

Академик АН БССР А. Н. СЕВЧЕНКО, И. Н. КОЗЛОВ,  
А. М. САРЖЕВСКИЙ

### КОНЦЕНТРАЦИОННАЯ ДЕПОЛЯРИЗАЦИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ МАЛОВЯЗКИХ РАСТВОРОВ

Все известные теории концентрационной деполаризации флуоресценции, основанные на индуктивно-резонансном механизме передачи энергии возбуждения, построены в приближении жестких растворов. Наиболее распространенным растворителем, удовлетворяющим условиям модели жесткого раствора, является вязкий глицерин (вязкость  $\sim 2$  пуаз и более). В частности, теория концентрационной деполаризации флуоресценции Вавилова<sup>(1)</sup> и Ферстера — Галанина<sup>(2, 3)</sup> дают хорошее согласие с экспериментом для глицериновых растворов красителей.

Понятия жесткого и маловязкого растворов при рассматриваемом нами явлении весьма относительны и четкой границы между ними установить нельзя. По-видимому, решающую роль в определении этой границы играют концентрации флуоресцирующего вещества и  $T/\eta$  раствора, от которого зависит длина свободного пробега молекул. От соотношения этих величин зависит процесс проникновения невозбужденных молекул в сферу действия возбужденных молекул, что вызывает добавочную деполаризацию флуоресценции по сравнению с жестким раствором.

Действительно, основываясь на теории броуновского движения частиц в растворе, которыми мы модулируем молекулы флуоресцирующего вещества, можно показать, что закон взаимодействия для шарообразных частиц (вероятность соударений) выразится как<sup>(4)</sup>

$$w_{\text{соуд}} = 1 - \exp\left(-\frac{4}{3} k \frac{T}{\eta} ct\right), \quad (1)$$

где  $c$  — концентрация частиц,  $\eta$  — вязкость раствора,  $T$  — температура. Вероятность сближения молекул, таким образом, будет возрастать пропорционально  $T/\eta$ . С другой стороны, для вероятности резонансного переноса энергии возбуждения от одной молекулы к другой, согласно<sup>(2)</sup>, имеем

$$w = \frac{1}{\tau} \left(\frac{R_0}{R}\right)^6, \quad (2)$$

где  $\tau$  — продолжительность возбужденного состояния,  $R$  — расстояние между двумя взаимодействующими молекулами,  $R_0$  — критическое расстояние, при котором вероятность переноса энергии возбуждения от одной молекулы к другой равна вероятности испускания света флуоресценции. Из рассмотрения этих формул следует, что увеличение вероятности (1) непосредственно влечет за собой рост вероятности резонансных переходов, которая зависит от расстояния.

В работе<sup>(4)</sup> теоретически рассчитано влияние температуры и вязкости среды на концентрационную деполаризацию флуоресценции растворов. В случае не очень больших концентраций флуоресцирующего вещества формула для концентрационной деполаризации флуоресценции имеет вид

$$\frac{1}{P} = \frac{1}{P_0} + \left(\frac{1}{P_0} - \frac{1}{3}\right) \frac{\tau_0}{k_2} \frac{T}{\eta} \Delta c, \quad (3)$$

где  $A$  — константа, уравнивающая размерности,  $\tau_0/k_2$  — сфера действия, введенная в теории Вавилова (1), внутри которой резонансный переход обязателен. Формула (3) не учитывает деполаризации флуоресценции, возникающей в результате броуновского вращения флуоресцентных молекул, а также не описывает случай жестких растворов. Для описания поляризации жестких растворов в формуле (3) необходимо было бы принять  $AT/\eta = 1$ .

В настоящей работе с целью проверки теоретического соотношения (3) были проведены измерения степени поляризации флуоресценции в зависимости от  $T/\eta$  при различных концентрациях флуоресцирующего вещества.

Для исследований были использованы два классических флуоресцентных красителя — натрий-флуоресцеин и триафлавин. Измерение степени поляризации проводилось на фотоэлектрической установке, которая дает относительную погрешность в определении поляризации 2—5%. Наблюдение флуоресценции проводилось в толстых слоях под острым углом к направлению возбуждающего луча света. Поправки на вторичное поглощение вводились согласно рекомендациям работы (2). Раствор с флуоресцирующим веществом находился в кювете переменной толщины, которая подвергалась термостатированию. Вязкость глицериновых растворов изменялась путем повышения температуры от 20 до 80° С.

На рис. 1 приведены результаты измерения зависимости степени поляризации флуоресценции от температуры и вязкости при различных концентрациях флуоресцеина и триафлавина. Графики построены в координатах  $1/P$  и  $T/\eta$ . Из рисунка видно, что при небольших концентрациях красителя ( $10^{-5} - 10^{-6}$  г/см<sup>3</sup>) линейная зависимость  $1/P$  от  $T/\eta$  для обоих веществ соблюдается довольно хорошо.

Рис. 1. Зависимость  $1/P$  от  $T/\eta$  триафлавина (а) и флуоресцеина (б) при различных концентрациях: 1 —  $1 \cdot 10^{-4}$  г/см<sup>3</sup>; 2 —  $4,5 \cdot 10^{-5}$ ; 3 —  $1 \cdot 10^{-6}$ ; 4 —  $1 \cdot 10^{-5}$ ; 5 —  $2,4 \cdot 10^{-4}$ ; 6 —  $1,4 \cdot 10^{-5}$  г/см<sup>3</sup>.

При увеличении концентрации на прямой  $1/P = f(T/\eta)$  при определенных значениях  $T/\eta$  наблюдается излом, а дальнейший рост концентрации ( $10^{-3} - 10^{-4}$  г/см<sup>3</sup>) приводит к сложному виду зависимости, состоящей из двух отрезков прямой со значительно различающимися наклоном. Первый отрезок, отвечающий большим вязкостям, т. е. приближению жестких растворов, можно описать эмпирической формулой Феофилова — Свешникова (3) для концентрационной деполаризации флуоресценции, которая учитывает также деполаризацию за счет вращения молекул. Экспериментальные точки второй прямой, попадающие в область малых вязкостей раствора, не укладываются в указанную формулу. Для этого участка зависимости  $1/P$  от  $T/\eta$  можно предложить другую эмпирическую формулу:

$$\frac{1}{P} = \frac{1}{P_c} + \left( \frac{1}{P_0} - \frac{1}{3} \right) k \frac{T}{\eta} \frac{\tau}{v} + A^* c \left[ \frac{T}{\eta} - \left( \frac{T}{\eta} \right)_{гр} \right], \quad (4)$$

где  $A^*$  — константа, определяемая из опыта,  $(T/\eta)_{гр}$  — экспериментальная постоянная, определяющая место пересечения двух прямых по оси абсцисс при данной концентрации флуоресцирующего вещества. Значение  $1/P_c$  в этой формуле определяется из пересечения первой прямой с осью ординат отдельно для каждой концентрации красителя.  $P_0$  представляет

собой квазипредельную степень поляризации флуоресценции данного вещества<sup>(6)</sup>, т. е. степень, получаемую из формулы Лёвшина — Перрена для вращательной деполяризации.

Сравнение формул (3) и (4) показывает, что теоретическое выражение (3) для концентрационной деполяризации флуоресценции при не очень больших концентрациях красителя дает правильное описание экспериментальных данных при соответствующем выборе системы отсчета  $T/\eta$ .

Если оперировать понятием сферы действия, то добавочную деполяризацию флуоресценции, возникающую при малых вязкостях раствора, можно рассматривать как следствие проникновения невозбужденных молекул в сферу действия возбужденных, т. е. за время жизни возбужденного состояния в этот эффективный объем происходит диффузия резонирующих «партнеров» из соседних объемов. Новый эффективный объем, возникающий при этом, можно характеризовать новой сферой действия, радиус которой будет возрастать с увеличением  $T/\eta$  или броуновского пробега молекул. Такое моделирование проводится для того, чтобы количественно показать, насколько существенно влияние вязкости на концентрационную деполяризацию флуоресценции молекул. Из экспериментальных данных (рис. 1) было вычислено относительное увеличение объема сфер действия исследованных красителей. При этом новый объем сферы действия

$$V = A \left[ \frac{T}{\eta} - \left( \frac{T}{\eta} \right)_{гр} \right] \frac{\tau_0}{k_2} + \frac{\tau_0}{k_2}. \quad (5)$$

Значение  $\tau_0/k_2$  бралось из (4). Были получены значения радиусов при  $T/\eta = 4000$  для флуоресцеина ( $R = 130 \text{ \AA}$ ) и для триафлавина ( $R = 160 \text{ \AA}$ ), что в несколько раз превосходит соответствующие радиусы в случае жестких растворов (60 и 40  $\text{\AA}$  соответственно). Как мы видим, радиус сферы действия у триафлавина возрастает в относительном масштабе гораздо больше, чем у флуоресцеина, что вполне естественно, так как  $\tau_0/k_2$  у этих веществ различаются примерно в три раза. Однако и по абсолютной величине радиус сферы у триафлавина больше при этой вязкости, что можно объяснить, по-видимому, большим броуновским пробегом молекул триафлавина.

Таким образом, вязкость раствора может играть существенную роль при рассмотрении механизма концентрационной деполяризации флуоресценции красителей.

Авторы благодарят В. М. Кусмарцева за помощь в проведении измерений и В. И. Попечница за обсуждение настоящей статьи.

Белорусский государственный университет  
им. В. И. Ленина  
Минск

Поступило  
8 X 1970

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> С. И. Вавилов, Микроструктура света, Изд. АН СССР, 1950. <sup>2</sup> Th. Förster, Naturwiss., 33, 166 (1946); Ann. Phys., 2, 55 (1948). <sup>3</sup> М. Д. Галанин, Тр. Физ. инст. АН СССР, 12, 18 (1960). <sup>4</sup> А. Н. Севченко, В. И. Попечниц, А. М. Саржевский, ДАН, 191, 1025 (1970). <sup>5</sup> П. П. Феофилов, В. Я. Свешников, ЖЭТФ, 10, 1372 (1940). <sup>6</sup> А. М. Саржевский, М. И. Хомич, Изв. АН СССР, сер. физ., 32, 1517 (1968).