Molecular Photoluminescence Spectroscopy

Dr.Jehad Diab
Faculty of pharmacy ,Damascus University

jehaddiab61@gmail.com

اللمعان(الوميض) الضوئي photoluminescence

جمل ضوئية يمكن أن تثار exited بالأشعة الكهرامغناطيسية مع اعادة اصدار emission الشعاع الممتص إما بنفس طول الموجة أو بطول موجة مختلف ،ظواهر الوميض الأكثرشيوعاً هي التألق والفسفرة الوميض الكيميائي , fluorescence, phosphorescence chemiluminescence .

التألق: fluorescence اعادة اصدار جزء من الشعاع الممتص خلال 10^{-9}- 10^{-6} ثانية من الإثارة ويتوقف التألق مباشرة بعد ازالة الشعاع .

الفسفرة : phosphorescence اعادة اصدار الضوء الممتص تحدث بعد 10 ثواني أو أكثر بين الامتصاص واعادة الاصدار. وبمكن أن تستمر من 10^{-4} وحتى 1 ثانية ويمكن لعدة دقائق أو أكثر بعد ازالة المنبع الضوئي.

الوميض الكيميائي chemiluminescence: هو انبعاث الضوء، نتيجة لتفاعل كيميائي.

تختلف عمليتا التألق والفسفرة في منشأ الاصدار الضوئي من الحالة S أو الحالة T (singlet vs. Triplet) حيث يكون منشأ التألق من الحالة المثارة الأولى S_1 ومنشأ الفسفرة من الحالة الثلاثية Triplet state.

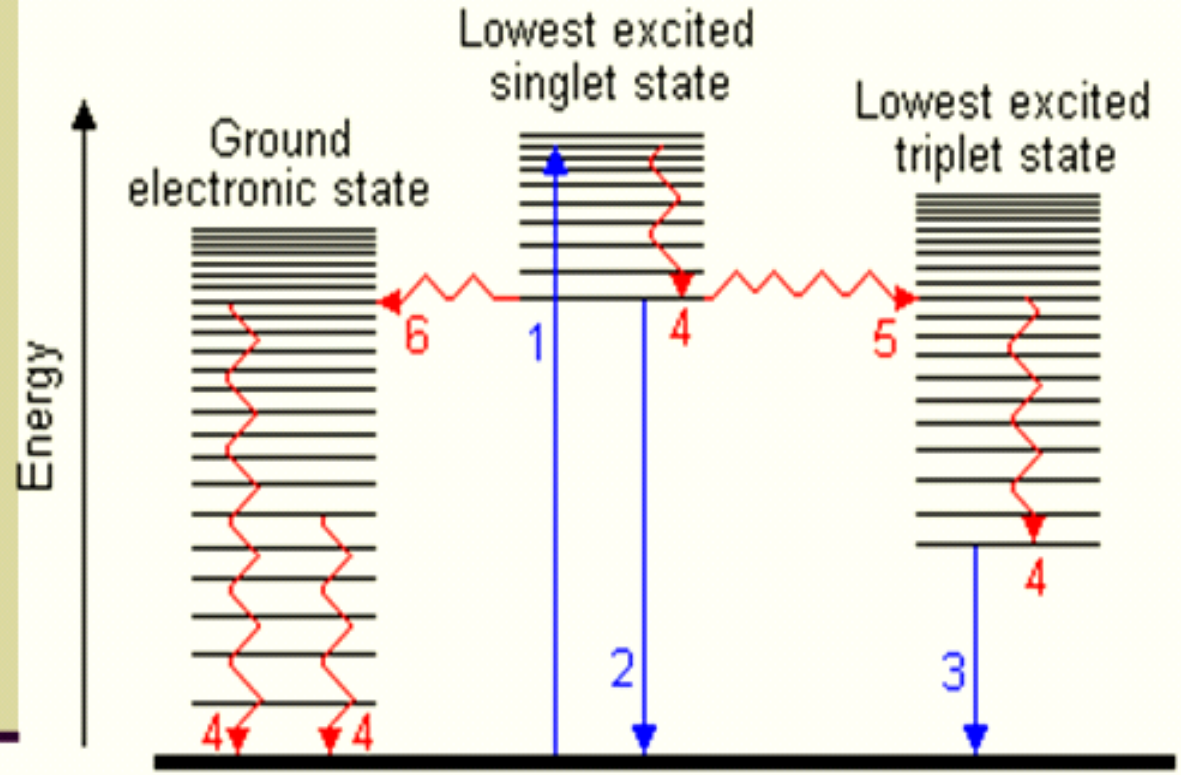
تختلف أيضاً بفترة زمن فترة الاثارة؛يتوقف التألق مباشرة بعد ازالة اشعاع الإثارة ،بينما تستمر الفسفرة لزمن أطول.

fluorescence

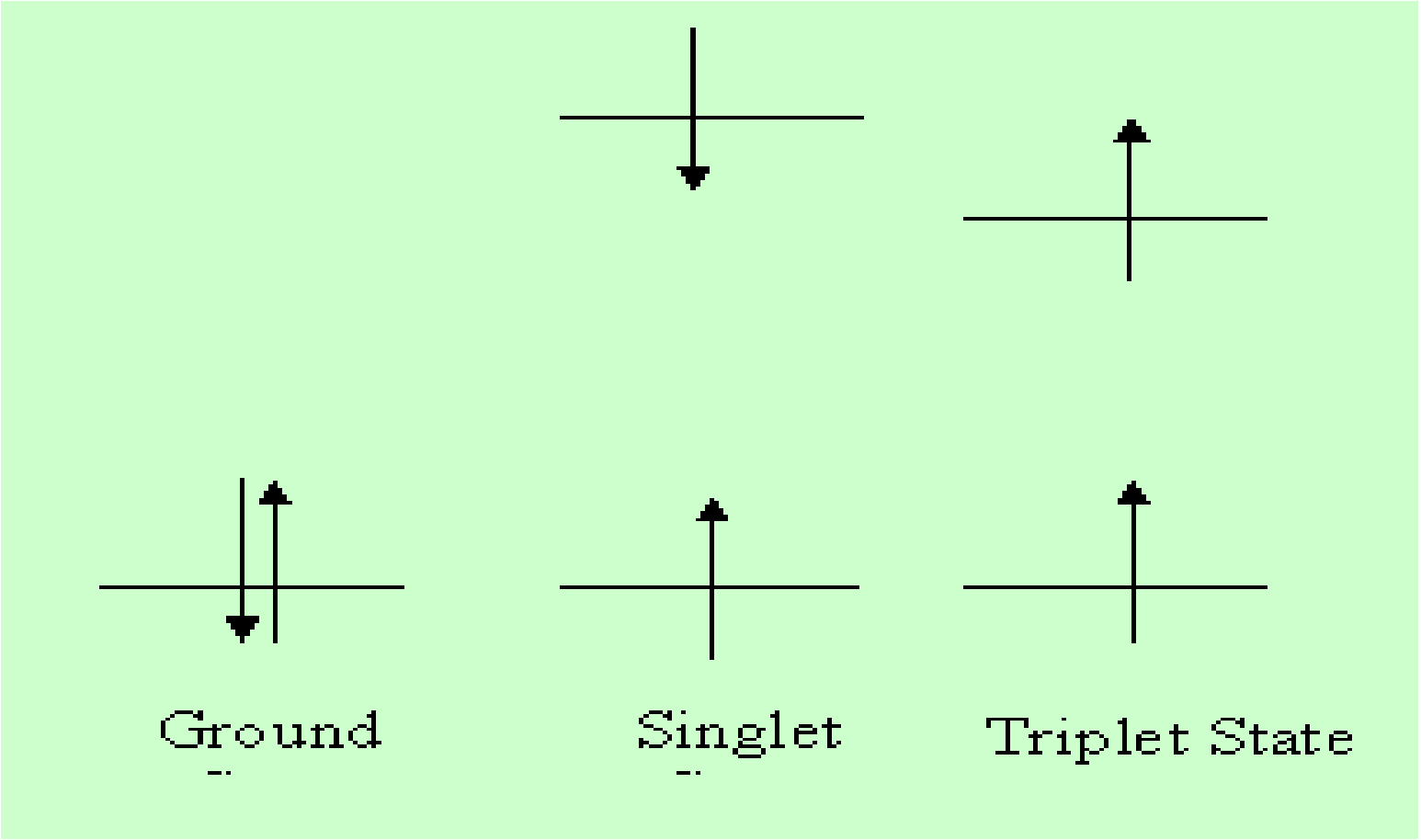
- امتصاص الجزيئ للإشعاع uv يؤدي إلى إثارته من المستوى الاهتزازي في الحالة الإلكترونية الأرضية ground إلى احدى المستويات الإهتزازية في الحالة الإلكترونية المثارة exited.

- الحالة المثارة هي عادة هي الحالة المثارة الوحيدة الاولى first singlet exited state.
- الجزيئ في المستوى الاهتزازي الاعلى للحالة المثارة سيسقط بسرعة الى المستوى الاهتزازي الادنى لهذه الحالة وذلك بفقدان الطاقة للجزيئات الأخرى بالاصطدام collision.
- يحدث التالق عندما يعود الجزيء الى الحالة الالكترونية الارضية ،من الحالة الوحيدة المثارة singlet exited state ،عن طريق اصدار **فوتون**.
- اذا كان الجزيء الذي يمتص اشعاع uv لايتالق هذا يعني لابد انه خسر طاقته بطريقة اخرى.تدعى هذه العمليات بإنتقال الطاقة بشكل غير اشعاعي radiationless transfer of energy.

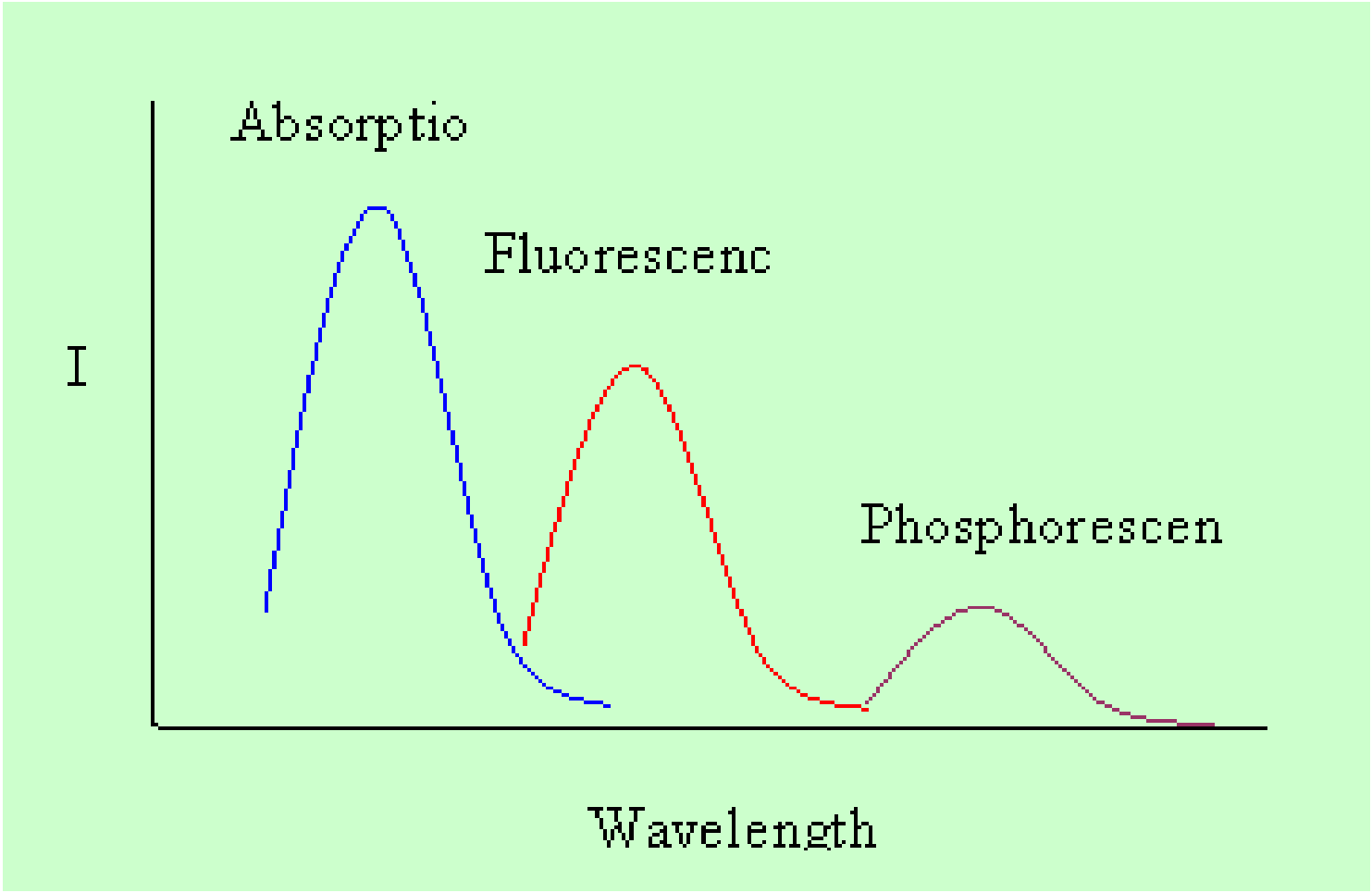
Possible physical process following absorption of a photon by a molecule



1. Absorption
2. Fluorescence
3. Phosphorescence
4. Vibrational relaxation
5. Intersystem crossing
6. Internal conversion



Multiplicity = 2S + 1
Where, S is the total spin. The total spin for a singlet state is zero since electrons are paired which gives a multiplicity of one (the term singlet state). Multiplicity = (2 * 0) + 1 =1
In a triplet state, the total spin is one (the two electrons are unpaired) and the multiplicity is three:
Multiplicity = (2 * 1) + 1 = 3


Absorptio
Fluorescenc
I
Phosphorescen
Wavelength

التألق والبنية الكيميائية chemical structure and fluorescence

- معظم الجزيئات التي تمتص اشعاع ال uv تسطيع القيام بالتألق...
- المركبات ذات الروابط المضاعفة المتعددة وذات الروابط المترافقة تبدي تألق
- هناك الكثير من المركبات العطرية والحلقية غير المتجانسة يظهر فيها التالق بوجود بعض المجموعات الاستبدال عليها مثل –NH2, OH, OCH3.
- المجموعات الساحبة للالكترونات مثل COOH, NO2, Cl, Br ... تثبط أو توقف التألق.
- تشكل معقدات مخلبية معدنية metal chelates تعزز التألق.

•في الجزيئات العضوية المعقدة تحتوي الجمل المتألقة عادة على مجموعة عطرية أوأكثر والتي تشمل بشكل عام انتقالات **π* -> π** بقية الانتقالات مثل **n ->π*** و**n -> σ*** تكون أقل أهمية في القياس الطيفي بالتألق.

الإخماد Quenching

الإخماد هو تخفيض شدة التألق بسبب بعض التأثيرات النوعية لمكونات المحلول نفسه.

1. اخماد التركيز concentration quenching: يمكن أن يحدث بسبب امتصاص المحلول الزائد للأشعاع .
2. الإخماد الكيميائي chemical quenching:يمكن أن يعزى للتغير في الطبيعة الكيميائية للمادة المتألقة ناتج عن pH ،تآثر مادتين...
3. تأثير الأوكسيجين المنحل effect of dissolved oxygen:ويعزى إخماد O_2 الى أكسدته للمواد المتألقة.
4. الحرارة temperature:ينقص المردود الكمومي quantum efficiency لمعظم الجزيئات بزيادة الحرارة.

الأجهزة instrumentation

يقيس مقياس التألق **fluorometer** التألق أوالتفلور

الأنواع: يوجد نوعين من الأجهزة ،النوع الأول مقياس التألق بإستخدام المرشحة filter fluorometers يستخدم المراشح لعزل الإشعاع الوارد والإشعاع المتألق.

النوع الثاني المقياس الطيفي التألقي spectrofluorometer **يستخدم شبكة انعراج كموحد للون لعزل الإشعاع الوارد والإشعاع المتألق.في هذه الأجهزة يتألف الطيف من شدة الإشعاع الصادر كتابع لطول الموجة إماهو الإشعاع الوارد ،أو لكليهما.**

يحتوي مقياس التألق النموذجي :

مصدر الإثارة excitation source :تثار الجزيئات في المحلول عادة بإشعاع ال uv ويكون مصدر الإشعاع مصباح الديتريوم او الكزينون أو بخار الزئبق.

موحدات اللون wavelength selectors :

الإثارة العريضة الحزمة من المصباح من خلال موحد للون ، الذي يمرر فقط طول موجة انتقائي.يبعثر dispersed التألق بموحد لون آخر ويُتحرى بأنبوب التضاعف الضوئي Photomultiplier tube.المسح بموحد لون الإثارة يعطي طيف الإثارة والمسح بموحد لون التألق يعطي طيف التألق.الأجهزة البسيطة أحياناً تستخدم فقط مرشحة لإختيار طول موجة الإثارة.

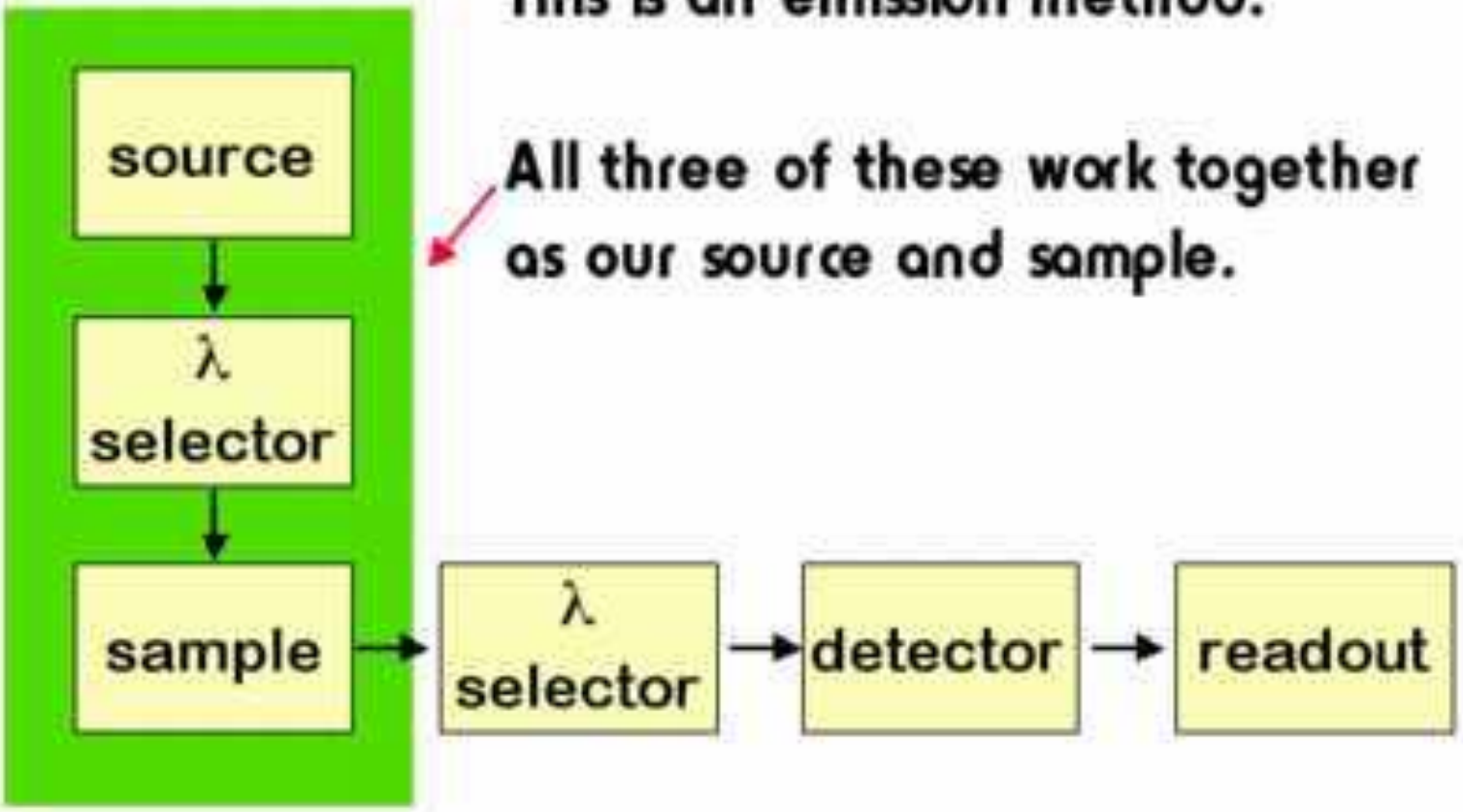
الخلايا :من الكوارتز غير المتألق .

متحري التألق :أنبوب التضاعف الضوئي.

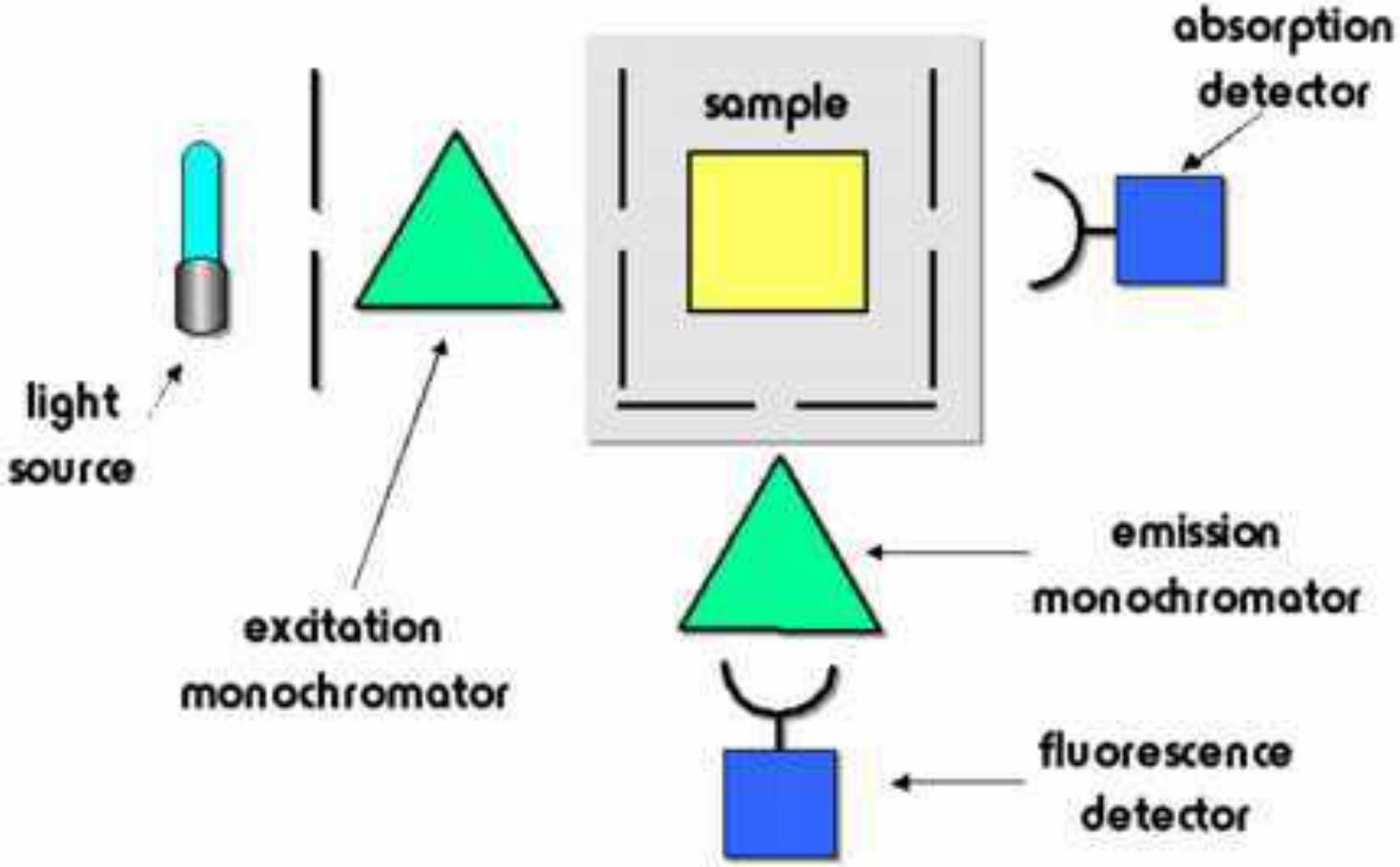
Fluorescence

This is an emission method.

All three of these work together as our source and sample.



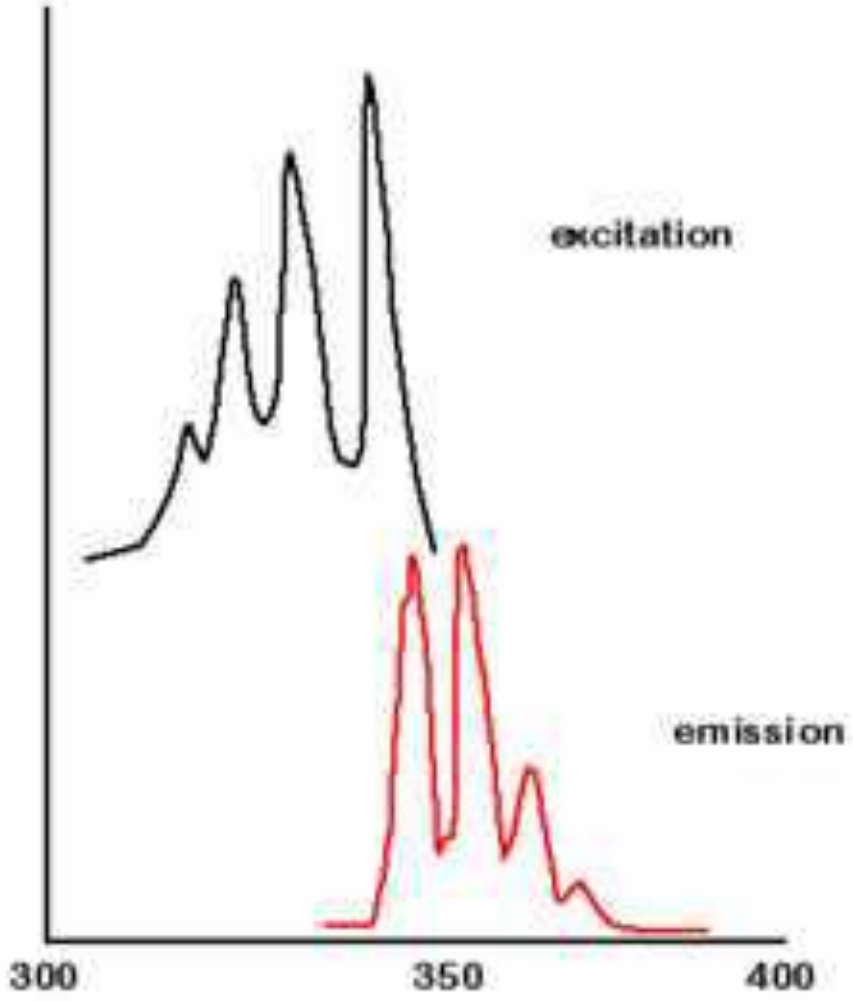
Fluorometer



Fluorescence spectra

Remember that the top spectra is absorption and the bottom is emission.

Now we not only need to deal with the λ_{max} for absorption but the emission λ_{max}.



المیزات والمساوئ advantages and disadvantages

المیزات: الطریقة حساسة جداً 1-10^{-8} µg/ml

نوعیة specificity أعلى من الطریق الطیفیة الضوئیة یعزى الى اختیار طولي موجة.

المساوئ: تعتمد بشكل كبير على pH

يسبب اشعاع الuv تخريب كيميائي ضوئي للجزيئ

الأوكسجين المنحل يسبب اخماد

كل العناصر لاتبدي تألق

التطبيقات applications

يعتبر القياس الطيفي بالتألق طريق حساسة جداً في التقدير الكمي للكميات الزهيدة من الجزيئات اللاعضوية والعضوية والحيوية.

يستخدم التالق لتعيين مصير وموضع الجزيئات الحيوية عن طريق وسم labeling الأضداد، البروتينات ، المستقبلات ....

يمكن معايرة الكثير من المواد في المستحضرات الصيدلية مثل Adrenaline، tetracycline، riboflavin، thiamine

مركبات متفلورة بحد ذاتها مثل: isothiocyanate, europium chelate, B-phycoerythrin

تحويل مركبات غير متألقة الى مشتقات متألقة مثل تفاعل **الزنك أو الألمنيوم مع المورين**

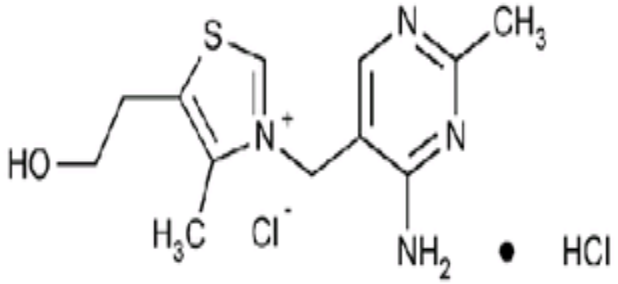
تحويل بعض المواد الستيروئيدية غير المتألقة إلى متألقة بواسطة حذف الماء بحمض الكبريت

معايرة العديد من المعادن بتشكيلها معقدات شيلاتية chelates مع مركبات عضوية

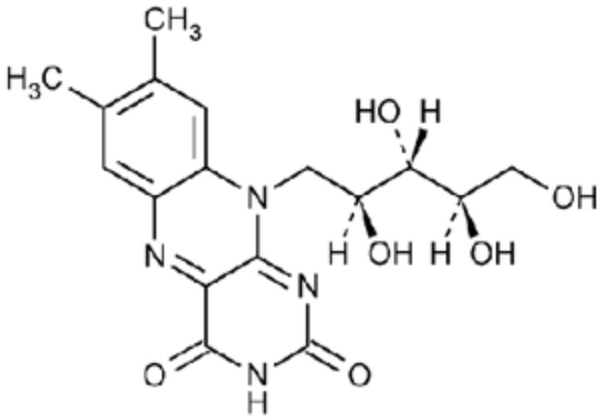
يمكن الإستفادة من من الفعل المخمد للتألق لبعض المواد لمعايرتها مثل اليود بتأثيره المخمد للمادة المتألقة.

الطرائق التفسفرية phosphorometric methods لمعايرة

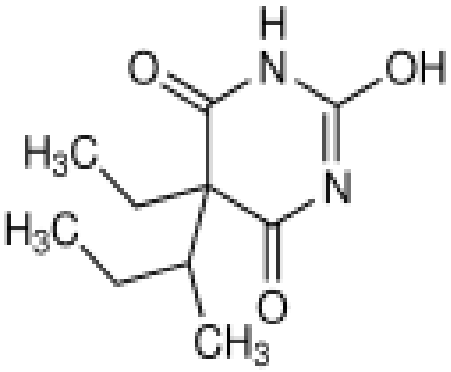
Nucleic acid, amino acids ,pyrine, pyrimidine ,enzymes and pesticides(المبيدات الحشرية)



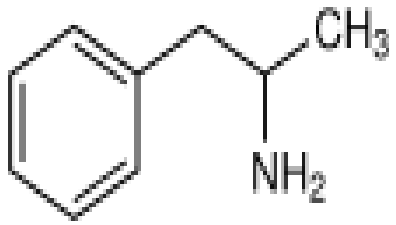
thiamine



Riboflavin



Secbutabarbital



Amfetamine

Effect of Concentration

The intensity of fluorescence radiation (F) is proportional to the radiant power of the exciting beam absorbed by the system.

$$\text{ie} \qquad F = K(I_0 - I) \qquad (1)$$

Where I_0 is the power of the incident beam on the solution and I is the power of the transmitted radiation, while K is a constant.

Thus, to relate F to the concentration (C) of the fluorescent substance, Beer's law is applied as follows:

$$\frac{I}{I_0} = 10^{-\varepsilon bc}$$

where ε is the molar absorptivity of the fluorescing molecule and εbc is the absorbance (A)

Generally, $F \alpha C$ or

$$F = KC$$

Thus, a plot of the emitted fluorescence intensity against the concentration of the solution gives a linear graph. This is because for dilute solution, Beer's law is obeyed.

Fluorescent methods