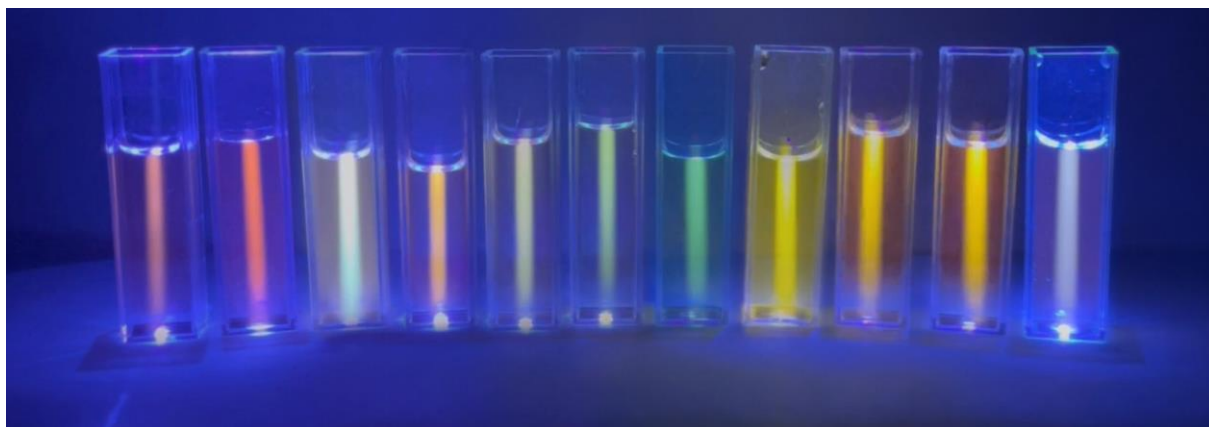




А.В. Булгакова, В.В. Захаров, А.О. Орлова

**ГИБРИДНЫЕ НАНОСТРУКТУРЫ:
СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ**



**Санкт-Петербург
2025**

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

А.В. Булгакова, В.В. Захаров, А.О. Орлова
ГИБРИДНЫЕ НАНОСТРУКТУРЫ:
СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ

РЕКОМЕНДОВАНО К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ В УНИВЕРСИТЕТЕ
ИТМО

по направлению подготовки 12.04.03 Фотоника и оптоинформатика
в качестве Учебно-методического пособия для реализации основных
профессиональных образовательных программ высшего образования
магистратуры

ИТМО

Санкт-Петербург
2025

Булгакова А.В., Захаров В.В., Орлова А.О., Гибридные наноструктуры: свойства и применение – СПб: Университет ИТМО, 2025. – 68 с.

Рецензент(ы):

Баранов Александр Васильевич, доктор физико-математических наук, профессор, главный научный сотрудник центра "Информационные оптические технологии", Университета ИТМО.

Учебно-методическое пособие предназначено для магистрантов физико-технического мегафакультета Университета ИТМО, обучающихся по профилю «Физика и технология наноструктур» по направлению подготовки 12.04.03 «Фотоника и оптоинформатика» и содержит описание лабораторных работ к дисциплине «Гибридные наноструктуры». Пособие также может быть рекомендовано студентам старших курсов физико-технических и физико-химических специальностей, а также магистрантам, специализирующимся в области применения оптических методов в нанотехнологии.



Университет ИТМО (Санкт-Петербург) — национальный исследовательский университет, научно-образовательная корпорация. Альма-матер победителей международных соревнований по программированию. Приоритетные направления: IT и искусственный интеллект, фотоника, робототехника, квантовые коммуникации, трансляционная медицина, Life Sciences, Art&Science, Science Communication. Лидер федеральной программы «Приоритет-2030», в рамках которой реализуется программа «Университет открытого кода». С 2022 ИТМО работает в рамках новой модели развития — научно-образовательной корпорации. В ее основе академическая свобода, поддержка начинаний студентов и сотрудников, распределенная система управления, приверженность открытому коду, бизнес-подходы к организации работы. Образование в университете основано на выборе индивидуальной траектории для каждого студента.

Университет ИТМО пять лет подряд — в сотне лучших в области Automation & Control (кибернетика) Шанхайского рейтинга. По версии SuperJob занимает первое место в Петербурге и второе в России по уровню зарплат выпускников в сфере IT. Университет в топе международных рейтингов среди российских вузов. Входит в топ-5 российских университетов по качеству приема на бюджетные места. Рекордсмен по поступлению олимпиадников в Петербурге. С 2019 года ИТМО самостоятельно присуждает ученые степени кандидата и доктора наук.

© Университет ИТМО, 2025
© Булгакова А.В., Захаров В.В., Орлова А.О., 2025

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НАНОСТРУКТУР	5
Лабораторная работа №1	
Формирование наночастиц на основе органических молекул	13
Лабораторная работа №2	
Определение условий выполнимости принципа аддитивности в электронных спектрах поглощения и люминесценции коллоидных растворов смеси невзаимодействующих люминесцирующих наночастиц	19
Лабораторная работа № 3	
Получение изображений и локальных спектров люминесценции образцов наноструктурированных материалов при помощи лазерного сканирующего конфокального микроскопа	27
Лабораторная работа №4	
Анализ каталитической активности коллоидных растворов наночастиц под действием электромагнитного излучения	33
Лабораторная работа №5	
Исследование условий формирования и оптических свойств комплексов разноименно заряженных НК и молекул	43
Лабораторная работа №6	
Изучение принципов работы молекулярных фотометрических сенсоров, определение концентрации ионов цинка	55
Лабораторная работа №7	
Ознакомление с принципом формирования люминесцентного сенсора на основе НК для детектирования ионов металлов	62

ВВЕДЕНИЕ

Учебно-методическое пособие к дисциплинам «Гибридные наноструктуры I» и «Гибридные наноструктуры II» по магистерской программе "Физика и технология наноструктур". Данное пособие содержит описание лабораторных работ к этой дисциплине и разработано с учетом специфики подготовки магистрантов по направлению 12.04.03 "Фотоника и оптоинформатика". Пособие также может быть рекомендовано студентам старших курсов физико-технических специальностей, а также магистрантам, специализирующимся в области применения оптических методов в нанотехнологиях.

Основной целью данного методического пособия является формирование у студентов магистратуры практических навыков и углубленного понимания современных методов исследования оптических свойств наноструктурированных материалов. Через выполнение лабораторных работ на современном научном оборудовании студенты осваивают широкий спектр методик: от синтеза и спектрального анализа наночастиц до регистрации люминесценции в сложных системах и определения их квантовых характеристик. Особое внимание уделяется принципам фотометрии, люминесцентной спектроскопии, работе с коллоидными растворами и твердотельными образцами, использованию лазерной и конфокальной микроскопии.

Пособие направлено на развитие у студентов самостоятельности в научных исследованиях, умения анализировать экспериментальные данные, создавать и исследовать гибридные наноструктуры и оценивать их функциональные свойства для приложений в нанотехнологии, фотонике и сенсорике.

Данное пособие является переработанной и дополненной версией учебно-методического пособия «Физические механизмы функционирования гибридных наноструктур», выпущенного в 2021 году.

ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НАНОСТРУКТУР

Наноструктурированные люминофоры, способные поглощать и люминесцировать в ближнем УФ, видимом диапазоне и ближнем ИК диапазоне электромагнитного излучения, сегодня представляют собой обширный класс новых материалов [1]. Особый интерес представляют люминесцирующие полупроводниковые нанокристаллы, у которых размер хотя бы в одном из направлений сопоставим с радиусом Бора для данного материала. В этом случае, меняя в небольших пределах физический размер системы в одном, двух или трех направлениях, можно управлять оптическими, электрическими и фотофизическими свойствами системы [2].

Во многих случаях при исследовании взаимодействия наночастиц с электромагнитным излучением мы обращаемся к классическим законам и моделям квантовой оптики, описывающим поглощение, рассеяние и переизлучение энергии молекулами. В частности, для металлических наночастиц крайне важны явления поверхностного плазмонного резонанса, когда коллективные колебания электронов усиливают локальное поле рядом с частицей, существенно меняя ее оптические свойства. Эти эффекты можно рассматривать в рамках мейссовской теории рассеяния и теории Лоренца, адаптированных для нанометрового масштаба.

Кроме того, гибридные структуры, где наночастицы сочетаются с органическими молекулами, часто демонстрируют синергетические эффекты: органика не только стабилизирует частицы и препятствует их агрегации, но и вводит дополнительные фотохимические или электрохимические функции. Так, присоединенные к поверхности наночастиц лиганды могут служить генераторами активных форм кислорода (АФК) при облучении в определенном диапазоне спектра, что находит применение в фотодинамической терапии онкологических заболеваний. Аналогичным образом, в конструкциях сенсоров на ионы металлов органические лиганды создают специфичную селективность: при связывании целевого иона меняется спектр люминесценции или уровень фототока, что позволяет регистрировать очень низкие концентрации.

Электронные спектры молекул представляют собой совокупность полос и пиков, возникающих вследствие переходов электронов между разными энергетическими уровнями внутри молекулы. При поглощении фотона с энергией, точно равной разности между начальным и конечным состояниями, электрон переходит из одного уровня (чаще всего связанного, σ или π) в более высокое анти-связанное состояние (σ^* или π^*), либо же в состояния с частичным зарядовым переносом. Эти процессы можно описать на основе принципов квантовой механики и спектроскопии, где каждая молекула обладает характерным набором разрешенных переходов, а значит — уникальным электронным спектром.

Для органических соединений основные зоны электронного поглощения лежат в ультрафиолетовой (200–400 нм) и в видимой (400–800 нм) областях электромагнитного спектра. Именно поэтому многие красители и пигменты имеют насыщенные цвета: они избирательно поглощают свет определенной длины волны, оставляя отраженными и проходящими остальные. Наш глаз воспринимает совокупность непоглощенных длин волн как тот или иной цвет. Спектр поглощения строится в виде зависимости оптической плотности (или степени ослабления интенсивности света) от длины волны, волнового числа, частоты или энергии кванта. Эта зависимость отражает молекулярную способность поглощать кванты определенной энергии и служит объективным «отпечатком» вещества в области UV–Vis-спектроскопии. В большинстве современных приборов регистрируется зависимость оптической плотности D от длины волны, $D = \lg(I_0/I)$, где I_0 – интенсивность падающего излучения, I – интенсивность прошедшего через образец излучения. Согласно закону Бугера-Ламберта-Бера, коэффициент пропускания раствора составляет

$$I / I_0 = 10^{-\varepsilon Cl}, \quad (1)$$

где C – молярная концентрация (моль/л = М); l – длина оптического пути (см), ε – молярный коэффициент экстинкции (ослабления), имеющий размерность площади (сечения поглощения) в расчете на моль вещества (М⁻¹см⁻¹). Спектр поглощения обычно выражается в виде спектральной зависимости (зависимости от длины волны) оптической плотности [3]

$$D = \varepsilon Cl = \lg(I_0 / I) \quad (2)$$

или коэффициента ε .

Согласно теории поглощения света, молекула может поглотить только тот квант света, энергия которого ($h\nu$) соответствует разнице энергии между двумя энергетическими уровнями молекулы:

$$h\nu = E_i - E_j. \quad (3)$$

Внутренние движения молекулы — как колебательные, так и вращательные — подчиняются квантовым законам, поэтому соответствующие уровни энергии могут принимать лишь дискретные значения. Колебательная энергия характеризуется квантовым числом v ($v = 0, 1, 2, \dots$), и переходы между соседними уровнями обычно сопровождаются поглощением (или излучением) квантов в инфракрасной области. В свою очередь, каждый колебательный уровень раскалывается на ряд вращательных подуровней, определяемых квантовым числом J ($J = 0, 1, 2, \dots$).

На упрощенной схеме энергетических уровней органической молекулы (рисунок 1) основное состояние обозначено S_0 . Выше него показаны

возбужденные синглетные состояния S_1 , S_2 и т. д. Каждому электронному уровню соответствует «лес» тонких линий — это колебательные субуровни $v = 0, 1, 2, \dots$, из которых на рисунке изображены лишь самые низкие. Между ними существуют еще более густо расположенные вращательные уровни J (не показаны на рисунке).

При электронном переходе $S_0 \rightarrow S_1$ или S_2 молекула может перейти на один из колебательных подуровней ($\Delta v = 0, \pm 1, \dots$), что приводит к формированию так называемых вибронных полос. В этих полосах видно, как квантование колебательной и вращательной энергий накладывается на электронный переход, обогащая спектр множеством узких линий. Такое детальное строение электронного спектра позволяет в спектроскопии не только идентифицировать молекулу, но и оценивать параметры ее внутреннего строения: константы связи, силы вращательного и колебательного взаимодействий.

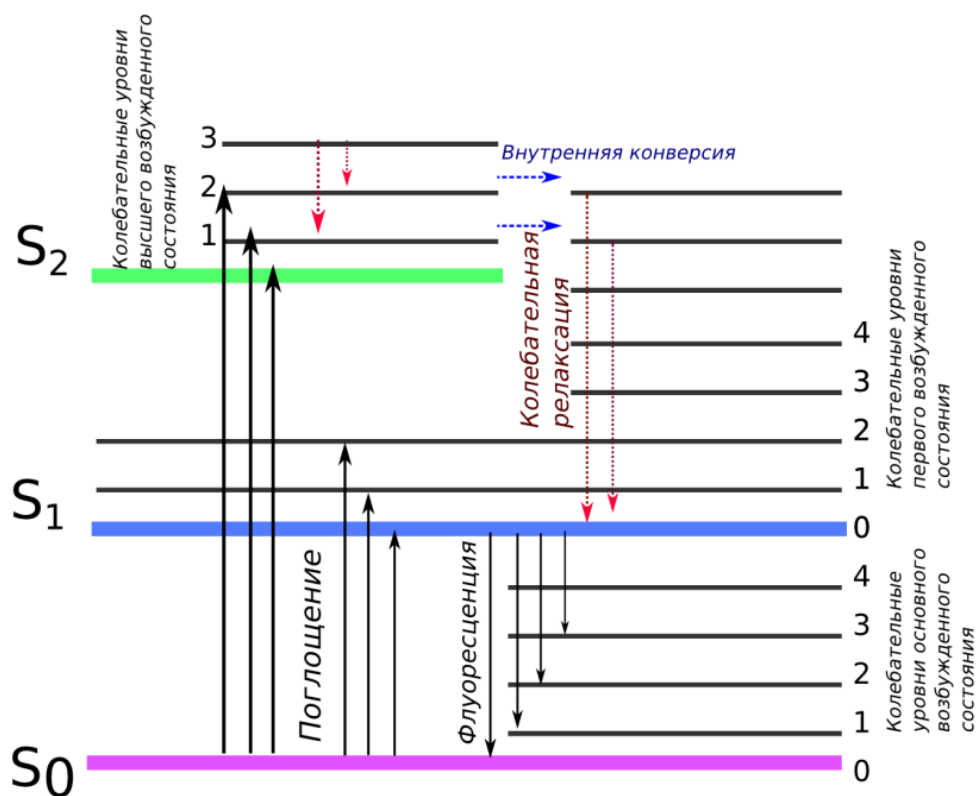


Рисунок 1 - Схема энергетических уровней органических молекул [4]

Интенсивность поглощающей полосы, или, иначе говоря, способность вещества ослаблять свет на определенной длине волны, описывается молярным коэффициентом экстинкции ϵ . Для большинства органических соединений этот параметр лежит в диапазоне от 10^3 до 10^5 моль $^{-1}$ ·см $^{-1}$, что отражает их высокую эффективность в поглощении ультрафиолетового и видимого света.

График зависимости ε от длины волны падающего излучения называется спектром поглощения вещества. Именно по форме и положению пиков этого спектра можно судить о характере электронных переходов, конъюгации π -системы и наличии хромофорных групп в молекуле. В случае однокомпонентного раствора коэффициент экстинкции (ε) может быть выражен через зарегистрированную оптическую плотность образца с помощью закона поглощения света Бугера-Ламберта-Бера:

$$\varepsilon = D / C \cdot l, \quad (4)$$

где ε – коэффициент экстинкции ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$); $D = \lg(I_0/I)$ – оптическая плотность, I_0 – интенсивность падающего на образец излучения; I – интенсивность прошедшего через образец излучения; C – концентрация исследуемого вещества ($\text{M} = \text{моль/л}$), d – длина оптического пути/толщина кюветы (см).

Молекула, поглощая фотон и переходя в любой верхний колебательный уровень возбужденного состояния (например, $v > 0$ в S_2 или S_3), почти мгновенно теряет избыточную колебательную энергию за счет столкновений с окружающей средой (процесс колебательной релаксации), спускаясь к нижним колебательным подуровням этого же электронного состояния. Если при этом молекула находится выше первого возбужденного синглетного состояния, она может дополнительно совершить безфотонный переход — внутреннюю конверсию — на энергетически эквивалентный колебательный уровень более низкого состояния (например, $S_2 \rightarrow S_1$), после чего снова происходит колебательная релаксация. Благодаря высоким скоростям этих процессов (10^{-12} – 10^{-9} с) практически вся избыточная энергия рассеивается до того, как молекула достигнет нижнего колебательного уровня первого возбужденного состояния (S_1 , $v = 0$). Переход с S_1 ($v = 0$) на любой колебательный подуровень основного состояния S_0 происходит уже с испусканием фотона — флуоресценцией — и дает излучение, длинноволновое по сравнению с поглощением (эффект Стокса), с типичной длительностью жизни 10^{-10} – 10^{-7} с.

Фотолюминесценция представляет собой разновидность люминесценции, возникающую под действием электромагнитного излучения, к которой относится и рассмотренная ранее флуоресценция. Под общим термином «люминесценция» понимают излучение, избыточное по сравнению с термальным (тепловым) и обладающее конечной длительностью, превышающей период световых колебаний. Именно такую формулировку дал академик Сергей Иванович Вавилов: «Люминесценцией тела в данной спектральной области называют избыток излучения над температурным при условии, что это избыточное излучение обладает конечной длительностью, превышающей период световых колебаний» [5]. Фотолюминесценция делится на два основных механизма — флуоресценцию, когда испускание света происходит быстро (обычно за

10^{-10} – 10^{-7} с) сразу после возбуждения, и фосфоресценцию, связанная с более медленными (до секунд и даже минут) переходами через триплетные состояния. Оба этих процесса широко применяются в аналитической химии, биомедицине и материаловедении, поскольку позволяют регистрировать и количественно определять химические соединения и структуры по их излучательным характеристикам.

В природе и технике различают несколько ключевых видов люминесценции, отличающихся по механизму возбуждения и источнику энергии. Хемилюминесценция возникает при химических реакциях, например при свободно-радикальном окислении липидов в биомоделях. Биолюминесценция обеспечивается ферментативными реакциями (например, люциферазой в светляках). Термолюминесценция наблюдается при нагревании ранее облученных кристаллов, где высвобожденные электроны возвращаются в основные состояния, испуская фотон. Электролюминесценция проявляется в виде светового излучения под действием электрического тока или поля без заметного нагрева. Сонолюминесценция происходит при акустической кавитации пузырьков в жидкости, приводящей к их сжатию и вспышкам света. Триболлюминесценция возникает при механическом разрушении или трении кристаллов, что вызывает разряд статического электричества и свечение.

Схема на рисунке 1 позволяет объяснить эмпирические законы люминесценции, которые и послужили основой для самой схемы. Это правило Стокса-Ломмеля, правило Каши, правило Левшина и закон Вавилова [6].

1. Правило Стокса-Ломмеля

Правило Стокса–Ломмеля описывает смещение максимума люминесцентного излучения по сравнению с максимумом поглощения того же вещества. Спектр люминесценции (флуоресценции или фосфоресценции) представляет собой зависимость интенсивности I от длины волны λ :

$$I = f(\lambda), \quad (5)$$

где I – интенсивность люминесценции в относительных единицах, измеренная на длине волны λ . Согласно этому правилу, максимум люминесцентного спектра всегда оказывается в области более длинных волн (низшей энергии), чем длинноволновая граница полосы поглощения того же соединения.

Причина такого «красного» смещения заключается в том, что при поглощении фотона молекула возбуждается с переходом $S_0 \rightarrow S_1$ (или $S_0 \rightarrow S_n$) с начального колебательного уровня основного состояния ($v = 0$), а перед испусканием флуоресценции успевает потерять часть энергии через безфотонные процессы: сначала колебательную релаксацию (быстрые

переходы между колебательными подуровнями внутри S_1), а затем, при необходимости, внутреннюю конверсию из высших синглетных состояний в S_1 . В итоге флуоресцентный фотон испускается при переходе с нижнего колебательного уровня S_1 ($v = 0$) в один из колебательных подуровней основного состояния, поэтому его энергия меньше энергии захваченного фотона.

Единственным переходом без изменения энергии является так называемый 0–0 переход ($v = 0 S_0 \leftrightarrow v = 0 S_1$), который теоретически дает совпадающие длины волн поглощения и испускания. На практике же интенсивность этого перехода может быть невелика, и полные спектры поглощения и люминесценции пересекаются именно в точке 0–0 перехода.

2. Правило Каши

Правило Каши гласит, что флуоресценция молекул происходит преимущественно из самого нижнего возбужденного электронного состояния (обычно S_1), независимо от того, на какое более высокое состояние (S_n , где $n > 1$) изначально была возбуждена молекула. Это связано с тем, что молекула быстро теряет избыточную энергию через безрадиационные процессы, такие как колебательная релаксация и внутренняя конверсия, прежде чем испустить фотон. В результате спектр флуоресценции не зависит от длины волны возбуждающего излучения.

Однако существуют исключения из этого правила. Например, молекула азулена демонстрирует флуоресценцию из второго возбужденного состояния (S_2), что связано с особенностями ее электронной структуры и большим энергетическим разрывом между состояниями S_2 и S_1 .

Таким образом, правило Каши объясняет, почему флуоресцентное излучение большинства молекул происходит из одного и того же состояния, обеспечивая стабильность спектральных характеристик независимо от условий возбуждения.

3. Правило Левшина

Правило Левшина, также известное как закон зеркальной симметрии, описывает характерную взаимосвязь между спектрами поглощения и флуоресценции молекул. Согласно этому правилу, при построении спектров в шкале частот (или энергии) и их нормировке к максимальной интенсивности, форма спектра флуоресценции представляет собой зеркальное отражение длинноволновой части спектра поглощения относительно вертикальной линии, проходящей через точку их пересечения (рисунок 2). Эта симметрия обусловлена тем, что колебательные уровни основного (S_0) и первого возбужденного (S_1) электронных состояний часто имеют схожее распределение по энергиям, а геометрия молекулы при переходе между этими состояниями изменяется незначительно. В результате вероятности переходов между соответствующими

колебательными уровнями в процессах поглощения и испускания оказываются близкими, что и приводит к наблюдаемой зеркальной симметрии спектров.

Однако на практике полная зеркальная симметрия редко достигается. Отклонения могут быть вызваны различиями в колебательных частотах между S_0 и S_1 , изменениями молекулярной геометрии при возбуждении, влиянием растворителя или другими межмолекулярными взаимодействиями. Тем не менее, правило Левшина остается полезным приближением для анализа спектров флуоресценции и поглощения.

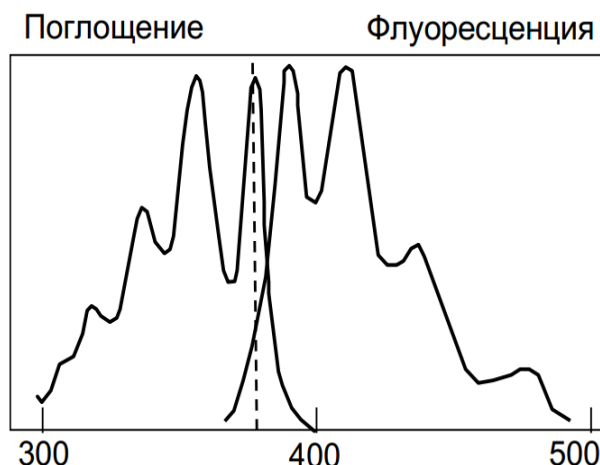


Рисунок 2 - Правило зеркальной симметрии спектров поглощения и флуоресценции (правило Левшина) [4]

4. Закон Вавилова

Закон Вавилова, сформулированный академиком Сергеем Ивановичем Вавиловым, утверждает, что квантовый выход люминесценции остается постоянным при изменении длины волны возбуждающего света в пределах стоксовой области спектра поглощения. Квантовый выход, обозначаемый как η , представляет собой отношение числа испущенных квантов люминесценции к числу поглощенных квантов света. Значение η может варьироваться от 0 до 1, в зависимости от вероятности излучательных и безызлучательных переходов.

Постоянство квантового выхода объясняется тем, что после поглощения фотона молекула быстро переходит на нижний колебательный уровень первого возбужденного электронного состояния (S_1) через процессы колебательной релаксации и внутренней конверсии. Из этого состояния происходит излучение флуоресценции. Поскольку эти процессы происходят с высокой скоростью и не зависят от длины волны возбуждающего света в стоксовой области, квантовый выход остается неизменным.

Однако в антистоксовой области спектра поглощения, где возбуждение происходит при длинах волн, превышающих длину волны флуоресценции, квантовый выход может снижаться. Это связано с тем, что энергия

возбуждающего фотона может быть недостаточной для эффективного возбуждения молекулы до состояния S_1 , что приводит к увеличению вероятности безызлучательных переходов и, соответственно, снижению квантового выхода.

$$\eta = \frac{\text{Число квантов флуоресценции}}{\text{Число поглощенных квантов}} \quad (6)$$

Таким образом, суть закона Вавилова в том, что независимо от того, на какой уровень возбуждается молекула при поглощении фотона, вероятность излучательного перехода определяется только после того, как молекула теряет часть энергии возбуждения через безызлучательные процессы и оказывается на нижнем колебательном уровне первого возбужденного состояния (S_1), где она находится дольше всего.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какие свойства люминесцирующего полупроводникового нанокристалла меняются при варьировании его размера?
2. Какую информацию дает электронный спектр поглощения вещества?
3. Что такое люминесценция? Какие существуют виды люминесценции?
4. Перечислите и объясните эмпирические законы люминесценции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Demchenko A. P. Nanoparticles and nanocomposites for fluorescence sensing and imaging //Methods and Applications in Fluorescence. – 2013. – Т. 1. – №. 2. – С. 022001.
2. Smith A. M., Nie S. Semiconductor nanocrystals: structure, properties, and band gap engineering //Accounts of chemical research. – 2010. – Т. 43. – №. 2. – С. 190-200.
3. А.Н. Теренин. Фотоника молекул красителей и родственных органических соединений. «Наука», Л., 1967, 616 с.
4. Вениаминов А.В., Колесова Е.П., Орлова А.О., Физические механизмы функционирования гибридных наноструктур – СПб: Университет ИТМО, 2021.
5. В.Л. Левшин. Фотолюминесценция жидких и твердых веществ. «Наука», Л., 1951, 262 с.
6. Паркер. Фотолюминесценция растворов. М: Мир, 1972.

Лабораторная работа №1

ФОРМИРОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ОРГАНИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛ

ЦЕЛИ РАБОТЫ

- Приобретение навыков выбора оптимальных настроек спектрофотометра и спектрофлуориметра для корректной регистрации электронных спектров поглощения и люминесценции люминофоров;
- приобретение навыков формирования люминесцирующих наночастиц в результате самоорганизации люминесцирующих органических молекул в агрегаты;
- приобретение навыков первичной обработки и анализа электронных спектров поглощения и люминесценции многоатомных молекул и их агрегатов.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ

- Спектрофотометр, предназначенный для регистрации спектров оптической плотности растворов в стандартных кюветах в спектральном диапазоне 200-1000 нм;
- спектрофлуориметр, предназначенный для регистрации стационарных спектров люминесценции и возбуждения люминесценции растворов в стандартных кюветах в спектральном диапазоне 200-800 нм;
- стандартные кюветы, изготовленные из кварца или оптического стекла с длиной оптического пути 1 см и объемом 3-4 мл;
- тонкая кювета с длиной оптического пути 1 или 2 мм и объемом 400-800 мкл;
- псевдоизоцианин йодида (ПИЦ);
- диметилсульфоксид (ДМСО).
- электролит;
- дозаторы.

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

Молекулярные агрегаты, представляющие собой упорядоченную структуру из мономеров молекул, сегодня являются новым классом наноструктурированных материалов, способным найти широкое применение в биологии, медицине, электронике и энергосберегающих технологиях [1]. Полиметиновые красители, к которым относится

псевдоизоцианин йодида, представляют класс органических соединений, способных формировать агрегаты в результате самоорганизации [2], процесса, не требующего участия дополнительных молекул, наночастиц или специфических матриц.

Особый интерес представляют J-агрегаты, которые характеризуются упорядоченной структурой и специфическими свойствами. Сегодня способность определенных молекул самособираться в J-агрегаты используется для формирования ярко люминесцирующих наночастиц с выдающимися оптическими и фотофизическими свойствами [3]. Оптические и электронные 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 самосборки J-агрегатов красителей псевдоизоцианинового ряда заключается в образовании нитевидных макромолекул 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 игровых карт. При этом они образуют в макромолекуле обобществленную электронную систему, состоящую из сопряженных π -орбиталей отдельных молекул. Эта упорядоченная полимерная агрегация обратимо переходит в состояние беспорядочной ассоциации или распадается до состояния мономеров при изменении условий (растворителя, температуры и т. п.).

Образование J-агрегатов сопровождается исчезновением электронного перехода, соответствующего первой полосе поглощения мономеров, и появлением узкой и интенсивной полосы поглощения, смещенной относительно первой полосы поглощения мономера в область меньших энергий [2]. Ширина полосы поглощения J-агрегата примерно в десять раз меньше ширины полосы поглощения мономера. При этом значение коэффициента экстинкции в ее максимуме составляет порядка $4,3 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ вместо обычного значения $(0,5-1) \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ для мономеров. Природа аниона на положении максимума J-полосы не сказывается.

Для J-агрегатов псевдоизоцианиновых красителей выполняется правило Левшина. Поэтому спектр люминесценции J-агрегатов также представляет собой узкую полосу, спектральное положение которой практически совпадает со спектральным положением полосы электронного поглощения J-агрегатов из-за очень незначительного стоксова сдвига. 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 [4].

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

В ходе выполнения работы должны быть выполнены следующие задачи.

1. Выполнено ознакомление с особенностями регистрации электронных спектров поглощения и люминесценции жидких образцов в стандартных условиях с использованием стандартных кювет на спектрофотометре и спектрофлуориметре.
2. Приготовлен раствор псевдоизоцианина в ДМСО произвольной концентрации, используя стоковый раствор псевдоизоцианина, выданный преподавателем.
3. Проведена регистрация спектра поглощения раствора псевдоизоцианина в ДМСО с помощью спектрофотометра и определена молярная концентрация псевдоизоцианина в образце.
4. Приготовлен насыщенный раствор электролита.
5. Установлена пороговая концентрация псевдоизоцианина в растворе электролита, при которой происходит формирование J-агрегатов псевдоизоцианина.
6. Проведена регистрация спектров поглощения, люминесценции, возбуждения люминесценции J-агрегатов в электролите.
7. Выполнено сопоставление спектров поглощения и возбуждения люминесценции J-агрегатов псевдоизоцианина в образце и сделан вывод об числе полос поглощения, являющихся общими для обоих спектров, их положении и ширине.

Согласно поставленным задачам, в начале работы необходимо ознакомиться с описанием приборов – спектрофотометра и спектрофлуориметра, на которых предполагается проводить регистрацию спектров поглощения и люминесценции образцов. Описание приборов может быть взято из [5] или выдано преподавателем в печатной/электронной форме перед началом работы.

Перед началом приготовления рабочих образцов и проведением измерений их оптических свойств преподавателем проводится устный/письменный опрос студентов на предмет проверки: 1) знания техники безопасности работы в физической лаборатории; 2) знания устройства и принципа работы спектрофотометра и спектрофлуориметра; 3) последовательности действий при подготовке рабочих образцов; 4) последовательности действий при проведении измерения оптических свойств образцов во время лабораторной работы.

Преподавателем выдаются: 1) исходный раствор псевдоизоцианина йодида; 2) лабораторная посуда; 3) соль для приготовления электролита; 4) дистиллированная вода; 5) ДМСО; 4) фотометрические кюветы; 5) дозаторы и наконечники для них.

Для выполнения экспериментальной части работы студентам необходимо:

1. Включить спектрофотометр и выбрать настройки прибора согласно его описанию и объектам исследования. Регистрацию спектров поглощения образцов проводить в спектральном диапазоне 300–1000 нм.
2. В фотометрическую кювету с длиной оптического пути 1 см налить 3 мл ДМСО и зарегистрировать спектр поглощения растворителя.
3. В отдельной емкости (например, стеклянном бюксе) к 3 мл ДМСО добавить 10–20 мкл исходного раствора псевдоизоцианина в ДМСО. Полученный рабочий раствор перелить в фотометрическую кювету и зарегистрировать спектр поглощения образца.
4. В отдельной посуде приготовить насыщенный раствор электролита (например, используя хлорид натрия). Данный раствор налить в фотометрическую кювету с длиной оптического пути 1 см и зарегистрировать спектр поглощения образца.
5. В кювету с электролитом добавить 2–4 мкл исходного раствора псевдоизоцианина в ДМСО.
6. Зарегистрировать спектр поглощения образца.
7. Сопоставить зарегистрированный спектр поглощения псевдоизоцианина в электролите со спектром поглощения мономеров псевдоизоцианина в ДМСО.
8. Если число, форма и спектральное положение полос в обоих спектрах одинаково, повторить пп. 5–7 до тех пор, пока в спектре поглощения образца не появится новая полоса поглощения, положение которой смещено в область меньших энергий относительно первой полосы поглощения мономера псевдоизоцианина, и ширина полосы существенно меньше ширины полосы поглощения мономера псевдоизоцианина в ДМСО. Это означает, что в растворе электролита достигнута пороговая концентрация псевдоизоцианина, достаточная для его самоорганизации в J-агрегаты.
9. Включить спектрофлуориметр и выбрать настройки прибора согласно его описанию и объектам исследования. Спектральную ширину щелей монохроматоров возбуждения и регистрации установить равными 5 нм.
10. По спектру поглощения J-агрегатов псевдоизоцианина в электролите определить длину волны возбуждения люминесценции.
11. Перелить раствор псевдоизоцианина в электролите в тонкую кювету с длиной оптического пути 1–2 мм. Кювету установить в кюветном отделении спектрофлуориметра под углом 45° к падающему от источника света излучению и зарегистрировать спектр люминесценции образца.
12. По спектру люминесценции определить длину волны регистрации спектра возбуждения люминесценции образца.
13. В программе управления спектрофлуориметра установить режим регистрации спектров возбуждения люминесценции, выбрать длину волны регистрации люминесценции, определенную в предыдущем пункте и

выбрать автоматическую смену встроенных фильтров в канале регистрации и возбуждения люминесценции.

14. Зарегистрировать спектр возбуждения люминесценции образца. Сопоставить со спектром поглощения J-агрегатов псевдоизоцианина в электролите и сделать вывод о соответствии или несоответствии числа, формы и спектрального положения полос электронного и поглощения.

ОБРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ

1. Определение концентрации исходного раствора псевдоизоцианина должно быть выполнено с учетом степени разбавления данного раствора при приготовлении раствора мономеров псевдоизоцианина в ДМСО согласно (см. описание задач 2 и 3) в предположении выполнимости закона Бугера-Ламберта-Бера. Для мономеров псевдоизоцианина коэффициент молярной экстинкции в максимуме первой полосы поглощения принять равным $10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

2. Пороговая концентрация псевдоизоцианина в насыщенном растворе электролита, необходимая для самоорганизации мономеров псевдоизоцианина в J-агрегаты, должна быть оценена из коэффициента разбавления исходного раствора при добавлении раствора мономеров псевдоизоцианина в электролит и концентрации исходного раствора, определенной в предыдущем пункте.

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА

1. Спектры поглощения и люминесценции мономерной формы и J-агрегатов псевдоизоцианина, зарегистрированных в стандартной и тонкой кюветах.

2. Полученные у преподавателя характеристики образцов (коэффициенты экстинкции). Таблица с результатами необходимых вычислений.

3. Оценка концентрации псевдоизоцианина в исходном растворе ДМСО.

4. Оценка пороговой концентрации псевдоизоцианина в электролите, достаточной для формирования его J-агрегатов.

Работа является доработанной версией работы из пособия [5].

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Поясните, какие особенности в оптических свойствах J-агрегатов псевдоизоцианина должны быть приняты во внимание при выборе параметров регистрации их спектров поглощения, люминесценции и возбуждения люминесценции.

2. Какая информация необходима и достаточна для определения молярной концентрации мономерной формы псевдоизоцианина по спектру поглощения его раствора?

3. Дайте определение насыщенного раствора. Важен ли химический состав электролита для формирования J-агрегатов псевдоизоцианина?
4. Какие спектральные проявления формирования J-агрегатов псевдоизоцианина в электролите? Каким образом может быть оценена пороговая концентрация мономеров псевдоизоцианина, достаточная для формирования J-агрегатов?
5. О чем свидетельствует соответствие числа, спектрального положения и формы полос в спектре поглощения и в спектре возбуждения люминофора?

ЛИТЕРАТУРА

1. Heo J. et al. Recent trends in molecular aggregates: An exploration of biomedicine //Aggregate. – 2022. – Т. 3. – №. 2. – С. e159.
2. Dar N., Ankari R. Theoretical models, preparation, characterization and applications of cyanine J-aggregates: a minireview //ChemistryOpen. – 2022. – Т. 11. – №. 11. – С. e202200103.
3. Piwoński H. et al. Organic J-aggregate nanodots with enhanced light absorption and near-unity fluorescence quantum yield //Nano Letters. – 2021. – Т. 21. – №. 7. – С. 2840-2847.
4. Bricks J. L. et al. Fluorescent J-aggregates of cyanine dyes: basic research and applications review //Methods and applications in fluorescence. – 2017. – Т. 6. – №. 1. – С. 012001.
5. Вениаминов А.В., Колесова Е.П., Орлова А.О., Физические механизмы функционирования гибридных наноструктур – СПб: Университет ИТМО, 2021.

Лабораторная работа №2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УСЛОВИЙ ВЫПОЛНИМОСТИ ПРИНЦИПА АДДИТИВНОСТИ В ЭЛЕКТРОННЫХ СПЕКТРАХ ПОГЛОЩЕНИЯ И ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ КОЛЛОИДНЫХ РАСТВОРОВ СМЕСИ НЕВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИХ НАНОЧАСТИЦ

ЦЕЛИ РАБОТЫ

- Приобретение навыков формирования многокомпонентного раствора люминесцирующих наночастиц с заданным соотношением интенсивностей люминесценции отдельных компонентов;
- приобретение навыков первичной обработки и анализа экспериментальных данных.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ

- Спектрофотометр, предназначенный для регистрации спектров оптической плотности растворов в стандартных кюветах в спектральном диапазоне 200-1000 нм;
- спектрофлуориметр, предназначенный для регистрации стационарных спектров люминесценции и возбуждения люминесценции растворов в стандартных кюветах в спектральном диапазоне 200-800 нм;
- стандартные кюветы, изготовленные из кварца или оптического стекла с длиной оптического пути 1 см и объемом 3-4 мл;
- дозаторы;
- люминесцирующие наночастицы разного размера или химического состава (например, квантовые точки CdSe, CdTe, InP, AgInS₂, AgInS₂/ZnS, углеродные точки);
- неполярные растворители.

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Коллоидные растворы люминесцирующих наночастиц разного типа;
- смешанные растворы люминесцирующих наночастиц разного типа.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

Люминесцирующие наночастицы (НЧ) полупроводника размерами менее диаметра экситона Бора являются квантовыми нанообъектами [1]. Наиболее популярными люминесцирующими квантовыми нанообъектами являются квантовые точки (КТ, quantum dots, QD), имеющие сферическую форму, в которых носители зарядов пространственно ограничены во всех трех измерениях. Наличие такого ограничения (quantum confinement) влияет на электронную структуру полупроводникового нанокристалла (НК, semiconductor nanocrystal) – электронные переходы в полупроводнике

становятся дискретными, а энергетическая структура все больше напоминает энергетическую структуру молекул (molecule) (рисунок 2.1). В спектре поглощения объемного полупроводника (bulk semiconductor) появляются отдельно различимые полосы. Далее, при усилении пространственного ограничения носителей заряда полупроводника увеличивается расстояние между дискретными электронными уровнями в энергетической структуре, а также между нижней границей зоны проводимости (conduction band) и верхней границей валентной зоны (valence band), то есть увеличивается и энергия электронных переходов. Таким образом, уменьшение размера квантового нанобъекта приводит к увеличению эффективной ширины запрещенной зоны (bandgap energy, E_g) и, как следствие, к коротковолновому сдвигу спектров поглощения и люминесценции, что показано на рисунке 2.2 [1, 2].

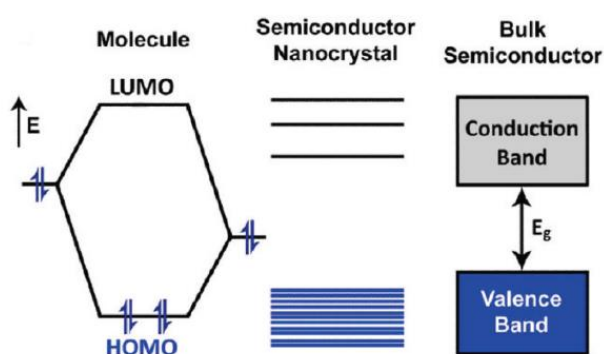


Рисунок 2.1 – Энергетическая структура молекулы (слева), объемного полупроводника (справа) и полупроводникового нанокристалла (по середине). Уровни основного состояния электрона окрашены синим цветом [3]

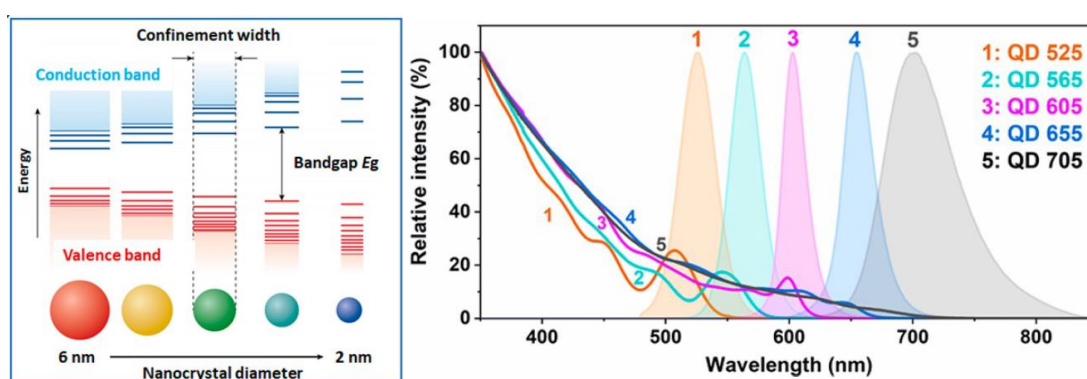


Рисунок 2.2 – Схематическое изображение влияния размера квантовой точки на энергетическую структуру (слева) и спектральные характеристики (справа) [2]

Схожие по энергетической структуре с органическими красителями квантовые точки все же превосходят первых в следующих оптических

свойствах. Высокий молярный коэффициент экстинкции ($\sim 10^6 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) в широком спектральном диапазоне позволяет использовать разные источники света для возбуждения люминесценции квантового нанобъекта. Высокая фото- и химическая стабильность также отличают полупроводниковые квантовые нанокристаллы от традиционных органических люминофоров [3].

Выше перечислены свойства, которые являются общими для всех квантовых нанокристаллов. Однако при варьировании их химического состава можно получать квантовые нанобъекты с характерными особенностями. Например, если для двойных квантовых точек типа II-VI (например, CdTe) характерны спектрально узкие (30-40 нм) полосы люминесценции при высокой степени монодисперсности коллоидного раствора [3], то для тройных КТ типа I-III-VI₂ (например, AgInS₂) ввиду их толерантности к дефектам кристаллической решетки характерны полосы люминесценции, имеющие спектральную ширину на половине высоты порядка 100-150 нм. По той же причине в спектре поглощения тройных КТ не представляется возможным различить отдельную полосу основного электронного перехода, а излучение фотонов происходит в основном с участием дефектных состояний, что имеет отражение на большем Stokesовом сдвиге, чем у двойных КТ [4].

Также среди квантовых нанобъектов известны углеродные точки (УТ), которые обычно представляют собой сферические наночастицы, ядра которых состоят из конъюгированных sp^2 доменов графена (графеновые квантовые точки) или кластеров органических молекул (аморфные углеродные точки), имеющие на поверхности функциональные группы или небольшие полимерные цепочки [2]. Соответственно, люминесцентные свойства УТ во многом зависят от упорядоченности структуры ядра, химического состава ядра (т.е. наличия и количества гетероатомов), типа функциональных групп и их количества на поверхности УТ. Если влияние химического состава на электронную структуру характерно как для полупроводниковых КТ типов II-VI и I-III-VI₂, так и для углеродных точек, то значительное влияние поверхностных состояний на люминесцентные свойства характерно только для углеродных точек. А именно, при варьировании функциональных групп и их количества можно получать УТ со спектральным положением полосы люминесценции по всему видимому спектру. Также отмечают, что спектральное положение полосы люминесценции УТ не всегда, но может зависеть от длины волны возбуждения, что нельзя сказать про неорганические полупроводниковые КТ. Это связано опять же с наличием разнообразных функциональных групп или органических молекул на поверхности УТ, отвечающих за разные излучательные электронные переходы [5].

В связи с рассмотренными выше свойствами квантовых точек – как общих, так и характерных для конкретного химического состава, можно

составить большой перечень возможного применения квантовых нанообъектов. Квантовые нанокристаллы можно использовать в качестве люминесцентных маркеров для биовизуализации, в качестве люминесцирующих носителей функциональных групп для детектирования и терапии заболеваний, в составе люминесцентных сенсоров на летучие органические соединения. Также люминесцирующие квантовые нанокристаллы могут быть использованы в фотоэлектрических ячейках и светоизлучающих диодах [1, 2].

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

В ходе выполнения работы должны быть выполнены следующие задачи.

1. Выполнено ознакомление с особенностями регистрации электронных спектров поглощения и люминесценции коллоидных растворов наночастиц в стандартных условиях с использованием стандартных кювет на спектрофотометре и спектрофлуориметре.
2. Приготовлены отдельные растворы НЧ двух типов (тип НЧ указывает преподаватель), для которых на заданных длинах волн (значения длин волн указывает преподаватель) оптическая плотность в спектрах поглощения составляет порядка 0,1, и зарегистрированы их спектры поглощения и люминесценции.
3. Приготовлен смешанный раствор НЧ двух типов с заданным соотношением интенсивностей люминесценции (задает преподаватель), определены концентрации каждого типа НЧ в данном растворе и их молярное отношение, и зарегистрированы его спектры поглощения и люминесценции.
4. Приготовлены отдельные растворы НЧ двух типов с концентрациями НЧ, равными их концентрациям в смешанном растворе (см. п.3), зарегистрированы их спектры поглощения и люминесценции.
5. Приготовлены смешанные растворы НЧ двух типов с тем же молярным отношением двух типов НЧ, что и в п.3, но с концентрациями в 2 и 5 раз выше, и зарегистрированы их спектры поглощения и люминесценции.
6. Построены расчетные спектры поглощения и люминесценции трех смешанных растворов НЧ (см. п.3, п.5), с заданным соотношением интенсивностей люминесценции НЧ двух типов.
7. Проанализированы расчетные и зарегистрированные спектры поглощения и люминесценции трех смешанных растворов НЧ.
8. Сделаны выводы об условиях выполнения принципа аддитивности в спектрах поглощения и люминесценции смешанных растворов люминесцирующих НЧ.

Согласно поставленным задачам, в начале работы необходимо ознакомиться с описанием приборов – спектрофотометра и спектрофлуориметра, на которых предполагается проводить регистрацию

спектров поглощения и люминесценции образцов. Описание приборов может быть взято из [6] или выдано преподавателем в печатной/электронной форме перед началом работы.

Перед началом приготовления рабочих образцов и проведением измерений их оптических свойств преподавателем проводится устный/письменный опрос студентов на предмет проверки: 1) знания техники безопасности работы в физической лаборатории; 2) знания устройства и принципа работы спектрофотометра и спектрофлуориметра; 3) последовательности действий при подготовке рабочих образцов; 4) последовательности действий при проведении измерения оптических свойств образцов во время лабораторной работы.

Преподавателем выдаются: 1) исходные растворы НЧ двух типов; 2) лабораторная посуда; 3) растворители; 4) фотометрические кюветы; 5) дозаторы и наконечники для них.

Преподаватель сообщает студентам информацию о: 1) химическом составе НЧ; 2) концентрациях исходных растворов НЧ; 3) соотношении интенсивностей люминесценции НЧ в смешанном растворе, которое необходимо достичь во время выполнения работы.

Для выполнения экспериментальной части работы студентам необходимо:

1. Включить спектрофотометр и выбрать настройки прибора согласно его описанию и объектам исследования. Регистрацию спектров поглощения образцов проводить в спектральном диапазоне 300 – 1000 нм.
2. Приготовить два раствора люминесцирующих наночастиц двух типов произвольной концентрации и запомнить объемы исходных растворов НЧ, добавляемых к 3 мл растворителя в фотометрических кюветах с длиной оптического пути 1 см. Зарегистрировать спектры поглощения образцов.
3. На основании полученных в п. 2 спектров поглощения НЧ определить объем стоковых растворов НЧ, необходимых для создания таких растворов НЧ, чтобы оптическая плотность (D) составляла порядка 0,1 на указанной преподавателем длине волны.
4. Приготовить растворы НЧ двух типов, для которых на выбранной длине волны оптическая плотность составляет порядка 0,1. Зарегистрировать спектры поглощения растворов НЧ двух типов.
5. Включить спектрофлуориметр и выбрать настройки прибора согласно его описанию и объектам исследования. Спектральную ширину щелей монохроматоров возбуждения и регистрации установить равными 5 нм.
6. Проанализировать спектры поглощения растворов двух типов НЧ и определить спектральную область, которая является общей для образцов НЧ двух типов и в которой не наблюдается спектральное проявление квантово-размерного эффекта. В этой области выбрать произвольную длину волны для возбуждения люминесценции образцов.

7. Зарегистрировать спектры люминесценции растворов НЧ двух типов, используя для возбуждения люминесценции длину волны, выбранную в предыдущем пункте.
8. Получив от преподавателя информацию о соотношении интенсивностей в максимумах полос люминесценции НЧ двух типов, рассчитать нужные объемы стоковых растворов данных НЧ.
9. Приготовить смешанный раствор двух типов НЧ, используя результаты расчетов из предыдущего пункта.
10. Зарегистрировать спектры поглощения и люминесценции смешанного раствора НЧ двух типов.
11. Приготовить отдельные растворы НЧ двух типов с концентрациями, равными концентрациям данных НЧ в смешанном растворе из п.9.
12. Зарегистрировать спектры поглощения и люминесценции отдельных растворов НЧ двух типов.
13. Приготовить смешанные растворы НЧ двух типов с тем же молярным отношением двух типов НЧ, что и в п.9, но с концентрациями в 2 и 5 раз выше.
14. Зарегистрировать спектры поглощения и люминесценции смешанных растворов НЧ из п.13.
15. Сопоставить зарегистрированные спектры поглощения и люминесценции смешанных растворов с соответствующими линейными комбинациями спектров поглощения и люминесценции отдельных растворов НЧ двух типов.
16. Сделать вывод об условиях выполнимости принципа аддитивности в спектрах поглощения и люминесценции смешанного раствора НЧ двух типов при заданном соотношении их интенсивностей люминесценции и в заданном диапазоне концентраций НЧ.

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА

1. Спектры поглощения и люминесценции трех смешанных растворов НЧ двух типов.
2. Спектры поглощения и люминесценции отдельных растворов НЧ двух размеров с концентрациями, равными концентрации данных НЧ в первом смешанном растворе.
3. Линейные комбинации, соответствующие трем смешанным растворам НЧ, спектров поглощения и люминесценции отдельных растворов НЧ двух типов с заданным соотношением интенсивностей люминесценции НЧ.
4. Таблица с данными вышеупомянутых спектров поглощения и люминесценции НЧ:

Спектры	Максимум полосы фундаменталь	Длина волны возбуждения	Оптическая плотность на длине волны	Положение максимума полосы	Интенсив ность люминес
---------	------------------------------------	----------------------------	---	----------------------------------	------------------------------

	ного поглощения λ_0 , нм (если есть)	люминесценц ии $\lambda_{\text{экс}}$, нм	возбуждения люминесценции $D_{\text{экс}}$	люминесцен ции $\lambda_{\text{люм}}$, нм	ценции $I_{\text{люм}}$, отн. ед.
НЧ 1					
НЧ 2					
Расчетный спектр 1					
Смешанный раствор НЧ 1					
Расчетный спектр 2					
Смешанный раствор НЧ 2					
Расчетный спектр 5					
Смешанный раствор НЧ 5					

5. Выводы о выполнении принципа аддитивности в электронных спектрах поглощения и люминесценции коллоидных растворов смеси невзаимодействующих люминесцирующих наночастиц. Перечень условий, при которых выполняется принцип аддитивности.

Работа является доработанной версией работы из пособия [6].

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какие условия нужно соблюсти при создании коллоидных растворов наночастиц для корректной регистрации их спектров поглощения и люминесценции?
2. Как рассчитать объем добавки стокового раствора наночастиц к растворителю, чтобы получить заданное значение оптической плотности на определенной длине волны в спектре поглощения этого раствора?
3. Как правильно выбрать длину волны возбуждения люминесценции многокомпонентного раствора наночастиц?
4. Как приготовить коллоидный раствор одного вида наночастиц с концентрацией, равной концентрации этих наночастиц в многокомпонентном растворе?
5. Как построить расчетные спектры поглощения и люминесценции многокомпонентного раствора наночастиц с заданным соотношением интенсивностей люминесценции наночастиц?
6. Для выполнения принципа аддитивности должны ли совпадать значения оптических плотностей для расчетного и зарегистрированного спектров поглощения многокомпонентного раствора наночастиц на одной длине волны?

7. Есть ли условия для выполнимости принципа аддитивности для многокомпонентного раствора?
8. Всегда ли выполнение принципа аддитивности в спектрах электронного поглощения означает выполнение данного принципа в спектре люминесценции смешанного раствора? Если нет, то какие дополнительные условия должны выполняться в случае спектров люминесценции смешанных растворов НЧ?

ЛИТЕРАТУРА

1. Joudeh N., Linke D. Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists //Journal of Nanobiotechnology. – 2022. – Т. 20. – №. 1. – С. 262.
2. Li W. et al. Fluorescent nanoparticles for super-resolution imaging //Chemical Reviews. – 2022. – Т. 122. – №. 15. – С. 12495-12543.
3. Smith A.M., Nie S. Semiconductor nanocrystals: structure, properties, and band gap engineering // Accounts of chemical research. – 2010. – Т. 43. – № 2. – С. 190-200.
4. Berends A. C. et al. Optoelectronic properties of ternary I–III–VI₂ semiconductor nanocrystals: Bright prospects with elusive origins //The journal of physical chemistry letters. – 2019. – Т. 10. – №. 7. – С. 1600-1616.
5. Yu J. et al. Theoretical understanding of structure–property relationships in luminescence of carbon dots //The journal of physical chemistry letters. – 2021. – Т. 12. – №. 32. – С. 7671-7687.
6. Вениаминов А.В., Колесова Е.П., Орлова А.О., Физические механизмы функционирования гибридных наноструктур – СПб: Университет ИТМО, 2021.

Лабораторная работа №3

ПОЛУЧЕНИЕ ИЗОБРАЖЕНИЙ И ЛОКАЛЬНЫХ СПЕКТРОВ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ОБРАЗЦОВ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ МАТЕРИАЛОВ ПРИ ПОМОЩИ ЛАЗЕРНОГО СКАНИРУЮЩЕГО КОНФОКАЛЬНОГО МИКРОСКОПА

ЦЕЛИ РАБОТЫ

- Ознакомление с основными принципами работы на лазерном конфокальном сканирующем микроскопе;
- приобретение навыков настройки параметров программного обеспечения (Zen Black) для получения изображения различных люминесцирующих объектов при лазерном возбуждении;
- приобретение навыков получения люминесцентных изображений в канальном режиме работы микроскопа и регистрации спектров люминесценции с различных областей исследуемых образцов;
- приобретение навыков обработки полученных люминесцентных изображений или массивов изображений при помощи инструментов, встроенных в программное обеспечение Zen Black.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ

- Лазерный сканирующий конфокальный микроскоп Carl Zeiss на базе штатива AxioImager Z1 LSM710 (Германия).

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Полупроводниковые квантовые точки, самоорганизованные на предметном стекле;
- полупроводниковые квантовые точки типа ядро/оболочка, внедренные в полимерную или пористую целлюлозную матрицу;
- люминесцирующие углеродные точки, внедренные в полимерную или пористую целлюлозную матрицу.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

Конфокальная микроскопия — это один из наиболее эффективных современных инструментов для детального изучения наноструктурированных материалов. В отличие от традиционной световой микроскопии, она использует лазерные источники освещения, которые проецируются в диск Эйри для сканирования объекта и специальную диафрагму (пинхол) [1-2], которая позволяет минимизировать рассеянный свет и получать изображения с высокой контрастностью. Благодаря этому удастся детально анализировать морфологию наночастиц, эффективность их люминесценции и пространственное распределение в том числе и в объеме. А использование спектрального детектора позволяет проводить

анализ сигнала от образца, причем в качестве сигнала может выступать как флуоресценция, так и отраженный свет. Основной принцип работы состоит в следующем: в конфокальном микроскопе лазерный луч сканирует образец точно, а отраженный или флуоресцентный сигнал проходит через конфокальную диафрагму, которая в зависимости от размера (диаметр диафрагмы можно изменять) отсекает свет из других фокальных плоскостей. Это обеспечивает возможность послойного сканирования и создания трехмерных реконструкций структуры материала.

К основным преимуществам этого метода можно отнести следующее:

- Улучшенное по сравнению с традиционной микроскопией пространственное разрешение как в плоскости XY, так и в плоскости Z, позволяющее визуализировать изучаемые объекты с высокой четкостью;
- Способность к оптическому секционированию, исключающему влияние сигналов от внефокусных областей;
- Возможность трехмерного анализа, обеспечивающего реконструкцию сложных структур.

Конфокальная микроскопия применяется в изучении широкого спектра объектов, в том числе нанокompозитов, биосовместимых покрытий и гибридных наноструктур [3]. Она позволяет исследовать поверхностные характеристики, контролировать распределение функциональных наночастиц и анализировать механизмы их взаимодействия друг с другом и окружающей средой.

Для получения достоверных и воспроизводимых результатов при изучении наноструктурированных материалов с помощью конфокального микроскопа необходимо учитывать ряд факторов:

1. Образец должен быть тщательно очищен от пыли, остатков реактивов и механических загрязнений, так как посторонние частицы могут искажать результаты. При исследовании флуоресцентных материалов важно избегать фотодеструкции красителей, храня образцы в темноте и при низких температурах. Для изучения растворов рекомендуется использование герметичных камер для предотвращения испарения и изменения концентрации исследуемого вещества.
2. Выбор правильной длины волны возбуждения имеет важное значение. Длина волны возбуждения должна попадать в спектр поглощения исследуемого флуорофора.
3. Размер пинхола определяет качество оптического секционирования. Полное его открытие увеличивает интенсивность сигнала, но снижает разрешение по глубине. Оптимальный размер зависит от исследуемого образца.
4. Баланс между мощностью лазера и временем экспозиции важен для предотвращения фотодеструкции образца и повышения соотношения

сигнал/шум. Начинать работу рекомендуется с минимального значения лазерного возбуждения, порядка 1%.

5. Автофлуоресценция материалов может создавать нежелательный фон, что особенно актуально для биологических препаратов и некоторых нанокompозитов. В таких случаях можно использовать спектральную деконволюцию или подбирать альтернативные флуорофоры.

6. Дрейф образца из-за нагрева лазером или механических вибраций может ухудшать качество изображений, поэтому рекомендуется использовать антивибрационные столы и следить за температурной стабильностью.

7. Полученные изображения можно обрабатывать внутренними средствами программного обеспечения, используя методы коррекции яркости, контраста и шумоподавления. Для количественного анализа морфологии наночастиц можно применять специализированное ПО, например, ImageJ, Zen или Imaris.

При анализе динамических процессов полезно использовать временные серии (time-lapse imaging), что позволяет отслеживать изменения структуры образца во времени [4].

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

В ходе выполнения работы должны быть выполнены следующие задачи:

1. Выполнена настройка освещения по Келлеру с любым исследуемым объектом на увеличении 10х.
2. Освоены навыки настройки программного обеспечения для работы конфокального микроскопа в канальном режиме работы.
3. Получены люминесцентные изображения исследуемых объектов в канальном режиме с использованием нескольких каналов одновременно.
4. Получены локальные спектры люминесценции исследуемых объектов в спектральном режиме конфокального микроскопа с различным спектральным разрешением.
5. Проведена постобработка полученных изображений внутренними программными средствами с регулировкой яркости и контраста.
6. Сделаны выводы о том, насколько может отличаться спектр люминесценции с большой области исследуемого образца (порядка 1 мм²) от локальных спектров люминесценции (порядка 50 мкм²).

Согласно поставленным задачам, в начале работы необходимо ознакомиться с описанием лазерного сканирующего конфокального микроскопа, который предполагается использовать в этой работе. Описание прибора может быть взято из [5] или выдано преподавателем в печатной/электронной форме перед началом работы.

Перед началом работы преподавателем проводится устный/письменный опрос студентов на предмет проверки: 1) знания техники безопасности работы в физической лаборатории; 2) знания

устройства и принципа работы конфокального лазерного сканирующего микроскопа.

Преподавателем выдаются исследуемые объекты: 1) полупроводниковые квантовые точки, самоорганизованные на предметном стекле, 2) полупроводниковые квантовые точки типа ядро/оболочка, внедренные в полимерную или пористую целлюлозную матрицу; 3) люминесцирующие углеродные точки, внедренные в полимерную или пористую целлюлозную матрицу.

Преподаватель сообщает студентам информацию о химическом составе наноструктур в исследуемых объектах.

Для выполнения экспериментальной части работы студентам необходимо:

1. Провести настройку микроскопа по Келлеру в проходящем свете. Настройку проводить под наблюдением преподавателя. Перейти в режим сканирования лазером, произвести настройку программного обеспечения для регистрации люминесцентных изображений (работа в канальном режиме) и сфокусироваться на поверхность исследуемого образца. Использовать объектив 10х. Такие рекомендуемые настройки для получения люминесцентного изображения первого образца как длина волны лазера, его мощность, чувствительность приемника и время сканирования, запросить у преподавателя.

2. На конфокальном микроскопе зарегистрировать по 3 изображения каждого образца (полупроводниковые квантовые точки, люминесцирующие углеродные точки, внедренные в различные типы матриц) в проходящем свете и в канале люминесценции, для возбуждения люминесценции использовать светодиодный лазер с длиной волны 405 нм. В качестве регистрируемых областей образца следует выбирать одну область справа, одну по центру и одну слева.

3. Для одного образца, который укажет преподаватель, провести настройку и регистрацию многоканального изображения.

4. Перейти в режим регистрации спектров и настроить программное обеспечение в соответствии с параметрами, которые рекомендует преподаватель. Зарегистрировать по 2 локальных спектра люминесценции для каждого изучаемого образца со спектральным разрешением 3,2 нм. Область регистрации выбирать в центре предоставленных образцов порядка 1 мм² и порядка 50 мкм².

5. Провести постобработку и анализ полученных изображений.

5.1. Провести настройки яркости и контраста полученных изображений, по возможности избегая появления засвеченных областей и областей с низким сигналом флуоресценции.

5.2. Оценить однородность распределения полупроводниковых нанокристаллов в самоорганизованных структурах и внедренных в полимерную или пористую целлюлозную матрицу.

5.3. Оценить однородность распределения углеродных точек, внедренных в полимерную или пористую целлюлозную матрицу.

5.4. Провести сравнительный анализ спектров люминесценции, полученных с участка исследуемого образца порядка 1 мм^2 и порядка 50 мкм^2 . Прodelать для каждого исследуемого образца. Сделать вывод о влиянии размера области сканирования на спектр люминесценции образцов (положение максимума интенсивности, полуширина, форма спектра).

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА

1. Изображения 3 участков каждого образца, зарегистрированных в канальном режиме работы конфокального микроскопа в проходящем свете и в канале люминесценции (области: левая, центральная, правая).

2. Описание изображений с анализом однородности распределения полупроводниковых квантовых точек и углеродных точек в различных матрицах (см. пп. 5.2 и 5.3 раздела «Порядок выполнения работы»).

3. Многоканальное люминесцентное изображение одного из образцов, полученное в канальном режиме работы конфокального микроскопа (образец выбран по указанию преподавателя).

4. Спектры люминесценции, зарегистрированные с центральных областей образцов размерами порядка 1 мм^2 и порядка 50 мкм^2 .

5. Сравнительный анализ спектров люминесценции, полученных с разных участков образца, с выводами о влиянии размера области сканирования на форму спектра, положение максимума и полуширину.

6. Таблица с данными по локальным спектрам люминесценции всех исследованных образцов (для обеих областей сканирования).

Работа является доработанной версией работы из пособия [5].

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Как влияет выбор области сканирования на форму спектра люминесценции для неоднородных люминесцирующих образцов?

2. Какие рекомендуемые настройки нужно использовать для получения контрастных изображений исследуемых образцов?

3. Сколько каналов регистрации можно использовать в канальном режиме работы конфокального микроскопа LSM 710 Carl Zeiss?

4. Как влияет апертура объектива на люминесцентное изображение, получаемое при канальном режиме работы микроскопа?

5. Как конфокальная диафрагма влияет на люминесцентное изображение, получаемое при канальном режиме работы микроскопа?

ЛИТЕРАТУРА

1. Феофанов А. В. Учебно-методический комплекс для магистров по дисциплине «Конфокальная микроскопия и микроспектроскопия» / А. В. Феофанов. — М.: Ин-т АйТи, 2011. — 141 с.
2. Штейн Г. И. Руководство по конфокальной микроскопии / Г. И. Штейн; Российская акад. наук, Ин-т цитологии. — СПб.: Изд-во Политехнического ун-та, 2007. — 77 с.
3. Чистоедова И. А., Данилина Т. И. Оборудование для создания и исследования свойств объектов наноэлектроники: учебное пособие / И. А. Чистоедова, Т. И. Данилина. — Томск: ТУСУР, 2011. — 98 с.
4. Springer Handbook of Microscopy / Ed. by P. W. Hawkes, J. C. H. Spence. — Cham: Springer, 2019. — 1543 p.
5. Вениаминов А.В., Колесова Е.П., Орлова А.О., Физические механизмы функционирования гибридных наноструктур – СПб: Университет ИТМО, 2021.

Лабораторная работа №4

АНАЛИЗ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОЛЛОИДНЫХ РАСТВОРОВ НАНОЧАСТИЦ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

ЦЕЛИ РАБОТЫ

- Приобретение навыков регистрации электронных спектров поглощения смешанного раствора наночастиц и химического сенсора в процессе облучения раствора внешним источником света;
- приобретение навыков детектирования в водном растворе активных форм кислорода, генерируемых сенсбилизатором под действием внешнего электромагнитного излучения, с использованием химического сенсора;
- приобретение навыков анализа изменений в электронных спектрах поглощения образца в процессе эксперимента.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ

- Спектрофотометр, предназначенный для регистрации спектров оптической плотности растворов в стандартных кюветах в спектральном диапазоне 200-1000 нм;
- стандартные кюветы, изготовленные из кварца или оптического стекла с длиной оптического пути 1 см и объемом 3-4 мл;
- сенсбилизатор активных форм кислорода (в виде коллоидного раствора наночастиц);
- водорастворимый химический сенсор;
- дистиллированная вода;
- дозаторы;
- источник электромагнитного излучения.

ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Водный раствор сенсбилизатора активных форм кислорода.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

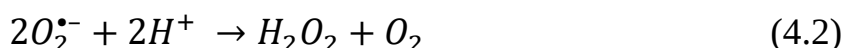
Известное из химии понятие «катализ» также применимо и в области физики наноструктур. Существует ряд наноструктур, обладающих свойством каталитической активности, т.е. способных генерировать активные формы кислорода (АФК) при воздействии внешнего физического стимула (например, свет, ультразвук, электричество) [1]. Такие наноструктуры называют сенсбилизаторами АФК.

1. Активные формы кислорода

Активные формы кислорода образуются и сопровождают окислительно-восстановительные реакции в клетках живых организмов. Кроме того, они естественным образом формируются из молекул воды и кислорода и превращаются друг в друга в воде и воздухе на всей нашей планете [2, 3]. Однако большая концентрация АФК имеет токсический эффект на живые клетки, организмы, способствует их разрушению. Эта особенность является ключевой с точки зрения антибактериального применения и терапии злокачественных новообразований [4].

Вообще говоря, активные формы кислорода – это кислород-содержащие химические соединения, которые значительно активнее молекулярного кислорода (O_2). АФК включают в себя как радикалы, так и нерадикальные формы. Радикалы – это формы кислорода с неспаренными электронами, такие как супероксид анион ($O_2^{\bullet-}$), гидроксильный радикал ($\bullet OH$). Представителями нерадикальных форм являются пероксид водорода (H_2O_2), озон (O_3), синглетный кислород (1O_2) [3].

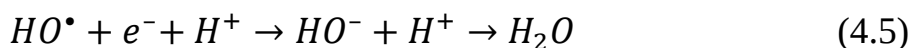
При одноэлектронном восстановлении (reduction) молекулярного кислорода получается супероксид анион ($O_2^{\bullet-}$) (формула 4.1), соответственно эта форма АФК имеет один дополнительный электрон на внешней орбитали (рисунок 4.1, оранжевая точка). Супероксид имеет заряд -1 и один неспаренный электрон, что обозначается знаком «•». Последующее одноэлектронное восстановление супероксида приводит к формированию пероксида аниона (O_2^{2-}), или пероксида водорода при добавлении $2H^+$ (формула 4.2) [1].



Далее, при взаимодействии пероксида водорода и иона переходного металла (например, Fe^{2+} , Cu^+) (реакция Фентона) образовывается гидроксильный радикал (формула 4.3). Если к компонентам реакции добавить супероксид, который может восстанавливать ион металла, получится реакция Габера-Вейса (формула 4.4) [4].



И последней реакцией в цепочке химической трансформации O_2 в H_2O является восстановление гидроксильного радикала до гидроксильного иона (формула 4.5). В обратную сторону гидроксильный радикал образуется при взаимодействии молекулы воды с дыркой (окисление, oxidation) (формула 4.6) [4].



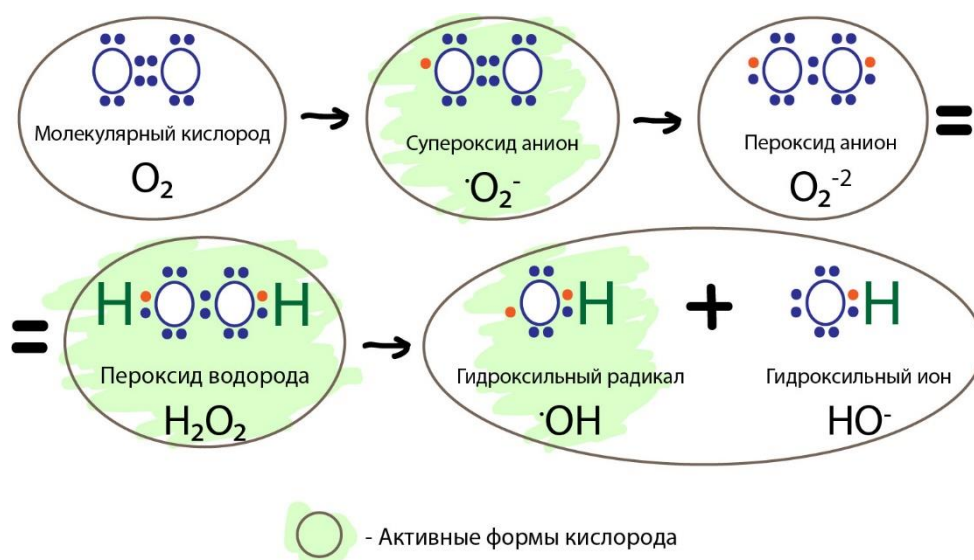
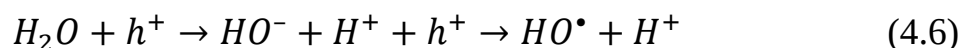
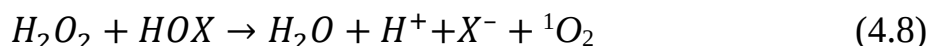
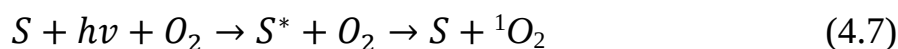


Рисунок 4.1 – Электронные структуры некоторых АФК в цепочке восстановления молекулярного кислорода до воды. Оранжевым цветом выделены электроны, которые были последовательно присоединены



Стоит отметить, что гидроксильный радикал имеет нулевой заряд, а также один неспаренный электрон.

Молекулярный кислород в основном триплетном состоянии имеет два неспаренных электрона, находящихся на разных орбиталях и имеющих параллельные спины. Переход O_2 из основного триплетного состояния в синглетное возбужденное снимает ограничение по спину. Молекула кислорода O_2 имеет два синглетных состояния: $^1\Delta_g$ (два спаренных электрона с антипараллельными спинами на одной орбитали) и $^1\Sigma_g$ (два неспаренных электрона с антипараллельными спинами на отдельных орбиталях). Второе состояние энергетически выше и быстро затухает до $^1\Delta_g$ синглетного состояния, которое и относят к «синглетному кислороду», еще одной активной форме кислорода. Общеизвестно, что синглетный кислород можно получить в результате переноса энергии от возбужденного фотосенсибилизатора на молекулу кислорода в основном состоянии (формула 4.7). Но также синглетный кислород образуется в результате реакции пероксида водорода и гипогалогеновой кислоты (HOX , где X – галоген) (формула 4.8) [3].



Большое значение для окислительно-восстановительных реакций имеет то, насколько сильными окисляющими или восстанавливающими агентами АФК являются (реактивность), как быстро они взаимодействуют с химическими соединениями, насколько широк список химических соединений, с которыми конкретные АФК могут взаимодействовать. Вместе с этим времена жизни разных АФК и способность перемещаться на дальние расстояния играют немалую роль в функционировании АФК [2, 3].

Реактивность одноэлектронных АФК (радикалов) может быть отражена их окислительно-восстановительными потенциалами, но для нерадикальных форм константа скорости реакции АФК с целевыми молекулами имеет определяющее значение. В таблице 4.1 приведены окислительно-восстановительные потенциалы АФК в порядке от самой окисляющей до самой восстанавливающей относительно NHE (normal hydrogen electrode, нормальный водородный электрод) при pH 7.0.

Таблица 4.1 – Потенциалы одноэлектронного восстановления

Пара	Потенциал одноэлектронного восстановления, V vs. NHE, pH 7.0
$\cdot\text{OH}, \text{H}^+ / \text{H}_2\text{O}$	2.18 [3], 2.31 [5]
$\text{O}_2^{\cdot-}, \text{H}^+ / \text{H}_2\text{O}_2$	0.94 [5]
$^1\text{O}_2 / \text{O}_2^{\cdot-}$	0.65 [3]
$\text{H}_2\text{O}_2, \text{H}^+ / \cdot\text{OH}, \text{H}_2\text{O}$	0.46 [3]
$\text{O}_2 / \text{O}_2^{\cdot-}$	-0.16 [5], -0.33 [3]

Гидроксильный радикал и синглетный кислород – мощные окислители, которые относительно неизбирательно реагируют со многими химическими соединениями [2]. $\cdot\text{OH}$ легко отнимает атом водорода у других молекул, что приводит к образованию воды. $^1\text{O}_2$ окисляет богатые электронами двойные связи ненасыщенных молекул. В биологической среде $\cdot\text{OH}$ реагирует с большинством химических соединений, включая ДНК, мембранные липиды, углеводы, синглетный кислород – взаимодействует с аминокислотами, дипептидами, немногими белками [3, 5].

Перекись водорода и супероксид анион – очень селективные формы кислорода. Перекись водорода – плохой окислитель и не реагирует с большинством биомолекул, медленно реагирует с тиолами. Но H_2O_2 быстро окисляет остатки метионина и цистеина в некоторых белках. Кроме того, H_2O_2 реагирует с некоторыми переходными металлами. $\text{O}_2^{\cdot-}$ – может выступать в роли восстановителя и окислителя. Он может восстанавливать переходные металлы, окислять [Fe-S] кластеры ферментов при ограниченных диффузией скоростях, что приводит к высвобождению Fe [5].

Еще одна характеристика АФК – длина диффузии, то есть способность далеко диффундировать из места, где АФК были

сгенерированы. Отличительной особенностью пероксида водорода является то, что он имеет самую большую среди АФК длину диффузии в водной и биологической среде. Это объясняется его слабой реакционной способностью, высокой проницаемостью мембран, длительным временем жизни (~ 10 ч). Другие АФК имеют значительно меньшее время жизни (микро- и миллисекунды): мощные радикалы быстро реагируют с ближайшими соединениями; супероксид очень нестабилен, несмотря на низкую реакционную способность [1, 3, 5]. Все эти факторы объясняют более короткие длины диффузии других АФК.

2. Генерация АФК наноструктурированными сенсibilизаторами

В качестве сенсibilизатора АФК может выступать как самостоятельно генерирующий АФК компонент, так и гибридная система, состоящая из двух и более разных компонентов, где один или более компонентов способны генерировать АФК. Соединение разных компонентов в гибридной системе позволяет добиться большей эффективности [1].

Рассмотрим типичную схему генерации некоторых активных форм кислорода полупроводником под действием электромагнитного излучения (рисунок 4.2). При поглощении кванта света полупроводником образуется электрон-дырочная пара (electron-hole pair). Далее, электрон, находящийся в зоне проводимости (conduction band) полупроводника, переходит на молекулу кислорода – образуется супероксид (superoxide radical). Аналогично, дырка, находясь в валентной зоне (valence band) полупроводника, переходит на молекулу воды – образуется гидроксильный радикал (hydroxyl radical).

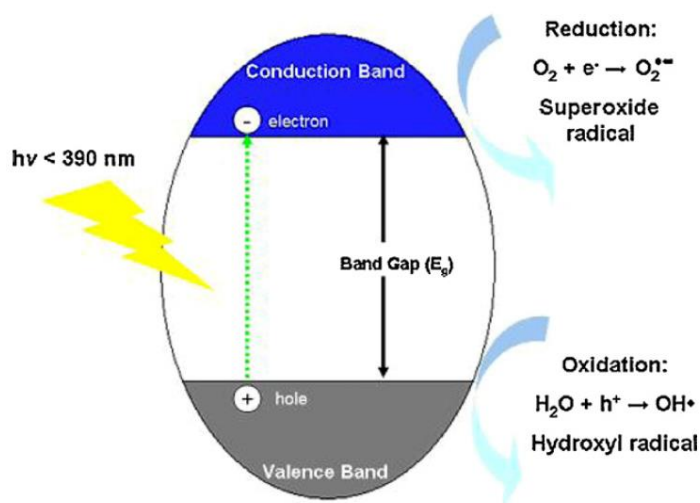


Рисунок 4.2 – Схема генерации супероксида и гидроксильного радикала полупроводником при поглощении УФ излучения [6]

Однако есть еще одно условие для образования АФК: нижняя граница зоны проводимости и верхняя граница валентной зоны полупроводника должны так располагаться относительно шкалы энергии, чтобы электрону и дырке, имеющим соответствующие окислительно-восстановительные потенциалы, было энергетически выгодно перейти на молекулы кислорода или воды [2, 6]. В связи с этим необходимо знать положения границ запрещенной зоны полупроводника относительно энергетической шкалы при моделировании процесса генерации супероксида и гидроксильного радикала и их окислительно-восстановительные потенциалы (таблица 4.1).

В зависимости от энергетической структуры сенсibilизатора АФК возможна как одновременная генерация супероксида и гидроксильного радикала, так и генерация только одной формы из двух. Если сенсibilизатор АФК способен люминесцировать, это может уменьшать эффективность генерации АФК из-за того, что излучательный переход является конкурирующим процессом с переносом электрона/дырки на молекулы кислорода/воды. Также может снизить эффективность генерации АФК наличие ловушечных состояний в энергетической структуре сенсibilизатора АФК [1, 6].

3. Детектирование АФК

Методы детектирования АФК бывают прямые и косвенные. К прямым методам относятся регистрация люминесценции синглетного кислорода на длине волны 1268 нм, исследование электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и другие. Однако из-за небольших времен жизни АФК, за исключением перекиси водорода, сложности технического оснащения для такого рода анализов такие методы не пользуются популярностью [3].

Косвенные методы обнаружения АФК подразумевают взаимодействие АФК с сенсорными молекулами, в результате чего образуются более стабильные долгоживущие аналиты, количество которых сопоставляют с количеством АФК. Ввиду простоты анализа, доступности технического оснащения непрямые методы детектирования АФК зарекомендовали себя как наиболее удобные и часто используются. В основном, эти методы заключаются в регистрации спектров поглощения, люминесценции аналита в ближнем УФ и видимом диапазонах. Изменение оптических характеристик аналита свидетельствует о взаимодействии с АФК. Наряду со спектроскопическими методами отмечают еще такие методы анализа: время-разрешенная лазерная микроскопия, импульсные фотолиз и радиолиз, кинетический анализ в стационарном состоянии, метод остановленной струи [3].

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

В ходе выполнения работы должны быть выполнены следующие задачи:

1. Выполнено ознакомление с особенностями регистрации электронных спектров смешанных растворов сенсibilизатора АФК и химического сенсора в стандартных условиях с использованием стандартных кювет на спектрофотометре.
2. Выполнено ознакомление с особенностями облучения раствора в стандартной кювете источником внешнего излучения.
3. Приготовлены отдельные растворы сенсibilизатора АФК и химического сенсора и зарегистрированы их спектры поглощения.
4. Приготовлен смешанный раствор сенсibilизатора АФК и химического сенсора с концентрациями компонентов, заданных преподавателем, зарегистрирован спектр поглощения этого раствора в начальный момент времени.
5. Произведено облучение смешанного раствора источником внешнего излучения с периодической регистрацией спектров поглощения образца.
6. Проанализированы спектры поглощения образца, полученные в процессе облучения внешним источником света.
7. Построены зависимости изменений оптических плотностей в спектре поглощения образца в максимуме полосы поглощения химического сенсора и на длине волны излучения внешнего источника света от времени облучения.
8. Сделаны выводы о генерации АФК сенсibilизатором при воздействии на него электромагнитного излучения.

Согласно поставленным задачам, в начале работы необходимо ознакомиться с описанием прибора спектрофотометра, на котором предполагается проводить регистрацию спектров поглощения образцов. Описание прибора может быть взято из [7] или выдано преподавателем в печатной/электронной форме перед началом работы.

Перед началом приготовления рабочих образцов и проведением измерений их оптических свойств преподавателем проводится устный/письменный опрос студентов на предмет проверки: 1) знания техники безопасности работы в физической лаборатории; 2) знания устройства и принципа работы спектрофотометра; 3) последовательности действий при подготовке рабочих образцов; 4) последовательности действий при проведении измерения оптических свойств образцов во время лабораторной работы.

Преподавателем выдаются: 1) исходный раствор сенсibilизатора АФК; 2) исходный раствор химического сенсора; 3) лабораторная посуда; 4) дистиллированная вода; 5) фотометрические кюветы; 6) дозаторы и наконечники для них.

Преподаватель сообщает студентам информацию о: 1) химическом составе сенсibilизатора и сенсора АФК; 2) концентрациях исходных растворов сенсibilизатора АФК и химического сенсора; 3) длине волны и

мощности излучения источника света в месте помещения образца для облучения.

Для выполнения экспериментальной части работы студентам необходимо:

1. Включить спектрофотометр и выбрать настройки прибора согласно его описанию и объектам исследования. Регистрацию спектров поглощения образцов проводить в спектральном диапазоне 300 – 1000 нм.
2. Приготовить первоначальные отдельные растворы сенсibilизатора АФК и химического сенсора в фотометрических кюветах для корректной регистрации их спектров поглощения.
3. Зарегистрировать спектры поглощения растворов сенсibilизатора АФК, химического сенсора. Определить по спектру положение максимума полосы поглощения сенсора. Определить концентрации сенсibilизатора АФК и химического сенсора в исследуемых растворах.
4. На основании расчетов в п.3 приготовить смешанный раствор сенсibilизатора АФК и химического сенсора с концентрациями, которые сообщит преподаватель.
5. Зарегистрировать спектр поглощения смешанного раствора. Определить оптическую плотность химического сенсора в максимуме полосы поглощения и зафиксировать. Данное значение оптической плотности является отправной точкой для дальнейшего анализа изменения концентрации химического сенсора.
6. Произвести первую итерацию облучения образца источником света в течение времени, указанном преподавателем.
7. Зарегистрировать спектр поглощения образца после первой итерации облучения. Зафиксировать значение оптической плотности химического сенсора в максимуме полосы поглощения и время экспозиции.
8. Производить следующие итерации облучения исследуемого образца и периодически регистрировать его спектры поглощения. Фиксировать значения оптической плотности химического сенсора в максимуме полосы поглощения и времена экспозиции. Количество периодов облучения сообщает преподаватель.

ОБРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ

1. Построить все спектры поглощения смешанного раствора – до начала облучения и после каждого периода облучения.
2. Проанализировать характер изменений оптической плотности химического сенсора в максимуме полосы поглощения ($D_{\text{сенсор}}$).
3. Проанализировать, есть ли изменения оптической плотности смешанного раствора на длине волны излучения внешнего источника света ($D_{\text{раствор}}$).
4. Рассчитать $\Delta D_{\text{сенсор}}$ и сопоставить с суммарным временем облучения по формуле: $\Delta D_{\text{сенсор}} = D_{\text{сенсор}}(0) - D_{\text{сенсор}}(n)$, где $D_{\text{сенсор}}(0)$ и $D_{\text{сенсор}}(n)$ –

оптическая плотность образца в максимуме полосы поглощения химического сенсора до начала облучения образца и после n-ой итерации облучения образца, соответственно.

5. Рассчитать $\Delta D_{\text{раствор}}$ и сопоставить с суммарным временем облучения по формуле: $\Delta D_{\text{раствор}} = D_{\text{раствор}}(0) - D_{\text{раствор}}(n)$, где $D_{\text{раствор}}(0)$ и $D_{\text{раствор}}(n)$ – оптическая плотность образца на длине волны излучения источника света до начала облучения образца и после n-ой итерации облучения образца, соответственно.

6. Построить зависимости изменений оптических плотностей, рассчитанных в пп. 4,5, от времени облучения образца $t - \Delta D_{\text{сенсор}}(t)$ и $\Delta D_{\text{раствор}}(t)$.

7. Сделать выводы о генерации АФК сенсibilизатором, о скорости генерации АФК в разные периоды облучения.

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА

1. Спектры поглощения отдельных растворов сенсibilизатора АФК и химического сенсора.
2. Спектры поглощения смешанного раствора сенсibilизатора АФК и химического сенсора до начала и в течение облучения внешним источником света.
3. Таблица со значениями оптических плотностей и их изменений для смешанного раствора в максимуме полосы поглощения сенсора и на длине волны излучения источника света в соответствии со временем облучения раствора.

№ цикла облучения	Время облучения t , мин	$D_{\text{сенсор}}$	$\Delta D_{\text{сенсор}}$	$D_{\text{раствор}}$	$\Delta D_{\text{раствор}}$
1					
2					
3					
....					

4. Выводы о генерации АФК сенсibilизатором.

Работа является доработанной версией работы из пособия [7].

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какие полосы поглощения можно увидеть в спектре поглощения смешанного раствора сенсibilизатора АФК и химического сенсора?
2. Как производилось облучение образца внешним источником света?
3. Как был получен смешанный раствор сенсibilизатора АФК и химического сенсора с заданными концентрациями компонентов?

4. Может ли производиться облучение образца в момент регистрации спектра поглощения образца?
5. Менялась ли оптическая плотность смешанного раствора на длине волны излучения внешнего источника света?
6. Какова причина изменения оптической плотности смешанного раствора в полосе поглощения химического сенсора?

ЛИТЕРАТУРА

1. Yang B., Chen Y., Shi J. Reactive oxygen species (ROS)-based nanomedicine //Chemical reviews. – 2019. – Т. 119. – №. 8. – С. 4881-4985.
2. Zhang C. et al. Reactive oxygen species-regulating strategies based on nanomaterials for disease treatment //Advanced Science. – 2021. – Т. 8. – №. 3. – С. 2002797.
3. Burns J. M. et al. Methods for reactive oxygen species (ROS) detection in aqueous environments //Aquatic Sciences. – 2012. – Т. 74. – №. 4. – С. 683-734.
4. Dharmaraja A. T. Role of reactive oxygen species (ROS) in therapeutics and drug resistance in cancer and bacteria //Journal of Medicinal Chemistry. – 2017. – Т. 60. – №. 8. – С. 3221-3240.
5. Winterbourn C. C. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species //Nature chemical biology. – 2008. – Т. 4. – №. 5. – С. 278-286.
6. Pelaez M. et al. A review on the visible light active titanium dioxide photocatalysts for environmental applications //Applied Catalysis B: Environmental. – 2012. – Т. 125. – С. 331-349.
7. Вениаминов А.В., Колесова Е.П., Орлова А.О., Физические механизмы функционирования гибридных наноструктур – СПб: Университет ИТМО, 2021.

Лабораторная работа №5

ИССЛЕДОВАНИЕ УСЛОВИЙ ФОРМИРОВАНИЯ И ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОМПЛЕКСОВ РАЗНОИМЕННО ЗАРЯЖЕННЫХ НК И МОЛЕКУЛ

ЦЕЛИ РАБОТЫ

- Получение навыков регистрации и анализа электронных спектров поглощения и люминесценции наноструктурированных и молекулярных люминофоров;
- приобретение навыков формирования комплексов между разноименно заряженными наночастицами и/или молекулами;
- приобретение навыков анализа спектрально-люминесцентных свойств наноструктурированных и молекулярных люминофоров для решения задачи оптимизации условий реализации безызлучательного резонансного переноса энергии в комплексах наночастиц или молекул;
- приобретение навыков оценки эффективности переноса энергии на основе анализа зависимости интенсивности люминесценции донора и акцептора энергии от их соотношения в образцах.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ

- Спектрофотометр, предназначенный для регистрации спектров оптической плотности растворов в стандартных кюветах в спектральном диапазоне 200-1000 нм;
- спектрофлуориметр, предназначенный для регистрации стационарных спектров люминесценции и возбуждения люминесценции растворов в стандартных кюветах в спектральном диапазоне 200-800 нм;
- стандартные кюветы, изготовленные из кварца или оптического стекла с длиной оптического пути 1 см и объемом 3-4 мл;
- люминесцирующие наночастицы;
- органический люминофор.

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Коллоидные растворы люминесцирующих наночастиц;
- растворы органических люминофоров;
- смешанные растворы наночастиц разного типа или смешанные растворы наночастиц и органического люминофора.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

Формирование новых функциональных материалов на основе люминесцирующих молекул и наночастиц сегодня является трендом в современной физике и химии наноструктур [1]. Такие материалы могут

эффективно использоваться в качестве новых агентов диагностики и терапии различных заболеваний, в качестве новых сенсibilизаторов активных форм кислорода (АФК) для задач очистки водных бассейнов от биологических и промышленных загрязнений, в виде активных элементов в фотовольтаических элементах и источниках света.

Диполь-дипольный резонансный безызлучательный перенос энергии (в англоязычной литературе FRET, Förster Resonant Energy Transfer) [2] является одним из основных механизмов, реализуемых в структурах на основе люминофоров для усиления их функциональных свойств. Такого рода взаимодействие между наноструктурированным или молекулярным люминофором и вторым компонентом структуры на расстоянии, меньшем длины волны излучения люминофора, сопровождается увеличением вероятности релаксации донора в основное состояние с одновременным переходом акцептора в одно из возбужденных состояний.

Квантовомеханическая теория безызлучательного переноса энергии впервые была предложена Ферстером в 1947 году для раствора органических люминофоров [3]. В рамках теории Ферстера вероятность переноса энергии может быть оценена из величин, определяемых экспериментально. Теория Ферстера нашла подтверждение в многочисленных прямых экспериментах. За исключением систем, в которых в переносе энергии участвуют запрещенные переходы, данная теория достаточно хорошо описывает большинство экспериментальных данных о безызлучательном переносе энергии.

Процесс безызлучательного переноса энергии от донора к акцептору состоит из нескольких этапов [2]. На первом этапе донор энергии поглощает квант света и переходит в одно из возможных возбужденных состояний. Далее происходит достаточно быстрая (скорость порядка 10^{11} - 10^{12} с⁻¹) колебательная релаксация донора и резонансная передача энергии фотовозбуждения от донора к акцептору. На стороне акцептора также возможна колебательная релаксация (скорость порядка 10^{11} - 10^{12} с⁻¹). На заключительном этапе происходит излучательная или безызлучательная релаксация акцептора в основное состояние. Важно отметить, что наличие колебательной релаксации акцептора позволяет системе выйти из резонанса и сделать маловероятным обратный перенос энергии фотовозбуждения от акцептора к донору.

В случае индуктивно-резонансных взаимодействий решение квантовомеханической задачи 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 [4]:

$$k_{II}^{dd}(R) = \frac{9000 \cdot \ln 10 \cdot \Phi^2 \cdot q_{0D}}{128 \cdot \pi^5 \cdot n^4 \cdot N \cdot \tau_{0D} \cdot R^6} \times I, \quad (5.1)$$

$$I = \int I_D^H(\nu) \cdot \varepsilon_A(\nu) \cdot \nu^{-4} \cdot d\nu, \quad (5.2)$$

где N – число Авогадро, q_{0D} – квантовый выход донора в отсутствие тушителя, n – коэффициент преломления растворителя, 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 [5]. Если скорость броуновского вращения молекул достаточно велика, то $\Phi^2 = 2/3$. В случае неподвижных молекул (твердые 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 люминесценции донора и поглощения 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 [5].

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

$$k_{II}(R_0) = 1/\tau_{0D}. \quad (5.3)$$

Под критическим радиусом R_0 обычно понимается расстояние между донором и акцептором, при котором вероятности излучательной релаксации донора и переноса энергии от донора к акцептору по механизму FRET равны [5].

Тогда

$$k_{II}^{dd}(R) = \frac{1}{\tau_{0D}} \left(\frac{R_0}{R} \right)^6, \quad (5.4)$$

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

Формулы 5.1 и 5.2 корректно использовать в случае, когда рассматриваемые переходы имеют дипольный характер.

Согласно теории Ферстера для эффективного переноса энергии по механизму FRET в выбранной донорно-акцепторной паре, необходимо одновременное выполнение трех условий [5]:

- 1) взаимная ориентация дипольных моментов переходов в доноре и акцепторе не должна быть ортогональной
- 2) расстояние между донором и акцептором не должно превышать критический радиус (R_0).

- 3) интеграл перекрытия между спектром поглощения акцептора и спектром люминесценции донора должен быть отличен от нуля; его величина отражает, насколько хорошо для данной пары донор-акцептор энергии выполнено условие резонанса.

Если известно расстояние между донором и акцептором, то, согласно теории FRET эффективность безызлучательного переноса энергии фотовозбуждения можно оценить как [5]:

$$E_t = \frac{1}{1 + \left(\frac{R_{DA}}{R_0}\right)^6} \quad (5.5)$$

Для создания комплексов с эффективным переносом энергии важно подобрать пару донор-акцептор, для которой будет выполняться условие резонанса между электронными переходами в доноре и акцепторе. При использовании в качестве донора и/или акцептора энергии люминесцирующих наночастиц данное условие может быть легко выполнено за счет изменения химического состава, формы и размера наночастиц [2].

Комплексы, в которых в качестве донора и/или акцептора энергии выступают люминесцирующие наночастицы и органические молекулы, могут быть сформированы в результате ковалентного связывания, координационного связывания и электростатического взаимодействия. Создание комплексов КТ с органическими молекулами в общем случае означает простое смешивание растворов двух компонент. Для того, чтобы реализовать первые два типа взаимодействия, на поверхности коллоидных наночастиц и в составе органических молекул должны быть определенные функциональные группы, между которыми возможно организовать или ковалентную или координационную связь. В случае же электростатического взаимодействия необходимым и достаточным условием является наличие у наночастиц и органических молекул разноименно заряженных групп. Поэтому такой тип взаимодействия является широко распространенным в случае формирования комплексов на основе наночастиц разного вида или размера, а также при комбинировании наночастиц с органическими молекулами.

Перенос энергии от донора к акцептору является конкурирующим по отношению к излучательному переходу в доноре. Поэтому он может сопровождаться частичным или полным тушением люминесценции донора. Появление избыточной энергии в акцепторе должно приводить к появлению его сенсibilизированной люминесценции. Именно этими двумя обстоятельствами обусловлена возможность оценить эффективность переноса энергии на основании анализа спектрально-люминесцентных свойств донора и акцептора энергии, а также их комплексов. Одним из наиболее характерных проявлений комплексообразования является тушение люминесценции донора (наночастиц или молекул) в результате

связывания в комплекс с органическими молекулами [4], для которых в данном случае выполняются условия для ферстеровского переноса энергии от наночастицы к молекуле. В большинстве случаев при исследовании процессов комплексообразования изучается концентрационная зависимость эффективности тушения люминесценции донора (наночастицы или молекулы) от концентрации акцептора (наночастицы или молекулы) энергии.

Особенностью комплексов с участием коллоидных наночастиц в качестве доноров энергии является возможность формировать комплексы, в которых на один донор приходится несколько акцепторов. Для таких комплексов возможно различать два случая тушения люминесценции в комплексе: (1) присоединение к наночастице хотя бы одной молекулы приводит к полному тушению ее люминесценции и (2) присоединение молекулы к наночастице приводит к частичному тушению люминесценции наночастицы. Экспериментально эти случаи могут быть различимы при исследовании кинетики люминесценции донора в присутствии акцептора. В первом случае не будет наблюдаться зависимость характерного времени затухания люминесценции донора от концентрации в образце акцептора. Для второго же случая будет наблюдаться зависимость кинетики люминесценции донора от концентрации акцептора в образце.

Независимо от типа связывания, предельное число молекул, которые в каждом конкретном случае могут быть присоединены к одной наночастице, зависит от числа молекул стабилизатора поверхности наночастицы. Поскольку для большинства наночастиц, которые обычно используются в качестве донора энергии в составе комплексов с органическими молекулами, число молекул стабилизатора на их поверхности составляет несколько десятков, количество органических молекул, связанных в комплекс с наночастицей, должно подчиняться статистическому распределению Пуассона.

Оптические свойства наночастиц могут быть тонко настроены с помощью варьирования их химического состава и размера. Это позволяет для большинства комплексов наночастиц с органическими молекулами, в которых формирование комплексов осуществляется или в результате непосредственного координирования органической молекулы, акцептора энергии, на поверхность наночастицы, или в результате взаимодействия акцептора энергии с молекулой стабилизатором наночастицы, реализовать перенос энергии от наночастицы к органической молекуле с эффективностью, близкой к 100%. Поэтому в такого типа комплексах, как правило, присоединение к наночастице уже одной молекулы акцептора энергии, сопровождается практически полным тушением люминесценции донора энергии. В этом случае вся люминесценция наночастиц, регистрируемая в образце, связана исключительно со свободными наночастицами.

В случае, когда с одной наночастицей (донор энергии) одновременно могут взаимодействовать несколько десятков органических молекул (акцептор энергии), вероятность того, что с наночастицей связаны x молекул, определяется формулой Пуассона:

$$P(x, t) = \frac{t^x}{x!} e^{-t}, \quad (5.6)$$

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

$$t = \frac{C_M}{C_{KT} \cdot A}, \quad (5.7)$$

где C_M – концентрация молекул в смеси, C_{KT} – общая концентрация наночастиц в растворе. Таким образом, концентрационная зависимость интенсивности люминесценции наночастиц в комплексах с органическими молекулами носит экспоненциальный характер.

Полагаем, что в образце наблюдается люминесценция только свободных наночастиц, не связанных в комплекс с молекулами. В этом случае относительная интенсивность люминесценции наночастиц в смеси с молекулами будет определяться выражением:

$$\frac{I}{I_0} = A \exp\left(-\frac{C_M}{AC_{HЧ}}\right) + (1 - A), \quad (5.8)$$

где I – интенсивность люминесценции наночастиц в смеси с молекулами, I_0 – люминесценция наночастиц в отсутствие молекул тушителя, A ($0 < A < 1$) – часть наночастиц, связанная в комплекс с молекулами, $(1 - A)$ – часть наночастиц, не связанных в комплекс с молекулами.

Множитель перед экспонентой показывает, какая часть доноров энергии, наночастиц, связывается в комплекс с акцепторами энергии, органическими молекулами. Показатель экспоненты в данном случае показывает среднее число наночастиц, которые полностью тушит одна молекула акцептора. Рассмотрим этот вопрос более подробно. Очевидно, что модуль показателя экспоненты может принимать значения: <1 , $=1$, >1 . В первом случае это означает, что присоединение одной молекулы акцептора к донору, наночастице, не полностью тушит ее люминесценцию. Случай, когда показатель экспоненты в формуле 5.8 близок к «1», означает, что одна молекула акцептора полностью тушит люминесценцию одного донора, наночастицы. В последнем случае, который соответствует случаю сверхэффективного тушения люминесценции донора, это означает формирование комплексов, в которых на одну молекулу тушителя приходится несколько доноров. В комплексах на основе коллоидных наночастиц это означает, что добавление в раствор наночастиц органических молекул запускает процесс агрегации наночастиц.

Анализ концентрационной зависимости эффективности тушения люминесценции наночастиц при связывании с органическими молекулами позволяет получить информацию о стехиометрии комплексов и физическом механизме тушения люминесценции наночастиц. На рисунке 5.1 приведена зависимость интенсивности люминесценции наночастиц (I/I_0 , где I_0 и I – интенсивность люминесценции до и после добавления молекул) от относительной концентрации акцептора в смеси ($n = C_M : C_{НЧ}$).

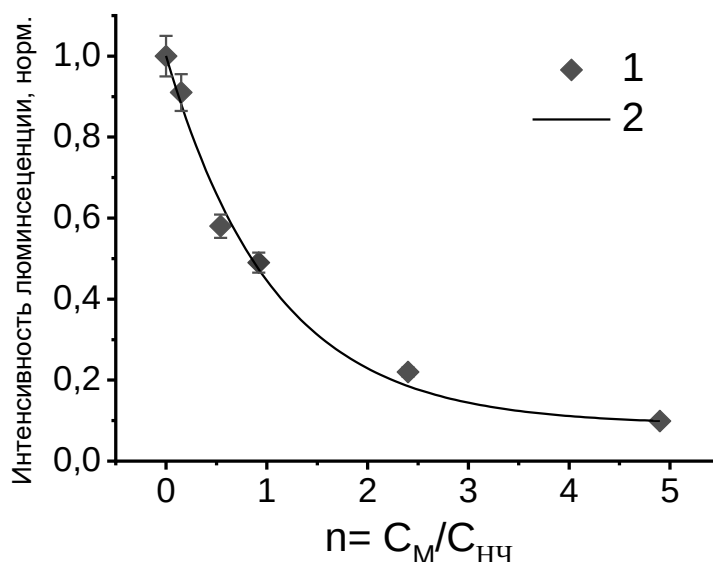


Рисунок 5.1 – Зависимость интенсивности люминесценции (I/I_0) наночастиц от относительной концентрации акцептора ($n = C_M : C_{НЧ}$) в смеси: 1 – экспериментальные данные; 2 – аппроксимация функцией $y = 0.91 \cdot \exp(-0.94 \cdot n) + 0.09$ [6]

Анализ зависимости, представленной на рисунке 5.1, показывает, что экспериментальные данные хорошо аппроксимируются экспоненциальной функцией вида $I/I_0 = 0.91 \cdot \exp(-0.94 \cdot n) + 0.09$, $A = 0.91$, показатель экспоненты $= 0.94$. Это означает, что в данном случае 91% всех наночастиц в смешанном растворе связаны в комплекс с органическими молекулами. При этом присоединение одной молекулы к наночастице практически полностью тушит люминесценцию последней. Значение $A = 0.91$ показывает долю наночастиц, связанных с молекулами, в данном случае высокий показатель A показывает, что практически все наночастицы в образце связаны с молекулами.

Формула Ферстера (формула 5.5) позволяет оценить максимальную эффективность переноса энергии от одного донора к одному акцептору в условиях, когда формирование комплекса между донором и акцептором не сопровождается появлением новых безызлучательных каналов релаксации электронного возбуждения ни на стороне донора, ни на стороне акцептора. В комплексах с участием наночастиц достаточно часто наблюдается

агрегация наночастиц и/или молекул, что сопровождается появлением новых каналов безызлучательно релаксации, конкурирующих с переносом энергии. Также в комплексах с наночастицами и молекулами достаточно часто могут выполняться условия для фотоиндуцированного переноса электрона или дырки. Данные обстоятельства не позволяют провести корректную оценку эффективности FRET с использованием формулы 5.5. При формировании комплексов также достаточно часто происходит существенное возмущение органических молекул, сопровождающееся изменением их спектральной формы и квантового выхода люминесценции. Эти изменения должны быть также учтены при оценке эффективности FRET.

Наиболее корректной является оценка эффективности FRET, основанная на анализе экспериментальных данных: стационарных спектров люминесценции или кинетики люминесценции донора и/или акцептора. Если в комплексе с наночастицами органическая молекула сохраняет способность люминесцировать, эффективность переноса энергии можно определить следующим образом:

$$E_{\text{exp}} = \frac{I_{\text{sens}}(\lambda_{\text{HЧ}}^{\text{ex}}) \cdot D_{\text{M}}(\lambda_{\text{M}}^{\text{ex}})}{I_{\text{M}}(\lambda_{\text{M}}^{\text{ex}}) \cdot D_{\text{HЧ}}(\lambda_{\text{HЧ}}^{\text{ex}}) \cdot F}, \quad (5.9)$$

где I_{sens} – 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; $\lambda_{\text{HЧ}}^{\text{ex}}$ и $\lambda_{\text{M}}^{\text{ex}}$ – длины волн возбуждения люминесценции, на которых доминирующий вклад в поглощение смеси имеют наночастицы (донор) и молекулы (акцептор), соответственно; F – степень тушения люминесценции наночастиц:

$$F = 1 - \frac{I}{I_0}, \quad (5.10)$$

где I , I_0 – интенсивность люминесценции наночастиц в присутствии и отсутствие молекул, соответственно.

Применение формулы 5.9 является более корректным, чем формулы 5.5, поскольку формулу 5.9 можно использовать и в тех случаях, когда образование комплексов приводит к появлению дополнительных безызлучательных каналов релаксации в доноре и/или акцепторе, и 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_{sens} при возбуждении светом с длиной волны преимущественного поглощения донора, необходимо вычислить вклад прямого возбуждения донора в зарегистрированную интенсивность

люминесценции смеси I_{mix}^{reg} и вычесть его из зарегистрированной люминесценции смеси I_{mix}^{reg} по формуле:

$$I_{sens}(\lambda_{HЧ}^{ex}) = I_{mix}^{reg}(\lambda_{HЧ}^{ex}) - \frac{I_M(\lambda_M^{ex}) \cdot D_{HЧ}(\lambda_{HЧ}^{ex})}{D_M(\lambda_M^{ex})} \quad (5.11)$$

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

В ходе выполнения работы должны быть выполнены следующие задачи:

1. Выполнено ознакомление с особенностями регистрации электронных спектров поглощения и люминесценции коллоидных растворов люминесцирующих наночастиц и органических люминофоров в стандартных условиях с использованием стандартных кювет на спектрофотометре и спектрофлуориметре.
2. Приготовлены растворы НЧ двух типов и одного или двух типов органических молекул (тип НЧ и молекул указывает преподаватель), для которых на заданных длинах волн (значения длин волн указывает преподаватель) оптическая плотность в спектрах поглощения составляет порядка 0,1, и зарегистрированы их спектры поглощения и люминесценции.
3. Определены молярные концентрации НЧ и органических люминофоров в исходных растворах (коэффициенты экстинкции НЧ и молекул на выбранных длинах волн указывает преподаватель).
4. Проведен анализ спектров поглощения и люминесценции НЧ и молекул и выбрана пара донор-акцептор энергии, для которой наилучшим образом выполнено условие попарного перекрытия спектра поглощения акцептора со спектром поглощения донора.
5. Для выбранной в п.4 пары донор-акцептор энергии выполнен расчет объемов добавок раствора акцептора исходной концентрации к раствору донора энергии. Число добавок должно быть не менее семи, а их суммарный объем не должен превышать 10% от начального объема раствора донора энергии. Относительная концентрация акцептора ($n = C_M : C_{HЧ}$) в образце должна меняться с переменным шагом так, чтобы $n=0,1; 0,2; 0,5; 0,75; 1,0; 2,0; 4,0$.
6. Должны быть приготовлены смешанные растворы донора и акцептора с разной относительной концентрацией акцептора согласно п.5 в результате последовательного увеличения концентрации акцептора в образце.
7. Для каждого значения относительной концентрации акцептора в образце должны быть зарегистрированы спектры поглощения и люминесценции.
8. Должны быть проанализированы зависимости интенсивности люминесценции донора и акцептора в образце от относительной концентрации акцептора.
9. Должна быть выполнена оценка эффективности FRET в образцах по формулам 5.9–5.11 и сделан вывод о наличии или отсутствии новых

безызлучательных каналов релаксации электронного возбуждения в комплексах.

Согласно поставленным задачам, в начале работы необходимо ознакомиться с описанием приборов – спектрофотометра и спектрофлуориметра, на которых предполагается проводить регистрацию спектров поглощения и люминесценции образцов. Описание приборов может быть взято из [6] или выдано преподавателем в печатной/электронной форме перед началом работы.

Перед началом приготовления рабочих образцов и проведением измерений их оптических свойств преподавателем проводится устный/письменный опрос студентов на предмет проверки: 1) знания техники безопасности работы в физической лаборатории; 2) знания устройства и принципа работы спектрофотометра и спектрофлуориметра; 3) последовательности действий при подготовке рабочих образцов; 4) последовательности действий при проведении измерения оптических свойств образцов во время лабораторной работы.

Преподавателем выдаются: 1) исходные растворы люминесцирующих наночастиц; 2) исходный раствор органического люминофора; 3) лабораторная посуда; 4) растворители; 5) фотометрические кюветы; 6) дозаторы и наконечники для них.

Преподаватель сообщает студентам информацию о: 1) о химическом составе люминесцирующих НЧ и органического люминофора; 2) коэффициентах экстинкции для НЧ и молекул на определенных длинах волн; 3) длине волны электромагнитного излучения, на которой в растворах НЧ и молекул оптическая плотность не должна превышать 0,1.

Для выполнения экспериментальной части работы студентам необходимо:

1. Приготовить растворы наночастиц и молекул.
2. Зарегистрировать спектры поглощения и люминесценции растворов.
3. Проанализировать спектры люминесценции и поглощения наночастиц и молекул и выбрать пару донор-акцептор энергии.
4. Приготовить раствор донора энергии из выбранной в п.3 пары с концентрацией в диапазоне $10^{-7} - 10^{-6}$ М.
5. Зарегистрировать спектры поглощения и люминесценции раствора донора.
6. По спектру поглощения донора оценить его концентрацию $C_{НЧ}$ в растворе.
7. Выполнить расчеты необходимых объемов исходного раствора акцептора энергии для достижения в смешанном растворе относительной концентрации акцептора $n=0,1; 0,2; 0,5; 0,75; 1,0; 2,0; 4,0$. Расчеты проводить с учетом объема раствора донора (3 мл) и максимально допустимого суммарного объема раствора акцептора (не более 10% от исходного объема раствора донора).

8. Для каждой добавки раствора акцептора к смешанному раствору с донором зарегистрировать спектр поглощения и спектры люминесценции. Длины волн возбуждения люминесценции образца выбирать следующим образом. Выбрать $\lambda_{H\dot{C}}^{ex}$ в спектральной области, где находится локальный минимум поглощения молекул (акцептор энергии), при этом поглощение наночастиц (донор энергии) существенно. λ_M^{ex} выбрать в области, где расположена полоса поглощения акцептора, а поглощение донора отсутствует или существенно слабее поглощения акцептора.

ОБРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ

Используя зарегистрированные спектры люминесценции донора и поглощения акцептора рассчитать интеграл перекрытия I и эффективность переноса энергии по формулам 5.2, 5.5 и 5.9 для выбранной донорно-акцепторной пары.

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА

1. Спектры поглощения и люминесценции наночастиц и молекул.
2. Вывод об оптимальной донорно-акцепторной паре.
3. Рассчитанные значения интеграла перекрытия и эффективности переноса энергии для выбранной донорно-акцепторной пары.
4. Построенные зависимости интенсивности люминесценции донора и акцептора от относительной концентрации акцептора в образце
5. Вывод о наличии или отсутствии каналов безызлучательной релаксации электронного возбуждения в комплексах, сформированных в результате формирования комплексов.

Работа является доработанной версией работы из пособия [6].

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какие особенности регистрации спектров поглощения и люминесценции надо учитывать при экспериментальном исследовании проявления FRET в комплексах с участием люминесцирующих наночастиц?
2. Назовите основные условия реализации FRET в комплексах с наночастицами.
3. Каким образом на основании экспериментальных данных может быть найдено оптимальная комбинация двух люминофоров для формирования комплексов с переносом энергии по механизму FRET?
4. В каких случаях некорректно использовать формулу Ферстера для оценки эффективности FRET в паре донор-акцептор?
5. Какой физический смысл имеют параметры аппроксимации экспериментальной зависимости интенсивности люминесценции донора от относительной концентрации акцептора?

ЛИТЕРАТУРА

1. Rao A. et al. Nanoparticle self-assembly: from design principles to complex matter to functional materials //ACS Applied Materials & Interfaces. – 2022. – Т. 15. – №. 21. – С. 25248-25274.
2. Verma A. K. et al. FRET based biosensor: principle applications recent advances and challenges //Diagnostics. – 2023. – Т. 13. – №. 8. – С. 1375.
3. Govorov A. et al. Short history of energy transfer theory before förster, at the time of förster, and after förster //Understanding and Modeling Förster-type Resonance Energy Transfer (FRET) Introduction to FRET, Vol. 1. – 2016. – С. 1-8.
4. Kaur A., Kaur P., Ahuja S. Förster resonance energy transfer (FRET) and applications thereof //Analytical Methods. – 2020. – Т. 12. – №. 46. – С. 5532-5550.
5. Szabó Á., Szöllősi J., Nagy P. Principles of resonance energy transfer //Current protocols. – 2022. – Т. 2. – №. 12. – С. e625.
6. Вениаминов А.В., Колесова Е.П., Орлова А.О., Физические механизмы функционирования гибридных наноструктур – СПб: Университет ИТМО, 2021.

Лабораторная работа №6
ИЗУЧЕНИЕ ПРИНЦИПОВ РАБОТЫ МОЛЕКУЛЯРНЫХ
ФОТОМЕТРИЧЕСКИХ СЕНСОРОВ, ОПРЕДЕЛЕНИЕ
КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ ЦИНКА

ЦЕЛИ РАБОТЫ

- Приобретение навыков формирования металлокомплексов азокрасителей в водных растворах;
- приобретение навыков анализа спектров поглощения металлокомплексов азокрасителей в водных растворах.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ

- Спектрофотометр, предназначенный для регистрации спектров оптической плотности растворов в стандартных кюветах в спектральном диапазоне 200-1000 нм;
- стандартные кюветы, изготовленные из кварца или оптического стекла с длиной оптического пути 1 см и объемом 3-4 мл;
- раствор азокрасителя;
- соль металла;
- дистиллированная вода.

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Металлокомплексы азокрасителей в водных средах.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

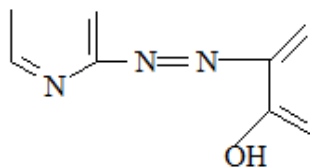
1. Фотометрические сенсоры

Фотометрические сенсоры могут быть применены для качественного и количественного анализа благодаря изменениям оптической плотности в электронном спектре поглощения.

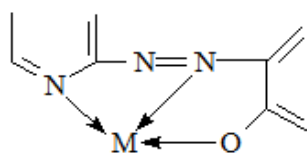
Концентрация веществ, поглощающих в видимой и ближней ультрафиолетовой области спектра, достаточно просто определяется из спектра поглощения по закону Бугера-Ламберта-Бера. Принцип действия фотометрических сенсоров основан на прохождении специфических химических реакций, приводящих к возникновению характеристических 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 [1]. 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 N азогруппы. При этом образуется комплекс



К преимуществам данного типа сенсора можно отнести:

- высокую чувствительность ко многим ионам;
- значительный батохромный сдвиг максимума поглощения при образовании комплекса азокрасителя с ионом металла;
- 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 гетероциклических азосоединений в качестве фотометрических сенсоров на ионы металлов является их низкая селективность. Большинство данных соединений взаимодействуют с широким спектром ионов, при этом положение максимумов поглощения различных металлокомплексов конкретного азосоединения обладают незначительными сдвигами [1]. 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 pH азокраситель может находиться в различных формах. Например, 1-(2-пиридилазо)-2-нафтол (ПАН) в зависимости от величины pH способен находиться в 3 формах: нейтральной (желтая), кислой (желто-зеленая) и щелочной (сиреневая). На рисунке 6.1 приведена структура ПАН в различных формах.

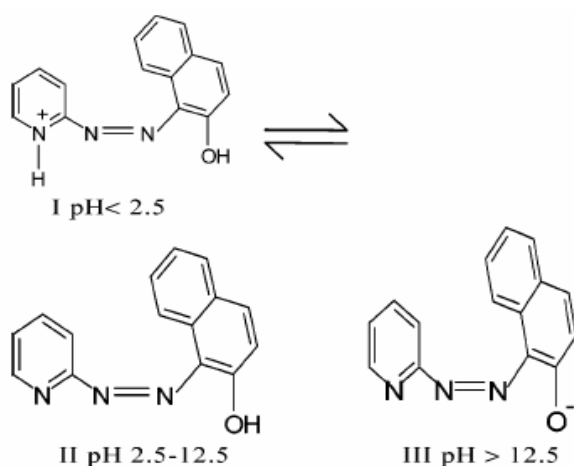


Рисунок 6.1 – Структура ПАН при различных значениях pH [3]

Пороговая чувствительность фотометрического сенсора определяется молярным коэффициентом экстинкции. В этом случае минимально определяемая концентрация аналита в пробе зависит исключительно от чувствительности оборудования.

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, то есть 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 [1]. Пусть есть обратимая реакция:



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

$$v_1 = k_1 \cdot [A] \cdot [B], \quad (6.2)$$

скорость обратной реакции

$$v_2 = k_2 \cdot [C] \cdot [D], \quad (6.3)$$

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 – перестанут изменяться во времени. Это значит, что реакция достигла состояния 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 химической реакции K . Если записать для рассмотренной обратимой реакции условие равенства скоростей прямой и обратной реакции в состоянии равновесия (equilibrium):

$$k_1 \cdot [A]_e \cdot [B]_e = k_2 \cdot [C]_e \cdot [D]_e, \quad (6.4)$$

то

$$[C]_e \cdot [D]_e / [A]_e \cdot [B]_e = k_1 / k_2 = K. \quad (6.5)$$

Таким образом, при равновесии отношение произведения концентраций продуктов реакции к произведению концентраций 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):

$$K = \frac{[C_{complex}]}{[C_a] \cdot [C_b]}, \quad (6.6)$$

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.

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

В ходе выполнения работы должны быть выполнены следующие задачи:

1. Выполнено ознакомление с особенностями регистрации электронных спектров поглощения растворов азокрасителей в стандартных условиях с использованием стандартных кювет на спектрофотометре.
2. Приготовлен раствор азокрасителя произвольной концентрации, зарегистрирован его спектр поглощения.
3. Приготовлен раствор соли металла с заданной концентрацией.
4. Зарегистрированы спектры поглощения раствора азокрасителя после каждой добавки раствора соли металла.
5. Проанализированы качественные изменения в спектре поглощения смешанного раствора.
6. Рассчитаны концентрации металлокомплексов после каждой добавки раствора соли металла, а также азокрасителя, не связанного в комплекс.
7. Определена константа комплексообразования.
8. Сделаны выводы о формировании комплексов азокрасителей с ионами металлов.

Согласно поставленным задачам, в начале работы необходимо ознакомиться с описанием прибора спектрофотометра, на котором предполагается проводить регистрацию спектров поглощения образцов. Описание прибора может быть взято из [3] или выдано преподавателем в печатной/электронной форме перед началом работы.

Перед началом приготовления рабочих образцов и проведением измерений их оптических свойств преподавателем проводится устный/письменный опрос студентов на предмет проверки: 1) знания техники безопасности работы в физической лаборатории; 2) знания устройства и принципа работы спектрофотометра; 3) последовательности действий при подготовке рабочих образцов; 4) последовательности действий при проведении измерения оптических свойств образцов во время лабораторной работы.

Преподавателем выдаются: 1) исходный раствор азокрасителя; 2) соль металла; 3) лабораторная посуда; 4) дистиллированная вода; 5) фотометрические кюветы; 6) дозаторы и наконечники для них.

Преподаватель сообщает студентам информацию о: 1) химическом составе азокрасителя; 2) коэффициенте экстинкции в полосе поглощения свободной формы азокрасителя; 3) коэффициенте экстинкции металлокомплексов в заданной полосе поглощения; 4) химическом составе соли металла.

Для выполнения экспериментальной части работы студентам необходимо:

1. Включить спектрофотометр и выбрать настройки прибора согласно его описанию и объектам исследования. Регистрацию спектров поглощения образцов проводить в спектральном диапазоне 300 – 1000 нм.
2. Приготовить раствор азокрасителя произвольной концентрации, зарегистрировать его спектр поглощения.
3. Приготовить водный раствор соли металла. Объем воды и массу навески сообщает преподаватель.
4. Добавить небольшой объем раствора соли металла к раствору азокрасителя. Зарегистрировать спектр поглощения смеси.
5. Продолжать порционно добавлять раствор соли 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.

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА

1. Спектр поглощения азокрасителя и расчет его концентрации. Коэффициент экстинкции в максимуме полосы поглощения свободной формы азокрасителя выдает преподаватель.
2. Оценка концентрации раствора соли металла.
3. Концентрация ионов металла в растворе азокрасителя после единичной добавки, рассчитанная по формуле:

$$C = C_0 \frac{v}{V}, \quad (6.7)$$

где C_0 – концентрация ионов металла в стоковом растворе соли металла, v – объем добавки; V – объем раствора азокрасителя.

4. Спектры поглощения образца для каждой добавки раствора соли металла и расчет концентрации металлокомплексов, коэффициент экстинкции металлокомплексов (на длине волны 560 нм) выдает преподаватель.
5. Концентрация азокрасителя, не связанного в комплекс (C_{free}), рассчитанная по формуле:

$$C_{\text{free}} = C_{\text{dye}} - C_{\text{complex}}, \quad (6.8)$$

где C_{dye} – исходная концентрация азокрасителя, C_{complex} – концентрация металлокомплексов

6. Расчеты константы комплексообразования (формула 6.6).
7. Выводы по проделанной работе.

Работа является доработанной версией работы из пособия [3].

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какие шаги нужно проделать, чтобы приготовить раствор соли металла заданной концентрации?
2. Какие изменения происходят со спектром поглощения азокрасителя при добавлении раствора соли металла?
3. Как определить концентрацию азокрасителя, не связанного в комплекс?
4. Что такое константа комплексообразования?

ЛИТЕРАТУРА

1. El-Seify F. A. et al. Physico-analytical studies on some heterocyclic azo dyes and their metal complexes with some transition metals //BMC chemistry. – 2022. – Т. 16. – №. 1. – С. 40.
2. Eskandarpour M. et al. Developing a highly selective method for preconcentration and determination of cobalt in water and nut samples using 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol and UV–visible spectroscopy //Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2020. – Т. 100. – №. 5. – С. 2272-2279.
3. Вениаминов А.В., Колесова Е.П., Орлова А.О., Физические механизмы функционирования гибридных наноструктур – СПб: Университет ИТМО, 2021.

Лабораторная работа №7

ОЗНАКОМЛЕНИЕ С ПРИНЦИПОМ ФОРМИРОВАНИЯ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО СЕНСОРА НА ОСНОВЕ НК ДЛЯ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ ИОНОВ МЕТАЛЛОВ

ЦЕЛИ РАБОТЫ

- Приобретение навыков формирования комплексов полупроводниковых квантовых точек с молекулами азокрасителя;
- приобретение навыков первичного анализа оптических свойств сформированных комплексов.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ

- Спектрофотометр, предназначенный для регистрации спектров оптической плотности растворов в стандартных кюветах в спектральном диапазоне 200-1000 нм;
- спектрофлуориметр, предназначенный для регистрации стационарных спектров люминесценции и возбуждения люминесценции растворов в стандартных кюветах в спектральном диапазоне 200-800 нм;
- стандартные кюветы, изготовленные из кварца или оптического стекла с длиной оптического пути 1 см и объемом 3-4 мл;
- раствор полупроводниковых квантовых точек;
- раствор гетероциклического азокрасителя.

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Комплексы полупроводниковых квантовых точек с молекулами азокрасителя.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

Сегодня люминесцентные сенсоры получили достаточно широкое распространение [1]. Это обусловлено тем фактом, что использование люминесцентного отклика в качестве детектируемого сигнала позволяет обнаруживать значительно меньшие количества веществ по сравнению с фотометрическим способом регистрации. 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.

В спектрофотометрии концентрация веществ пропорциональна оптической плотности:

$$c \sim D = \lg(I_0/I), \quad (7.1)$$

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 $10^5 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$. Подставляя это значение 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:

$$I_{\text{lum}} \sim c \cdot I_{\text{ex}} \quad (7.2)$$

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.

Одним из подходов для создания сенсоров на основе квантовых точек является использование комплексов на основе квантовых точек и органических молекул [2]. 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 [3].

Рассмотрим принцип действия люминесцентного диссоциативного сенсора на ионы металла на основе комплексов квантовых точек и органических молекул (рисунок 7.1).

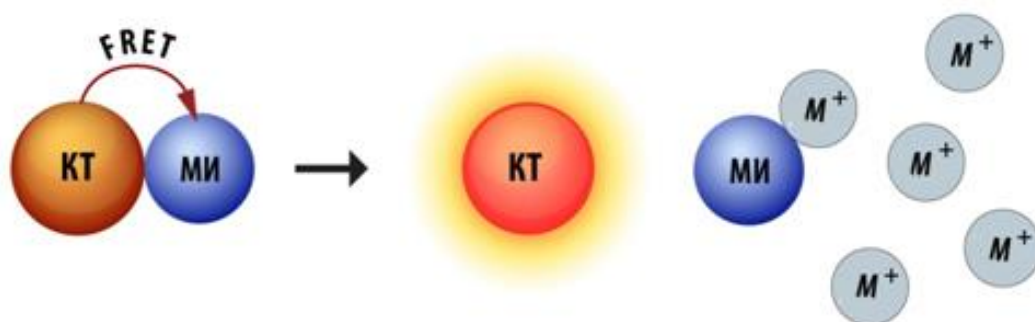


Рисунок 7.1 – Люминесцентный диссоциативный сенсор на ионы металла [4]

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 будут 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 присутствии ионов металлов, константа комплексообразования с которыми 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 люминесцентного сенсора на основе комплекса КТ и молекул азокрасителя.

ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

В ходе выполнения работы должны быть выполнены следующие задачи:

1. Выполнено ознакомление с особенностями регистрации электронных спектров поглощения и люминесценции жидких образцов в стандартных условиях с использованием стандартных кювет на спектрофотометре и спектрофлуориметре.
2. Приготовлены отдельные растворы квантовых точек и азокрасителя, зарегистрированы их спектры поглощения и люминесценции (только для КТ), определены их концентрации.
3. Приготовлены смешанные растворы КТ и азокрасителя с заданным соотношением компонентов, зарегистрированы их спектры поглощения и люминесценции.
4. Определена зависимость процентного содержания молекул азокрасителя, связанных в комплекс с КТ, от соотношения компонентов в смешанных растворах.
5. Определена зависимость среднего числа молекул азокрасителя, приходящихся на одну квантовую точку, от соотношения компонентов в смешанных растворах.

6. Определена зависимость относительной интенсивности люминесценции КТ в смешанных растворах от соотношения компонентов.

7. Проанализированы принципы формирования люминесцентного сенсора на основе нанокристалла и азокрасителя.

Согласно поставленным задачам, в начале работы необходимо ознакомиться с описанием приборов – спектрофотометра и спектрофлуориметра, на которых предполагается проводить регистрацию спектров поглощения и люминесценции образцов. Описание приборов может быть взято из [4] или выдано преподавателем в печатной/электронной форме перед началом работы.

Перед началом приготовления рабочих образцов и проведением измерений их оптических свойств преподавателем проводится устный/письменный опрос студентов на предмет проверки: 1) знания техники безопасности работы в физической лаборатории; 2) знания устройства и принципа работы спектрофотометра и спектрофлуориметра; 3) последовательности действий при подготовке рабочих образцов; 4) последовательности действий при проведении измерения оптических свойств образцов во время лабораторной работы.

Преподавателем выдаются: 1) исходный раствор полупроводниковых квантовых точек; 2) исходный раствор гетероциклического азокрасителя; 3) лабораторная посуда; 4) растворитель; 5) фотометрические кюветы; 6) дозаторы и наконечники для них.

Преподаватель сообщает студентам информацию о: 1) химическом составе квантовых точек и азокрасителя; 2) коэффициенте экстинкции в полосе поглощения свободной формы азокрасителя; 3) коэффициенте экстинкции металлокомплексов в заданной полосе поглощения.

Для выполнения экспериментальной части работы студентам необходимо:

1. Включить спектрофотометр и спектрофлуориметр и выбрать настройки приборов согласно его описанию и объектам исследования. Регистрацию спектров поглощения образцов проводить в спектральном диапазоне 300–1000 нм.

2. Приготовить отдельные растворы квантовых точек и азокрасителя произвольной концентрации.

3. Зарегистрировать спектры поглощения и люминесценции раствора квантовых точек, по формуле Бугера-Ламберта-Бера определить концентрацию КТ в растворе.

2. Зарегистрировать спектр поглощения раствора азокрасителя, определить его концентрацию в растворе.

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.
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:

$$I' = \frac{I}{I_0}, \quad (7.3)$$

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. Спектр поглощения азокрасителя.
3. Таблица с концентрациями: КТ, раствора азокрасителя, концентрациями азокрасителя в смешанном растворе при соотношениях 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.

Работа является доработанной версией работы из пособия [4].

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какие изменения можно наблюдать в спектрах поглощения и люминесценции КТ при добавлении раствора азокрасителя?
2. Как меняется процентное содержание молекул азокрасителя, связанных в комплекс с КТ, от соотношения компонентов в смешанных растворах?
3. Как меняется среднее число молекул азокрасителя, приходящихся на одну квантовую точку, от соотношения компонентов в смешанных растворах?
4. Как меняется относительная интенсивность люминесценции КТ в смешанных растворах от соотношения компонентов?

ЛИТЕРАТУРА

1. G. Korotchenkov. Handbook of gas sensor materials. Conventional approaches. Springer, 2013.

2. Harris R. D. et al. Electronic processes within quantum dot-molecule complexes //Chemical reviews. – 2016. – Т. 116. – №. 21. – С. 12865-12919.
3. El-Seify F. A. et al. Physico-analytical studies on some heterocyclic azo dyes and their metal complexes with some transition metals //BMC chemistry. – 2022. – Т. 16. – №. 1. – С. 40.
4. Вениаминов А.В., Колесова Е.П., Орлова А.О., Физические механизмы функционирования гибридных наноструктур – СПб: Университет ИТМО, 2021.

Орлова Анна Олеговна
Захаров Виктор Валерьевич
Булгакова Анастасия Валерьевна

Гибридные наноструктуры: свойства и применение

Учебно-методическое пособие

В авторской редакции

Редакционно-издательский отдел Университета ИТМО

Зав. РИО

Н.Ф. Гусарова

Подписано к печати

Заказ №

Тираж

Отпечатано на ризографе

Редакционно-издательский отдел
Университета ИТМО
197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49, литер А