формы ПИЦ ($\epsilon_M(\lambda)$).

ОБРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ

1. Определение оптической плотности.

1.1 Построить графики спектров поглощения образцов $D(\lambda)$, импортировав в программу обработки спектральных данных (например, “Origin” или “MSEXel”) файлы данных спектров поглощения с расширением *.txt (файл - экспортировать.. - ASCII).

1.2 Из анализа полученных спектров поглощения определить:

$D(\lambda)_{max}$ - величину оптической плотности в максимуме полосы поглощения для которой получен коэффициент экстинкции, в спектрах поглощения мономерных форм ПИЦ в ДМСО и *J*-агрегатов ПИЦ.

2. Определение концентрации органических молекул

Рассчитать концентрации ПИЦ в образцах «1» и «2», пользуясь формулой Бугера-Ламберта-Бера (1.1). На основании полученных спектров поглощения *J*-агрегатов определить концентрацию псевдоизоцианина в электролите, достаточную для формирования *J*-агрегатов.

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА:

1. Принципиальная схема спектрофотометра и спектрофлуориметра.
2. Спектры поглощения и люминесценции мономерной формы и *J*-агрегатов ПИЦ, зарегистрированных в стандартной и тонкой кюветах.
3. Полученные у преподавателя характеристики образцов (коэффициенты экстинкции). Таблица с результатами необходимых вычислений.
4. Дать оценку концентраций псевдоизоцианина в электролите, достаточных для формирования *J*-агрегатов ПИЦ.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

Чем обусловлен вид спектра поглощения органических молекул?

1. Какие переходы наблюдаются в электронных спектрах поглощения?
2. Какие физические величины связывает между собой закон Бугера-Ламберта-Бера?
3. Дать определение понятию флуоресценция.
4. Чем обусловлено относительное расположение спектров поглощения и флуоресценции вещества?
5. Дать определение понятию *J*-агрегаты.
6. При каких условиях формируются *J*-агрегаты?
7. Провести анализ спектров люминесценции *J*-агрегатов ПИЦ, зарегистрированных в стандартной и тонкой кюветах. Чем обусловлено расхождение в форме спектров люминесценции в данном случае?

РЕКОМЕНДОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Harvey D. Modern Analytical Chemistry, Boston, 2000, 798 p.
2. В.В. Егоров, М.В. Алхимов. «Теория *J*-полосы: от экситона Френкеля к переносу заряда», 2007. УФН, том 177, № 10.
3. А.Н. Теренин. Фотоника молекул красителей и родственных органических соединений. «Наука», Л., 1967, 616 с..
4. Паркер. Фотолюминесценция растворов. М: Мир, 1972.

Лабораторная работа №2.

ИЗМЕРЕНИЕ СПЕКТРОВ ПОГЛОЩЕНИЯ И ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ СМЕШАННЫХ РАСТВОРОВ ПОЛУПРОВОДНИКОВЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

ЦЕЛИ РАБОТЫ:

- приобретение навыков формирования многокомпонентного люминесцирующего раствора квантовых точек с заданным соотношением интенсивности флуоресценции отдельных компонентов;
- приобретение навыков первичной обработки и анализа экспериментальных данных.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ:

- спектрофотометр UV Probe 3600 (Shimadzu, Japan);
- спектрофлуориметр Cary Eclipse (Varian, Australia);
- фотометрические кюветы
- полупроводниковые квантовые точки двух размеров;
- неполярные растворители

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

1. Полупроводниковые квантовые точки

Квантовые точки (КТ) — коллоидные полупроводниковые нанокристаллы. Квантовые точки, созданные на основе неорганических полупроводниковых материалов (Si, InP, CdTe, CdSe, и т.д.), состоят из 10^3 – 10^5 атомов и имеют характерные размеры от 2 до 10 нанометров. Квантовые точки по своим размерам больше органических молекул (~ 1 нм при содержании не больше 100 атомов). Коллоидные квантовые точки объединяют физические и химические свойства молекул с оптоэлектронными свойствами полупроводников.

В таких нанокристаллах, вследствие малых размеров, существенны квантово-размерные эффекты. Они играют ключевую роль в оптоэлектронных свойствах КТ. Энергетический спектр квантовой точки существенно отличается от спектра объёмного полупроводника. В квантовой точке движение носителей заряда пространственно ограничено по всем трём измерениям, поэтому электрон в таком нанокристалле ведёт себя как в трёхмерной потенциальной “яме”. Это приводит к тому, что энергетический спектр кристалла из непрерывного превращается в

дискретный, и возникает эффект размерного квантования. Имеется несколько стационарных уровней энергии для электрона и дырки с характерным расстоянием между ними: $\frac{\hbar^2}{2md^2}$, где d – это размер

квантовой точки. Таким образом, энергетический спектр квантовой точки зависит от её размера. Как и в случае перехода между уровнями энергии в атоме, при переходе носителей заряда между энергетическими уровнями в квантовой точке может излучиться либо поглотиться фотон.

Частотами переходов, т.е. длиной волны поглощения или флуоресценции, легко управлять, меняя размеры квантовой точки (рис.2.1). Поэтому квантовые точки ещё часто называют “искусственными атомами”. В терминах полупроводниковых материалов это можно назвать возможностью контроля эффективной ширины запрещенной зоны.

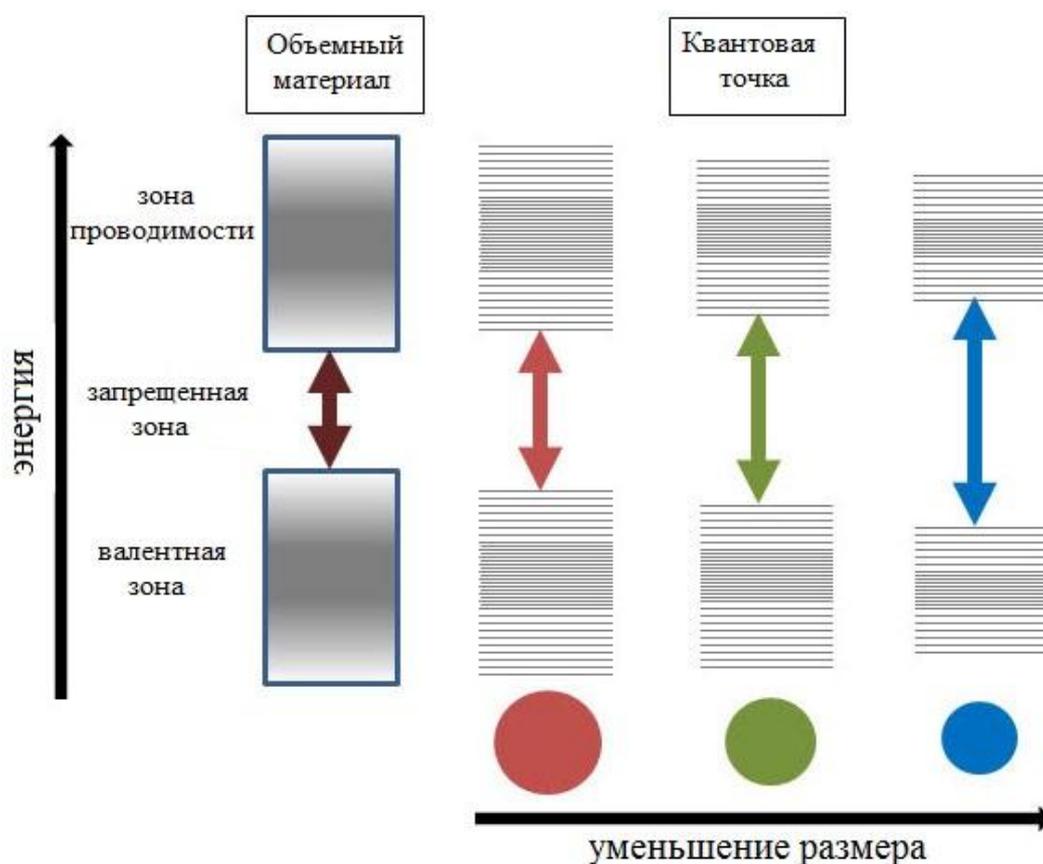


Рисунок 2.1. Трансформация зонной структуры полупроводника при уменьшении размера

Ещё одно замечательное свойство, отличающее квантовые точки от объёмных полупроводников – это возможность существования их в виде растворов, а точнее в виде золей.

2 Особенности спектров поглощения и флуоресценции растворов КТ

Коллоидные квантовые точки являются хорошей альтернативой традиционным органическим и неорганическим люминофорам. Они превосходят их по фотостабильности, яркости флуоресценции, а также: протяженным спектром поглощения в видимой и ближней УФ области, хорошей поглощательной способностью (коэффициент молярной экстинкции достигает $\sim 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), достаточно узкой полосой флуоресценции, высоким квантовым выходом флуоресценции ($\sim 80\%$), длительным временем затухания флуоресценции ($\sim 20 \text{ ns}$), а также высокой химической стойкостью. Это открывает широкие возможности для эффективного применения квантовых точек в качестве флуоресцентных меток и сенсоров и позволяет им успешно конкурировать с традиционными органическими красителями для детектирования и диагностики в биологии и медицине. Квантовые точки также применяются в оптоэлектрических системах, таких как: светоизлучающие диоды и плоские светоизлучающие панели, лазеры, ячейки солнечных батарей и фотоэлектрических преобразователей.

Дискретная структура энергетических уровней квантовых точек проявляется в первую очередь в спектрах поглощения. На рис. 2.2 представлены спектры поглощения растворов CdSe КТ разных размеров. Благодаря узкому распределению КТ по размерам на спектрах хорошо различаются полосы поглощения, соответствующие межзонным оптическим переходам между различными электронными и дырочными квантовыми состояниями.

В оптических свойствах КТ квантово-размерный эффект проявляется и в спектрах флуоресценции, которая соответствует энергии рекомбинации электрон-дырочной пары, приводя к изменению положения полосы флуоресценции в зависимости от размера КТ.

Как и в случае органических молекул, спектры флуоресценции всегда сдвинуты относительно полосы поглощения, что обусловлено тем, что в нанокристаллах с гексагональной структурой в переходах поглощения и излучения участвуют разные дырочные подзоны, а также потерей энергии возбуждения на фононные колебания.

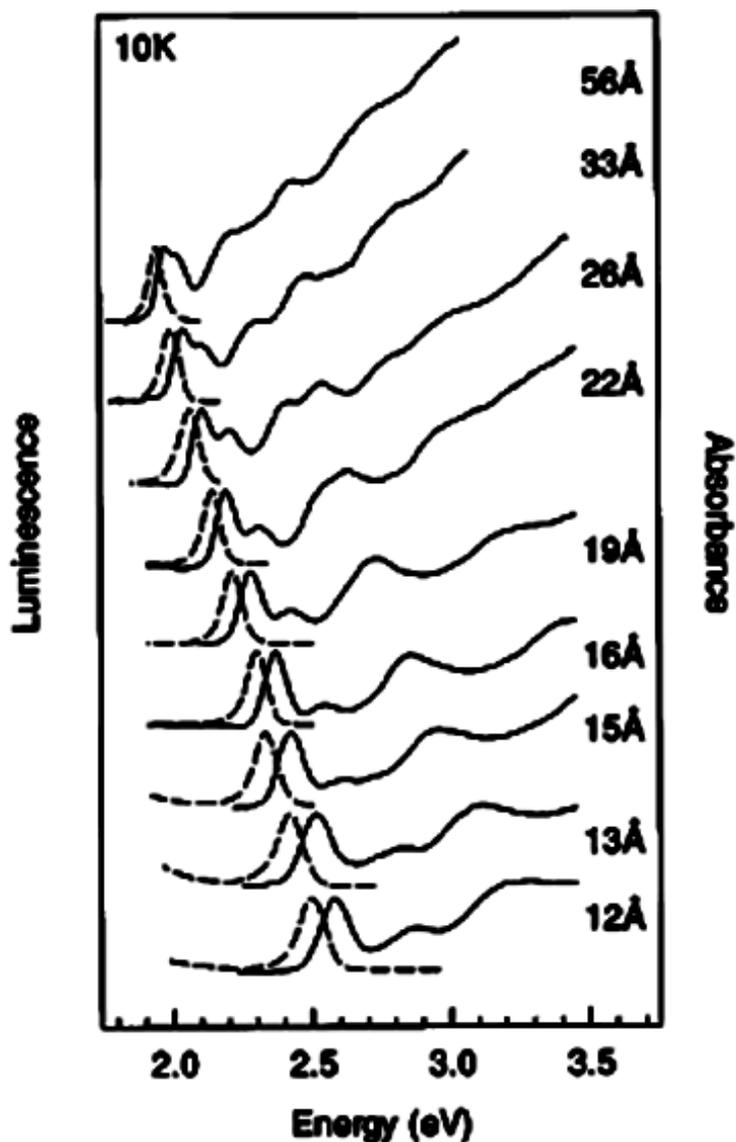


Рис. 2.2. Спектры поглощения нанокристаллов CdSe с радиусом от 1.2 до 5.6 нм [1].

3. Интенсивность флуоресценции при возбуждении светом с определенной длиной волны

Энергетическая структура полупроводниковых квантовых точек схожа с атомарными уровнями энергии. Наличие у КТ фононных степеней свободы приводит к тому, что квантовые точки с точки зрения их энергетической структуры оказываются ближе к молекулярным системам, чем к атомам. Это позволяет применять к данным наночастицам теорию поглощения и испускания света, разработанную для органических молекул. Для квантовых точек одного размера также должен выполняться закон Вавилова – независимость спектра флуоресценции от длины волны возбуждающего излучения. Однако даже в пределах одного синтеза формируются нанокристаллы с дисперсией по размерам в 5 – 15%.

Вследствие этого нанокристаллы характеризуются средним размером ядра. Наличие эффекта размерного квантования приводит к тому, что спектр поглощения коллоидного раствора полупроводниковых квантовых точек одного среднего размера представляет собой суперпозицию спектров поглощения нанокристаллов разного размера, входящих в ансамбль. Вследствие этого при возбуждении флуоресценции квантовых точек в области длинноволновой полосы поглощения (положение этой полосы для КТ одного размера соответствует разнице энергий между верхним энергетическим уровнем в валентной зоне и самым нижним энергетическим уровнем в зоне проводимости полупроводниковой наночастицы) спектр флуоресценции ансамбля нанокристаллов одного среднего размера зависит от длины волны возбуждающего света. В то же время при возбуждении квантами света с большей энергией в силу сильного перекрытия энергетических уровней наночастиц квантовые точки разного размера из ансамбля возбуждаются практически с одинаковой вероятностью. Из этого следует, что зависимость спектра флуоресценции коллоидного раствора полупроводниковых квантовых точек одного среднего размера от длины волны возбуждающего излучения начинает проявляться только в длинноволновой полосе поглощения. Поэтому можно считать, что при возбуждении флуоресценции КТ за пределами данной полосы для раствора квантовых точек, как и в случае органических молекул, спектр флуоресценции ансамбля квантовых точек одного среднего размера не зависит от длины волны возбуждающего света.

Связь интенсивности флуоресценции с коэффициентом поглощения легко найти, используя закона Ламберта-Бугера-Бера:

$$D = \varepsilon Cl \quad (2.1)$$

где $D = \lg(I_0/I)$ – оптическая плотность; I_0 – интенсивность падающего излучения; I – интенсивность прошедшего через образец излучения; ε – коэффициент экстинкции ($\text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$), C – молярная концентрация (моль/литр); l – длина оптического пути (см).

При низких концентрациях интенсивность флуоресценции определяется выражением:

$$I_f \approx K' \varphi_f \varepsilon C I_0 \quad (2.2)$$

где K' – геометрический фактор, зависящий от конфигурации регистрирующей установки, φ_f – квантовый выход флуоресценции.

Данное уравнение помогает понять, как изменяется интенсивность флуоресценции в зависимости от длины волны возбуждающего света. Если с изменением длины волны возбуждающего света его интенсивность остается постоянной, интенсивность флуоресценции однокомпонентного

раствора определенной концентрации будет пропорциональна произведению $I_f \sim \phi_f \varepsilon$.

Квантовый выход флуоресценции ϕ_f в общем случае может быть определен следующим образом:

$$\phi_f = \frac{N_f}{N_a} \quad (2.3)$$

где N_f – число испускаемых в результате флуоресценции фотонов, а N_a – общее число поглощаемых фотонов.

В частном случае для сравнения квантовых выходов флуоресценции двух веществ при условии неизменности конфигурации и настроек регистрирующих установок можно использовать отношение интенсивности флуоресценции $I(\lambda)$ к оптической плотности на длине волны возбуждения флуоресценции $D(\lambda)$:

$$\phi = \frac{I(\lambda_i)}{D_{\lambda_i}} \quad (2.4)$$

где $I(\lambda_i)$ – интенсивность флуоресценции вещества при возбуждении светом с длиной волны λ_i , D_{λ_i} – оптическая плотность в спектре поглощения вещества на длине волны λ_i .

4. Определение коэффициента экстинкции КТ на заданной длине волны.

Для нанокристаллов CdSe размером от 1 до 6.2 нм, размер нанокристаллов d может быть экспериментально определен по положению экситонной полосы поглощения нанокристалла:

$$CdSe: d = (1.6122 \times 10^{-9}) \cdot \lambda^4 - (2.6575 \times 10^{-6}) \cdot \lambda^3 + (1.6242 \times 10^{-3}) \cdot \lambda^2 - (0.4277) \cdot \lambda + (41.57) \quad (2.5)$$

где λ – длина волны, соответствующая положению экситонной полосы поглощения КТ. Следует учитывать, что функция (5) является полиномиальной аппроксимацией набора экспериментальных данных, и может быть корректно использована только в указанном выше диапазоне размеров КТ.

Коэффициенты экстинкции КТ на длине волны, соответствующей положению максимума экситонной полосы поглощения КТ может быть определена из эмпирической зависимости:

$$CdSe: \varepsilon = 5857 \times (d)^{2.65} \quad (2.6)$$

где ε – коэффициент экстинкции ($M^{-1}cm^{-1}$), d – размер нанокристаллов (нм).

5. Принцип аддитивности

Более 100 лет назад К. Фиррорд на примере двух поглощающих веществ сформулировал и экспериментально подтвердил принцип аддитивности оптических плотностей, являющийся важным дополнением к закону поглощения Бугера-Ламберта-Бера. Согласно этому принципу, оптическая плотность m подчиняющихся закону поглощения Бугера-Ламберта-Бера и не вступающих в химическое взаимодействие между собой веществ, равна сумме парциальных оптических плотностей, соответствующих поглощению света каждым из компонентов:

$$D_{смеси} = D_1 + D_2 + \dots + D_m = \varepsilon_1 \cdot c_1 \cdot l + \varepsilon_2 \cdot c_2 \cdot l + \dots + \varepsilon_m \cdot c_m \cdot l = l \cdot \sum_{i=1}^m \varepsilon_i \cdot c_i \quad (2.7)$$

Где $\varepsilon_1, \varepsilon_2, \dots, \varepsilon_m$ и c_1, c_2, \dots, c_m – коэффициенты экстинкции и концентрации компонентов смеси, l – длина оптического пути (толщина кюветы).

Таким образом, поглощение света веществом не зависит от присутствия других веществ в смеси.

На использовании принципа аддитивности основаны практически все методы спектрофотометрического анализа многокомпонентных жидкостей. Проверка выполнимости принципа аддитивности может быть проведена несколькими методами. Наиболее общим является сравнение экспериментально найденных оптических плотностей для ряда однокомпонентных растворов со значениями оптических плотностей компонентов в смеси, вычисленными по уравнению (2.7).

ОПИСАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ УСТАНОВОК

Подробное описание спектрофотометра и спектрофлуориметра см. в лабораторной работе №1.

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

Получить растворы КТ двух размеров, фотометрические кюветы и неполярный растворитель у преподавателя.

1) Приготовить растворы двух размеров КТ произвольной концентрации в фотометрических кюветах, определить объемы полученных растворов $V_{КТ1}$ и $V_{КТ2}$.

2) Измерить спектры поглощения и флуоресценции растворов КТ. Порядок включения спектрофотометра и спектрофлуориметра и записи спектров см. в лабораторной работе №1. Значение длины волны

возбуждающего света для регистрации спектров флуоресценции выдает преподаватель.

3) Определить оптические характеристики КТ:

- по спектрам поглощения растворов КТ определить оптическую плотность на длине волны возбуждающего света ($D_{КТ1}$ и $D_{КТ2}$);
- по полученным спектрам поглощения растворов КТ рассчитать: 1) коэффициент экстинкции в максимуме экситонной полосы поглощения; 2) коэффициент экстинкции на выбранной длине волны возбуждения флуоресценции; 3) концентрации полученных растворов;
- по спектрам флуоресценции определить положение максимумов полос флуоресценции КТ.

4) Рассчитать отношение интенсивности флуоресценции КТ к оптической плотности на длине волны возбуждения флуоресценции λ ($\varphi_{КТ} \sim I_{КТ}/D_{КТ}$).

5) Приготовить раствор смеси КТ двух разных размеров с заданным соотношением интенсивности полос флуоресценции (k , выдается преподавателем). Для этого выполнить следующие действия:

- Получить у преподавателя значение соотношения интенсивности флуоресценции КТ двух размеров (k) в смешанном растворе;
- Рассчитать необходимое соотношение объемов растворов КТ двух средних размеров, используя соотношение (8):

$$\frac{V_{КТ1}}{V_{КТ2}} = k \cdot \frac{\varphi_{КТ2} \cdot D_{КТ2}}{\varphi_{КТ1} \cdot D_{КТ1}} \quad (2.8)$$

где - k – заданное соотношение интенсивности флуоресценции двух размеров КТ в смешанном растворе, $\varphi_{КТ1,2}$ – значения отношения интенсивности флуоресценции КТ к оптической плотности на длине волны возбуждения флуоресценции, $D_{КТ1,2}$ – оптическая плотность на длине волны возбуждающего света в спектре поглощения растворов двух размеров КТ;

- Приготовить смешанный раствор КТ двух средних размеров;
- Зарегистрировать спектры поглощения и флуоресценции смешанного раствора;

б) Проверить выполняемость принципа аддитивности оптических плотностей в смешанном растворе по формуле:

$$D_{смеси}(\lambda) = k_1 \cdot D_1(\lambda) + k_2 \cdot D_2(\lambda) \quad (9)$$

Здесь D_1 , D_2 , $D_{смеси}$ – оптические плотности растворов КТ двух размеров, и оптическая плотность смешанного раствора КТ на длине волны возбуждения флуоресценции. k_1 , k_2 – коэффициенты, учитывающие

соотношение объема раствора КТ одного размера в смешанном растворе к начальному объему раствора КТ этого размера:

$$k_i = \frac{V_{КТ}^{mix}}{V_{k_i}} \quad (10)$$

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА

1. Спектры поглощения и флуоресценции растворов КТ двух размеров.
2. Таблица с представленными результатами расчетов оптических характеристик КТ двух размеров:

раствор	Положение экситонной полосы поглощения $\lambda_{экс}$, нм	Коэффициент экстинкции ϵ на длине волны возбуждения флуоресценции длине, $M^{-1} \text{ см}^{-1}$	Положение полосы флуоресценции, $\lambda_{экс}$, нм	Интенсивность флуоресценции $I_{ф}$ отн. ед.	Оптическая плотность на длине волны возбуждения флуоресценции, D	Квантовый выход флуоресценции $\Phi_f = I_{ф}/D$
КТ 1						
КТ 2						

3. Спектры поглощения и флуоресценции смешанного раствора КТ.
4. Вывод о выполнении принципа аддитивности оптических плотностей в смешанном растворе КТ, подкрепленный расчетами.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. С какой энергетической характеристикой полупроводниковой квантовой точки связано положение ее длинноволновой полосы поглощения?
2. В какой части спектра поглощения коллоидного раствора квантовых точек проявляется зависимость спектра флуоресценции от длины волны падающего излучения и чем она обусловлена?
3. Каким условиям должны отвечать компоненты смешанного раствора, чтобы для них выполнялся принцип аддитивности оптических плотностей.

РЕКОМЕНДОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Klimov V.I. Optical Nonlinearities and Ultrafast Carrier Dynamics in Semiconductor Nanocrystals. *J. Phys. Chem. B* 2000, 104, 6112-6123
2. С. В. Гапоненко, Н. Н. Розанов, Е. Л. Ивченко, А. В. Федоров, А. В. Баранов, А. М. Бонч-Бруевич, Т. А. Вартанян, С. Г. Пржибельский «Оптика Наноструктур», СПб «Недра», 2005г. – 326 с.
3. J. R. Lakowicz «Principles of Fluorescence Spectroscopy», 2006 Springer Science+Business Media, LLC.
4. Берштейн И.Я., Каминский Ю.А. Спектрофотометрический анализ в органической химии. Л.: Химия, 1986. 200 с.
5. W. William Yu, Lianhua Qu et. all. Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals. *Chem. Mater.* 2003, 15, 2854-2860.

Лабораторная работа №3

ОПТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МАТРИЦ С ВНЕДРЕННЫМИ КВАНТОВЫМИ ТОЧКАМИ

ЦЕЛИ РАБОТЫ:

- приобретение навыков использования светофильтров при работе на стандартных спектральных приборах;
- приобретение навыков регистрации и анализа спектров люминесценции и спектров поглощения сильно рассеивающих и неоднородных тонкопленочных образцов с внедренными полупроводниковыми квантовыми точками.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

1. Матрицы для внедрения наночастиц

Внедрение наночастиц в различные твердотельные матрицы позволяет создавать композитные материалы с уникальными физическими свойствами. Основное требование к матрице для оптических приложений – прозрачность в необходимом спектральном диапазоне. Наиболее часто в качестве матриц выступают стекла и полимерные материалы.

В случае использования стекла, формирование наночастиц должно происходить на стадии варки, что накладывает достаточно жесткие ограничения на состав и функциональные свойства наночастиц. Использование пористых стекол позволяет как осуществлять синтез наночастиц непосредственно в порах стекла, так и внедрять уже готовые наночастицы.

Хотя полимерные материалы, зачастую уступают стеклам по своим оптическим и эксплуатационным качествам, благодаря простоте обработки и низкой стоимости полимеры стали одним из самых распространенных типов матриц для создания оптических наноматериалов. Полимерные материалы обладают малой плотностью и высокой ударопрочностью. Огромный ассортимент коммерчески доступных материалов позволяет подобрать оптимальное сочетание физических свойств, при этом полимеры легко подвергаются поверхностной модификации и структурированию, совместимы со многими неорганическими веществами и биологическими объектами.

В качестве оптических сред используют в основном прозрачные аморфные линейные и сшитые полимеры, или сополимеры, находящиеся в стеклообразном состоянии. Наиболее важные оптические свойства полимеров – показатель преломления и светопоглощение – определяются их химическим строением. Кроме того, оптические свойства

аморфных стеклообразных полимеров зависят от возможной надмолекулярной организации полимера, которая формируется в зависимости от условий его получения и переработки.

Полимерные материалы предназначены в основном для работы в видимой области спектра. За пределами видимой области в ультрафиолетовой и ближней инфракрасной зонах светопропускание полимеров падает и эффективность их применения снижается.

Существует множество различных способов внедрения наночастиц в полимерные матрицы. По общему подходу к созданию композитных структур эти способы можно объединить в три основные группы:

а) введение наночастиц в раствор полимера. В этом случае формирование наноматериала происходит при испарении растворителя. При этом важным фактором является растворимость наночастиц в полимере. Так как хотя такой подход и является одним из самых технологически простых, склонность наночастиц к образованию агломератов может привести к формированию сильно рассеивающего образца с высокой пространственной неоднородностью.

б) связывание молекул мономера с оболочкой или непосредственно с поверхностью наночастиц и последующая полимеризация гибридной смеси. Данный способ позволяет избежать образования макроагрегатов из наночастиц, однако требует использования специфической химии.

в) инкапсуляция наночастиц в полимерные микроструктуры (микросферы и т.п.).

Оригинальным типом полимерных матриц являются трековые мембраны. Трековые мембраны представляют собой тонкие полимерные плёнки со сквозными порами различной формы (рис. 3.1).

Трековые мембраны изготавливаются в два этапа (рис. 3.2). Сначала под определенным углом к поверхности полимерная пленка облучается потоком быстрых ионов. В результате, в местах пролета ионов полимерные цепочки разрываются, образуя латентные треки. При этом вокруг каждого латентного трека образуются области, характеризующиеся частичным разрывом полимерных цепей. На втором этапе пленка обрабатывается высококонцентрированным щелочным раствором. В частности, для полиэтилентерефталата обычно используют NaOH. В результате травления в пленке в местах латентных треков образуются сквозные поры, форма и размер которых определяются условиями травления.

Приповерхностный слой трековых пор в результате частичного разрыва полимерных цепочек характеризуется меньшей плотностью по сравнению с объемным полимером, а в результате травления в нем формируются полости, куда могут быть внедрены наночастицы.

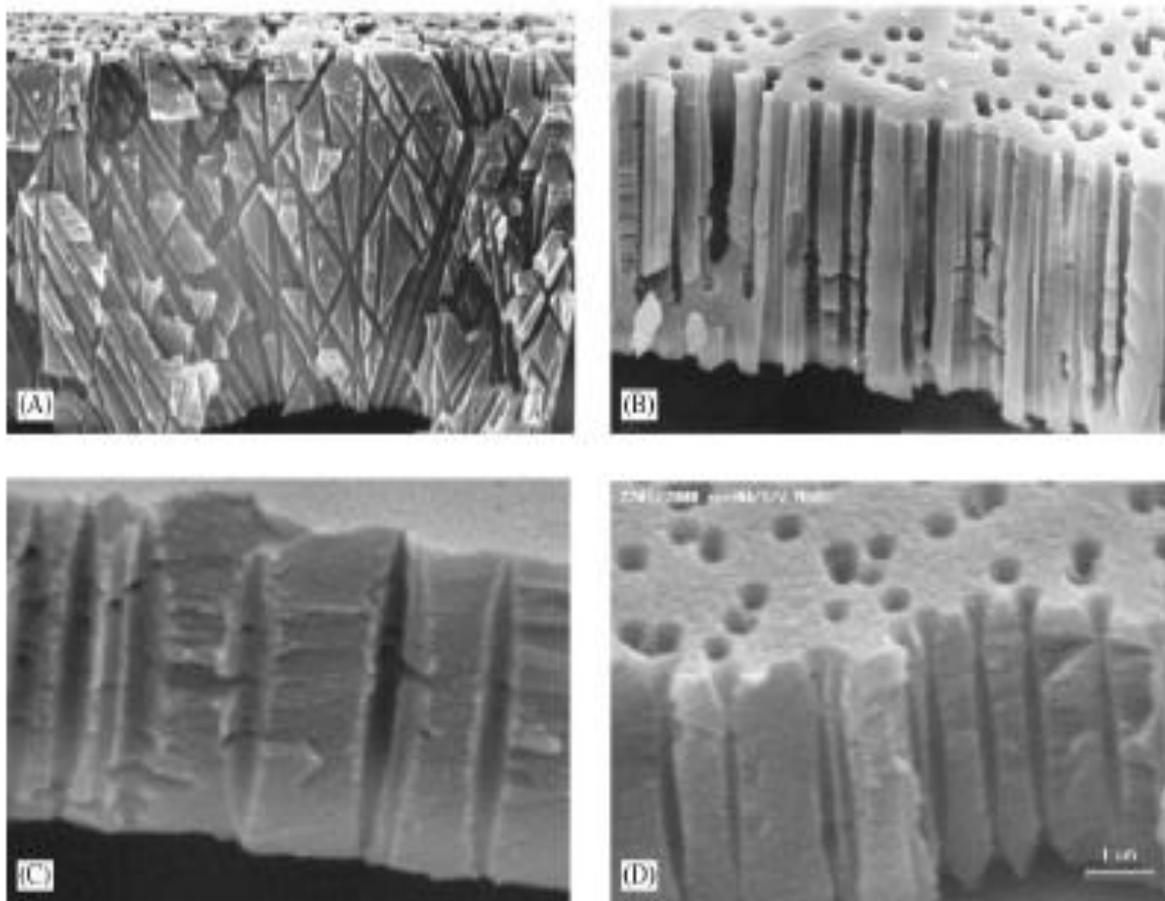


Рис. 3.1 Изображения срезов трековых мембран, полученные на электронном микроскопе: А) поликарбонатная ТМ с цилиндрическими непараллельными порами; В) полипропиленовая ТМ со слабо коническими параллельными порами; С) полиэтилен терефталатная ТМ с сигарообразными порами; D) полиэтилен терефталатная ТМ с порами в виде «галстука» [*Radiation Measurements 34 (2001) 559–566*].

Тонкие пленки являются нестандартными образцами для характеристики спектроскопическими методами.

Полимерные пленки в общем случае представляют собой сильно рассеивающие, пространственно неоднородные образцы. Высокое рассеяние обычно обуславливается низким качеством поверхности и флуктуациями плотности полимера. В случае с композитными материалами данные факторы могут усугубляться неравномерным распределением частиц в матрице и образованием крупных агрегатов.

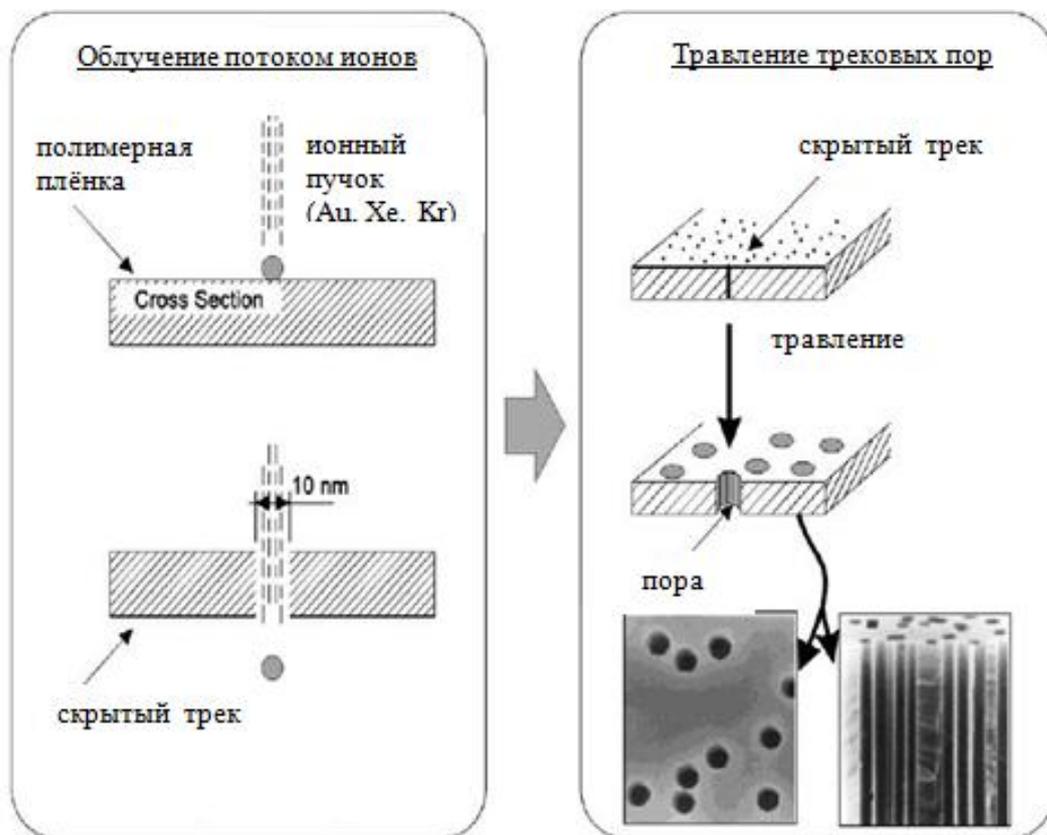


Рис. 3.2. Процесс формирования полимерных трековых мембран: а) облучение полимерной плёнки потоком быстрых ионов; б) формирование пор [адаптировано из *Radiation Measurements 43 (2008) S560–S570*].

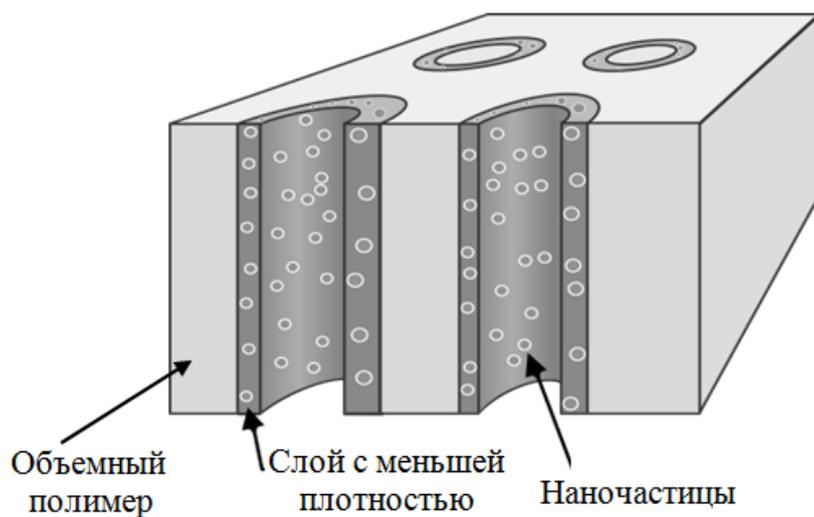


Рис. 3. Схематическое изображение трековой мембраны с внедренными наночастицами.

При этом геометрия данных объектов такова, что для корректного измерения спектров поглощения и люминесценции зачастую требуется использовать приставки расширяющие возможности базового оборудования.

2. Особенности регистрации спектров поглощения нестандартных образцов

При распространении света через матрицу с некоторыми включениями (частицами) в общем случае возможно три варианта прохождения луча света (рис. 3.4):

- а) поток, проходящий сквозь образец без изменения направления, НЕ прошедший сквозь частицу;
- б) поток, прошедший сквозь образец, прошедший сквозь частицу, но не изменивший направления;
- в) поток, изменивший направление из-за многократных отражений от частиц.

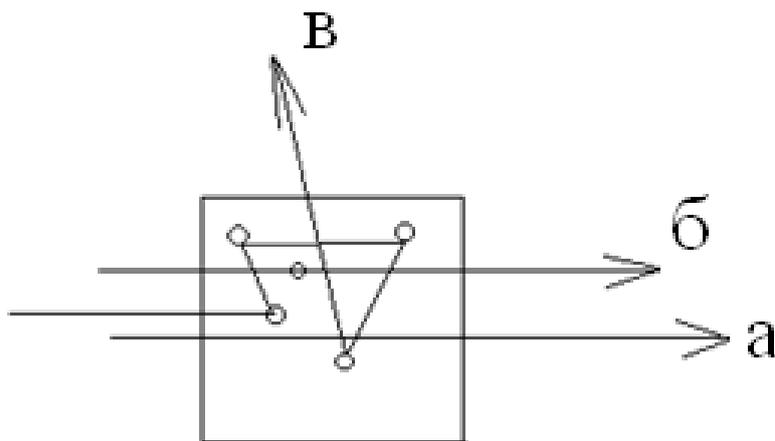


Рис. 3.4 Схематическое изображение прохождения светового потока через неоднородный образец

Очевидно, что спектр поглощения такого образца будет зависеть от размера частиц и их распределения в матрице.

В случае пространственно неоднородных образцов, регистрируемая оптическая плотность будет зависеть от соотношения размеров областей, в которых частицы есть и в которых они отсутствуют. При низких оптических плотностях, поглощение будет снижаться в определенное число раз, а при больших – будет происходить искажение спектра. По экспериментальным данным математически возможно восстановить действительное значение оптической плотности.

В случае сильно рассеивающих образцов, спектры поглощения удобно записывать с использованием интегрирующей сферы, которая позволяет собрать рассеянный свет и направить его на фотодетектор.

3. Особенности регистрации спектров люминесценции нестандартных образцов

Одним из способов измерения люминесценции нестандартных образцов является использование оптоволоконных приставок. При этом следует учитывать, что использование оптоволокна, вследствие потерь, существенно снижает интенсивность сигнала. Зачастую в подобных приставках геометрическое положение волноводов таково, что сигнал возбуждения, проходя через образец, попадает непосредственно на вход монохроматора регистрации, поэтому необходимо тщательно подбирать комбинацию фильтров для выделения сигнала люминесценции образца.

Свет, выходящий из монохроматора возбуждения, теоретически не должен содержать никаких других длин волн, кроме той, на которую он настроен и линии второго порядка дифракционной решетки. На практике же свет, выходящий из монохроматора, содержит небольшую долю всех длин волн, которые входят в монохроматор. Это происходит в результате хаотического рассеяния света поверхностью решетки и различными дефектами и частицами пыли на оптических элементах. Таким образом, независимо от схемы регистрации люминесценции рационально использовать дополнительный фильтр для выделения полосы возбуждающего света. Для лучшего результата в ряде случаев уместно использовать комбинацию нескольких фильтров. При этом необходимо следить, чтобы сами фильтры не люминесцировали, так как это вновь снизит монохроматичность возбуждающего света. В случае использования комбинации фильтров, для того чтобы подавить люминесценцию одного из них, обычно достаточно просто поменять фильтры местами.

Основным требованием к фильтру, который используется для выделения полосы флуоресценции, является поглощение возбуждающего света рассеянного образцом. При этом сам фильтр также не должен люминесцировать, иначе регистрируемый сигнал может содержать существенный посторонний фон.

Фильтр для выделения возбуждающего света и фильтр для выделения люминесценции подбирают по принципу скрещенности, т.е. каждый фильтр должен поглощать свет, который пропускает другой.

4. Оценка степени пространственной неоднородности образцов

Регистрация люминесценции обычно осуществляется с относительно небольшого участка образца. Пространственная неоднородность образцов

может приводить к получению недостоверной информации при однократном измерении. Таким образом, появляется необходимость в регистрации люминесценции от различных участков образца и в последующей статической обработке данных.

При наличии случайных погрешностей наблюдаемые значения измеряемой величины при многократных измерениях случайным образом рассеяны относительно ее истинного значения. В этом случае действительное значение находят как наиболее вероятное из серии отсчетов, а погрешность характеризуют шириной интервала, который с заданной вероятностью показывает истинное значение.

Наилучшей оценкой истинного значения величины X является *выборочное среднее значение*

$$\langle x \rangle = \frac{\sum_{n=1}^N x_n}{N}, \quad (3.1),$$

где x_n – отсчет величины N , – число отсчетов.

Для оценки разброса отсчетов при измерении используется *выборочное среднее квадратическое отклонение отсчетов*

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum_{n=1}^N (x_n - \langle x \rangle)^2}{N - 1}}. \quad (3.2).$$

Выборочное среднее является случайной величиной и его разброс относительно истинного значения измеряемой величины оценивается *выборочным средним квадратическим отклонением среднего значения*

$$S_{\langle x \rangle} = \frac{S_x}{\sqrt{N}}. \quad (3.3).$$

Доверительным интервалом называется интервал $[\langle x \rangle - \Delta, \langle x \rangle + \Delta]$, который с заданной степенью достоверности включает в себя истинное значение измеряемой величины.

Доверительной вероятностью (надежностью) результата серии наблюдений называется вероятность α , с которой доверительный интервал включает истинное значение измеряемой величины.

Случайную составляющую погрешности принято выражать как полуширину доверительного интервала. *Случайная составляющая погрешности многократных измерений*

$$\Delta_x = t_\alpha \times S_{\langle x \rangle}, \quad (3.4),$$

где t_α – безразмерный коэффициент доверия (коэффициент Стьюдента).

Таблица 3.1.
Коэффициенты Стьюдента.

a =0,68		a =0,95		a =0,99	
n	$t_{a,n}$	n	$t_{a,n}$	n	$t_{a,n}$
2	2,0	2	12,7	2	63,7
3	1,3	3	4,3	3	9,9
4	1,3	4	3,2	4	5,8
5	1,2	5	2,8	5	4,6
6	1,2	6	2,6	6	4,0
7	1,1	7	2,4	7	3,7
8	1,1	8	2,4	8	3,5
9	1,1	9	2,3	9	3,4
10	1,1	10	2,3	10	3,3
15	1,1	15	2,1	15	3,0
20	1,1	20	2,1	20	2,9
30	1,1	30	2,0	30	2,8
100	1,0	100	2,0	100	2,6

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ:

В работе будут регистрироваться спектры поглощения и люминесценции полиэтилен терефталатных трековых мембран (ТМ) с внедренными полупроводниковыми квантовыми точками.

ОБОРУДОВАНИЕ:

Подробное описание спектрофотометра и спектрофлуориметра см. в лабораторной работе №1.

Интегрирующая сфера

В работе используется интегрирующая сфера ISR-3100. Рабочий диапазон сферы 220 – 2600 нм, сфера оснащена двумя фотодетекторами – фотоумножителем и PbS фотодетектором, расположенными в нижней и верхней частях сферы соответственно.

Внутренняя поверхность сферы покрыта BaSO₄, веществом, которое хорошо отражает падающий свет. Свет, рассеянный образцом, в результате многократных отражений от стенок сферы, попадает на фотоприемник. Для записи спектров поглощения в сферу также заводится пучок света из референтного канала, синхронизированный во времени с пучком, проходящим через образец.

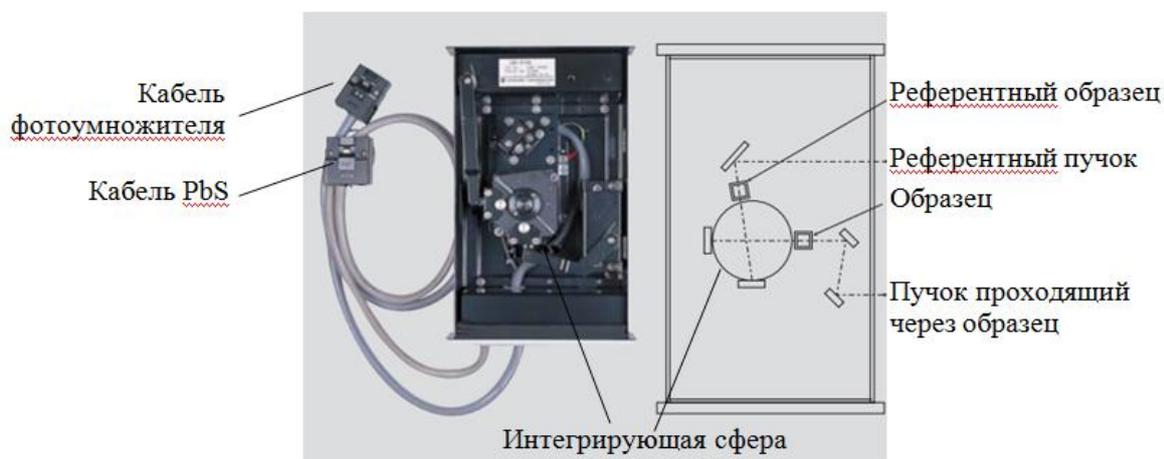


Рис. 3.6. Внешний вид блока с интегрирующей сферой (слева) и оптическая схема (справа)

Оптоволоконная приставка

Для регистрации спектров люминесценции в работе используется оптоволоконная приставка, схематично изображенная на Рис. 6. Приставка состоит из держателя (А), на котором располагается исследуемый объект, и волоконно-оптической линии связи (Б).

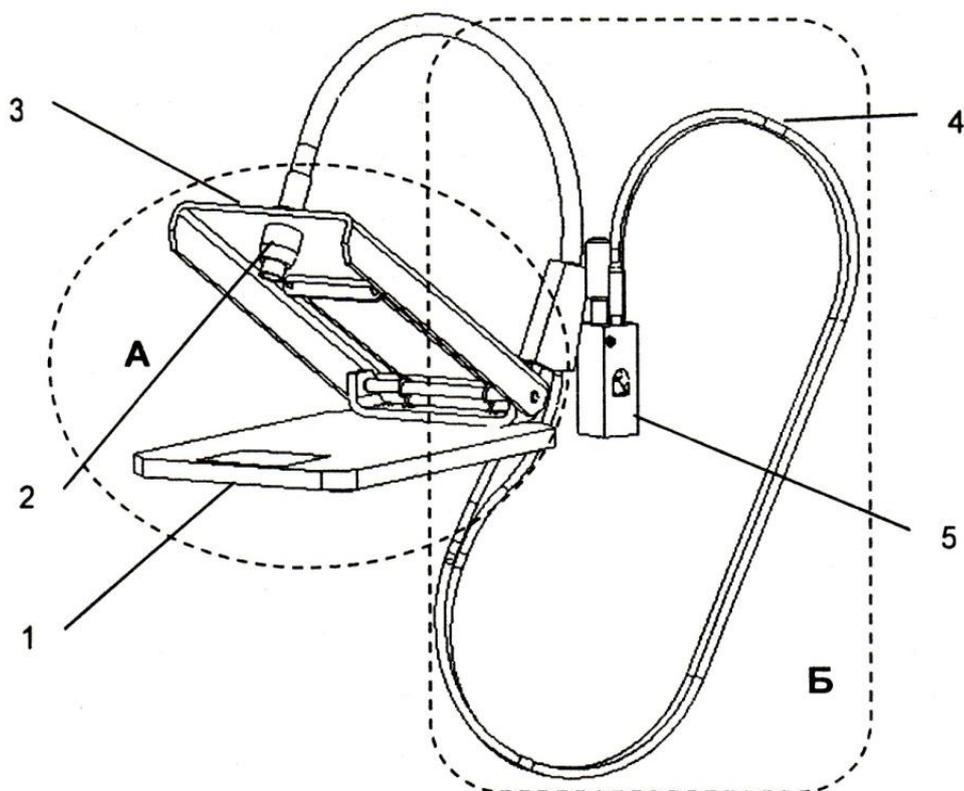


Рис. 3.7 Оптоволоконная приставка в сборе (1 – платформа; 2 – втулка; 3 – прижимная крышка; 4 – волоконно-оптическая линия связи; 5 – оптический разъём для соединения со спектрофлуориметром.

Волоконно-оптическая линия связи (ВОЛС) состоит из жгута кварцевых светодиодов (4) и оптического разъема (5) для соединения со спектрофлуориметром. Оптический разъем устанавливается в кюветное отделение спектрофлуориметра таким образом, чтобы боковые поверхности разъема с приклеенными в пазах плоскими зеркальцами были обращены в сторону монохроматоров возбуждения и регистрации люминесценции соответственно.

Держатель состоит из платформы (1) и прижимной крышки (3). ВОЛС вставляется в отверстие крышки и закрепляется снизу резьбовой втулкой (2). Исследуемый объект помещается на платформу таким образом, чтобы втулка ВОЛС упиралась в него. Если исследуемый объект является порошком, рекомендуется накрыть его покровным стеклом.

Внимание! Не допускается натяжение и сильный изгиб жгутов ВОЛС. Оптические кварцевые волокна, из которых они сделаны, обладают повышенной хрупкостью и требуют осторожного обращения. Радиус скручивания жгутов ВОЛС должен быть не менее 10 см. Не скручивать жгуты «восьмеркой».

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

1. Зарегистрировать спектры поглощения образцов без интегрирующей сферы. Порядок включения спектрофотометра и записи спектров см. в лабораторной работе №1.

2. Установить интегрирующую сферу. Для этого выполнить последовательность операций:

- выключить спектрофотометр;
- вытащить блок со стандартным держателем образцов и вставить блок с интегрирующей сферой;
- подключить кабели фотоумножителя и PbS детектора к разъемам на приборе. Подсоединить кабель фотоумножителя к заземлению.

Включить прибор и повторить последовательность действий по инициализации. Записать спектр поглощения образца.

Внимание! Демонтаж и установка интегрирующей сферы осуществляется только в присутствии преподавателя!

3. Измерить спектры пропускания светофильтров, определить какой из светофильтров должен устанавливаться в канал возбуждения, какой - в канал пропускания.

4. Установить волноводную приставку в спектрофлуориметр. Для этого вставить переходник от приставки в кюветное отделение таким образом,

чтобы окошки ввода и вывода излучения в оптоволокно находились напротив соответствующих каналов прибора. Убедиться, что свет проходит по волокну. Для этого выбрать длину волны возбуждения в видимом диапазоне, установить минимально низкую скорость сканирования и посмотреть, попадает ли световое пятно на образец. В случае, если свет не попадает на образец отрегулировать положение переходника в кюветном отделении, используя резиновые подкладки. После этого вернуться к средней скорости сканирования и выбрать длину волны возбуждения и диапазон регистрации люминесценции, исходя из спектров поглощения и параметров фильтров.

5. Зарегистрировать спектр люминесценции от образца без фильтров и с фильтрами;

В схеме с установленными фильтрами зарегистрировать спектры люминесценции с 10 различных областей образца.

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА

- 1 Спектры поглощения образцов, записанные с интегрирующей сферой и без.
- 2 Выводы о роли интегрирующей сферы в записи спектров поглощения
- 3 Спектры люминесценции образцов с фильтрами и без фильтров.
- 4 Оценка пространственной неоднородности образца.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какие факторы необходимо учитывать для корректной записи спектров поглощения и люминесценции тонкоплёночных полимерных образцов?
2. Объяснить принцип работы интегрирующей сферы. Можно ли с её помощью записывать спектры поглощения непрозрачных образцов?
3. Зачем используют светофильтры при записи спектров люминесценции? Как осуществляется выбор светофильтров?
4. Каким образом можно оценить степень пространственной неоднородности образцов?

РЕКОМЕНДОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев А.И. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. М.: Физматлит. 2009. 416 с. ISBN 978-5-9221-0582-8I
2. А. Н. Теренин: Фотоника молекул красителей и родственных органических соединений, глава I.4 – поглощение света рассеивающими средами. Л. – 1967.
3. Паркер. Фотолюминесценция растворов, глава 3 – аппаратура и методы эксперимента. М: Мир,1972.

Лабораторная работа №4.

ОПТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МНОГОСЛОЙНОЙ ПОЛИМЕРНОЙ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ МЕТКИ НА ОСНОВЕ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

ЦЕЛЬ РАБОТЫ:

приобретение навыков формирования многоцветной люминесцентной метки на основе тонких полимерных пленок с внедренными квантовыми точками.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ:

- спектрофотометр UV Probe 3600 (Shimadzu, Japan) с интегрирующей сферой;
- спектрофлуориметр Cary Eclipse (Varian, Australia) с оптоволоконной приставкой на отражение;
- набор цветных стеклянных фильтров;
- набор образцов полимерных пленок с внедренными полупроводниковыми квантовыми точками.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

Субтрактивное и аддитивное смешение цвета

Спектрально чистые цвета в природе встречаются достаточно редко. Подавляющее большинство воспринимаемых глазом цветов есть результат субтрактивного и аддитивного смешения.

Большинство цветов окрашенных объектов является результатом избирательного поглощения красителем определенных участков в непрерывном спектре падающего белого света. Хотя в некоторых случаях, наблюдаемый свет обусловлен избирательным отражением от поверхности частиц красителя, присутствующего в большой концентрации. В зависимости от положения в спектре участка избирательного поглощения глаз ощущает тот или иной цвет, как результат совместного действия всех остальных пропущенных красителем областей видимого спектра. Ощущение одного и того же смешенного цвета можно создать самым разнообразным сочетанием поглощаемых и пропускаемых участков спектра.

Получение цвета путём вычитания из спектрально равномерного белого света отдельных спектральных составляющих называют субтрактивным смешением (синтезом) света. Например, в полиграфии широко распространена модель субтрактивного синтеза —

СМУК. В этой системе основными цветами являются - голубой, пурпурный и желтый (или на английском cyan, magenta, yellow (СМУ), к которым добавляется черный при печати для экономии цветных красителей. Черный краситель (black) обозначается заглавной буквой К. Если речь идет о светящихся объектах, то глаз воспринимает цвет объекта непосредственно, однако, независимо от формы спектра, глаз воспринимает суммарное воздействие всех достигших его цветовых компонент.

Метод синтеза цвета, основанный на сложении цветов от непосредственно излучающих объектов называют аддитивным смешением цветов. Смешивая три основных цвета: красный, зелёный и синий — в определенном соотношении, можно воспроизвести большинство воспринимаемых человеком цветов. Один из примеров использования аддитивного синтеза — компьютерный монитор, цветное изображение на котором основано на цветовом пространстве RGB (red, green, blue) и получается из красных, зеленых и синих пикселей.

Тот факт, что человеческий глаз не обладает свойствами спектральных приборов и воспринимает достигшие его участки спектра аддитивно, используется для создания скрытых люминесцентных меток с цветовой кодировкой. При визуальном наблюдении в белом свете такая метка выглядит абсолютно прозрачной и бесцветной, но при освещении определенным светом, например ультрафиолетовым, проявляется окраска метки, возникающая за счет люминесценции. Наблюдение метки с использованием спектрального прибора позволяет восстановить уникальную форму спектра люминесценции, что существенно повышает степень защиты.

Одним из способов создания таких меток является использования полимерных пленок с внедренными квантовыми точками (КТ). Квантовые точки в данном случае являются наиболее привлекательным люминофором, так как:

- фотостабильность квантовых точек существенно превышает фотостабильность всех известных органических красителей, что увеличивает срок службы метки;
- квантово размерный эффект позволяет управлять цветом люминесценции КТ изменяя размер нанокристалла;
- КТ обладают протяженным спектром поглощения, что позволяет возбуждать люминесценцию КТ различного размера одним источником;
- КТ обладают узкой полосой люминесценции, следовательно, при смешивании КТ различного размера в различных пропорциях можно формировать уникальные метки схожие по визуально

воспринимаемому цвету, но отличные по форме спектра люминесценции.

Однако внедрение КТ в полимер является нетривиальной задачей. КТ, как объекты, обладающие большой удельной поверхностью, стремятся к минимизации поверхностной энергии, что может приводить к агрегации частиц. Поверхность квантовых точек покрывается органической оболочкой, которая с одной стороны придает КТ растворимость в определенных растворителях, а с другой предотвращает их агрегацию.

Одним из методов внедрения КТ в полимер является смешивание растворов КТ и полимера в некотором растворителе. При этом для успешного внедрения КТ в полимер недостаточно растворимости солубилизатора квантовых точек и полимера в одном растворителе, необходимо сродство молекул полимера и солубилизатора, в противном случае при испарении растворителя будет происходить агрегация КТ. Образцы с КТ равномерно распределенными в полимере можно получить так же в случае если молекулы полимера (мономера) замещают молекулы пассиватора на поверхности КТ.

Формирование агрегатов из КТ отражается на спектральных свойствах КТ в образце. Так как в ансамбле КТ слегка отличаются по размерам, в агрегатах возможен перенос энергии от меньших КТ к большим. Это приводит к сдвигу спектра люминесценции ансамбля в красную область. При этом в агрегатах при многократных актах переноса энергии между нанокристаллами возрастает вероятность безызлучательной релаксации энергии фотовозбуждения. В результате при агрегации КТ наблюдается снижение квантового выхода люминесценции и сокращение времени распада люминесценции КТ.

Еще одним фактором, приводящим к изменению оптических свойств образца, является реабсорбция (перепоглощение). Реабсорбция может проявляться как на длине волны поглощения, так и на длине волны люминесценции. Данный эффект проявляется как в агрегатах КТ так и в образцах с высокой концентрацией частиц.

Перепоглощение на длине волны возбуждения приводит к тому, что снижается интенсивность сигнала люминесценции. Так в этом случае возбуждающий свет поглощается в тонком слое, и, таким образом, люминесценция детектируется с меньшей области.

Второй тип эффекта связан с перепоглощением света флуоресценции. Данный эффект обычно наблюдается в случае высокой концентрации вещества при условии сильного перекрытия его спектров люминесценции и поглощения. Перепоглощение самим веществом обычно влияет на коротковолновую часть полосы люминесценции, так как в этой области происходит перекрытие полосы люминесценции с первой полосой поглощения. Спектрально данное явление проявляется в тушении

люминесценции КТ и красному сдвигу полосы люминесценции. Присутствие второго вещества, сильно поглощающего в области, где люминесцирует первое, естественно будет давать искажение спектра люминесценции первого.

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе используются полимерные пленки с внедренными полупроводниковыми точками двух различных размеров.

ОПИСАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ УСТАНОВОК

Работа выполняется на спектрофотометре Shimadzu и спектрофлуориметре Cary (см. работу 1) оснащенный оптоволоконной приставкой «Лягушка» (см. работу 3).

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

1) Зарегистрировать спектры поглощения пленок по отдельности и сложив их стопкой. Поменять порядок расположения пленок и снова зарегистрировать спектр поглощения. Так как распределение квантовых точек в образцах может быть пространственно неоднородно, следить, чтобы при измерениях образцы были установлены так, чтобы световой пучок проходил через один и тот же участок.

2) Выбрать длину волны возбуждения люминесценции по спектрам поглощения образцов и с учетом используемых фильтров (фильтры выдает преподаватель, спектры пропускания фильтров можно посмотреть в каталоге цветного стекла).

3) зарегистрировать спектры люминесценции пленок: а) по отдельности б) стопкой в) стопкой, изменив порядок прохождения возбуждающего света через образцы. При этом также необходимо следить, чтобы спектры люминесценции регистрировались с одних и тех же участков образцов.

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА

1. Проверка аддитивности спектров поглощения для образцов: для этого необходимо сложить спектры поглощения пленок зарегистрированных по отдельности и сравнить со спектрами, зарегистрированными в стопках.

2. Проверка аддитивности спектров люминесценции.

3. Выводы по проделанной работе.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. В чем отличие аддитивного и субтрактивного смешения цветов.
2. Привести примеры объектов, для которых характерен аддитивный и субтрактивный цвет. Где и когда в природе можно наблюдать спектрально чистый цвет?
3. В чем преимущества использования КТ перед органическими люминофорами в люминесцентных метках?
4. Что может вызывать нарушение аддитивности смешения цветов в образцах с КТ?

РЕКОМЕНДОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. А.Н. Теренин: Фотоника молекул красителей и родственных органических соединений, глава I.1 – Цвет и полоса поглощения. Л. – 1967.
2. Ute Resch-Genger, Markus Grabolle, Sara Cavaliere-Jaricot, Roland Nitschke, Thomas Nann: Quantum dots versus organic dyes as fluorescent labels//*nature methods* v.5 №.9 (2008) pp763-775
3. Ming Zhou, Shoude Chang, and Chander P. Grover, Cryptography based on the absorption/emission features of multicolor semiconductor nanocrystal quantum dots/// v. 12, № 13 / *optics express*, pp2925-30
4. Паркер. Фотолюминесценция растворов, глава III.3. М: Мир, 1972.

Лабораторная работа №5.

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА МНОГОЦВЕТНОЙ МЕТКИ НА ОСНОВЕ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК В ТВЕРДОЙ МАТРИЦЕ

ЦЕЛЬ РАБОТЫ:

приобретение навыков работы на люминесцентном конфокальном микроскопе с образцами, характеризующимися пространственной неоднородностью люминесцентного отклика.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ:

- конфокальный люминесцентный микроскоп LSM710 (Zeiss, Germany);
- раствор квантовых точек двух размеров;
- пористая матрица;

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

1. Принципы формирования многоцветной метки в твердотельной матрице

Последние достижения в областях биологических исследований, таких, например, как определение профиля генной экспрессии, поиск новых лекарств, и клиническая диагностика привели к потребности значительного развития технологий биоаналитики и биоинженерии. Так как в текущих исследованиях в областях геномики и протеомики (науки, занимающейся классификацией белков в клетках) обрабатываются все большие последовательности данных, необходимы технологии, позволяющие быстро анализировать огромные количества нуклеиновых кислот и протеинов. Одним из перспективных направлений является создание многоцветных меток на основе квантовых точек для параллельного анализа большого числа биомолекул. Метки подобного рода основаны на сочетании оптических свойств квантовых точек с возможностью внедрения квантовых точек разного размера в зондирующие объекты-матрицы. Основная концепция заключается в разработке умных микроструктур, которые способны не только распознавать специфичные биомолекулы, но также имеют встроенную систему идентифицирующих кодов для распознавания цели.

Например, возможно создание многоцветных меток путем внедрения квантовых точек разного размера в полимерные микросферы. Поверхность полимера может быть солюбилизирована биомолекулярными зондами, такими, как олигонуклеотиды и антитела, в то время как квантовые точки,

внедренные в полимерные микросферы, открывают перспективы оптического кодирования. Благодаря интеграции молекулярного распознавания и оптического кодирования, каждая микросфера может считаться "химической лабораторией", которая обнаруживает и анализирует специфичную последовательность или соединение в сложной смеси. Люминесцентные КТ являются идеальными флуорофорами для этой цели, так как КТ разного размера имеют разное положение полос люминесценции, но могут быть возбуждены одной длиной волны света. Оптическое кодирование осуществляется с использованием различных уровней интенсивности люминесценции одной КТ и с использованием КТ разных размеров (цветов). В общем случае, n уровней интенсивности люминесценции КТ одного цвета в сочетании с количеством КТ разного цвета m могут создать $(n^m - 1)$ уникальных кодов.

2. Фильтровальная бумага - матрица для создания многоцветной метки на основе КТ, преимущества и недостатки

Фильтровальная бумага используется для проведения количественных, качественных анализов и других лабораторных работ, для отделения от жидкостей взвешенных в них веществ. Бумага фильтровальная бывает различной пористости и, соответственно, может задерживать и пропускать частицы различного диаметра. Фильтровальная бумага для лабораторий изготавливается из высокоочищенной целлюлозы. Благодаря высоким адсорбирующим свойствам волокон целлюлозы, возможно использование фильтровальной бумаги в качестве модельной матрицы для создания многоцветной метки на основе КТ. Создание таких меток возможно простым пропитыванием фильтровальной бумаги смешанным раствором КТ разных размеров. В этом случае формирование метки происходит при испарении растворителя и адсорбции КТ на волокна фильтровальной бумаги. Несмотря на то, что этот способ является технологически очень простым, склонность наночастиц к образованию агрегатов может привести к формированию сильно рассеивающего образца с высокой пространственной неоднородностью. При этом следует учитывать, что для успешного оптического кодирования важно предотвратить возможность взаимодействия между КТ, адсорбированными рядом на поверхности волокон целлюлозы. К подобным взаимодействиям можно отнести индуктивно-резонансный перенос энергии между КТ разных размеров.

3. Описание принципиальной схемы и принципа работы конфокального люминесцентного микроскопа

Известно, что пространственное разрешение традиционных оптических микроскопов ограничено дифракцией из-за большой длины

волны видимого света и составляет $d_{\min} \sim 200 \text{ нм}$. Несмотря на это, оптическая микроскопия широко используется при изучении нанообъектов, особенно, в биологии. Для надёжной работы на границе разрешения разработаны специальные микроскопы: флуоресцентный, комбинационного рассеивания, конфокальный, с насыщенной люминесценцией (STED) и пр. Широкое распространение получила конфокальная микроскопия. На Рис. 5.1 приведена оптическая схема конфокального микроскопа.

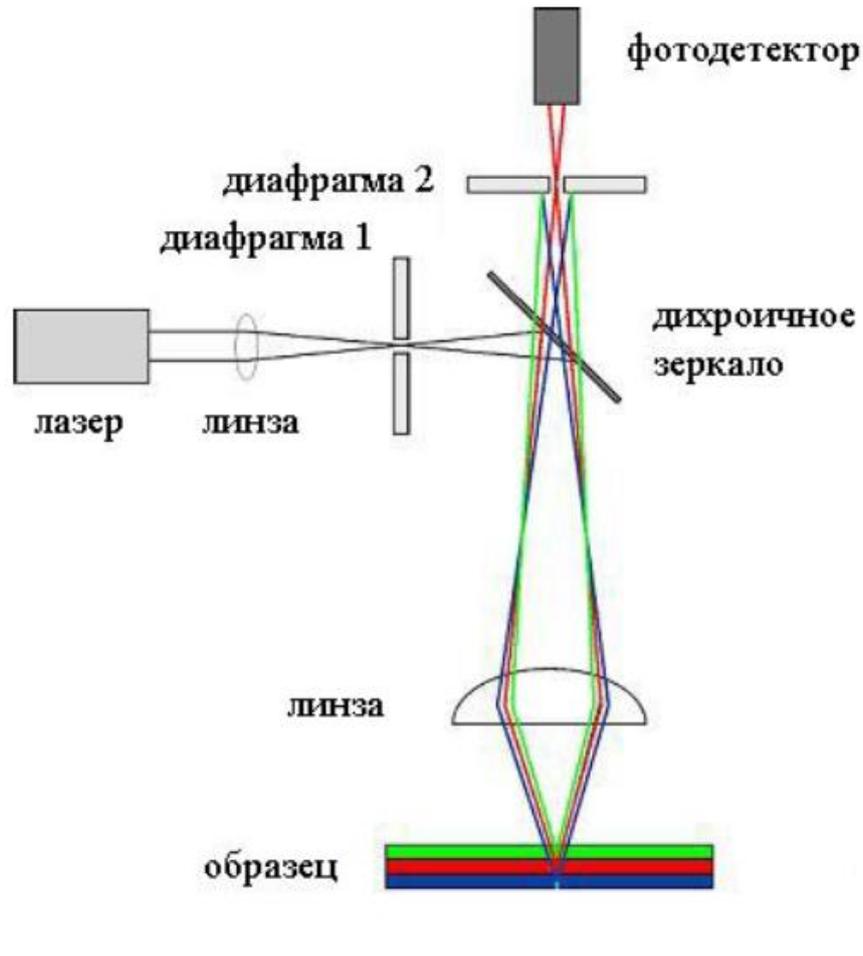


Рис. 5.1. Схема конфокального люминесцентного микроскопа

Конфокальный микроскоп имеет разрешение δ такое же, как и обычный микроскоп, которое ограничено дифракционным пределом:

$$\delta = \frac{\lambda}{\pi(NA)} \quad (5.1)$$

где λ — длина волны излучения, $(NA) = n \sin \alpha$ — числовая апертура объектива, n — показатель преломления среды между образцом и объективом, α — половина угла, который «захватывает» объектив. В

видимом диапазоне разрешение составляет ~ 250 нм ($NA=1.45$, $n=1.51$) Однако, в последние годы успешно развиваются схемы микроскопов, которые используют нелинейные свойства флуоресценции образцов. В этом случае достигается разрешение значительно меньшее дифракционного предела и составляет $\sim 3-10$ нм.

Конфокальная микроскопия обеспечивает увеличение контраста изображения за счёт фокусирования возбуждающего излучения лазера с помощью объектива, а также за счёт расположения диафрагмы в плоскости наблюдения перед фотодетектором. Такое увеличение контрастности приводит к возможности разрешения объектов, имеющих различие в интенсивности до 200:1. В конфокальной микроскопии в 1.5 раза улучшается разрешение в плоскости объекта и достигается высокое разрешение вдоль оптической оси. Поэтому конфокальная микроскопия позволяет проводить послойную трёхмерную (3D) реконструкцию объектов, см. Рис. 5.2.

В конфокальном микроскопе есть возможность регистрации спектров люминесценции с очень малых зон образца. Благодаря этому представляется возможным исследовать пространственную неоднородность люминесцентного отклика образца.

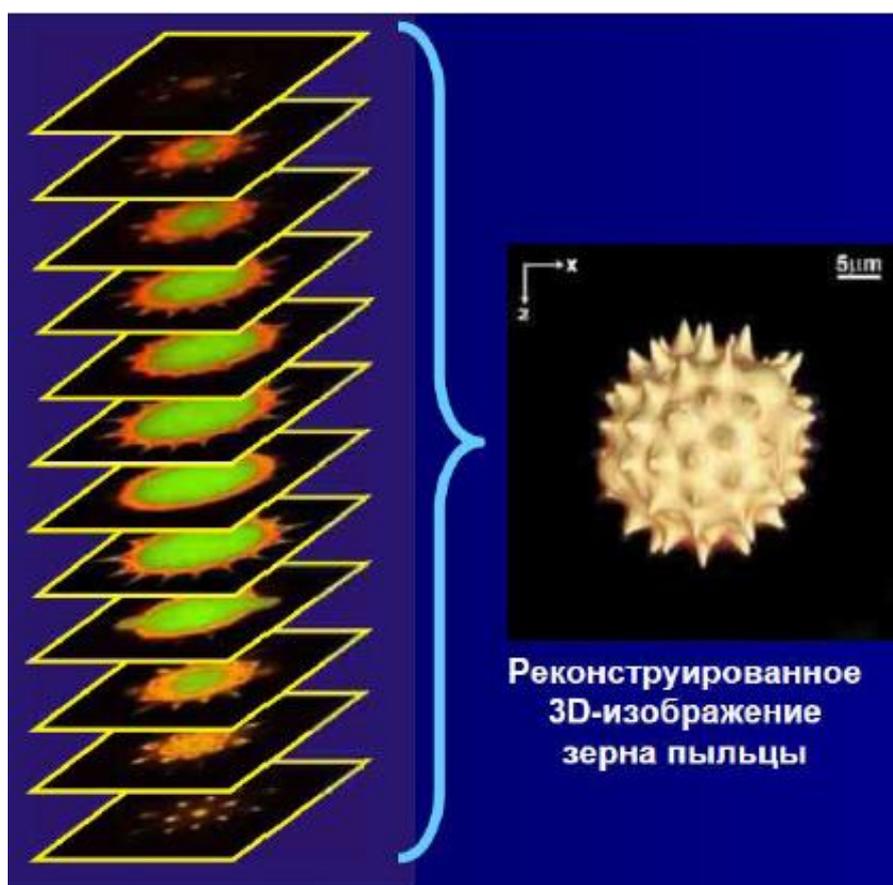


Рис. 5.2. Пример 3D реконструкции с использованием конфокального микроскопа

ОПИСАНИЕ ЛАБОРАТОРНОЙ УСТАНОВКИ

Внимание! Работа на конфокальном микроскопе осуществляется только в присутствии оператора или преподавателя!

Работа проводится с использованием конфокального люминесцентного микроскопа LSM 710 (Zeiss, Germany) с программным обеспечением ZEN 2008. Этот раздел является кратким руководством пользователя конфокального микроскопа, позволяющим провести необходимые настройки и фокусировку микроскопа и зарегистрировать люминесцентные микроизображения и спектры люминесценции образцов.

1. Запуск программного обеспечения микроскопа.

1. При вызове программы ZEN 2008 на экране появится главное окно программы ZEN и стартовое окно LSM 710.
2. В маленьком стартовом окне (рис.3б) выберите режим «**Start System**», в котором осуществляется регистрация новых изображений. Режим «**Image Processing**» предназначен для обработки уже существующих изображений.

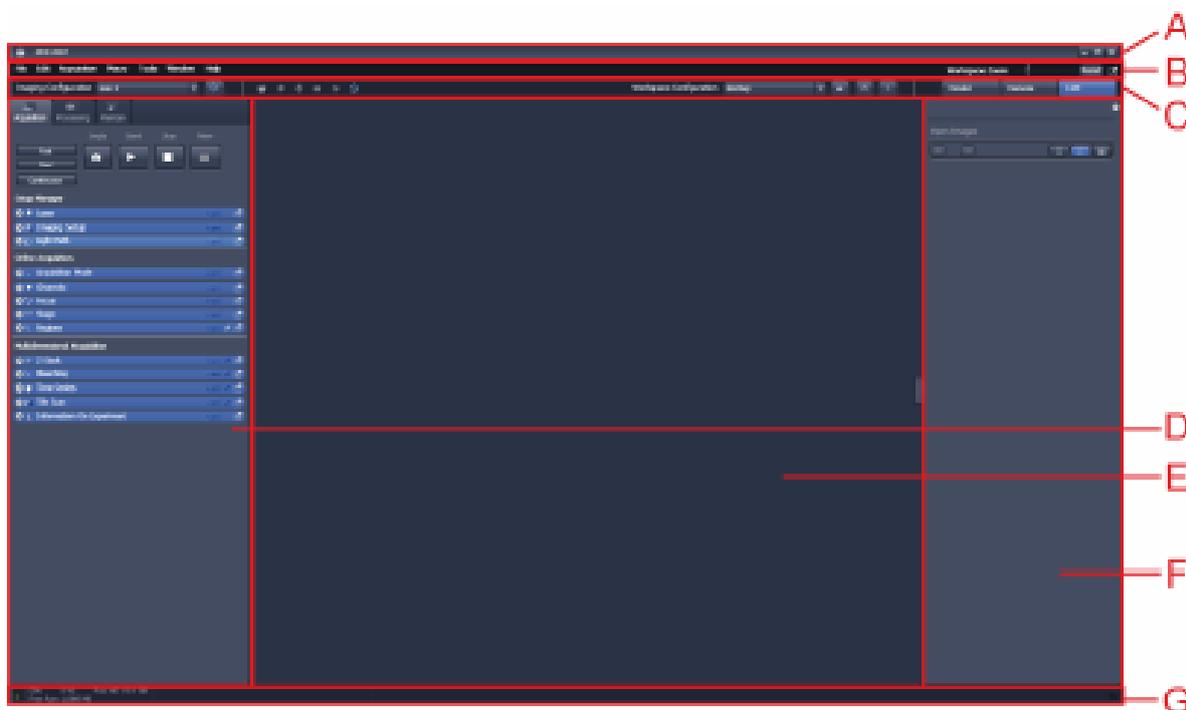


Рис. 5.3. Главное окно приложения ZEN после запуска.

А. Панель приложений; В. Строка меню; С. Главная панель инструментов; Д. Левая зона инструментов; Ф. Зона изображения; Г. Правая зона инструментов.

3. После запуска программы ZEN открывается главное окно программы (рис. 5.3 и рис. 5.4). Для удобства запустите окно в его полноэкранном режиме.

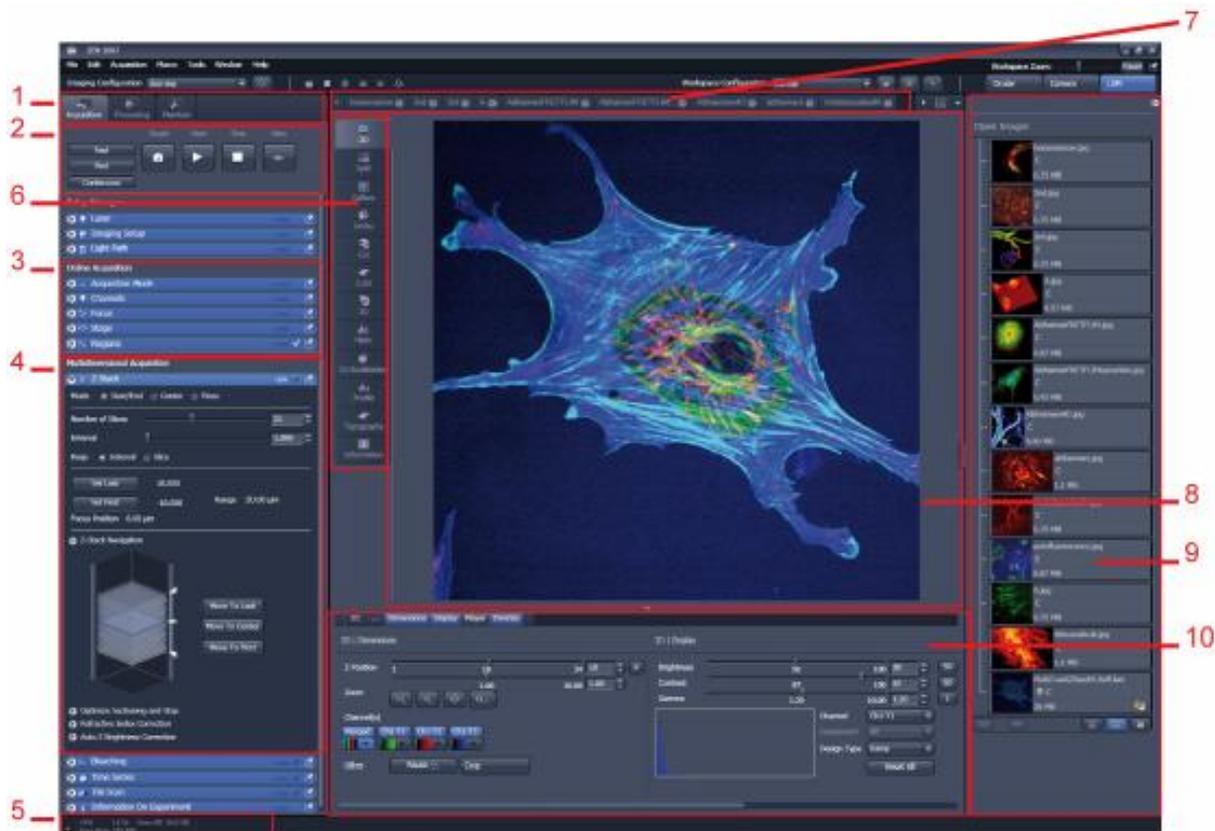


Рис. 5.4. Главное окно приложения ZEN после запуска с несколькими загруженными изображениями. 1. Вкладки для переключения между инструментами разных типов; 2. Кнопки управления; 3. Группы инструментов; 4. Окно выбранного инструмента; 5. Строка состояния; 6. Вкладки переключения режимов визуализации изображения; 7. Вкладки переключения изображений; 8. Окно изображения; 9. Реестр обрабатываемых изображений; 10. Средства управления визуализацией.

В **левой зоне инструментов** (рис. 5.3. пункт D) находятся инструменты для ввода, обработки изображений и инструменты системы технического обслуживания, доступные через **3 основных вкладки** (рис. 5.4, пункт 1). Все функции, необходимые для управления микроскопом и регистрации изображений, находятся во **вкладках инструментов** (рис. 5.4, пункты 3 и 4). Они расположены сверху вниз и следуют логике экспериментального процесса. Область для просмотра и взаимодействия с изображениями сосредоточена в центре главного окна программы. Каждое отображаемое

изображение может отображаться и/или анализироваться в разных режимах визуализации, доступных через "**Вкладки переключения режимов визуализации изображения**", которые можно найти на левой стороне изображения. В соответствии с выбранным режимом визуализации, необходимые **средства управления визуализацией** отображаются в виде блоков управления под каждым изображением. Управление файлами и инструментами обработки данных находятся в **правой зоне инструментов** (см. рис. 5.3 и рис. 5.4).

2. Регистрация люминесцентного изображения образца.

Чтобы создать новое изображение в пустом окне изображения, нажмите кнопку "**Single**"  или "**Пуск**" . Новое изображение будет немедленно зарегистрировано в **окне изображения** (рис. 5.5).

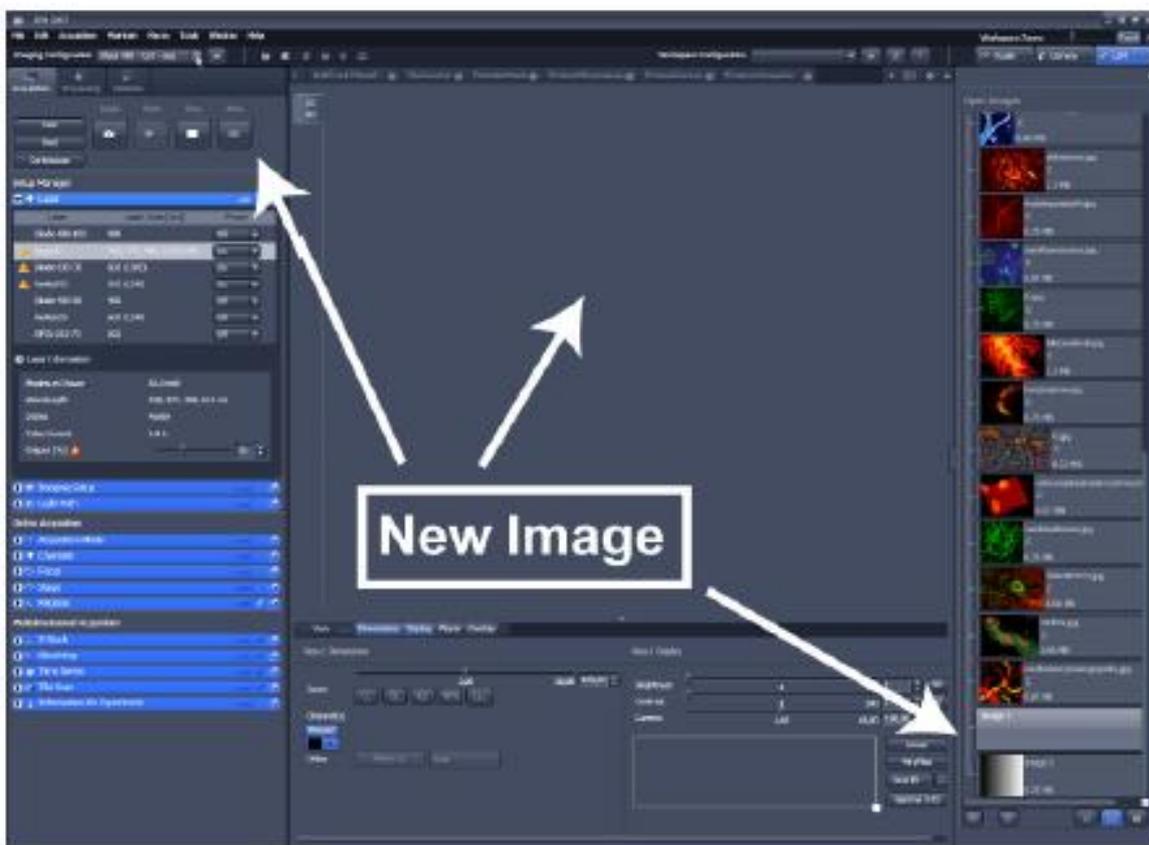


Рис. 5.5. Новое изображение в окне изображения.

Однако перед сканированием нового изображения необходимо выполнить некоторые настройки.

Выбор объектива

Внимание! Изменение объектива необходимо осуществлять только в отсутствие образца в конфокальном микроскопе.

Откройте «**Acquisition Mode**» в **левой панели инструментов**. В выпавшем окне активируйте объектив (вкладка «Objective») EC Epiplan-Apochromat 5x, необходимый для работы. Выбранный объектив будет автоматически перемещен в оптическую ось микроскопа.

Фокусировка

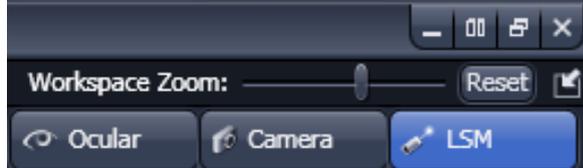
В данном конфокальном микроскопе возможны несколько систем визуализации изображения. Это система непосредственного наблюдения в окуляр, регистрация с помощью видеокамеры и система лазерного сканирования. Кнопки «Ocular», «Camera» и «LSM» переключают путь оптического луча и идентифицируют, какой путь оптического луча используется в микроскопе.



Кнопка «Ocular» изменяет путь луча микроскопа для непосредственного наблюдения через окуляры, лазеры блокируются



Кнопка «Camera» направляет луч микроскопа через порт с камерой



Кнопка «LSM» направляет путь луча микроскопа в систему визуализации LSM 710

Фокусировка в данной работе должна производиться в режиме непосредственного наблюдения в окуляр микроскопа. Поэтому необходимо переключиться в режим «Ocular» и визуально сфокусироваться на образец.

Регистрация люминесцентного изображение образца

Для регистрации люминесцентного изображения образца необходимо переключиться в LSM режим.

Затем следует выбрать режим «**Channel Mode**», используемый для получения изображений, во вкладке «**Image Setup**» в **левой панели инструментов**.

В данной лабораторной работе используются КТ двух размеров, имеющие полосы люминесценции в разных спектральных диапазонах, для получения люминесцентного изображения матрицы с КТ необходимо создать два канала.

Для этого зайдите во вкладку «**Light Path**» в **левой панели инструментов**. Один канал автоматически создан, создайте еще один канал, поставив галочку в столбце «**Use**». Теперь следует задать спектральный диапазон детекции люминесцентного сигнала этих каналов. Это можно сделать, растягивая цветной индикатор в области «**Track**» . Задайте спектральный диапазон 470-570 нм для первого канала и 570-670 нм для второго канала (рис. 5.6).

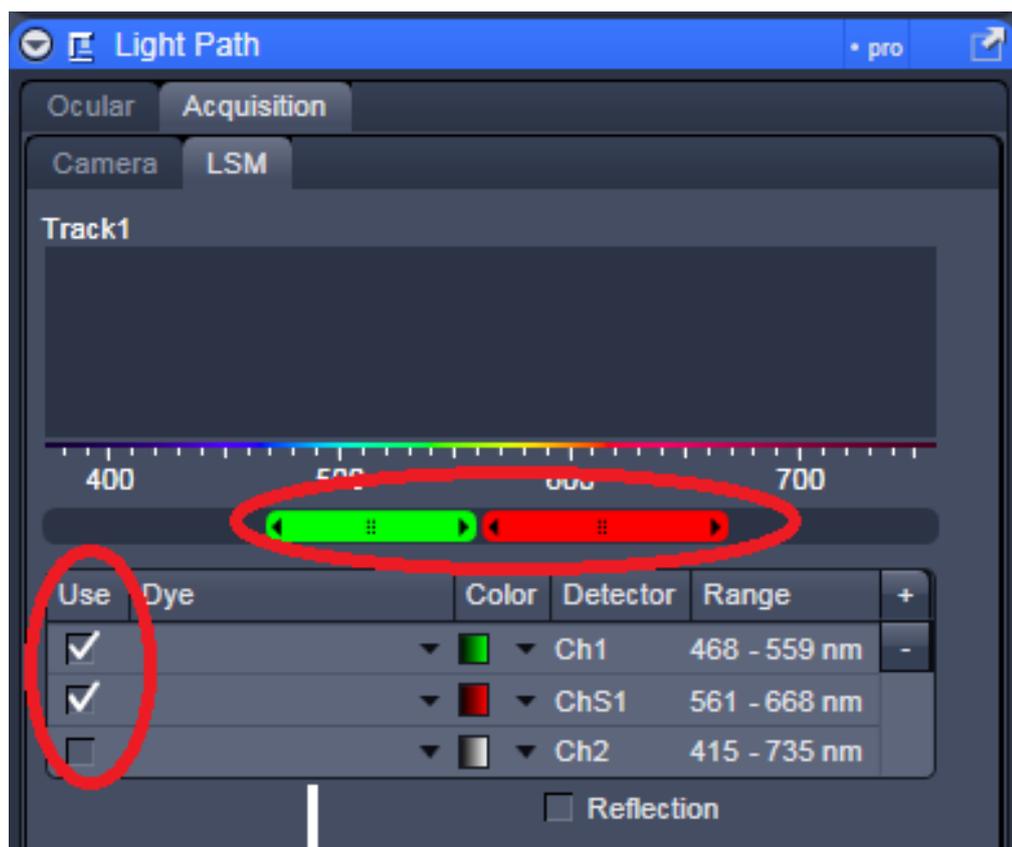


Рис. 5.6. Задание люминесцентных каналов регистрации.

В лазерной конфокальной микроскопии преимущественно используются люминесцентные каналы, но также возможно использовать канал пропускания. В режиме «**Channel Mode**» возможна одновременная регистрация изображений нескольких каналов люминесценции и канала пропускания одного образца. Полученные изображения автоматически совмещаются для формирования единого изображения со всех каналов. Для того чтобы активировать канал пропускания необходимо поставить галочку T-RMT во вкладке «**Light Path**». После этого необходимые каналы заданы.

Вывод изображения в **окне изображения** возможно в несколько режимах визуализации. Режим «**2D**» выводит наложенное общее

изображение со всех заданных каналов. Чтобы просматривать изображения отдельных каналов, необходимо переключиться в режим «Split». Управлять параметрами каждого канала можно во вкладке «Channels» раздела «Online Acquisition».

Выбор источника возбуждающего света (лазера) осуществляется во вкладке «Laser Tool» в **левой панели инструментов** (всегда первый в списке). В данной работе в качестве источника возбуждения используется п/п лазер с длиной волны излучения 405 нм (Laser Diode 405). Для активации лазера для каждого канала во вкладке «Channels» в области "Setup manager" необходимо поставить галочку у длины волны 405 нм .

Остальные настройки каналов задает преподаватель или оператор. После этого можно приступить к получению люминесцентных изображений. Вначале необходимо убедиться, что в LSM режиме изображение сфокусировано в необходимой плоскости образца. Для этого можно воспользоваться режимом регистрации «Continuous», в котором происходит непрерывное сканирование образца с заданной скоростью сканирования. Выбрать скорость сканирования следует в «Acquisition Mode» в **левой панели инструментов**.

В окне «Acquisition Mode» выберите значение «Speed», равное 9. Затем нажмите кнопку «Пуск». В окне изображения появится непрерывно сканируемое изображение образца. В этом режиме можно выполнить точную фокусировку на образце, используя привод фокусировки.

После того, как будет получено сфокусированное люминесцентное изображение образца, необходимо зарегистрировать люминесцентное изображение, нажав кнопку «Single». Помните, что несохраненные 2D-изображения в активной вкладке изображения будут автоматически переписаны при повторном сканировании.

Чтобы сохранить зарегистрированные или обработанные изображения, выберите «Сохранить» или «Сохранить как» в меню «Файл». После этого появится окно «Сохранить как».

- Введите имя файла и выберите соответствующий формат изображения (формат LSM 5 является внутренним форматом данных Carl Zeiss LSM изображений и содержит всю дополнительную информацию и аппаратные параметры эксперимента).

- Нажмите на кнопку «Сохранить».

Затем необходимо экспортировать данные («File» - «Export»). Это позволяет сохранить зарегистрированные изображения в привычных форматах изображений. В появившемся окне экспорта выберите «Select file name and save...». Затем выберите имя файла и нажмите «Сохранить».

Регистрация спектров люминесценции образца

Для регистрации спектров люминесценции необходимо выбрать «Lambda Mode» во вкладке «Imaging Setup». В этом режиме используется совершенно новый канал. При выборе этого режима в выпадающей зоне «Imaging Setup» отображается длина волны генерации активного лазера и спектральный диапазон регистрации детектора. С помощью этого режима визуализации можно получить люминесцентные изображения образца в выбранном спектральном диапазоне, полученные наложением определенного количества люминесцентных изображений (сигнала интенсивности люминесценции для каждого пикселя на определенной длине волны регистрации), зарегистрированных последовательно на разных длинах волн регистрации. Минимальный шаг между длинами волн регистрации составляет 3.2 нм. Каждое полученное изображение сигнала интенсивности люминесценции визуализируется цветом, соответствующим длине волны регистрации. Затем при наложении полученных изображений формируется общее люминесцентное изображение образца. Также этот режим предоставляет возможность получения спектров люминесценции. Для этого надо переключиться в режим визуализации «Unmixing».

Следует помнить, что так в режиме «Lambda» используется новый канал, не связанный с каналами режима «Channels», заново необходимо задать для него параметры (см. предыдущий пункт).

Выбор области сканирования

В рамках выполнения данной работы необходимо получить спектры люминесценции с максимально большой области образца, а также с десяти произвольных локальных областей, входящих в общую область. Выбор локальных областей меньшего размера осуществляется студентами произвольно, но таким образом, чтобы в них входили участки образца с максимальной и минимальной интенсивностями люминесценции.

Инструменты для задания области регистрации находятся в **области управления визуализацией** (рис.5.7).

Для задания максимально возможной в данной конфигурации области регистрации выберите значок прямоугольника (рис. 5.13) в области «Unmixing» и растяните его по границам области изображения образца. Для создания произвольной локальной области регистрации выберите значок круга (рис. 5.7) и разместите его в произвольном месте области изображения образца. После задания всех областей регистрации можно приступить к регистрации спектров и люминесцентного изображения, нажав кнопку «Single».



Рис. 5.7. Инструменты для задания области регистрации.

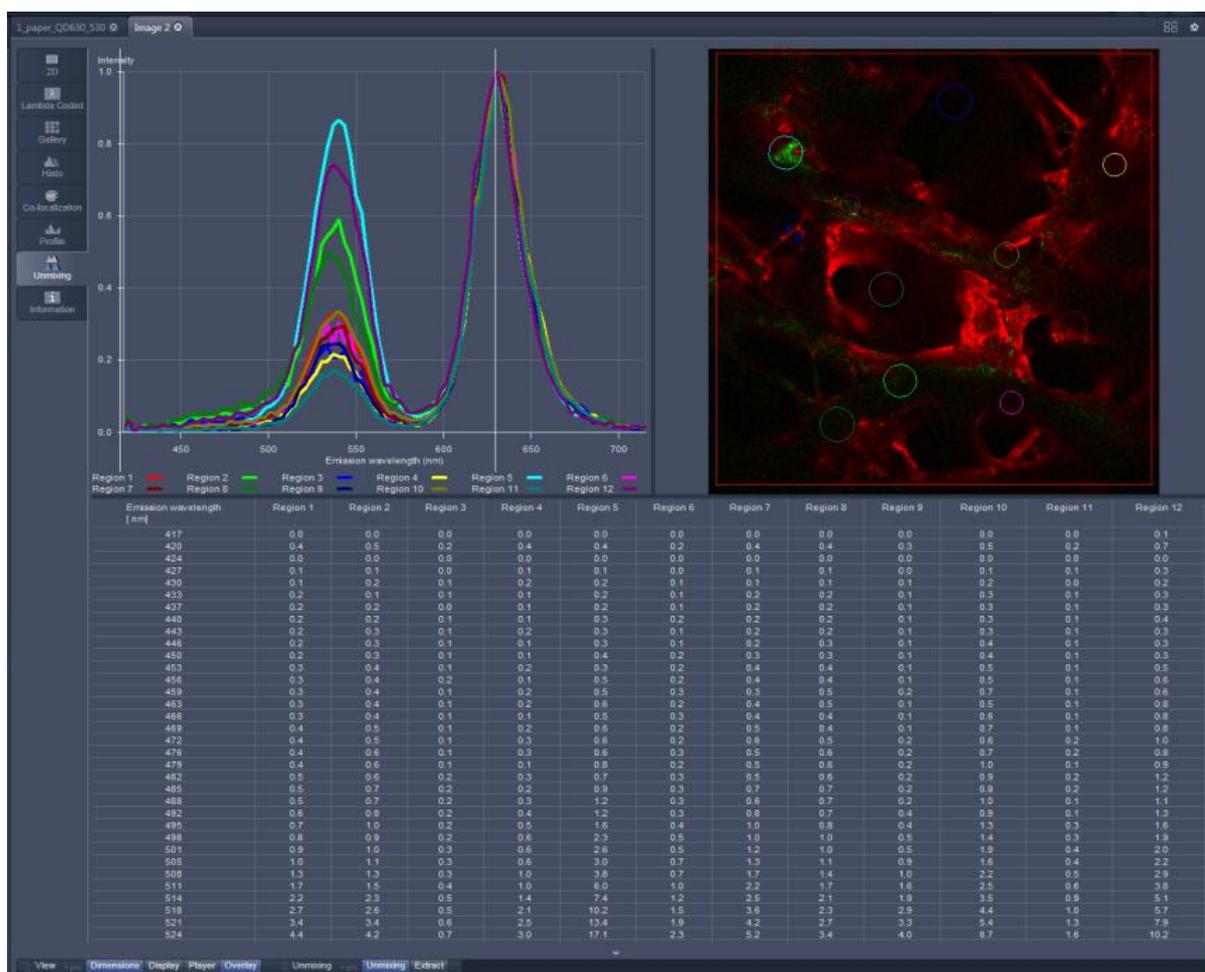


Рис. 5.8. Вид окна вывода изображения с зарегистрированным люминесцентным изображением и спектрами люминесценции в режиме визуализации «Unmixing» режима «Lambda mode»

Спектры люминесценции и люминесцентное микроизображение будут создаваться путем последовательного сканирования люминесцентного сигнала на отдельных длинах волн регистрации люминесценции через заданный шаг длин волн регистрации. Для всех выбранных областей регистрации спектры создаются одновременно и выводятся в окне изображения (рис. 5.8).

Под областью изображения выводятся данные в табличном формате. Для сохранения этих спектров люминесценции в .txt формате необходимо кликнуть правой кнопкой мыши по таблице и выбрать Save table... Затем сохраните полученное люминесцентное изображение, как описано в предыдущем пункте.

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

- 1) Сформировать метку на основе фильтровальной бумаги и квантовых точек двух размеров. Для этого пропитать образец фильтровальной бумаги смешанным раствором квантовых точек, стараясь получить максимально равномерно окрашенный образец.
- 2) Под руководством преподавателя выполнить настройку и фокусировку конфокального микроскопа в режиме регистрации люминесцентных изображений.
- 5) Зарегистрировать на конфокальном микроскопе люминесцентное изображение метки с использованием 50-кратного объектива, при этом сканируя максимально возможную область образца.
- 6) Под руководством преподавателя выполнить настройку конфокального микроскопа в режиме регистрации спектров люминесценции.
- 7) Зарегистрировать спектры люминесценции образца с максимальной возможной области и с малых локальных областей, входящих в общую область регистрации (выбрать 10 локальных областей на люминесцентном изображении).
- 8) Выполнить анализ зарегистрированных спектров люминесценции метки. Для этого сравнить значения интенсивности в максимумах полос люминесценции квантовых точек, зарегистрированных с максимальной возможной области люминесцентного изображения, со значениями интенсивностей данных полос в спектре люминесценции, полученным усреднением спектров люминесценции по 10 спектрам люминесценции, зарегистрированных с меньших областей, принадлежащих общей области регистрации. Для усреднения использовать формулу:

$$\bar{S} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{10} S_i = \frac{1}{n} (S_1 + \dots + S_{10}) \quad (5.2)$$

где \bar{S} – усреднённый спектр люминесценции, S_i – спектр люминесценции, зарегистрированный с отдельной точки люминесцентного изображения.

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА

1. Люминесцентное изображение метки, полученное на конфокальном микроскопе с использованием режима «Channel Mode».
2. Люминесцентное изображение метки, полученное на конфокальном микроскопе с использованием режима «Lambda Mode».
3. Спектры люминесценции, полученные при регистрации спектров люминесценции с максимально возможной области, а также с десяти отдельных локальных областей меньшего размера.
4. На отдельном графике привести спектр люминесценции, полученный в результате усреднения спектров с 10 локальных областей и спектр люминесценции с максимальной области люминесцентного изображения.
5. Выводы о возможности использовать фильтровальную бумагу в качестве матрицы для создания меток на основе смеси квантовых точек разного размера.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Как осуществляется оптическое кодирование в многоцветных люминесцентных метках на основе КТ?
2. Благодаря чему конфокальная микроскопия обеспечивает увеличение контраста изображения?
3. Причины возникновения пространственной неоднородности меток на основе квантовых точек.

РЕКОМЕНДОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Аппельт Г. Введение в методы микроскопического исследования, М.,1959
2. Гусев А.И. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. М.: Физматлит. 2009. 416 с. ISBN 978-5-9221-0582-8I
3. Паркер. Фотолюминесценция растворов, глава 3 – аппаратура и методы эксперимента. М: Мир,1972.

Лабораторная работа №6.

ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ПОЛУПРОВОДНИКОВЫХ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК И ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

ЦЕЛЬ РАБОТЫ:

определение оптимального размера квантовых точек для эффективного переноса энергии от квантовых точек к органическим молекулам.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ:

- спектрофотометр UV Probe 3600 (Shimadzu, Japan);
- спектрофлуориметр Панорама (Люмэкс, Россия);
- фотометрические кюветы;
- полупроводниковые квантовые точки;
- органический краситель.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

1. Комплексы КТ-органическая молекула

В настоящее время большой интерес представляет создание гибридных структур с уникальными характеристиками, возникающими в результате комбинирования свойств полупроводниковых наночастиц и органических молекул. В частности, в последние два десятилетия интенсивно ведутся работы по созданию и исследованию свойств комплексов коллоидных полупроводниковых нанокристаллов, квантовых точек (КТ), с органическими соединениями.

Оптические и химические свойства коллоидных полупроводниковых КТ – возможность управлять цветом люминесценции нанокристаллов, меняя размер ядра КТ, протяженный спектр поглощения в совокупности с их высокой поглощательной способностью (коэффициент экстинкции КТ составляет 10^5 - 10^6 $M^{-1}cm^{-1}$), высокий квантовый выход люминесценции (до 85%), высокая фото- и термическая стойкость, высокая химическая устойчивость, стандартные методики модификации поверхности КТ позволяют использовать их в качестве универсального донора энергии в гибридных структурах с органическими молекулами.

Перенос энергии – это способность одной компоненты системы передать энергию возбуждения другой компоненте. Одним из механизмов переноса энергии является *диполь-дипольный безызлучательный*

резонансный перенос энергии (Förster Resonant Energy Transfer, FRET), теория которого была разработана Фёрстером.

2. Безызлучательный резонансный перенос энергии

Безызлучательный перенос энергии электронного возбуждения можно определить как явление, при котором первично возбуждённая частица (молекула, ион, комплекс) – донор энергии вступает во взаимодействие с другой частицей – акцептором энергии, находящимся на расстоянии, меньшем длины волны излучения первой. В результате взаимодействия появляется дополнительная вероятность для перехода частицы донора в основное состояние с одновременным переходом частицы акцептора из основного состояния в возбуждённое:

Этот процесс приводит к тушению люминесценции донора и увеличению интенсивности люминесценции акцептора.

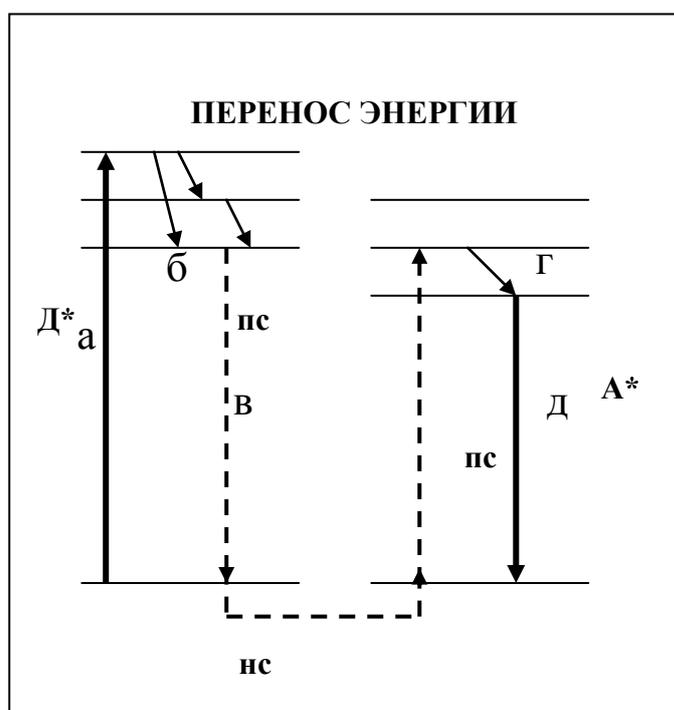


Рисунок 6.1. Схема безызлучательного переноса энергии.

Современную квантовомеханическую теорию безызлучательного переноса энергии между молекулами в растворах впервые разработал в 1947 году Фёрстер. Полученное им выражение для вероятности переноса энергии содержит только экспериментально измеряемые величины. Теория Фёрстера прошла широкую экспериментальную проверку и подтверждена многочисленными прямыми экспериментами. Следует отметить, что до

сих пор основная масса экспериментальных результатов по безызлучательному переносу энергии удовлетворительно описывается в рамках теории Фёрстера, исключая случаи, когда в переносе энергии участвуют запрещённые переходы.

Весь процесс переноса энергии можно разбить на ряд этапов: (см. схему выше)

а) поглощение молекулой донора энергии с переходом в возбуждённое состояние (поглощение кванта света);

б) колебательная релаксация в возбуждённом состоянии донора;

в) передача возбуждения от донора к акцептору;

г) колебательная релаксация в молекуле акцептора;

скорости процессов «б» и «г» велики и равны 10^{11} - 10^{12} с⁻¹;

процесс «г» очень важен в акте безызлучательного переноса энергии, так как при этом система выходит из резонанса и обратный перенос энергии становится невозможным;

д) излучение или деградация энергии в акцепторе.

В случае индуктивно-резонансных взаимодействий решение квантовомеханической задачи для этого случая с выражением интегралов Франка-Кондона через молярный десятичный коэффициент экстинкции $\varepsilon_A(\nu)$ и квантовую спектральную плотность излучения люминесценции $I_D^H(\nu)$ позволяет получить выражение для константы скорости переноса энергии для диполь-дипольных взаимодействий:

$$k_{II}^{dd}(R) = \frac{9000 \cdot \ln 10 \cdot \Phi^2 \cdot q_{0D}}{128 \cdot \pi^5 \cdot n^4 \cdot N \cdot \tau_{0D} \cdot R^6} \times I, \quad (6.1)$$

$$I = \int I_D^H(\nu) \cdot \varepsilon_A(\nu) \cdot \nu^{-4} \cdot d\nu, \quad (6.2)$$

где N – число Авогадро, q_{0D} – квантовый выход донора в отсутствие тушителя, τ_{0D} – время жизни возбужденного состояния донора в отсутствие тушителя, Φ – ориентационный фактор, характеризующий связь углов между направлениями дипольных моментов переходов в доноре и акцепторе с углами между направлениями дипольных моментов переходов в соответствующих молекулах и вектором, соединяющим молекулы донора и акцептора. Если скорость броуновского вращения молекул достаточно велика, то $\Phi^2=2/3$. В случае неподвижных молекул (твёрдые растворы), когда все ориентации дипольных моментов переходов доноре и акцепторе равновероятны $\Phi^2=0.84 \times 2/3$. I – интеграл перекрытия, отражающий степень спектрального перекрытия испускаемая донора и люминесценции акцептора.

Квантовая спектральная плотность излучения люминесценции $I_D^H(\nu)$ является нормированной интенсивностью флуоресценции донора в шкале

волновых чисел ν в диапазоне от ν до $\nu + \Delta\nu$, причем суммарная интенсивность принимается равной единице.

Эффективность межмолекулярного диполь-дипольного перехода можно характеризовать критическим расстоянием R_0 – расстоянием между донора и акцептора, на котором вероятность переноса равна вероятности спонтанной дезактивации донора:

$$k_{II}(R_0) = \frac{1}{\tau_{0D}}.$$

Под критическим радиусом R_0 обычно понимается расстояние между донором и акцептором, при котором вероятность переноса энергии по механизму FRET равна 50%.

Тогда

$$k_{II}^{dd}(R) = \frac{1}{\tau_{0D}} \left(\frac{R_0}{R} \right)^6,$$

$$R_0^6 = \frac{9000 \cdot \ln 10 \cdot \Phi^2 \cdot q_{0D}}{128 \cdot \pi^5 \cdot n^4 \cdot N} \int I_D^H(\nu) \cdot \varepsilon_A(\nu) \cdot \nu^{-4} \cdot d\nu, \quad (6.3)$$

Важно отметить, что формулы (6.1) и (6.2) пригодны в том случае, когда рассматриваемые переходы имеют дипольный характер.

Таким образом, согласно теории Ферстера, для эффективного переноса энергии по механизму FRET в выбранной донорно-акцепторной паре, необходимо одновременное выполнение двух условий:

- 1) Расстояние между донором и акцептором не должно превышать критический радиус (R_0).
- 2) Спектр поглощения акцептора должен перекрываться со спектром люминесценции донора (рисунок 7.2). Интеграл перекрытия данных спектров влияет на эффективность переноса энергии.

Один из способов оценки эффективности переноса энергии состоит в использовании формулы Ферстера:

$$E_t = \frac{1}{1 + \left(\frac{R_{DA}}{R_0} \right)^6} \quad (6.4)$$

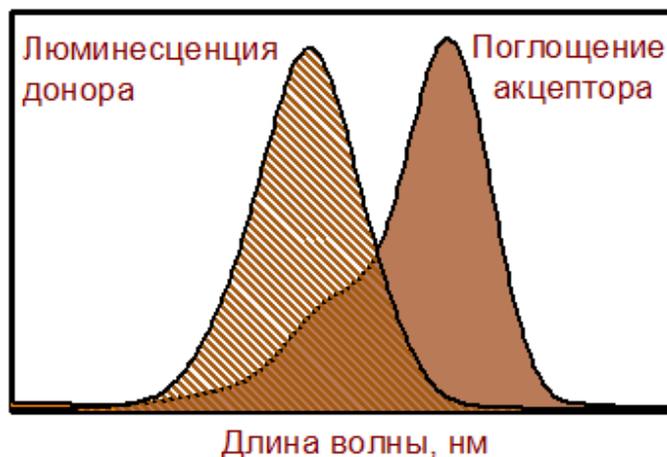


Рисунок 6.2. Схема расположения спектров поглощения и люминесценции донорно-акцепторной пары для эффективного переноса энергии.

Гибридные структуры с эффективным переносом энергии от КТ к молекуле находят широкое применение в сенсорике, биомедицине, экологическом мониторинге и фотовольтаике. В частности, на основе комплексов квантовых точек и молекул могут быть созданы чувствительные биосенсоры. В такой структуре эффективность переноса энергии чувствительна к изменению расстояния между донором и акцептором, и при наличии такого переноса становятся возможными визуализация структуры биологических объектов разного типа и сверхчувствительный контроль биохимических реакций, что необходимо в молекулярной и клеточной биологии, медицинской терапии и диагностике.

Использование КТ в качестве донора энергии в комплексах с тетрапиррольными молекулами, способными к генерации синглетного кислорода, может значительно увеличить эффективность генерации синглетного кислорода и расширить спектральный диапазон фотовозбуждения тетрапиррольного компонента. На рисунке 6.3 продемонстрирован принцип действия такого комплекса. В отсутствие связывания в комплекс квантовой точки и тетрапиррольной молекулы количество синглетного кислорода, которое способна генерировать молекула, обусловлено исключительно собственным поглощением молекулы энергии фотовозбуждения. При образовании комплекса за счет переноса энергии от КТ к молекуле должно наблюдаться увеличение генерации синглетного кислорода молекулой за счет дополнительной энергии, переданной от донора (КТ).

На явлении переноса энергии от КТ к органическим молекулам основаны люминесцентные сенсоры для детекции паров вредных веществ. В присутствии анализируемого вещества условия переноса энергии

изменяются, и как следствие изменяется интенсивность люминесценции квантовой точки.

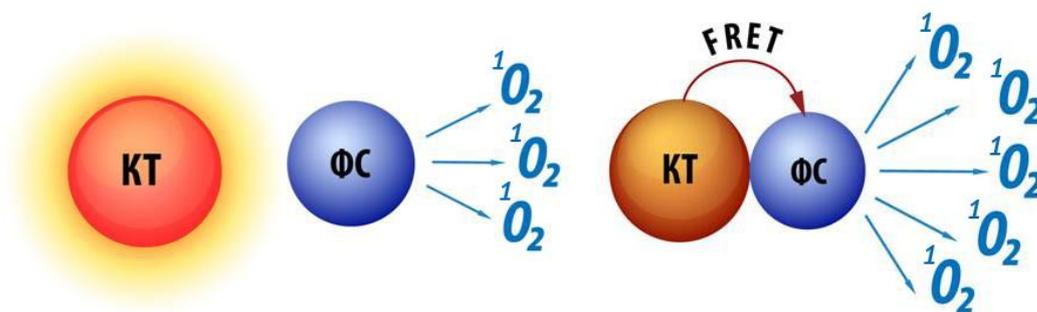


Рисунок 6.3. Система квантовая точка (КТ) - молекула фотосенсибилизатора (ФС) с эффективной генерацией синглетного кислорода для терапии онкологических заболеваний: между КТ и молекулой осуществляется безызлучательный резонансный перенос энергии (FRET)

Одним из первоначальных этапов создания подобных комплексов является поиск подходящих донорно-акцепторных пар, между которыми возможен эффективный перенос энергии. В случае квантовых точек эффект размерного квантования позволяет достаточно легко подобрать подходящий донор энергии для выбранной органической молекулы просто изменяя размер нанокристаллов.

ОПИСАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ УСТАНОВОК

Работа выполняется на спектрофотометре и спектрофлуориметре. Описание приборов и порядок записи спектров см. в описании к лабораторной работе №1.

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

- 1) Получить стоковый раствор органического красителя, стоковые растворы квантовых точек двух размеров и фотометрические кюветы у преподавателя.
- 2) Приготовить рабочие растворы органического красителя и квантовых точек двух размеров.
- 3) Измерить спектры поглощения и люминесценции рабочего раствора органического красителя и спектр поглощения стокового раствора.
- 4) По спектру поглощения определить концентрацию стокового раствора красителя (понадобится для проведения следующей лабораторной) с использованием формулы Бугера-Ламберта-Бера:

$$c = D_{\lambda} / \varepsilon_{\lambda} \cdot l \quad (6.5),$$

где c – концентрация вещества, D_λ – оптическая плотность на определенной длине волны, ε_λ – коэффициент экстинкции вещества на данной длине волны, l – толщина образца.

Коэффициент экстинкции органического красителя получить у преподавателя.

5) Измерить спектры поглощения и люминесценции рабочих растворов квантовых точек двух размеров.

6) Проанализировав спектры люминесценции квантовых точек и спектр поглощения органического красителя выбрать оптимальную донорно-акцепторную пару с максимальным перекрытием люминесценции донора и поглощением акцептора.

ОБРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ

Используя полученные спектры люминесценции донора и поглощения акцептора рассчитать интеграл перекрытия I и эффективность переноса энергии $E_{theor.}$ по формулам 2 и 4 для выбранной донорно-акцепторной пары.

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА

1. Спектры поглощения органического красителя и спектры люминесценции квантовых точек.
2. Вывод об оптимальной донорно-акцепторной паре.
3. Рассчитанные значения интеграла перекрытия и эффективности переноса энергии для выбранной донорно-акцепторной пары.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Дайте определение безызлучательному переносу энергии.
2. Каким условиям должна удовлетворять донорно-акцепторная пара для осуществления в ней переноса энергии по механизму FRET?
3. Что понимается под критическим радиусом?

РЕКОМЕНДОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Ермолаев В.Л., Бодунов Е.Н., Свешникова Е.Б., Шахвердов Т.А. /Безызлучательный перенос энергии электронного возбуждения. // Л.: «Наука», (1977) 311 с.
2. V. Maslov, A. Orlova, A. Baranov. /Combination Therapy: Complexing of QDs with tetrapyrrols and other dyes. In:“Photosensitisers in medicine, environment, and security”. // V. Ahsen, T. Nyokong Eds. Part II, Chapter 3 (Springer-Verlag. 1st Edition., 2011, Approx. 250 p. 10 illus., ISBN: 978-90-481-3870-8 Due: September 30, 2011

Лабораторная работа №7.

ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОМПЛЕКСОВ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК С ОРГАНИЧЕСКИМИ МОЛЕКУЛАМИ В ВОДНЫХ СРЕДАХ

ЦЕЛИ РАБОТЫ:

- приобретение навыков формирования комплексов квантовых точек с органическими молекулами в водных средах;
- приобретение навыков анализа зависимости люминесцентных свойств квантовых точек от концентрации органических молекул в растворе.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ:

- спектрофотометр UV Probe 3600 (Shimadzu, Japan);
- спектрофлуориметр Панорама (Люмэкс, Россия);
- фотометрические кюветы;
- водорастворимые полупроводниковые квантовые точки;
- водный раствор органических молекул.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

1. Комплексы КТ с органическими молекулами

Среди органических молекул существует большой класс органических красителей – тетрапиррольных соединений, способных эффективно генерировать активные формы кислорода и, в частности, синглетный кислород. В настоящее время тетрапиррольные соединения (например, порфирины и производные фталоцианинового ряда, такие как *хлорин еб*, *АЮН-тетрасульфопфталоцианин*, *тетра(р-триметиламино)фенилпорфин*, и др.) вызывают большой интерес с точки зрения терапии злокачественных новообразований. При введении в организм они обладают способностью селективно накапливаться в зараженных участках ткани. Под воздействием излучения с длиной волны, соответствующей одному из максимумов поглощения вещества, тетрапиррольные соединения способны генерировать активную форму синглетного кислорода. Эта активная форма кислорода разрушает окружающие клетки ткани. На этом принципе основан фотодинамический эффект и сравнительно новый метод лечения онкологических заболеваний — фотодинамическая терапия рака (ФДТ), в которой тетрапиррольные соединения выступают в роли фотосенсибилизатора.

Все тетрапиррольные соединения, которые сегодня применяются в ФДТ, имеют ряд существенных недостатков: высокая токсичность,

длительный период выведения из организма, необходимость индивидуального подбора источника возбуждающего излучения. В связи с этим представляется актуальным создание комплексов на основе полупроводниковых КТ и тетрапиррольных соединений, которые, благодаря механизму безызлучательного переноса энергии по механизму безызлучательного резонансного переноса энергии (Förster Resonant Energy Transfer, FRET) от КТ к молекуле, могут увеличить эффективность генерации синглетного кислорода. В настоящее время в мире активно ведутся исследования по созданию комплексов полупроводниковых нанокристаллов с различными органическими молекулами фотосенсибилизаторов.

В комплексах квантовая точка – молекула фотосенсибилизатор увеличение эффективности генерации синглетного кислорода может происходить за счёт внутрикомплексного переноса энергии фотовозбуждения от квантовой точки к молекуле.

Поскольку квантовые точки имеют широкий диапазон поглощения света, то для комплексов типа КТ/ОМ решается проблема селективного подбора источника возбуждающего излучения. Увеличение эффективности генерации синглетного кислорода может позволить снизить терапевтическую дозу фотосенсибилизатора, либо время облучения поражённых участков ткани.

2. Способы связывания в комплекс полупроводниковых квантовых точек и тетрапиррольных молекул

В применении к комплексам КТ с тетрапиррольными соединениями можно рассматривать три основных механизма связывания: ковалентное связывание, координационное связывание и электростатическое взаимодействие.

Создание комплексов КТ с органическими молекулами в общем случае означает простое смешивание растворов двух компонент. Однако у каждого типа связывания квантовых точек с органическими молекулами в комплекс имеются свои особенности.

Ковалентный тип связывания. В данном случае компоненты связываются в комплекс при помощи ковалентной связи, образованной перекрытием (обобществлением) пары валентных электронных облаков. Как показано на рис. 7.1, ковалентное связывание КТ и молекул тетрапиррольного ряда обычно проводится с использованием специальных молекул-линковщиков карбодиимида N-ethyl-N(3-succinimide)carbodiimide) и гидрокси сукцимида (N-hydroxy succinimide), которые используются для связывания карбоксильной группы ($-\text{COOH}$) с амино группой ($-\text{NH}_2$). Некоторые тетрапиррольные соединения имеют функциональные карбоксильные или аминогруппы, для создания этих групп на поверхности

КТ их предварительно солибилизируют молекулами тиольного ряда или пассивируют пептидами.

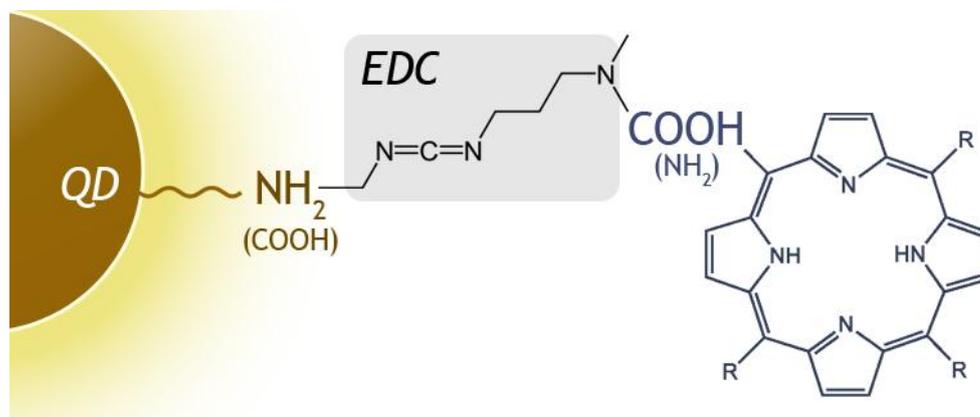


Рис. 7.1. Схема ковалентного связывания КТ и тетрапиррольной молекулы.

К числу достоинств данного типа связывания следует отнести: высокую степень устойчивости комплексов, полное отсутствие их диссоциации при обычных условиях, достаточно жестко фиксированное расстояние между КТ и тетрапиррольной молекулой в комплексе. Недостатками являются: относительная трудоемкость получения комплексов, наличие ограничений на используемые объекты (необходимость наличия аминогруппы с одной стороны и карбоксильной группы с другой), а также относительно большие расстояния между КТ и молекулой, что ограничивает эффективность всех типов взаимодействий между ними, включая внутрикомплексный перенос энергии фотовозбуждения.

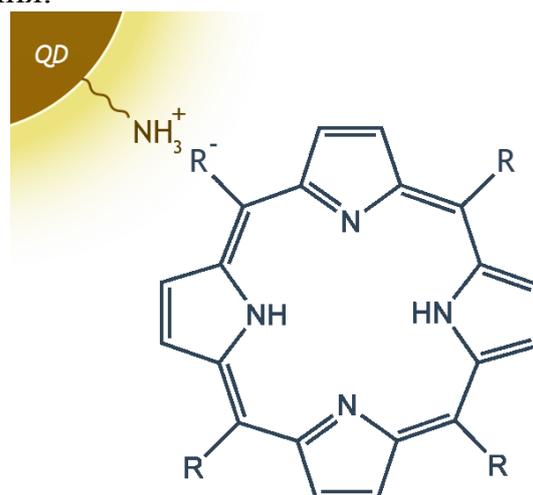


Рис. 7.2. Схема электростатического взаимодействия КТ и тетрапиррольной молекулы.

Электростатическое взаимодействие является самым простым и легким способом образования комплексов, который заключается в том, что противоположно заряженные компоненты в растворе притягиваются друг к другу с помощью кулоновских сил, как представлено на рис. 7.2. Разноименный заряд компонентов комплекса образуется при диссоциации молекул солилизатора КТ и функциональных групп тетрапиррольных соединений в растворе. Он достаточно просто реализуется: как правило, достаточно приготовить отдельно растворы КТ и тетрапиррольного соединения нужных концентраций и слить их вместе. Однако, как показывают существующие исследования, при электростатическом взаимодействии могут возникать различные изменения спектральных форм тетрапиррольного компонента, что может привести к изменению его фотофизических свойств.

Если в экспериментах по образованию комплексов между водорастворимыми квантовыми точками и тетрапиррольными соединениями в качестве тетрапиррольного компонента используется металлопроизводное, способное к присоединению осевых лигандов, то это обстоятельство также может быть использовано как один из механизмов комплексообразования. Координационное связывание, возможно, является наиболее распространенным типом связывания при образовании комплексов КТ с тетрапирролами. При этом целесообразно различать два случая: (1) лиганд со стороны тетрапиррола координируется на поверхностный атом металла КТ и (2) лиганд со стороны органической оболочки КТ координируется на центральный атом металла тетрапиррольного кольца, как показано на рис. 7.3.

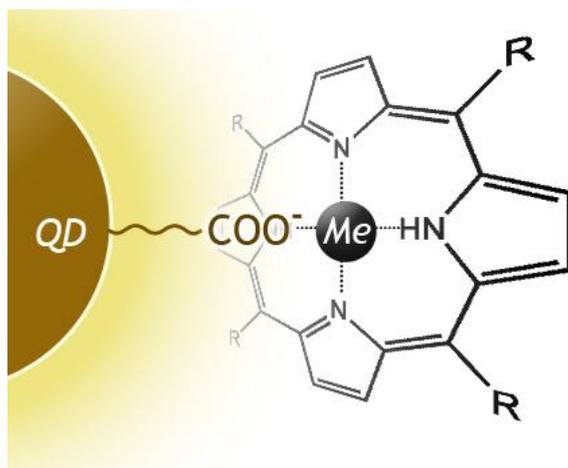


Рис. 7.3. Схема координационного связывания КТ и тетрапиррольной молекулы.

Координационный тип связывания в комплекс КТ с тетрапиррольными молекулами наиболее просто реализовать в

гидрофобных системах, поскольку в водных средах поверхность квантовых точек и молекулы, как правило, заряжены. Это приводит к тому, что кулоновское взаимодействие между КТ и молекулами препятствует образованию координационной связи. Так, в случае противоположно заряженных частиц в большинстве случаев комплексы образуются в результате электростатического взаимодействия разноименно заряженных групп на поверхности КТ и молекул. В случае же одноименно заряженных КТ и тетрапирролов между частицами возникает кулоновское взаимодействие, которое приводит к возникновению энергетического барьера и тем самым препятствует образованию координационной связи. В последнем случае образование координационной связи в водных средах возможно, однако эффективность этого процесса напрямую зависит от величины поверхностного заряда КТ и молекул.

3. Зависимость интенсивности люминесценции КТ от концентрации органических молекул в смешанных растворах

Одним из наиболее характерных проявлений комплексообразования является тушение люминесценции квантовых точек в результате связывания в комплекс с тетрапиррольными или им подобными молекулами. В большинстве случаев при исследовании процессов комплексообразования изучается концентрационная зависимость тушения люминесценции КТ от концентрации молекул. Целесообразно различать два случая тушения люминесценции в комплексе: (1) случай, когда присоединение к КТ хотя бы одной молекулы приводит к полному тушению люминесценции КТ и (2) случай, когда такое присоединение приводит к неполному тушению люминесценции КТ. Первый из указанных случаев более прост в рассмотрении, т.к. в этом случае вся наблюдаемая люминесценция квантовых точек относится к нанокристаллам, не связанным в комплекс.

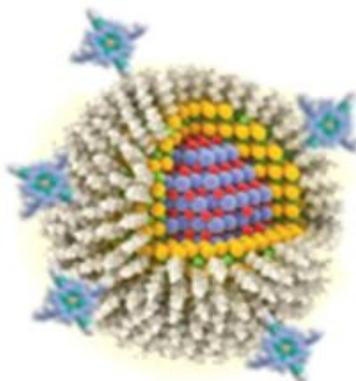


Рис. 7.4. Схема возможной стехиометрии комплекса КТ-тетрапиррольная молекула с соотношением среднего числа органических молекул на одну квантовую точку $n \geq 1$.

Независимо от типа связывания, предельное число молекул, которые в каждом конкретном случае могут быть присоединены к одной квантовой точке, зависит от числа поверхностных атомов металла и, соответственно, числа молекул солубилизатора. В силу размера квантовых точек число поверхностных атомов металла и/или число молекул солубилизатора, как правило, составляет несколько десятков, как схематично представлено на рис. 7.4.

В этом случае количество органических молекул, связанных в комплекс с квантовыми точками должно подчиняться статистическому распределению Пуассона. Будем также предполагать выполнение следующих условий:

1. В смеси КТ и молекул тушителя наблюдается люминесценция только свободных КТ.
2. Присоединение хотя бы одной молекулы тушителя к КТ полностью тушит люминесценцию КТ.
3. Для определенности будем также предполагать, что равновесие комплексообразования полностью смещено в сторону комплексов, т.е. свободные молекулы тушителя в смеси отсутствуют.

Обозначим через A ($0 < A < 1$) часть КТ, способных связываться с молекулами тушителя. Соответственно $(1 - A)$ – часть КТ, которые не могут образовывать комплекс с молекулами. Тогда вероятность того, что с КТ связаны x молекул, определяется формулой Пуассона:

$$P(x, t) = \frac{t^x}{x!} e^{-t}, \quad (7.1)$$

где t – среднее число органических молекул, связанных с одной КТ, способной образовывать комплекс с молекулой тушителя в смеси. Очевидно, что среднее число молекул, приходящихся на одну КТ, будет определяться выражением:

$$t = \frac{C_M}{C_{КТ} \cdot A}, \quad (7.2)$$

где C_M – концентрация молекул в смеси, $C_{КТ}$ – общая концентрация КТ в растворе. Таким образом, концентрационная зависимость интенсивности люминесценции квантовых точек в комплексах с молекулами носит экспоненциальный характер.

Поскольку люминесцируют только свободные КТ, то относительная интенсивность люминесценции КТ в смеси с молекулами будет определяться выражением:

$$\frac{I}{I_0} = A \exp\left(-\frac{C_M}{AC_{КТ}}\right) + (1 - A), \quad (7.3)$$

где I – интенсивность люминесценции КТ в смеси с молекулами, I_0 – люминесценция КТ в отсутствие молекул тушителя.

Анализ экспериментальных концентрационных зависимостей тушения люминесценции КТ при связывании с тетрапиррольными молекулами позволяет получить информацию о стехиометрии комплексов и физическом механизме тушения люминесценции нанокристаллов. На рис. 7.5 приведена зависимость интенсивности люминесценции квантовых точек CdSe/ZnS, связанных в комплекс с молекулами *AlOH-тетрасульфоталлоцианина* в результате электростатического взаимодействия в водной среде, от молярного соотношения компонентов в смеси ($n = C_M / C_{КТ}$).

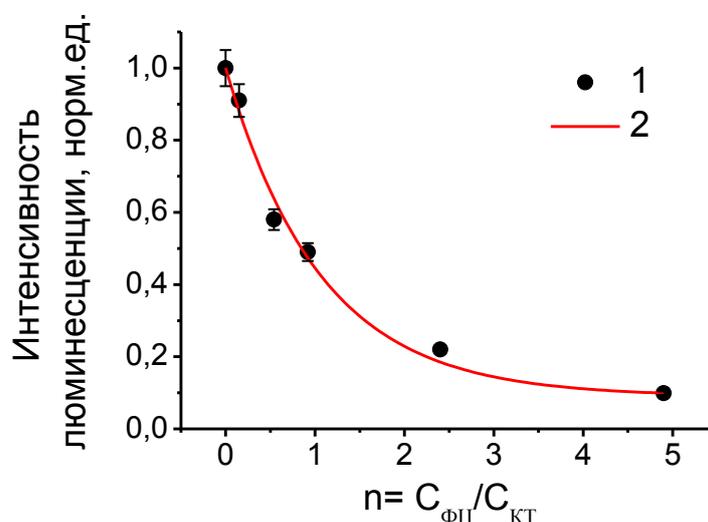


Рисунок 7.5. Зависимость относительной интенсивности люминесценции (I/I_0) CdSe/ZnS КТ от соотношения концентраций $C_M / C_{КТ}$ в комплексах КТ/ФЦ: 1 - экспериментальные данные; 2 - аппроксимация функцией $y = 0,91 \cdot \exp(-0,94 \cdot n) + 0,09$.

Анализ тушения люминесценции КТ при добавлении молекул фталоцианина (рис. 5) показывает, что зависимость относительной интенсивности люминесценции квантовых точек I/I_0 от n близка к экспоненциальной: $I/I_0 = 0,91 \cdot \exp(-0,94 \cdot n) + 0,09$ с показателем экспоненты $\sim 0,94$, $A = 0,91$. Заметим, что показатель экспоненты здесь имеет физический смысл среднего числа КТ, которые образуют комплекс с одной молекулой, следовательно, в данном эксперименте одна молекула фталоцианина в среднем тушит одну квантовую точку. Значения $A=0,91$ показывают долю КТ, связанных с молекулами, в данном случае высокие показатели A показывают, что практически все квантовые точки в растворе связаны с молекулами фталоцианина.

4. Оценка эффективности внутрикомплексного переноса энергии по спектрам поглощения и люминесценции комплексов

В комплексах с тетрапиррольными молекулами физический механизм тушения люминесценции нанокристаллов является принципиально важным, поскольку КТ в данном случае используются в качестве доноров энергии. Практически во всех работах, в которых тушение люминесценции квантовых точек в комплексах с тетрапиррольными молекулами рассматривается как результат переноса энергии фотовозбуждения от КТ к молекулам, предполагается, что перенос энергии осуществляется по механизму FRET. Основными проявлениями FRET в эксперименте являются тушение люминесценции донора и увеличение интенсивности люминесценции акцептора. Измерение этих величин позволяет определить эффективность FRET.

В предыдущей лабораторной работе предлагалось вычислить эффективность FRET $E_{.theor.}$ с использованием формулы Фёрстера:

$$E_{.theor.} = \frac{1}{1 + \left(\frac{R_{DA}}{R_0} \right)^6} \quad (7.4),$$

где R – расстояние между донором и акцептором; R_0 – критический радиус (расстояние между донором и акцептором на котором вероятность переноса энергии равна вероятности спонтанной дезактивации донора).

Следует отметить, что формула Ферстера не учитывает возможность возникновения конкурентных каналов безызлучательной дезактивации возбужденного состояния донора при комплексообразовании, что может приводить к тушению интенсивности люминесценции донора. Очевидно, что в тех случаях, когда в комплексе между донором и акцептором имеется тесный контакт, вероятность возникновения новых каналов безызлучательной дезактивации донора достаточно велика. И тогда применение формулы (7.4) становится неправомерным. Также при комплексообразовании зачастую происходит существенное возмущение органических молекул, сопровождающееся изменением их спектральной формы и квантового выхода люминесценции. Эти изменения должны быть также учтены при оценке эффективности FRET.

Поэтому более корректным способом оценки эффективности FRET является экспериментальное измерение тушения люминесценции донора и сенсбилизации люминесценции акцептора.

Если в комплексе с квантовыми точками тетрапиррольная молекула сохраняет способность люминесцировать, экспериментальную эффективность переноса энергии можно определить следующим образом:

$$E_{\text{exp}} = \frac{I_{\text{сeнс}}(\lambda_{\text{КТ}}^{\text{ex}}) \cdot D_{\text{M}}(\lambda_{\text{M}}^{\text{ex}})}{I_{\text{M}}(\lambda_{\text{M}}^{\text{ex}}) \cdot D_{\text{КТ}}(\lambda_{\text{КТ}}^{\text{ex}})} \cdot F, \quad (7.5),$$

где $I_{\text{сeнс}}$ – интенсивность сенсibilизированной донором люминесценции акцептора (с учетом вклада прямого возбуждения люминесценции акцептора; I_{M} – интенсивность люминесценции акцептора, связанного в комплекс с донором, в отсутствие возбуждения донора; $\lambda_{\text{КТ}}$ и λ_{M} – длины волн возбуждения люминесценции, на которых доминирующий вклад в поглощение смеси имеет квантовые точки и молекулы красителя соответственно; F – степень тушения люминесценции КТ:

$$F = 1 - \frac{I}{I_0}, \quad (7.6)$$

где I, I_0 – интенсивность люминесценции КТ в присутствии и отсутствии молекул соответственно.

Применение формулы (7.5) является более корректным, чем формулы (7.4) поскольку возможно и в тех случаях, когда образование комплексов приводит к появлению дополнительных безызлучательных процессов в доноре (КТ), а также в тех случаях, когда квантовый выход люминесценции акцептора в комплексе отличается от квантового выхода люминесценции свободного акцептора.

Для того, чтобы определить интенсивность сенсibilизированной донором люминесценции акцептора $I_{\text{сeнс}}$ при возбуждении светом с длиной волны преимущественного поглощения КТ, необходимо вычислить вклад прямого возбуждения донора в зарегистрированную интенсивность люминесценции смеси $I_{\text{смеси}}^{\text{зар}}$ и вычесть его из зарегистрированной люминесценции смеси $I_{\text{смеси}}^{\text{зар}}$ по формуле:

$$I_{\text{сeнс}}(\lambda_{\text{КТ}}^{\text{ex}}) = I_{\text{смеси}}^{\text{зар}}(\lambda_{\text{КТ}}^{\text{ex}}) - \frac{I_{\text{M}}(\lambda_{\text{M}}^{\text{ex}})D_{\text{КТ}}(\lambda_{\text{КТ}}^{\text{ex}})}{D_{\text{M}}(\lambda_{\text{M}}^{\text{ex}})}, \quad (7.7)$$

ОПИСАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ УСТАНОВОК

Работа выполняется на спектрофотометре и спектрофлуориметре. Описание приборов и порядок записи спектров см. в описании к лабораторной работе №1.

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

1) приготовить раствор КТ с рабочей концентрацией КТ $C_{\text{кт}}$ в диапазоне $10^{-7} - 10^{-6}$ М/л (размер КТ выбирается в ходе предыдущей работы).

- 2) измерить спектры поглощения и люминесценции раствора КТ.
- 3) По спектру поглощения КТ вычислить концентрацию КТ $C_{КТ}$ в растворе.
- 4) Получить стоковый раствор красителя у преподавателя. Добавить в раствор КТ порцию раствора красителя так, чтобы соотношение концентраций $n = C_M / C_{КТ}$ в смеси стало 0.25 (одна молекула красителя на четыре КТ). Для выполнения этого пункта воспользоваться вычисленным в предыдущей лабораторной работе значением концентрации раствора красителя C_M , затем определить объем добавки стокового раствора красителя V_M в раствор КТ по формуле:

$$V_M = \frac{C_{КТ} n V_{КТ}}{C_M}, \quad (7.8)$$

где $V_{КТ}$ – объем раствора КТ.

- 5) Измерить спектры поглощения смешанного раствора.
- 6) Выбрать длины волн возбуждения люминесценции $\lambda_{КТ}$ и λ_M , необходимые для оценки эффективности FRET. Для этого проанализировать спектры поглощения КТ (полученные в пункте 2) и красителя (взять из предыдущей лабораторной работы). Выбрать $\lambda_{КТ}$ в спектральной области, где находится локальный минимум поглощения красителя, при этом поглощение КТ велико. λ_M выбрать в области, где расположена полоса поглощения молекулы, а поглощение КТ отсутствует.
- 7) Измерить спектры люминесценции смеси на двух выбранных длинах волн возбуждения $\lambda_{КТ}$ и λ_M .
- 8) Сделать несколько добавок красителя так, чтобы соотношение компонентов в смеси было равно 0.5; 0.75; 1 и 2, после каждой добавки мерить спектры поглощения и люминесценции на длинах волн $\lambda_{КТ}$ и λ_M .

ОБРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ

- 1) Построить спектры поглощения и люминесценции смеси для всех добавок.
- 2) По спектрам поглощения смесей вычислить концентрации красителя C_M и соотношение концентраций КТ и красителя $n = C_M / C_{КТ}$ для всех добавок.
- 3) Проанализировать спектры люминесценции КТ для всех добавок и построить зависимость относительной интенсивности люминесценции КТ (I/I_0) от соотношения концентрации КТ и красителя в смеси n .
- 4) Аппроксимировать полученную кривую экспоненциальной функцией. Сделать вывод о доле КТ, связанных с молекулами красителя в смеси и среднем числе КТ, которые образуют комплекс с одной молекулой красителя.

5) Вычислить экспериментальную эффективность FRET E_{exp} для добавки с соотношением концентрации КТ и молекул $n = 1$ по формулам (7.5 - 7.7).

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА

- 1) Спектры поглощения и люминесценции раствора КТ, органического красителя и смешанных растворов для всех добавок.
- 2) График зависимости относительной интенсивности люминесценции КТ (I/I_0) от соотношения концентрации КТ и красителя в смеси n .
- 3) Функция аппроксимации зависимости относительной интенсивности люминесценции КТ (I/I_0) от соотношения концентрации КТ и красителя в смеси n и выводы о доле КТ, связанных с молекулами красителя в смеси и среднем числе КТ, которые образуют комплекс с одной молекулой красителя.
- 4) Значение экспериментальной эффективности FRET E_{exp} .

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Объясните механизмы связывания в комплекс квантовых точек и тетрапиррольных молекул для генерации синглетного кислорода. В чем преимущества и недостатки этих способов?
2. Какой физический смысл имеет показатель экспоненты в кривых тушения люминесценции квантовых точек в комплексах с органическими молекулами?
3. В каких случаях применение формулы Ферстера для оценки эффективности переноса энергии в выбранной донорно-акцепторной паре может являться некорректным?

РЕКОМЕНДОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Ермолаев В.Л., Бодунов Е.Н., Свешникова Е.Б., Шахвердов Т.А. / Безызлучательный перенос энергии электронного возбуждения. // Л.: «Наука», (1977) 311 с.
2. V. Maslov, A. Orlova, A. Baranov. / Combination Therapy: Complexing of QDs with tetrapyrroles and other dyes. In: "Photosensitisers in medicine, environment, and security". // V. Ahsen, T. Nyokong Eds. Part II, Chapter 3 (Springer-Verlag. 1st Edition., 2011, Approx. 250 p. 10 illus., ISBN: 978-90-481-3870-8 Due: September 30, 2011
3. A.O. Orlova, I.V. Martynenko, V.G. Maslov, A.V. Fedorov, Y.K. Gun'ko, A.V. Baranov. Investigation of complexes of CdTe quantum dots with the AlOH-sulphophthalocyanine molecules in aqueous media. J. Phys. Chem. C, 117(44) 23425–23431 (2013).

Лабораторная работа №8.

УСЛОВИЯ ФОРМИРОВАНИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ АЗОКРАСИТЕЛЕЙ

ЦЕЛЬ РАБОТЫ:

формирование металлокомплексов азокрасителей в водных растворах.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

1. Фотометрические сенсоры

Фотометрические сенсоры применяют для качественного и количественного анализа по изменениям оптической плотности в электронном спектре поглощения.

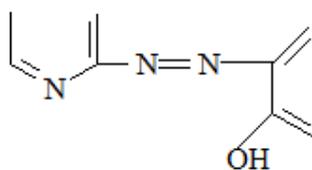
Как известно, концентрация веществ, поглощающих в видимой и ближней ультрафиолетовой области спектра достаточно просто определяется из спектра поглощения по закону Бугера-Ламберта-Бера:

$$c = D_{\lambda} / \varepsilon_{\lambda} \cdot l \quad (8.1),$$

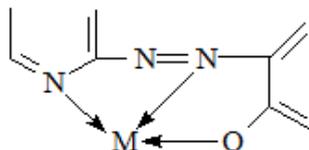
где c – концентрация вещества, D_{λ} – оптическая плотность на определенной длине волны, ε_{λ} – коэффициент экстинкции вещества на данной длине волны, l – толщина образца.

Однако, далеко не все вещества имеют характеристические электронные спектры поглощения, поэтому спектроскопия поглощения редко используется для идентификации веществ. Кроме того, многие вещества, как например, ионы металлов, не поглощают в видимой области спектра, поэтому такие вещества нельзя детектировать напрямую фотометрическими методами. Принцип действия фотометрических сенсоров основан на проведении специфических химических реакций, приводящих к возникновению характеристических полос в спектрах поглощения. Это означает, что в присутствии анализируемого вещества в спектре поглощения вещества, используемого в качестве чувствительного сенсорного элемента, возникают новые характеристические полосы поглощения.

Гетероциклические азосоединения широко применяются для фотометрического определения многих ионов. Данные вещества образуют координационные комплексы с ионами металлов. Большинство гетероциклических соединений являются трехдентатными лигандами, т.е. в образовании металлокомплекса участвуют электронные подсистемы трех гетероатомов азокрасителя. Функциональной группировкой, определяющей их реакционную способность является группа



которая координирует ион металла атомом N гетероцикла, атомом O гидроксильной группы и одним атомом азота азогруппы. При этом образуется комплекс



К преимуществам данных реагентов можно отнести:

- высокую чувствительность ко многим ионам;
- значительный батохромный сдвиг максимума поглощения при комплексообразовании;
- малый избыток реагента, необходимый для полноты комплексообразования;
- применимость закона Бугера-Ламберта-Бера в широких интервалах концентраций определяемого иона;
- отсутствие влияния компонентов буферных смесей различного состава применяемых для создания оптимальной кислотности, на поглощение комплексов;
- стабильность оптической плотности растворов во времени;
- широкий интервал кислотности, в котором оптическая плотность максимальна и практически постоянна;
- отсутствие ассоциации молекул и ионов реагентов комплексов в растворах.

Основным недостатком гетероциклические азосоединений в качестве фотометрических сенсоров на ионы металлов является низкая селективность. Большинство данных соединений взаимодействуют с широким спектром ионов, при этом положение максимумов поглощения различных металлокомплексов конкретного азосоединения обладают незначительными сдвигами. Для повышения селективности используют различные приемы. В частности, подбирают условия проведения реакции способствующие комплексообразованию красителя с выбранным ионом или опираются при идентификации на форму всего спектра поглощения а не только на положение максимума.

Следует отметить, что не все реагенты и комплексы растворимы в воде, в то время как ионы металлов обычно детектируются в водных растворах. При создании двухфазных систем происходит образование комплексов и

их экстракция либо в гидрофобную либо в водную фазу. Однако, экстракция комплексов не всегда количественна.

Образование металлокомплексов азокрасителей может происходить только при определенном уровне кислотности среды, так как в зависимости от рН азокраситель может находиться в различных формах. Например, 1-(2-пиридилазо)-2-нафтол (ПАН) в зависимости от величины рН способен находится в 3 формах: нейтральной (желтая), кислой (желто – зеленая) и щелочной (сиреневая). На рисунке 8.1 приведена структура ПАН в различных формах.

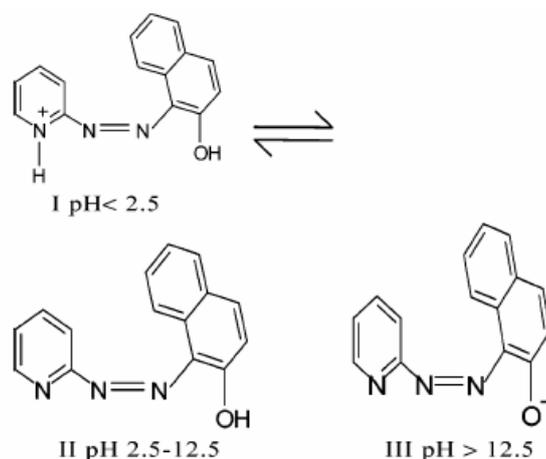


Рис. 8.1. Структура ПАНа при различных значениях рН

Чувствительность реагентов в фотометрическом анализе чаще всего выражают молярным коэффициентом экстинкции. Эта величина объективна: исходя из чувствительности прибора, минимально определяемой величины оптической плотности с заданной вероятностью, объема раствора и толщины поглощающего слоя. По величине коэффициента экстинкции можно рассчитать минимально определяемое содержание элемента.

Устойчивость является важной характеристикой комплексного соединения, поскольку величины констант устойчивости комплексов и констант диссоциации комплексов позволяют расчетным путем найти оптимальные условия определения концентрации ионов металлов и сделать реакцию неорганического иона с выбранным лигандом максимально селективной. Устойчивость комплексного соединения зависит от многих факторов определяемых химическим строением красителя и в первую очередь от дентантности лиганда, т.е. от количества гетероатомов координирующихся на ион металла. Замена хотя бы одного из гетероатомов в азосоединение на углерод существенно снижает устойчивость комплексов.

2. Химическое равновесие

Проще всего понять суть химического равновесия на примере обратимой химической реакции. Пусть есть обратимая реакция:



Если предположить, что прямая и обратная реакция проходят в одну стадию, то скорости этих реакций будут прямо пропорциональны концентрациям реагентов: скорость прямой реакции

$$v_1 = k_1 \cdot [A] \cdot [B] \quad (8.3),$$

скорость обратной реакции

$$v_2 = k_2 \cdot [C] \cdot [D] \quad (8.4),$$

где квадратными скобками обозначены молярные концентрации реагентов. По мере протекания прямой реакции концентрации исходных веществ А и В снижаются, соответственно, уменьшается и скорость прямой реакции. Скорость же обратной реакции, которая в начальный момент равна нулю (нет продуктов С и D), постепенно увеличивается. Когда скорости прямой и обратной реакций сравняются, концентрации всех веществ – А, В, С и D не изменяются со временем. Это значит, что реакция достигла положения равновесия. Следует подчеркнуть, что при химическом равновесии обе реакции – и прямая, и обратная – продолжают идти, однако их скорости равны и поэтому в системе не наблюдается изменений.

Важнейший параметр, характеризующий обратимую химическую реакцию – константа равновесия K . Если записать для рассмотренной обратимой реакции условие равенства скоростей прямой и обратной реакции в состоянии равновесия:

$$k_1 \cdot [A]_p \cdot [B]_p = k_2 \cdot [C]_p \cdot [D]_p \quad (8.5),$$

откуда

$$[C]_p \cdot [D]_p / [A]_p \cdot [B]_p = k_1 / k_2 = K \quad (8.6),$$

то величина K называется константой равновесия химической реакции. Таким образом, при равновесии отношение концентрации продуктов реакции к произведению концентрации реагентов постоянно, если постоянна температура. Описанный способ вывода константы равновесия, основанный на скоростях прямой и обратной реакций, в общем случае использовать нельзя, так как для сложных реакций зависимость скорости от концентрации обычно не выражается простым уравнением или вообще неизвестна. Тем не менее, в термодинамике доказывается, что конечная формула для константы равновесия оказывается верной.

Для комплексов с соотношением частиц 1:1 константа равновесия может быть определена следующим образом (в литературе данная константа часто обозначается как β):

$$K = \frac{[C_{complex}]}{[C_a] \cdot [C_b]} \quad (8.7)$$

где – $C_{complex}$ – концентрация комплексов в смеси; C_a – концентрация в смеси частиц a , не связанных в комплекс; C_b – концентрация в смеси частиц b , не связанных в комплекс.

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

- 1) раствор азокрасителя;
- 2) соль металла;
- 3) дистиллированная вода.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ:

Работа выполняется на спектрофотометре UV Probe 3600 (Shimadzu, Japan). Описание прибора см. в лабораторной работе №1.

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

- 1) Измерить спектр поглощения раствора азокрасителя.
- 2) Взять навеску соли металла и растворить в предложенном объеме дистиллированной воды. Массу навески определяет преподаватель.
- 3) Порционно добавлять раствор ионов металла к раствору азокрасителя, после каждой добавки регистрировать спектр поглощения. Увеличивать концентрацию ионов металла в растворе до тех пор, пока амплитуда полосы поглощения металлокомплекса не перестанет увеличиваться. Объем добавки указывает преподаватель.

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА:

1. Спектр поглощения азокрасителя и расчет его концентрации по формуле 1, коэффициент экстинкции в максимуме полосы поглощения свободной формы азокрасителя выдает преподаватель.
2. Концентрации раствора ионов металла, рассчитанная по формуле:

$$C_0 = \frac{m/M}{V} \quad (8.10),$$

где m – масса навески соли металла, M – молярная масса соли, V – объем растворителя.

3. Концентрация ионов металла в растворе азокрасителя после единичной добавки, рассчитанная по формуле:

$$C = C_0 \frac{v}{V} \quad (8.11),$$

где C_0 - концентрация раствора ионов металла, определенная по формуле 10; v - объем добавки; V - объем раствора азокрасителя.

4. Спектры поглощения раствора для каждой добавки раствора ионов металла и расчет концентрации металлокомплексов по формуле 8.1, коэффициент экстинкции металлокомплексов (на длине волны 560 нм) выдает преподаватель.

5. Зная исходную концентрацию азокрасителя (C_{dye}) и концентрацию металлокомплексов (C_{complex}) рассчитать концентрацию азокрасителя не связанного в комплекс (C_{free}):

$$C_{\text{free}} = C_{\text{dye}} - C_{\text{complex}} \quad (8.12)$$

6. Рассчитать константы комплексообразования по формуле 8.7.

7. Выводы по проделанной работе.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

1. Объяснить принцип работы фотометрических сенсоров.
2. Пояснить преимущества и недостатки использования гетероциклических соединений в качестве фотометрических сенсоров.
3. Что такое химическое равновесие и как оно проявляется при образовании металлокомплексов азокрасителей?
4. Как определить константу комплексообразования по экспериментальным данным?

РЕКОМЕНДОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. В. М. Иванов. Гетероциклические азотосодержащие азосоединения /М.: Наука, 1982. – 230с.
2. Б. Н. Афанасьев, Ю. П. Акулова. Физическая химия / СПб.: Лань, 2012. 416 с, глава 6.

Лабораторная работа №9.

УСЛОВИЯ ФОРМИРОВАНИЯ И ОПТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОМПЛЕКСОВ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК С МОЛЕКУЛАМИ АЗОКРАСИТЕЛЯ

ЦЕЛЬ РАБОТЫ:

Формирование комплексов полупроводниковых квантовых точек с молекулами азокрасителя и регистрация их оптических характеристик в растворах.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

1. Полупроводниковые квантовые точки

Полупроводниковые квантовые точки (КТ) обладают высоким квантовым выходом люминесценции, высокой фотостабильностью и химической устойчивостью. Возможность создания комплексов и гибридных структур на основе КТ позволяет значительно расширить области применения данного типа нанокристаллов. Комплексы КТ с органическими молекулами могут использоваться в солнечных батареях, в биологических и медицинских исследованиях, для создания источников света и фототранзисторов. Благодаря большой удельной поверхности КТ и возможности управлять квантовым выходом люминесценции полупроводниковые квантовые точки широко используются для создания люминесцентных сенсоров на различные вещества. Для решения сенсорных задач распространено создание комплексов квантовых точек с органическими молекулами, в которых выполняются условия для переноса энергии. В присутствии анализируемого вещества условия переноса энергии изменяются, и как следствие, изменяется интенсивность люминесценции квантовой точки. Детектируемое вещество может также адсорбироваться непосредственно на поверхность квантовой точки, однако такой подход обладает низкой селективностью.

Сегодня люминесцентные сенсоры получили достаточно широкое распространение. Это обусловлено тем фактом, что использование в качестве детектируемого сигнала люминесцентного отклика позволяет обнаруживать значительно меньшие количества веществ по сравнению с фотометрическим способом регистрации.

В спектрофотометрии концентрация веществ пропорциональна оптической плотности:

$$c \sim D = \lg(I_0/I) \quad (9.1)$$

где I_0 – интенсивность светового потока падающего на образец, I – интенсивность потока, прошедшего через образец. Следовательно, фактором, определяющим минимально обнаружимую концентрацию, является минимально измеримая разность между I_0 и I . Для достижения высокой чувствительности необходимо с высокой точностью измерять интенсивность светового потока. Точность измерения оптической плотности на стандартных приборах в кювете толщиной 1 см обычно составляет около 0.001. Для молекул средних размеров значение коэффициента экстинкции редко достигает 10^5 . Подставляя это значения в уравнение Бугера-Ламберта-Бера, получим, что минимальная концентрация вещества, определяемая методом абсорбционной спектрофотометрии, составляет 10^{-8} моль/л.

С другой стороны, если исключить эффекты, связанные с перепоглощением света в образцах с высокой концентрацией, интенсивность люминесценции пропорциональна произведению концентрации вещества на интенсивность возбуждающего света:

$$I_{\text{lum}} \sim c \cdot I_{\text{ex}} \quad (9.2)$$

Современными фотоумножителями можно зарегистрировать чрезвычайно низкие интенсивности света, и, следовательно, используя очень высокие интенсивности возбуждающего света можно определить крайне низкие концентрации. Чувствительность спектрофлуориметра лимитируется в принципе лишь максимальной интенсивностью возбуждающего света. В идеальных условиях предельная измеримая концентрация имеет порядок 10^{-12} моль/л. Однако применение люминесцентной спектроскопии для количественных оценок затруднено тем, что интенсивность сигнала люминесценции для одного и того же образца будет меняться в зависимости от геометрии измерения и от характеристик конкретного спектрофлуориметра.

2. Сенсорный элемент на основе комплексов КТ/азокраситель

Одним из подходов для создания сенсоров на основе квантовых точек является использование комплексов на основе квантовых точек и органических молекул. Для присоединения органической молекулы к квантовой точке существует несколько способов:

- электростатическое взаимодействие между заряженными группами молекул солубилизатора квантовых точек и органическими молекулами;

- ковалентное связывание органической молекулы с молекулами солубилизатора

- метод координационной связи: непосредственное присоединение молекулы к атомам на оболочке КТ.

В большинстве случаев материал и размер квантовых точек выбирают таким образом, чтобы в комплексе с органическими молекулами выполнялись условия для эффективного диполь-дипольного переноса энергии от квантовых точек к молекулам, а люминесценция КТ в комплексе была частично или полностью потушена.

Принцип работы сенсорного элемента на основе квантовых точек основан на изменении интенсивности люминесценции КТ в присутствии анализируемого вещества. Изменение интенсивности люминесценции КТ может происходить или за счет изменения условий для внутрикомплексного переноса энергии или за счет диссоциации комплексов КТ/азокраситель.

Рассмотрим принцип действия люминесцентного диссоциативного сенсора на ионы металла на основе комплексов квантовых точек и органических молекул (см. рис. 9.1).

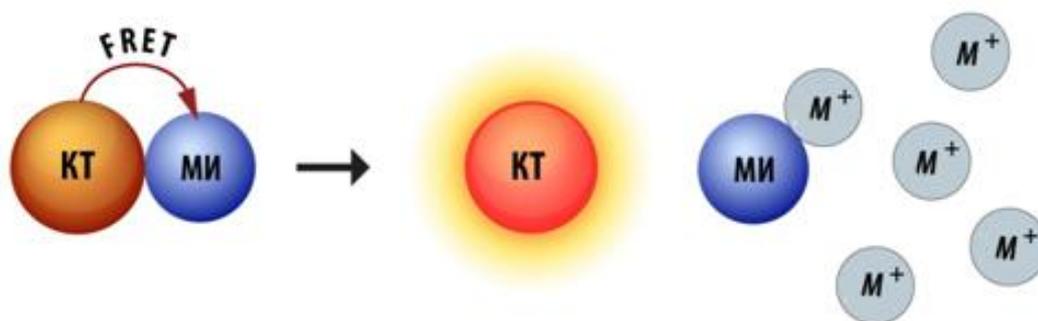


Рис.9.1. Люминесцентный диссоциативный сенсор на ионы металла.

В первый момент времени люминесценция КТ в комплексе с органической молекулой потушена. Вообще говоря, физический механизм тушения люминесценции в данном случае не принципиален, важно, чтобы данный процесс был обратим. В присутствии вещества (аналита), константа комплексообразования с которым для органического соединения выше, чем с КТ, химическое равновесие системы смещается в сторону образования комплексов азокраситель/металл, а диссоциация комплекса КТ/азокраситель приводит к разгоранию люминесценции КТ.

Гетероциклические азокрасители – класс веществ образующих комплексы с различными ионами металлов. В частности, данные соединения способны координироваться на атомы металлов на поверхности квантовых точек. Например, если смешать растворы 1-(2-пиридилазо)-2-нафтола (ПАН) и квантовых точек CdSe/ZnS, будет наблюдаться координация молекул ПАН на атомы цинка на оболочке КТ. Так как образование металлокомплексов приводит к изменению спектра поглощения красителя, то в случае комплексообразования с КТ в спектре поглощения так же появится характерная полоса металлокомплекса. Если

положение полосы поглощения данного металлокомплекса совпадает с положением полосы люминесценции КТ (что легко достигается выбором КТ соответствующего размера), то будет наблюдаться тушение люминесценции квантовых точек за счет безызлучательного резонансного переноса энергии от КТ к металлокомплексу на оболочке данной КТ. А так как при координировании красителя на поверхность КТ обеспечивается минимально возможное расстояние между донором и акцептором энергии, то в этом случае эффективность тушения люминесценции КТ будет близка к 100%.

В растворе квантовые точки и молекулы азокрасителя находятся в состоянии химического равновесия. Это означает, что при определенных концентрациях компонент в зависимости от значения константы образования металлокомплекса на поверхности КТ в растворе будет находиться определенное число комплексов КТ/азокраситель и определенное число свободных компонентов (КТ и молекул азокрасителя). Эффективность комплексообразования будет зависеть от соотношения концентраций квантовых точек и азокрасителя в растворе и от константы комплексообразования. Таким образом, в присутствие ионов металлов, для которых константа комплексообразования для данного красителя выше, чем константа комплексообразования с атомами на поверхности КТ, равновесие будет смещено в сторону комплексообразования со свободными ионами металла (аналитом). Уменьшение числа комплексов с КТ будет приводить к увеличению интенсивности люминесценции квантовых точек. На данном принципе основано действие сенсорного элемента.

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе используются растворы полупроводниковых квантовых точек и гетероциклического азокрасителя.

ОПИСАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ УСТАНОВОК

Работа выполняется на спектрофотометре Shimadzu и спектрофлуориметре Cary Eclipse. Описание приборов и порядок регистрации спектров см. в описании к лабораторной работе №1.

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

- 1) Измерить спектры поглощения и люминесценции раствора квантовых точек, по формуле Бугера-Ламберта-Бера определить концентрацию КТ.
- 2) Измерить спектр поглощения азокрасителя, определить его концентрацию.
- 3) Порционно добавлять раствор азокрасителя к раствору КТ так, чтобы соотношение компонентов (краситель/КТ) составляло: 0.25, 0.5, 1, 2, 5, 10, каждый раз регистрировать спектры поглощения и спектры люминесценции раствора.
- 4) Для каждого соотношения компонентов в смеси по амплитуде полосы поглощения металлокомплекса азокрасителя, определить концентрацию данных комплексов и их % содержание от общей концентрации молекул азокрасителя в смеси. Коэффициент экстинкции металлокомплекса азокрасителя сообщает преподаватель.
- 5) Для каждого соотношения компонентов в смеси определить среднее число молекул азокрасителя, приходящееся на одну КТ.
- 6) Для каждого соотношения компонентов в смеси определить относительную интенсивность люминесценции КТ в смеси:

$$I' = \frac{I}{I_0} \quad (9.3),$$

где I и I_0 – интенсивность люминесценции КТ в присутствии и в отсутствие молекул азокрасителя соответственно.

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА

1. Спектры поглощения и люминесценции КТ
2. Спектры поглощения азокрасителя
3. Таблица с концентрациями: КТ, раствора азокрасителя, концентрациями азокрасителя в смешанном растворе при соотношении компонентов 0.25, 0.5, 1, 2, 5, 10.
4. Зависимость % содержания молекул азокрасителя, связанных в комплекс с КТ, от соотношения компонентов в смеси (n).
5. Зависимость среднего числа молекул азокрасителя, приходящихся на одну квантовую точку, от n .
6. Зависимость относительной интенсивности люминесценции КТ в смеси (I') от n .
7. Выводы по работе.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. В чем преимущество люминесцентных сенсоров перед фотометрическими?
2. Объяснить принцип действия сенсора на основе комплексов КТ и молекул азокрасителя.
3. От каких параметров системы зависит диполь-дипольный перенос энергии?

РЕКОМЕНДОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Паркер. Фотолюминесценция растворов. М: Мир, 1972.
2. В. М. Иванов. Гетероциклические азотосодержащие азосоединения / М.: Наука, 1982. – 230с.



В 2009 году Университет стал победителем многоэтапного конкурса, в результате которого определены 12 ведущих университетов России, которым присвоена категория «Национальный исследовательский университет». Министерством образования и науки Российской Федерации была утверждена программа его развития на 2009–2018 годы. В 2011 году Университет получил наименование «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики»

КАФЕДРА ОПТИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И СОВРЕМЕННОГО ЕСТЕСТВОЗНАНИЯ

Кафедра оптической физики и современного естествознания (ОФиСЕ) основана в 2002 году в структуре нового факультета Фотоники и оптоинформатики. За более чем десятилетнюю историю был накоплен уникальный опыт подготовки специалистов-нанотехнологов, востребованных на современном рынке труда. Возглавляет кафедру Анатолий Валентинович Федоров, доктор физ.-мат. наук, профессор, известный специалист в области оптики полупроводников и физики наноструктур. В учебном процессе задействовано 18 кандидатов наук и 11 докторов наук, а также академик РАН Евгений Борисович Александров. Такой высококвалифицированный кадровый потенциал гарантирует успешную подготовку специалистов в области нанотехнологий, а также смежных высокотехнологичных областях.

Авторы данного лабораторного практикума – доцент кафедры Орлова Анна Олеговна – специалист в области экспериментальных исследований и диагностики наноструктур различными методами микроскопии и оптической спектроскопии, а также аспиранты кафедры Громова Юлия Александровна и Мартыненко Ирина Владимировна.

Юлия Александровна Громова
Ирина Владимировна Мартыненко
Орлова Анна Олеговна

Практическое использование наноструктур

Лабораторный практикум

В авторской редакции
Редакционно-издательский отдел НИУ ИТМО
Зав. РИО
Лицензия ИД № 00408 от 05.11.99
Подписано к печати
Заказ № 2004
Тираж
Отпечатано на ризографе

Н.Ф. Гусарова

Редакционно-издательский отдел
Санкт-Петербургского национального
исследовательского университета
информационных технологий, механики

и оптики
197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49



