Stanisława Harasimiukówna.

Zależność rozkładu natężeń w widmie fluorescencji od długości fali światła wzbudzającego.

Influence de la longueur d'onde de la lumière excitatrice sur la répartition des intensités dans le spectre de fluorescence.

Sommaire.

Les travaux de Nichols et de Merritt[1]) et de Jabłoński[2]) ur la répartition de l'énergie dans le spectre de fluorescence des substances srganiques ont mis en évidence le fait de son indépendance de la longueur d'onde excitatrice.

Dans le cas des solvants à viscosité élevée, comme par exemple la glycérine, surtout aux basses températures et dans le cas des solutions solides, J. Starkiewicz[3]) a mis en évidence l'influence de la longueur d'onde de la lumière excitatrice sur le spectre émis, notamment la partie antistokesienne correspondant à chaque excitation s'est trouvée presque complètement éteinte.

Toutes les solutions étudiées par ces auteurs possèdent un large domaine d'absorption non séparable en bandes distinctes. Il était intéressant d'examiner la question dans le cas des porphyrines qui possèdent dans la partie visible quelques nettes bandes d'absorption. Il y avait lieu de voir si l'excitation par des raies se trouvant dans le domaine des bandes particulières d'absorption modifiait le spectre de fluorescence et quelle était la nature de ces modifications.

Les recherches ont été effectuées pour des solutions d'hématoporphyrine dans l'ammoniaque; on constate alors la présence des cinq bandes

---

[1]) L. Nichols et E. Merritt, The Phys. Rev. *18*, 403, 1904; *19*, 18, 1904; *31*, 328, 1910.

[2]) A. Jabłoński, C. R. de la Soc. Pol. de Phys. fasc. *VII*, 1, 1926.

[3]) J. Starkiewicz, C. R. de la Soc. Pol. de Phys. *IV*, 73, 1929.

d'absorption (fig. 1, 2); on a aussi étudié des solutions de la même porphyrine dans la glycérine (absorption, fig. 3).

Les expériences ont été conduites de façon à obtenir sur la même plaque deux photographies des spectres de fluorescence excités par des raies de longueur d'onde différentes, soigneusement isolées par des filtres. La disposition des appareils est représentée par la fig. 4. La lumière d'un arc au mercure est projetée au moyen d'une lentille sur deux filtres placés l'un au-dessus de l'autre; elle traverse ensuite une petite cuve contenant la solution. Une deuxième lentille, dont l'axe est perpendiculaire à la première, projette l'image des faisceaux de la lumière de fluorescence sur la fente du spectrographe. Pour comparer les spectres, on s'est servi des courbes de noircissement obtenues au moyen du microphotomètre de Moll.

Le spetre complet de fluorescence se compose de quatre bandes dans le rouge et d'une large bande dans la partie bleue-verte du spectre. L'expérience a montré que cette dernière n'est pas excitée par les raies 579 mμ, 577 mμ et 546 mμ qui se trouvent dans la seconde et la troisième bande d'absorption. Cette bande n'est excitée que par les raies 436 mμ et 404 mμ du cinquiéme domaine d'absorption et son rayonnement obéit alors à la loi de Stokes. Cette sorte d'excitation n'est pas influencée par la viscosité de la solution etudiée; on a en effet obtenu le même résultat avec les solutions glycériques et ammoniacales (fig. 6, 7). Ce caratère indique que ce ne sont pas les chocs qui jouent le rôle décisif dans l'émission de cette bande.

Les recherches relatives aux bandes rouges sont en cours. On a mis en évidence une influence de la concentration de la solution sur la position des maxima de l'intensité (fig. 8, 10). Il semble aussi que, dans le cas des solutions à fortes concentrations, il y ait une influence de la longueur d'onde excitatrice sur la répartition d'énergie parmi les différentes bandes dans le spectre de fluorescence (fig. 11).

Institut de Physique Expérimentale de l Université de Varsovie.

Manuscrit reçu le 20 juin 1929.

---

1. Wstęp. Z prac nad rozkładem energji w widmie fluorescencji roztworów pewnych substancyj organicznych, np. eskuliny, fluoresceiny, rodaminy, wynika, że rozkład ten nie zależy od długości fali światła, wzbudzającego fluorescencję. Do dawniejszych prac, stwierdzających tę niezależność, należą prace Nicholsa i Merritta[1]). Wyniki ich jednak

[1]) L. Nichols i E. Merritt, The Phys. Rev. *18*, 403, 1904; *19*, 18, 1904; *31*, 328, 1910.

są mało dokładne, głównie ze względu na użycie spektrofotometru do pomiaru natężeń światła, pozatem krzywe rozkładu natężeń posiadają zaledwie po kilka punktów. Dokładne pomiary Jabłońskiego[1]) dla roztworu fluoresceiny, wykonane metodą fotometrji fotograficznej, potwierdziły wyniki Nicholsa i Merritta, przytem do wzbudzania fluorescencji używano promieniowania monochromatycznego o długościach fal, wybranych z całej rozległości obszaru pasma pochłaniania.

Z pracy Starkiewicza[2]) wynika zaś, że całkowita niezależność widma fluorescencji od długości fali wzbudzającej ma miejsce tylko w roztworach o małej lepkości (woda, alkohol). W roztworach o znacznej lepkości np. glicerynowych, a w szczególności w roztworach stałych, rozkład natężeń w widmie fluorescencji okazał się zależnym od długości fali wzbudzającej; przejawia się to w tem, że występowanie części antistokesowskiej pasma fluorescencji jest znacznie utrudnione.

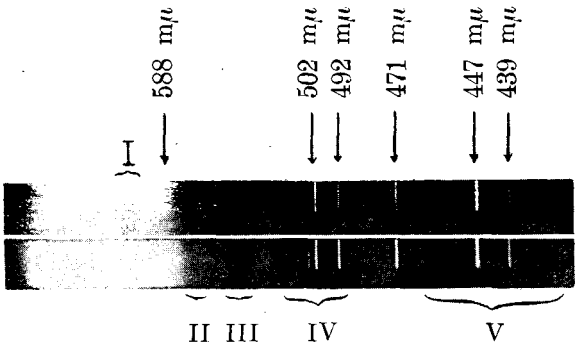
Wszystkie badane przez powyższych autorów ciała fluoryzujące posiadają w widmie fluorescencji szerokie, pojedyńcze pasmo. Inaczej mogą natomiast zachowywać się ciała fluoryzujące, posiadające kilka oddzielnych pasm zarówno w widmie fluorescencji, jak i pochłaniania. Aby jednak odpowiedź dana przez doświadczenie mogła być zupełnie wyraźna, należałoby tak wybrać ciało fluoryzujące, ażeby pasma pochłaniania możliwie mało zachodziły na siebie, to znaczy, aby nie było obszarów widmowych wspólnych dla kilku pasm. Dość trudno jest znaleźć ciała, całkowicie czyniące zadość tym wymaganiom. Jednak udało się znaleźć ciała, odpowiadające dość dobrze tym warunkom w porfirynach. W niniejszej pracy stosowano dwa rodzaje porfiryn a mianowicie: mezoporfiryny i hematoporfiryny, uprzejmie udzielonych przez profesora Zaleskiego.

2. Absorpcja. Widmo pochłaniania różnych porfiryn zbadane już było przez Bois[3]), który podał długości fal poszczególnych pasm, używając za źródło światła lampy Nernsta. W niniejszej pracy posługiwano się jako źródłem widma ciągłego w części widzialnej żarówką, w nadfiolecie zaś rurą wodorową. Fotografje były robione na kliszach „Ilford special rapid panchromatic", pozwalających na usunięcie minimum czułośc kliszy w części zielonej widma. Podczas fotografowania części widzialnej widma roztwór porfiryny znajdował się w szklanem naczyńku o ściankach równoległych, przy fotografjach w nadfiolecie wlewano go do specjalnego naczyńka, zaopatrzonego w kwarcowe okienka i pozwalającego na zmiany grubości

---

[1]) A. Jabłoński, Sp. i Pr. P. T. F. zesz. *VII*, 1, 1926.
[2]) J. Starkiewicz, Spr. i Pr. P. T. F. *IV*, 73, 1929.
[3]) E. Bois, Recherches spectrochimiques sur quelques porphyrines, 1927.

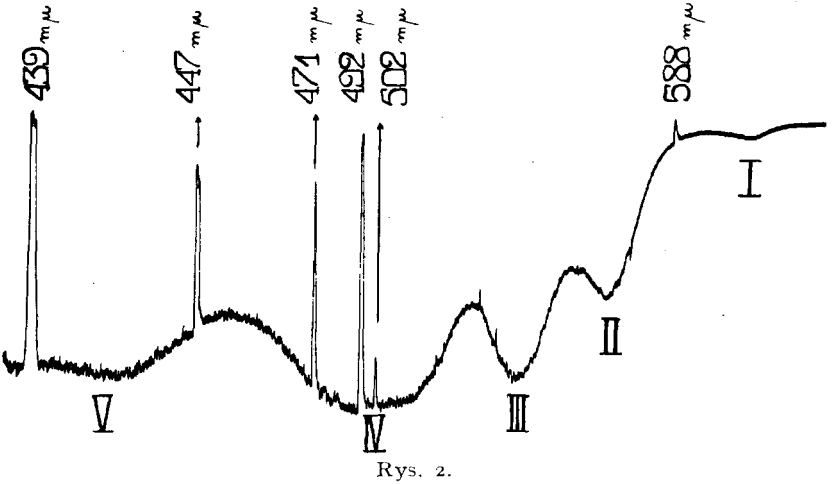
warstwy. Grubość warstwy cieczy była zmieniana od 0,5 mm do 10 cm. Rys. 1 przedstawia widmo pochłaniania hematoporfiryny w jedno.



Rys. 1.

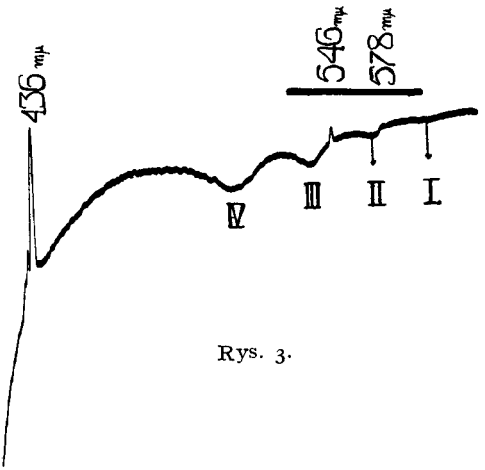
normalnym roztworze amonjaku z nałożonemi prążkami helu. Składa się ono z pięciu pasm, których położenie określają następujące liczby:

Pasmo I	. . . . .	629 mμ —	maximum	622 mμ	— 615 mμ,
Pasmo II	. . . . .	585 mμ —	,,	558 mμ	— 545 mμ,
Pasmo III	. . . . .	540 mμ —	,,	533 mμ	— 520 mμ,
Pasmo IV	. . . . .	517 mμ —	,,	500 mμ	— 460 mμ,
Pasmo V	. . . . .	448 mμ —	,,	390 mμ	— 330 mμ,



Rys. 2.

Na rys. 2 podana jest krzywa przezroczystości kliszy tegoż widma, otrzymana zapomocą mikrofotometru Molla. Rys. 3 przedstawia takąż krzywą mikrofotometryczną dla widma pochłaniania roztworu hematoporfiryny w glicerynie z nałożonemi prążkami rtęci. Zaznacza się również na niej pięć pasm, może mniej wyraźnie niż na poprzedniej krzywej dla roztworu hematoporfiryny w amonjaku, ale fotografja ta była robiona zapomocą spektrografu o znacznie mniejszej dyspersji niż poprzednia.



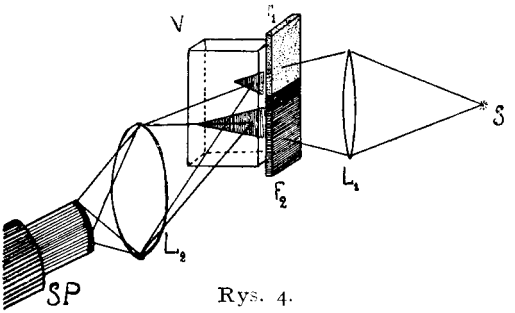
Rys. 3.

3. Emisja. Celem niniejszej pracy było zbadanie, czy i jak zmienia się widmo fluorescencji przy wzbudzaniu wiązkami światła monochromatycznego, wydzielonego z odpowiedniego widma prążkowego, a znajdującemi się w poszczególnych pasmach pochłaniania. Jako źródło światła, wzbudzającego fluorescencję, użyto łuku rtęciowego, którego prążki leżą w obszarze pasm pochłaniania porfiryn. Za monochromator służyły filtry, które pozwalały na rozporządzanie znacznie większem natężeniem światła niż przy monochromatyzowaniu pryzmatami. Jeden z filtrów był szklany, drugim był roztwór fioletu metylowego (przepuszczający prążki krótsze od 440 mμ z bardzo nieznacznem osłabieniem, co sprawdzono spektroskopowo). Szklany filtr żółto-zielony przepuszczał prążki rtęci 579 mμ, 577 mμ z drugiego pasma pochłaniania porfiryn i 546 mμ z trzeciego pasma. Przez drugi przechodziły prążki 435 mμ, 434 mμ, 433 mμ, 407 mμ i 404 mμ z piątego pasma.

Metoda doświadczalna polegała na tem, by jednocześnie na kliszy otrzymać dwa widma fluorescencji, każde wzbudzone promieniowaniem o innych długościach fal. W tym celu ustawiono przyrządy w sposób wskazany na rys. 4. Silnie zbierająca soczewka L_1 rzuca światło lampy rtęciowej S na dwa filtry F_1, F_2, ustawione jeden nad drugim tak, że w naczyńku V płasko-równoległem, stojącem tuż za filtrami, tworzyły się dwie ostro oddzielone wiązki jedna nad drugą, odpowiadające różnym długościom fali promieniowania lampy rtęciowej. Druga soczewka L_2 ustawiona pod kątem prostym do kierunku SL_1V zbiera światło fluorescencji, rzucając je na szczelinę spektrografu Sp. W ten sposób na różnych poziomach kliszy otrzymywano jednocześnie dwa widma fluorescencji, wzbudzone w tym samym czasie, w identycznych warunkach, a innemi długościami fali. Do

porównywania posługiwano się krzywemi przezroczystości kliszy otrzymanemi przez fotometrowanie klisz zapomocą mikrofotometru Molla.

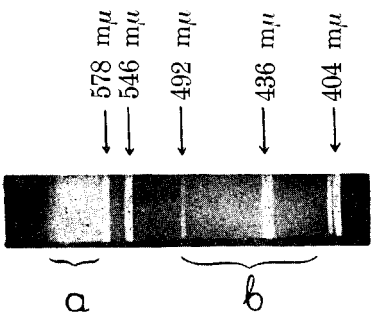
Ażeby wyrugować zupełnie wpływ reabsorpcji w przypadku, gdy zasięg wiązek fluorescencji w naczyńku V różnił się znacznie wskutek różnych współczynników pochłaniania światła wzbudzającego fluorescencję, nieprzezroczystą zasłoną wydzielano równe części z obu wiązek.



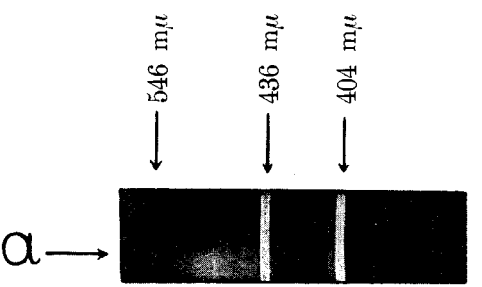
Rys. 4.

Ażeby sfotografować czerwone widmo fluorescencji porfiryny, klisze musiały być uczulane na barwę czerwoną pinacjanolem, wskutek czego zmniejszała się czułość na inne barwy i słabe pasmo fluorescencji w części zielono-niebieskiej nie na każdej kliszy jest widoczne. Widać jednak wyraźnie na rys. 5 w widmie roztworu mezoporfiryny w kwasie solnym, wzbudzonem całkowitem światłem łuku rtęciowego, prócz czerwonych pasm *a*, również pasmo *b* zielono-niebieskie. O pasmie, tem nic nie wspomina Bois[1]); przypuszczam, że z powodu słabych zdjęć nie otrzymywał go, gdyż, aby ono zaznaczyło się wyraźnie na kliszy, czerwone pasma muszą być bardzo silnie naświetlone.

Należało ustalić, czy to pasmo zielono-niebieskie wystąpi przy wzbudzaniu prążkami 579 mμ, 577 mμ, i 546 mμ, jako pasmo wybitnie antistokesowskie i jaki być może wpływ rozpuszczalników takich jak gliceryna



Rys. 5.

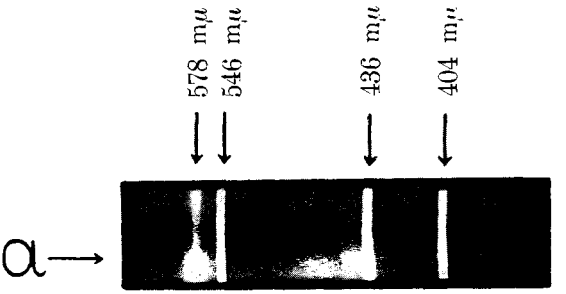


Rys. 6.

i amonjak o bardzo różnej lepkości. W tym celu ustawiłam przed naczyńkiem z badanym roztworem wyżej wzmiankowane filtry, z których jeden

[1]) E. Bois, l. c.

przepuszczał prążki z piątego pasma pochłaniania, drugi z trzeciego i drugiego pasma. Fotografja widma fluorescencji hematoporfiryny w glicerynie (rys. 6) wykazała, że pasmo to może być wzbudzone tylko prążkami z piątego pasma pochłaniania, a więc podlega prawu Stokesa. Widać je w dolnej części fotografji (widmo *a*), wówczas gdy w części górnej, która odpowiadałaby wzbudzeniu prążkami z drugiego i trzeciego pasma pochłaniania, nie znajdujemy śladu zaczernienia. Fotografja ta była zrobiona na kliszy nie uczulonej na barwę czerwoną, więc nie zaznaczyła się czerwona fluorescencja.



Rys. 7.

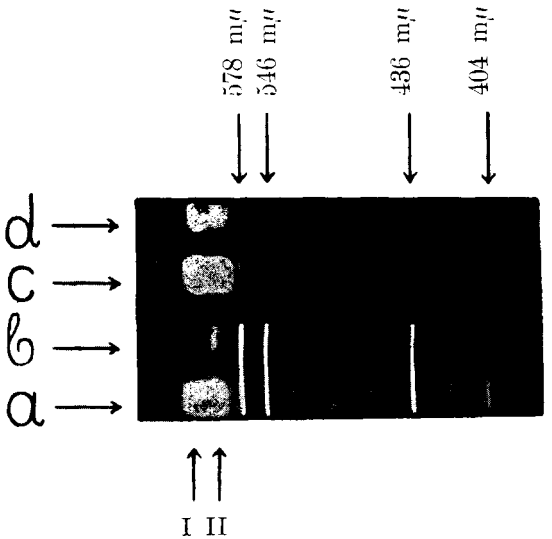
Takiego zachowania się hematoporfiryny w glicerynie można było spodziewać się, ponieważ lepkość gliceryny jest znaczna [porównaj pracę Starkiewicza[1])]. Takie same jednak wyniki otrzymałam dla ośrodka mało lepkiego, jakim jest jednonormalny roztwór amoniakalny (rys. 7, widmo *a*). Ponieważ obserwacje nad hematoporfiryną w amonjaku i glicerynie wykazały, że zmiany w rozkładzie natężeń przy wzbudzania prążkami z różnych pasm pochłaniania dotyczą pasma zielono-niebieskiego, ustawiano tak przyrządy, by czerwona fluorescencja zaznaczyła się silniej przy wzbudzaniu prążkami z drugiego i trzeciego pasma pochłaniania niż z piątego, a mimo to nie zauważono wzbudzenia przez nie pasma zielono-niebieskiego. Wykazuje to, że nie same zderzenia są odpowiedzialne za podział energji między pasmami i że osobne pasmo (zielono-niebieskie) nie może być wzbudzone jako pasmo antistokesowskie.

Pasma czerwonej fluorescencji są wzbudzane przez każdy prążek padający w obszarze któregokolwiek z pasm pochłaniania. Zostało do ustalenia, czy w nich zachodzą i, jeżeli tak, to jakie zmiany w rozkładzie natężeń pomiędzy pasmami w zależności od długości fali światła wzbudzającego. Tutaj pojawiły się liczne komplikacje których rozwiązanie jest obecnie opracowywane.

Widmo fluorescencji roztworów hematoporfiryny w glicerynie (rys. 8) wykazuje, że ze zmianą stężenia zmienia się rozkład natężeń pomiędzy

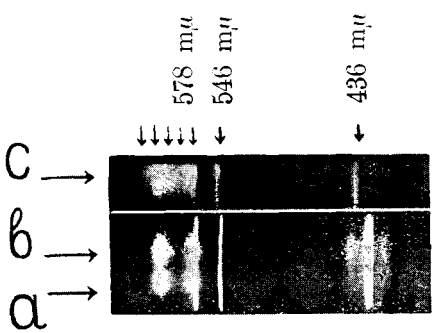
[1]) J. Starkiewicz, l. c.

pasmami, i tak w widmach *c*, *d*, odpowiadających większemu stężeniu najsilniej zaznacza się pasmo I, kiedy w widmach *a*, *b*, odpowiadających mniejszemu stężeniu, najmocniejsze jest pasmo II. Widma *a*, *c* są wzbudzone prążkami 436 mμ, 434 mμ, 404 mμ, a widma *b*, *d* prążkami 579 mμ 577 mμ, i 546 mμ. Zależności od długości fali nie widać.



Ryc. 8.

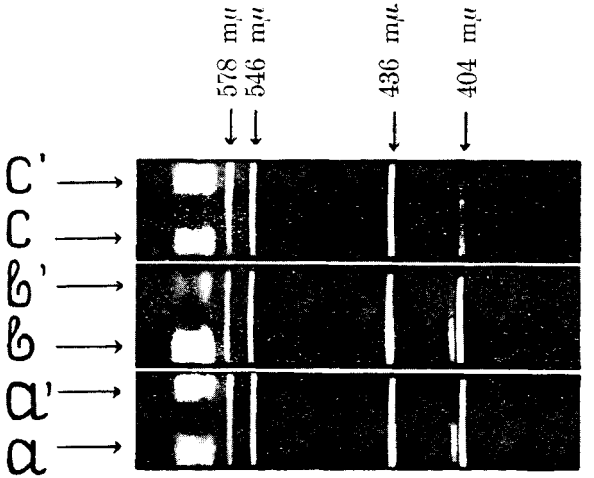
Widmo czerwonej fluorescencji roztworu hematoporfiryny w amonjaku składa się z czterech pasemek o nierównem natężeniu (rys. 9, widmo *c*). W pewnych jednak warunkach można wzbudzić tylko dwa pasma, które odpowiadają drugiemu i czwartemu (widma *a*, *b*) pełnego widma czerwonej fluorescencji. Widma *a*, *b*, są wzbudzone prążkami o innych długościach fal, nie zaznacza się jednak, by istniała zależność widma fluorescencji od długości fali wzbudzającej.



Rys. 9.

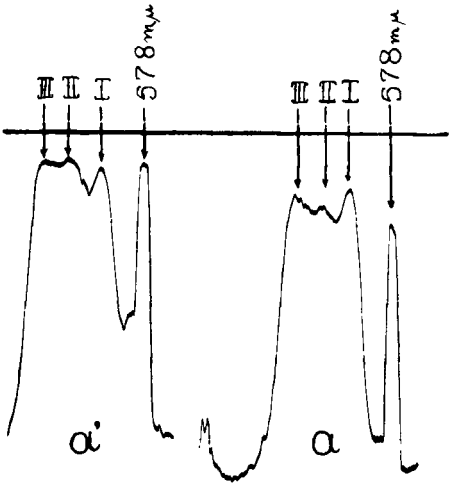
Przy innem stężeniu zostają wzbudzone pierwsze i trzecie pasmo pełnego widma, jak to wykazuje rys. 10, widma *b*, *b'*, *c*, *c'*. Są to widma roztworów o różnych stężeniach; (*b*, *b'* stężenia $^1/_2 . 10^{-4}$ $^{gr}/_{cm^3}$, *c*, *c'* stężenia $1 . 10^{-4}$ $^{gr}/_{cm^3}$; *a*, *a'* stężenia $5 . 10^{-4}$ $^{gr}/_{cm^3}$).

Fotografje *a*, *b*, *c* zostały otrzymane przy wzbudzaniu przez prążki 436 mμ, 434 mμ i 404 mμ; *a'*, *b'*, *c'* przez 579 mμ, 577 mμ i 546 mμ. Widma *a*, *a'* składają się z trzech pasemek i wykazują zależność od długości fali wzbudzającej.



Rys. 10.

Wyraźniej wykazują tę zależność krzywe mikrofotometryczne *a*, *a'*, na rys. 11. W widmie *a* najsłabsze jest pasmo II, najsilniejsze I, wówczas gdy w widmie *a'* najsłabiej zaznacza się pasmo I, natężenie II-go równa się natężeniu III-go. Nieobecność czwartego pasemka najbardziej krótkofalowego, które wyraźnie występuje na fotografji rys. 9 widmo *c*, można tłumaczyć zbyt krótkim czasem naświetlania.



Rys. 11.

4. Streszczenie wyników. 1. Roztwory glicerynowe i amonjakalne hematoporfiryny (częściowo mezoporfiryny) wykazują zmianę widma fluorescencji w zależności od długości fali światła wzbudzającego. 2. Rozkład natężeń w widmie fluorescencji wyżej wzmiankowanych roztworów jest funkcją stężenia roztworu.

Składam serdeczne podziękowanie Panu Profesorowi Dr. S. Pieńkowskiemu za powierzenie mi tematu tej pracy oraz za cenne wskazówki udzielane mi w ciągu jej wykonywania. Pragnę też złożyć wyrazy wdzięczności Panu Profesorowi Dr. Zaleskiemu za łaskawe udzielenie mi porfiryn.

Zakład Fizyki Doświadczalnej Uniwersytetu Warszawskiego.

Rękopis otrzymany d. 20 czerwca 1929.