

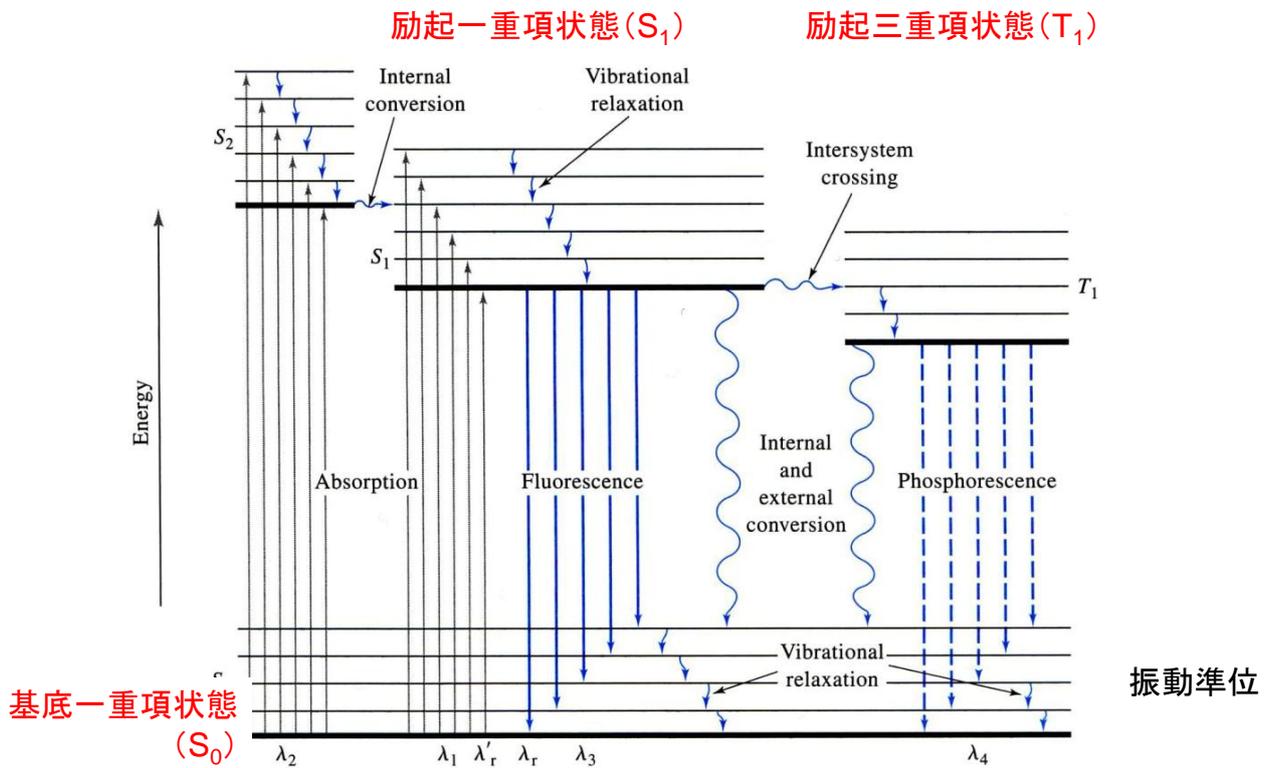
第4回 蛍光光度法

蛍光とリン光

光励起により励起された分子がエネルギーを光として放出する現象

蛍光 Fluorescence

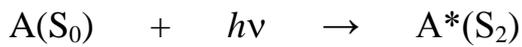
リン光 Phosphorescence



蛍光 : S₁ (一重項) から S₀ (一重項) への光緩和

リン光 : T₁ (三重項)

1. 物質 (A) の励起光による電子遷移 (光吸収)



2. 励起状態から励起一重項状態への内部転換 (振動緩和)



3.1. 励起一重項状態から基底状態への熱緩和



3.2. 励起一重項状態からの発光：蛍光



3.3. 励起一重項状態から励起三重項状態への項間交差 (スピンの反転)



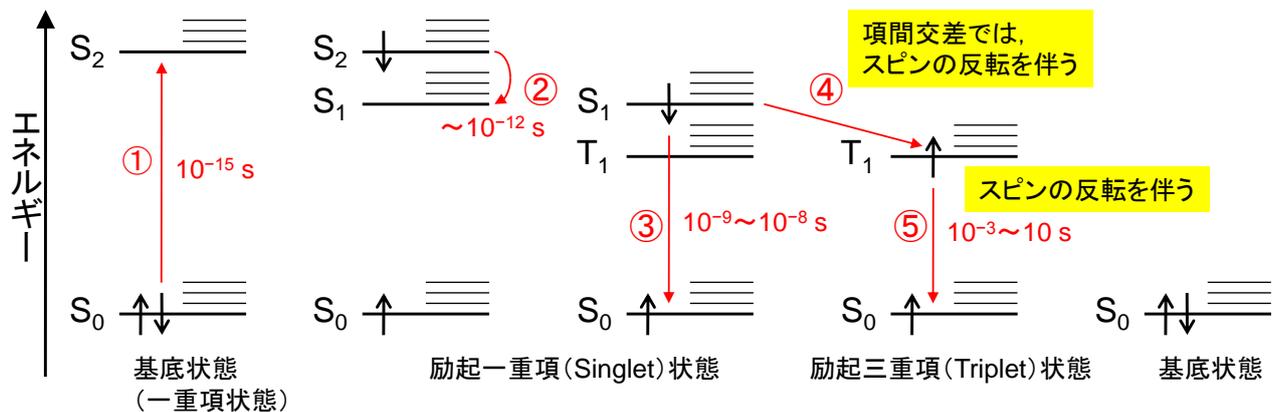
4.1. 励起三重項状態からの発光：リン光 (スピンの反転)

4.2. 励起一重項状態から励起三重項状態への項間交差：スピンの反転

寿命

蛍光に伴う電子遷移： $10^{-9} \sim 10^{-8}$ s

リン光に伴う電子遷移： $10^{-3} \sim 10$ s



アントラセンの励起・蛍光スペクトル

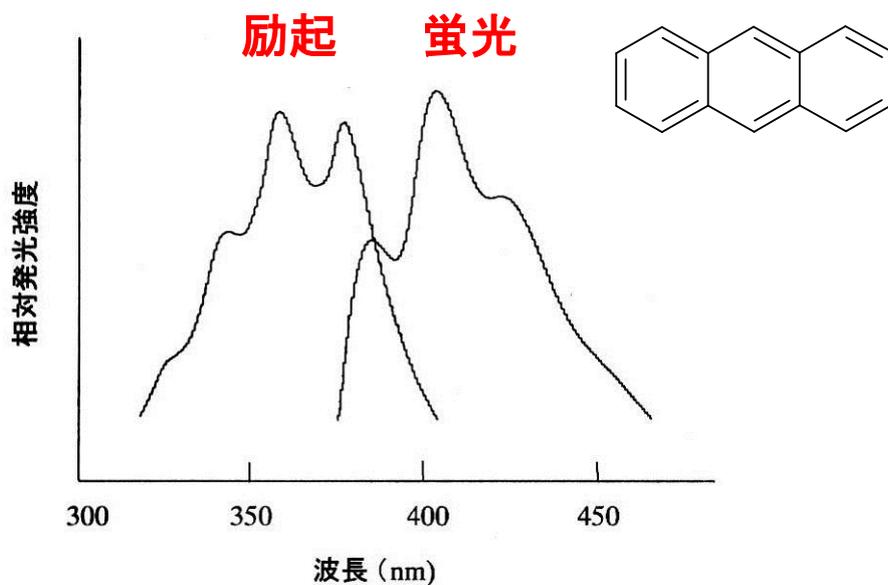


図 4.2 アントラセン (エタノール溶液) の励起 (A) および蛍光スペクトル (B)
 $\lambda_{EX} = 360 \text{ nm}$, $\lambda_F = 410 \text{ nm}$.

フェナントレンの励起・蛍光・りん光スペクトル

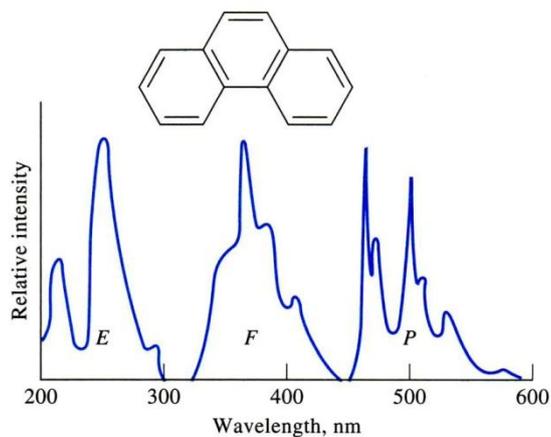
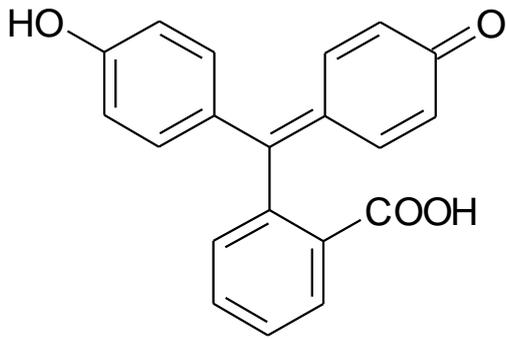


FIGURE 15-5 Spectra for phenanthrene: *E*, excitation; *F*, fluorescence; *P*, phosphorescence. (From W. R. Seitz, in *Treatise on Analytical Chemistry*, 2nd ed., P. J. Elving, E. J. Meehan, and I. M. Kolthoff, eds., Part I, Vol. 7, p. 169, New York: Wiley, 1981. Reprinted by permission of John Wiley & Sons, Inc.)

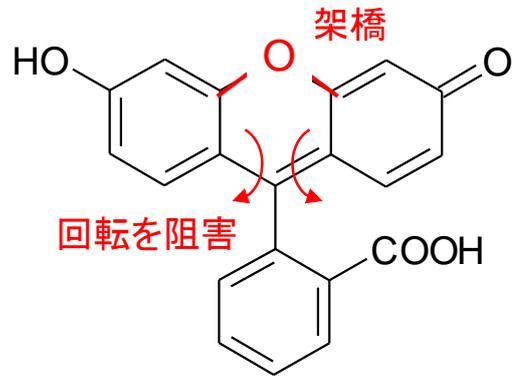
芳香族化合物・・・蛍光，りん光を發しやすい

平面性が高いと發蛍光性が高い

例

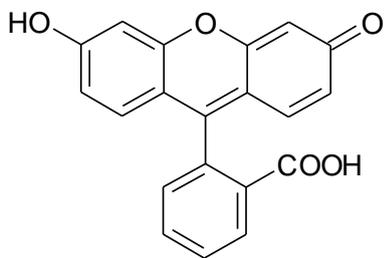


フェノールフタレイン
無蛍光性

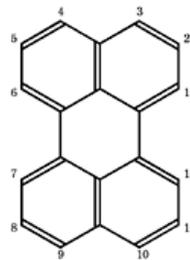


フルオレセイン
發蛍光性

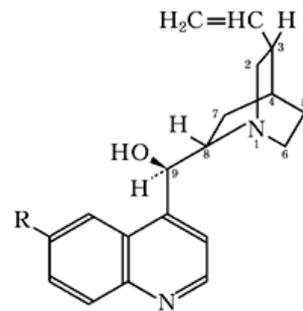
蛍光物質



フルオレセイン



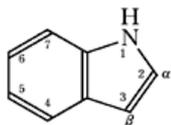
ペリレン



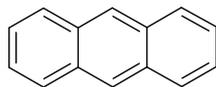
キニン R=OCH₃
シンコニジン R=H
クブレイン R=OH

キニーネ(キニン)

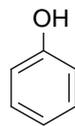
(マラリアの特効薬:天然物)



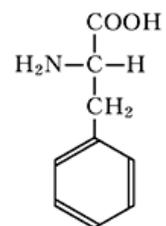
インドール



アントラセン



フェノール



フェニルアラニン

蛍光強度と蛍光量子収率

$$F = I_0 \Phi (1 - 10^{-\epsilon lc})$$

$-\epsilon lc \ll 1$ のとき、

$$F = 2.303 I_0 \Phi \epsilon lc \rightarrow \text{濃度に比例、励起光強度に比例}$$

蛍光量子収率

$$\Phi = \frac{\text{蛍光の光子の数}}{\text{物質が吸収した光子の数}}$$

装置

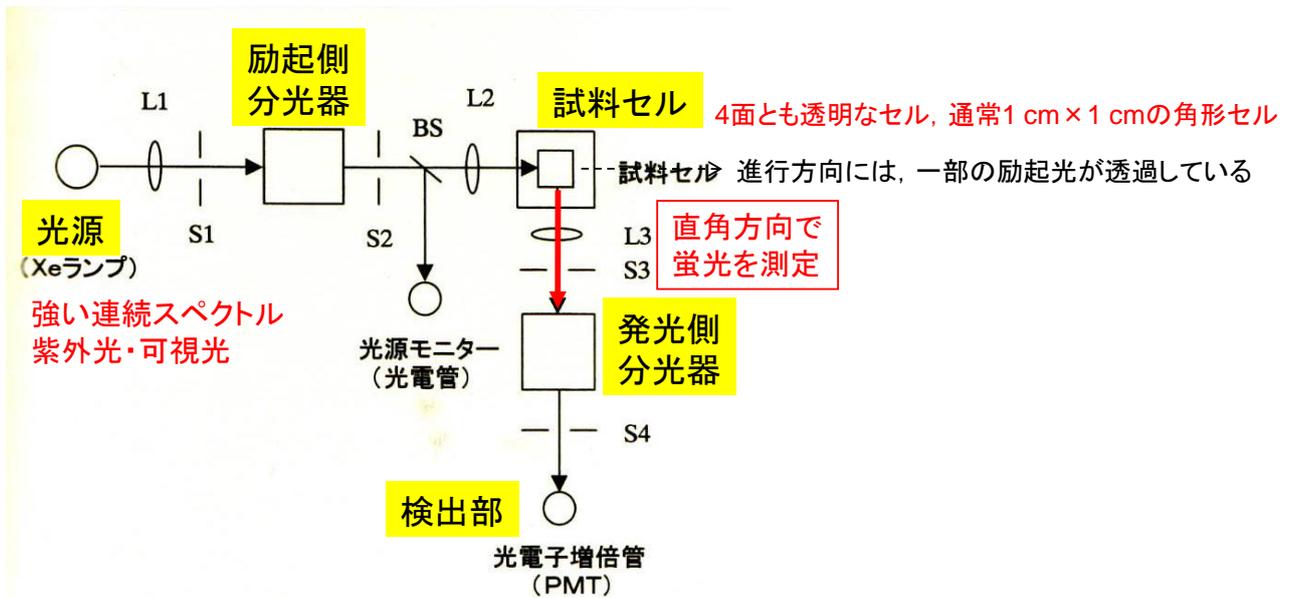


図4.5 分光蛍光光度計の模式図

L: レンズ, S: スリット, BS: ビームスプリッタ.

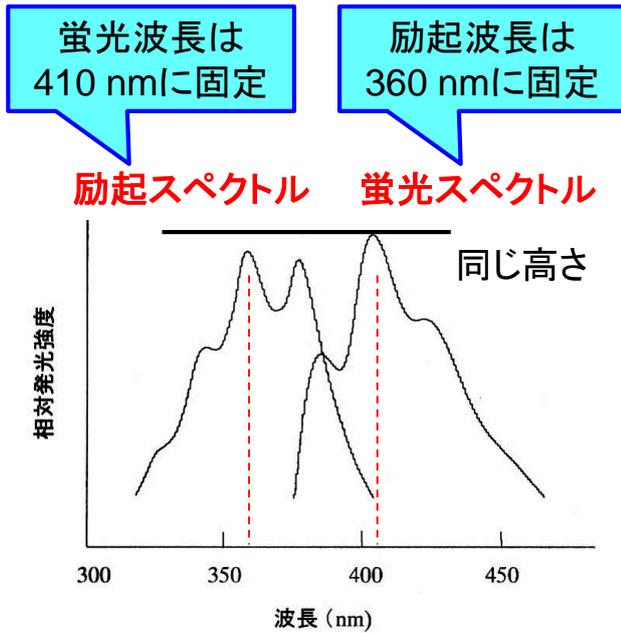


図 4.2 アントラセン (エタノール溶液) の励起 (A) および蛍光スペクトル (B)
 $\lambda_{EX} = 360 \text{ nm}$, $\lambda_F = 410 \text{ nm}$.

図 4.7

レイリー散乱

励起光がそのエネルギーのまま，放射される

溶媒のラマン散乱

入射光のエネルギーが，溶媒分子の振動・回転等により吸収され，入射光の長波長側に散乱光として出る（エネルギーは一定 → 波長は計算できる）

蛍光：ストークスシフト

励起光と発光のエネルギー差

波長は長波長側にレッドシフト

励起光の二次光

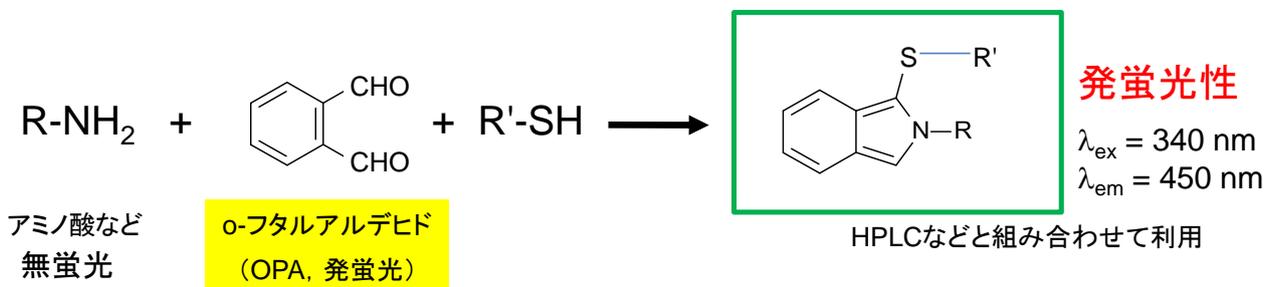
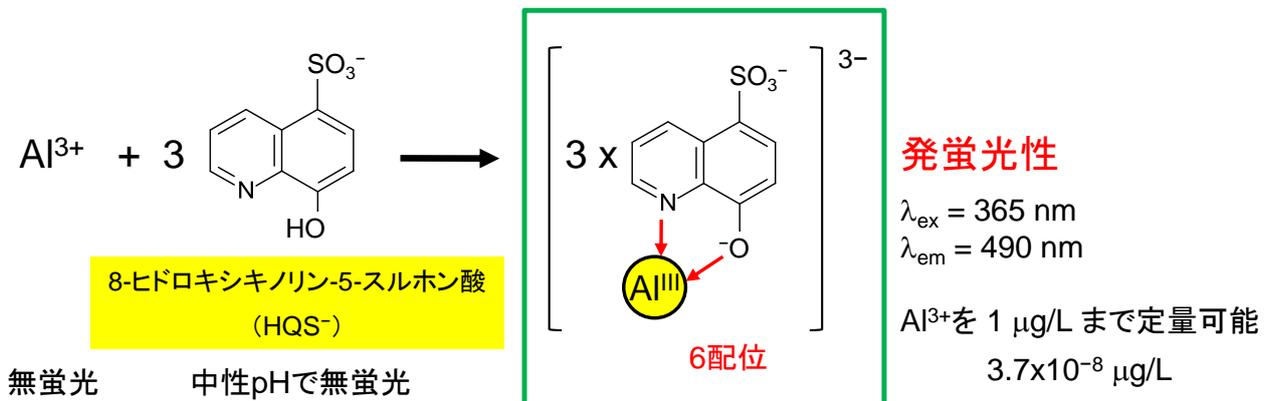
回折格子による励起光の二次光

蛍光分光法の利点

- 蛍光を発する物質が限定される → 物質に選択性がある
- 励起光波長と蛍光波長の組み合わせ → 波長に選択性がある
- 光源を強くすれば、蛍光も強くなる → 吸光分析よりも高感度

a. 物質自体の蛍光性を利用（多環芳香族）

b. 物質自体の蛍光性はない（弱い）が他の蛍光性物質（蛍光試薬）あるいは非蛍光性試薬と反応して付与される蛍光性を利用（アルミニウム-オキシ錯体、オルトフタルアルデヒド）



c. ある蛍光物質に対してその蛍光を強めたり（蛍光増強、蛍光増感）、弱めたり（蛍光消光）する性質を利用（塩化物イオンはキニーネ蛍光における消光剤）

静的消光：基底状態からの励起の阻害による消光。

動的消光：励起状態でのエネルギー移動による消光。