

Molekularna fluorescenčna spektrometrija



Molekularna fluorescenca

Po vzburjanju (absorpciji energije) se molekula vrača v osnovno stanje (relaksacija)

Pri tem se sprošča energija (npr. toplota).

Nekatere molekule pri relaksaciji oddajajo elektromagnetno valovanje.

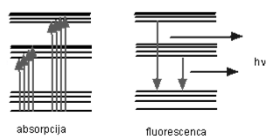
Pojav imenujemo fluorescenca



Molekularna fluorescenca



Molekularna fluorescenca



Molekularna fluorescenca

Navadno potekata oba procesa (fluorescenca in interna konverzija)

Delež molekul, ki fluorescirajo imenujemo kvantni izkoristek:

$Q = \frac{\text{Delež fluorescenčne relaksacije}}{\text{Celotna relaksacija}}$
($Q = \frac{\text{Število atomov, ki fluorescirajo}}{\text{Število vzbujenih atomov}}$)

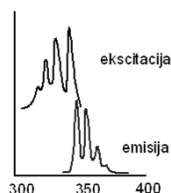
Za večino substanc je Q majhen

Fluorescenčni spekter

Fluorescenčni spekter je podoben zrcalni sliki absorpcijskega spektra

Značilen je pomik proti daljšim valovnim dolžinam
(izguba energije zaradi notranjih prehodov-vibracije)

Fluorescenčni spekter



Molekularna fluorescenca

Lastnosti fluorescence kažejo le nekatere molekule.

Najboljše fluorescenčne lastnosti imajo kondenzirani aromatski obroči

V manjši meri fluorescirajo tudi molekule s konjugiranimi dvojnimi vezmi.

Toga strukturo preprečuje vibracijski način relaksacije

Molekularna fluorescenca

Fluorescenčna tehnika je emisijska tehnika, zato jo odlikuje nizka meja zaznavnosti

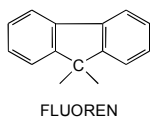
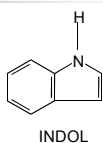
Uporabnost metode lahko razširimo z uporabo fluorescenčnih ligandov (derivatizacija)

Molekularna fluorescenca

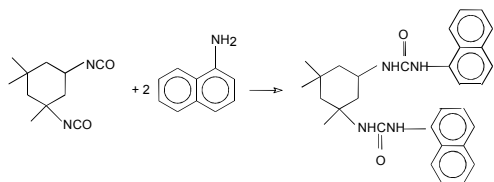
Primeri:

8-hidroksi kinolin
fluoren
indol

Primeri



Derivatizacija



Molekularna fluorescenca

Fluorescenca:

Vpliv temperature:

Povišanje temperature zmanjša fluorescenca

Dvig temperature poveča število kolizij z molekulami topila, kar pospeši vibracijsko relaksacijo

Fluorescenca- vpliv topila

Viskoznost topila

Povečana viskoznost povečuje fluorescenca

(Molekule topila se gibljejo počasneje, kar povzroča manj interakcij med molekulami)

Fluorescenca- vpliv koncentracije

Intenziteta = $K \cdot c$

Upoštevati moramo valovno dolžino vzbujevalne in emisijske svetlobe!

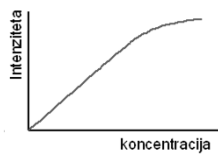
Zveza je linearna do 10^6 koncentracijskih velikostnih redov

Fluorescenca- vpliv koncentracije

Pri višjih koncentracijah lahko pride do samoabsorpcije (self-quenching)

Emitirano svetlobo absorbirajo tudi druge molekule, ki so prisotne v vzorcu

Fluorescenca- vpliv koncentracije



Fluorescenca- shema aparature

