

18. Vliv solventu

Interakce fluoroforu se solventem

Fluorescenční charakteristiky fluoroforu se mohou měnit podle toho, jaké je jeho okolí

- změna kvantového výtěžku
- posun excitačního či emisního spektra
- změna kinetiky dohasínání fluorescence

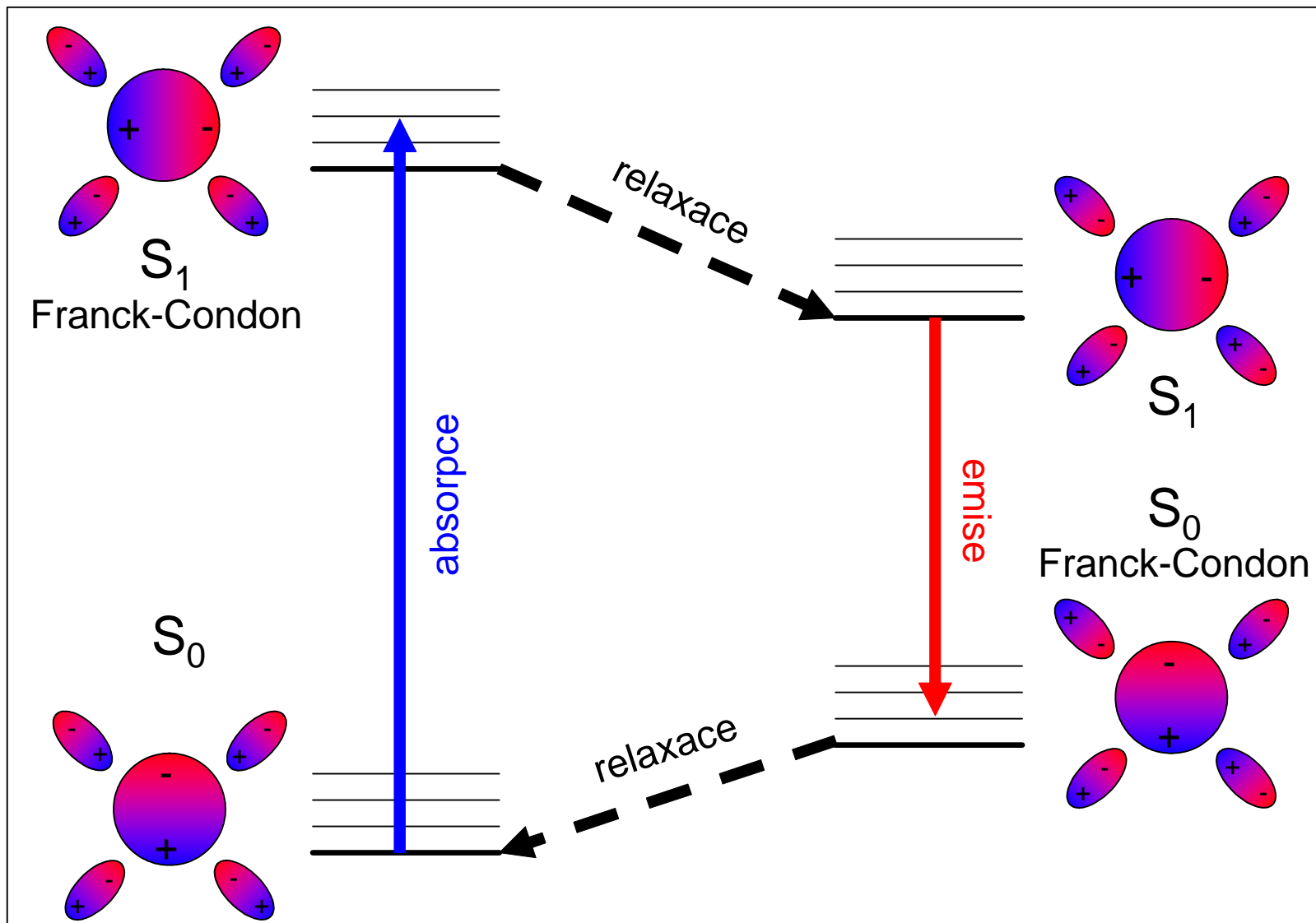
vlivy

- polarita (změna velikosti a orientace dipólového momentu)
- možnost tvorby vodíkových vazeb mezi fluoroforem a solventem
- možnost přenosu elektronu nebo protonu mezi fluoroforem a solventem

interakce

- specifické interakce mezi fluoroforem a některou funkční skupinou solventu

Obecný efekt solventu (general solvent effect)



Obecný efekt solventu

Efekt je tím výraznější, čím je solvent. Proto se emisní spektrum tryptofanu posunuje do červena tím více, čím je tryptofan exponovanější do vodného prostředí.

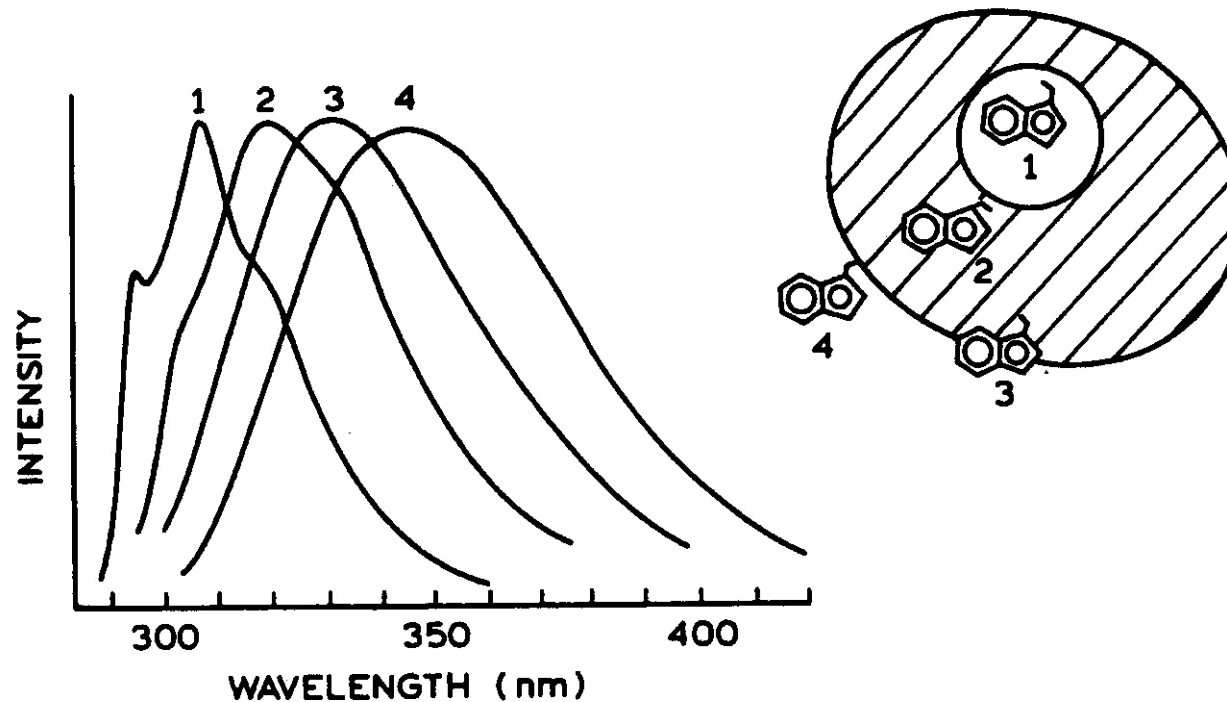


Figure 16.11. Effect of tryptophan environment on the emission spectra of proteins: (1) apoazurin Pfl, (2) ribonuclease T₁, (3) staphylococcal nuclease, (4) glucagon. Revised from Refs. 52 and 53.

rovnice

Dává do souvislosti Stokesův posuv s polaritou rozpouštědla
 odvozena pro sférické molekuly
 nebere v úvahu další interakce jako např. vodíkové vazby

$$hc(\nu_A - \nu_F) = \frac{2\Delta f}{a^3} (\mu_E - \mu_G)^2 + konst.$$

ν_A, ν_F ... vlnočty absorpce a fluorescence

μ_E, μ_G ... dipólový moment v excitovaném a základním stavu

a ... poloměr molekuly

Δf ... polarizabilita

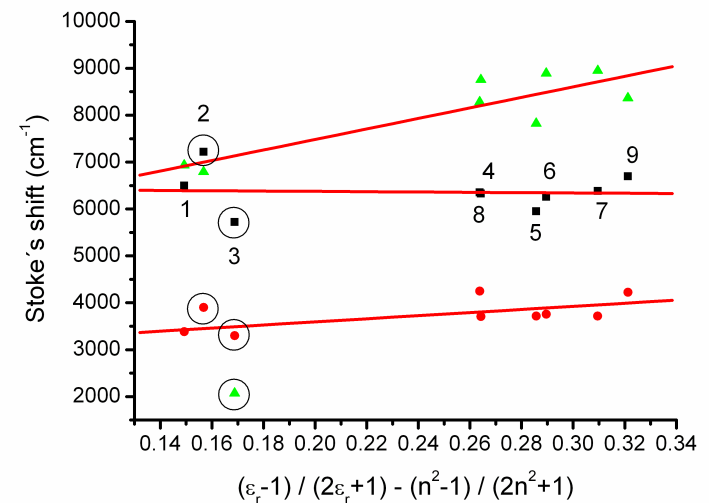
$$\Delta f = \frac{\epsilon - 1}{2\epsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1}$$

ϵ ... relativní permitivita

n ... index lomu

„pomalý“ člen
 souvisí s reorientací
 molekul rozpouštědla

„rychlý“ člen
 souvisí s reorientací
 elektronů



parametry

Kamlet MJ et al., J.Org.Chem.48, 2877-2887 (1983)

Sledovaný parametr XYZ se v závislosti na použitém solventu mění podle vztahu

$$XYZ = XYZ_0 + s(\pi^* + d\delta) + a\alpha + b\beta + h\delta_H + e\xi$$

π^* ... dipolarirata/polarizabilita solventu

δ ... korekční faktor pro polarizabilitu, roven 0 pro nechlorované alifatické solventy, 0,5 pro polychlorované alifatické solventy a 1 pro aromatické solventy

α ... schopnost solventu odevzdávat protony

β ... schopnost solventu přijímat protony

δ_H ... míra solvent-solventových interakcí, které jsou narušeny přítomností solutu, hraje roli při sledování některých empirických parametrů

ξ ... parametr koordinační kovalence, stejný pro skupinu příbuzných solventů

s, d, a, b, h, e ... váhové faktory, které určují, jak je sledovaný parametr citlivý k jednotlivým efektům

π^* , δ , α , β , δ_H , ξ jsou empiricky stanovené tabelované parametry

často je možné vhodným výběrem solventů rovnici zjednodušit (např. tak, že δ , δ_H a ξ jsou rovny 0).

Obecně použitelná analýza, vysoké korelační koeficienty

Kamlet-Taftovy parametry

Table I. Comprehensive Table of Solvatochromic Parameters^a

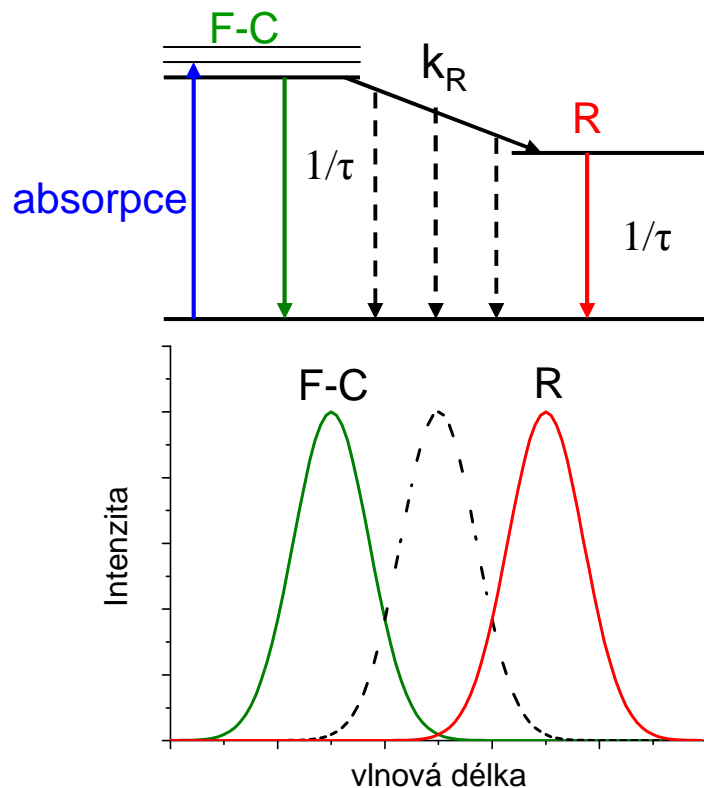
no. ^b	solvents (and some solid bases)	π^*	β	α
Aliphatic Hydrocarbons				
1	<i>n</i> -hexane, <i>n</i> -heptane	-0.08	0.00	0.00
2	cyclohexane	0.00	0.00	0.00
Ethers and Orthoesters ($\xi = 0.20$)				
4	diisopropyl ether	0.27	0.49	0.00
5	di- <i>n</i> -butyl ether	0.24	0.46	0.00
7	diethyl ether	0.27	0.47	0.00
9	dioxane	0.55	0.37	0.00
13	tetrahydrofuran	0.58	0.55	0.00
17	anisole	0.73	0.22	0.00
40	tetrahydropyran	0.51	0.54	0.00
46	dibenzyl ether	0.80	0.41	0.00
59	diphenyl ether	0.66	0.13	0.00
61	1,2-dimethoxyethane	0.53	0.41	0.00
86	di- <i>n</i> -propyl ether	((0.27))	0.46	0.00
87	phenetole	((0.69))	0.20	0.00
88	bis(2-methoxyethyl) ether	0.64		0.00
133	trimethyl orthoacetate	0.35		0.00
134	trimethyl orthoformate	0.58		0.00
Aldehydes and Ketones ($\xi = 0.00$)				
16	2-butanone	0.67	0.48	0.06
18	acetone	0.71	0.48	0.08
36	1,1,1-trichloroacetone		0.14	
41	cyclohexanone	0.76	0.53	
51	cyclopentanone	0.76	0.52	
58	acetophenone	0.90	0.49	
65	methyl <i>tert</i> -butyl ketone		0.48	
66	benzaldehyde	((0.92))	0.44	0.00

Kinetika spektrálních relaxací

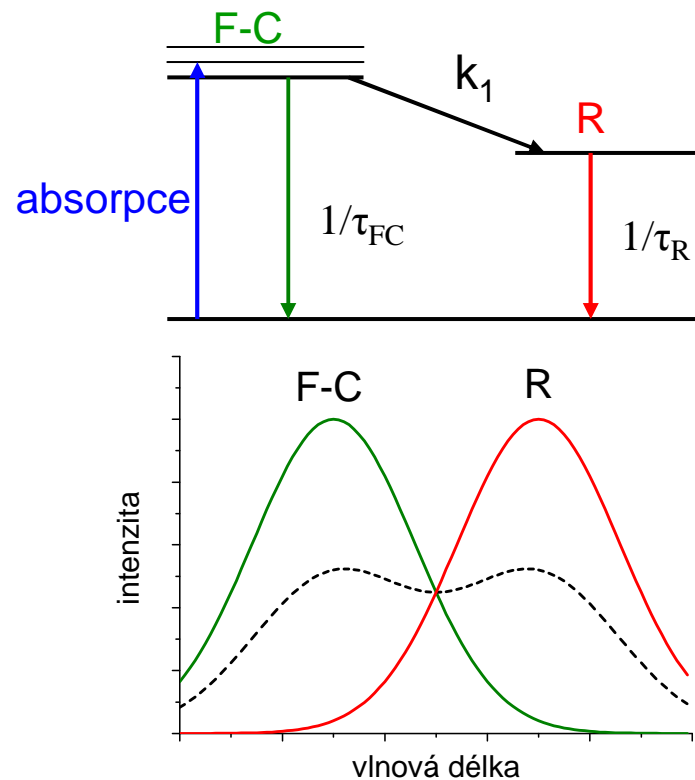
Ve vodném roztoku se relaxace odehrávají na časové škále ps

Ve viskóznějším prostředí nebo v membránách mohou být relaxace v časové škále ns, tedy srovnatelné s kinetikou dohasínání fluorescence

Kontinuální relaxace
(např. reorientace molekul solventu)



Reakce v excitovaném stavu
(např. přenos protonu)



TRES (time-resolved emission spectra)

Měřením časově rozlišených emisních spekter je možné získat informace o kinetice relaxací

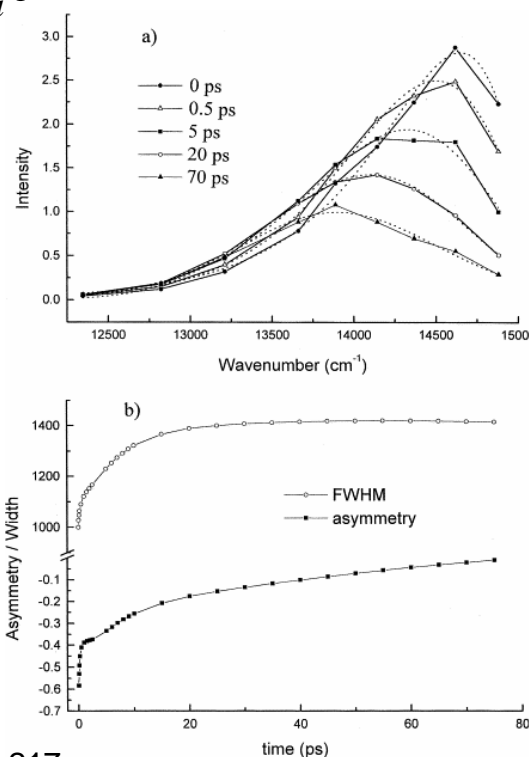
Je užitečné sledovat FWHM spektra

Kinetika kontinuálních relaxací bývá fitována modelem

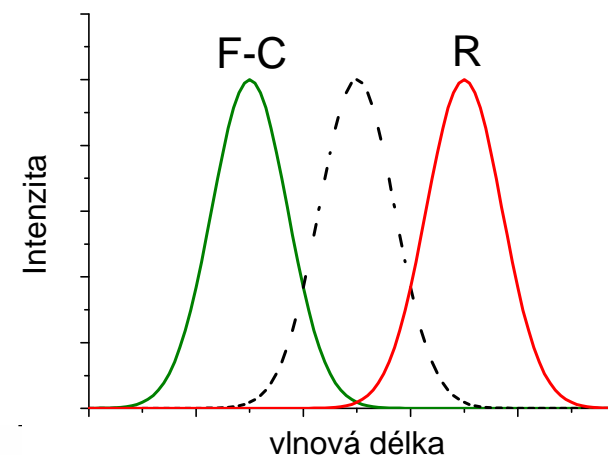
$$\nu_{cg}(t) = \nu_{\infty} + (\nu_0 - \nu_{\infty}) \sum_i \beta_i e^{-\frac{t}{\tau_{si}}}$$

ν_{cg} je těžiště spektra

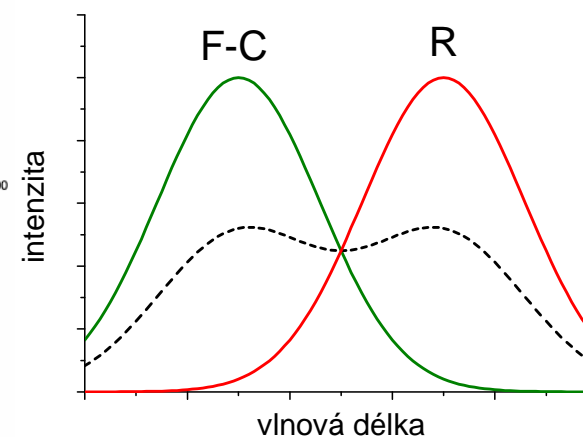
$$\nu_{cg}(t) = \frac{\int_0^{\infty} I(\nu, t) \nu d\nu}{\int_0^{\infty} I(\nu, t) d\nu}$$



Kontinuální relaxace



dvoustavový proces



Shrnutí

Ovlivnění fluorescenčních charakteristik okolními molekulami rozpouštědla
- obecné vlivy, specifické interakce

Obecný efekt solventu - relaxace z Franck-Condonova stavu

Vyhodnocování efektů solventu - Lippert- Matagova rovnice, Kamlet-Taftovy parametry

Kinetika spektrálních relaxací - kontinuální relaxace, dvoustavové procesy

Časová závislost FWHM je významným indikátorem typu relaxace