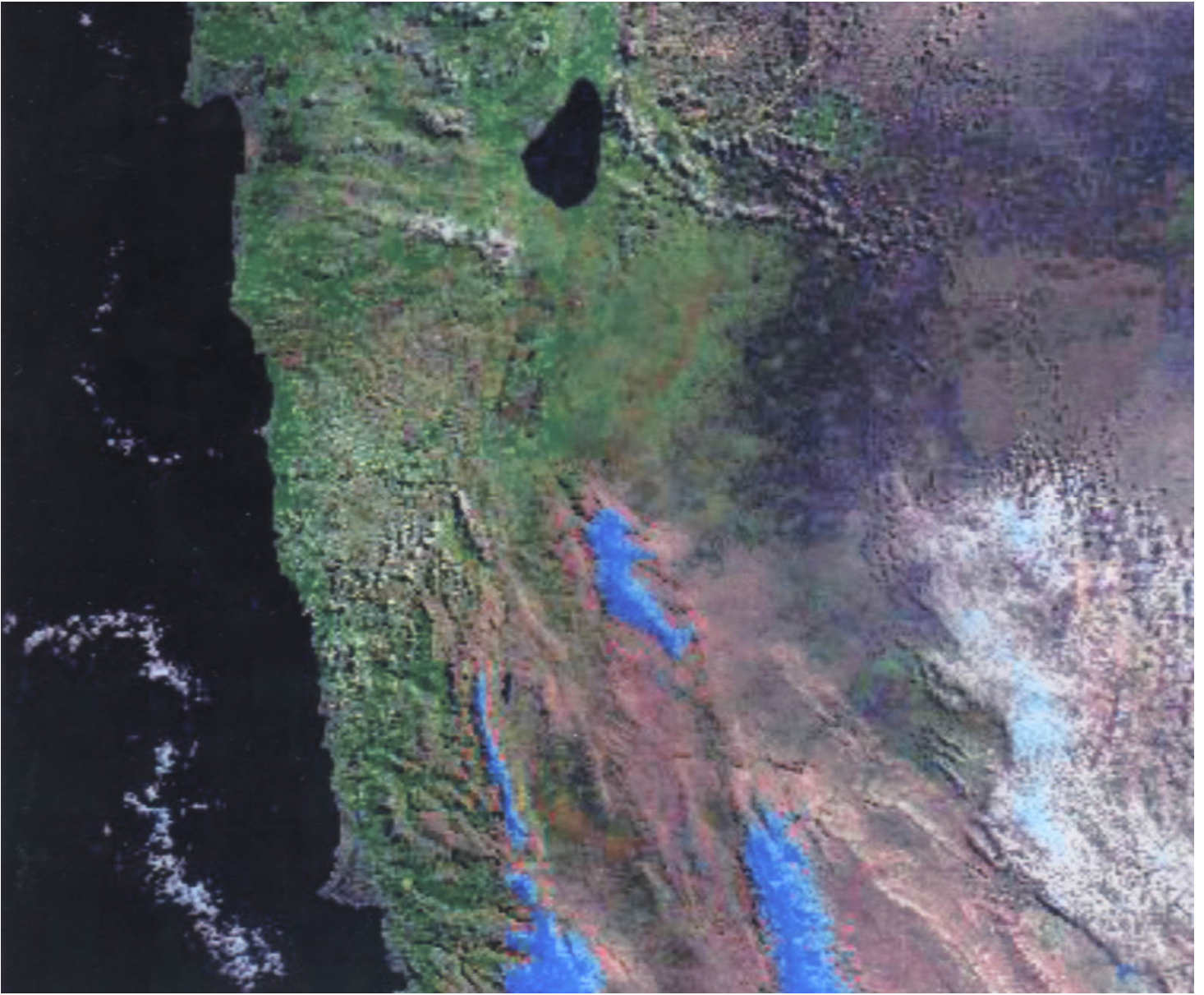


Лекция 2

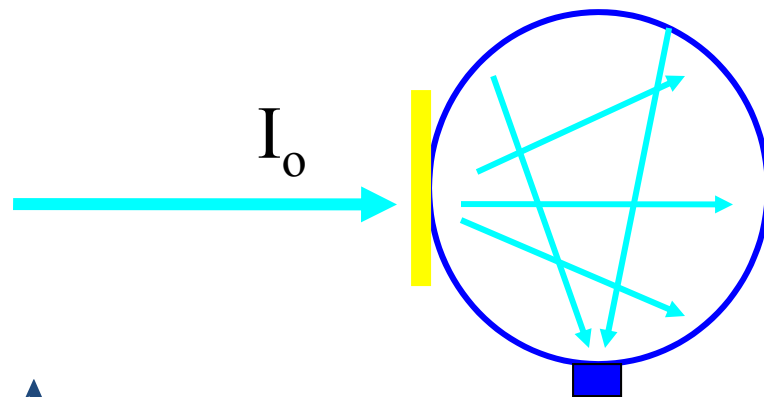
Отражение и пропускание света





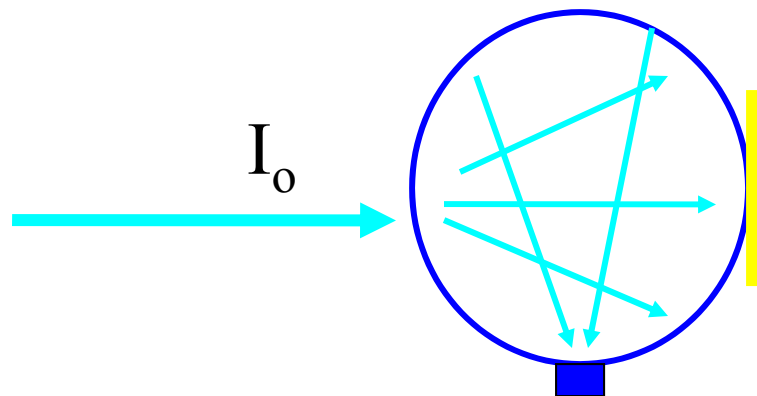
Измерение пропускания, отражения и поглощения

$$1 = T + R + A$$



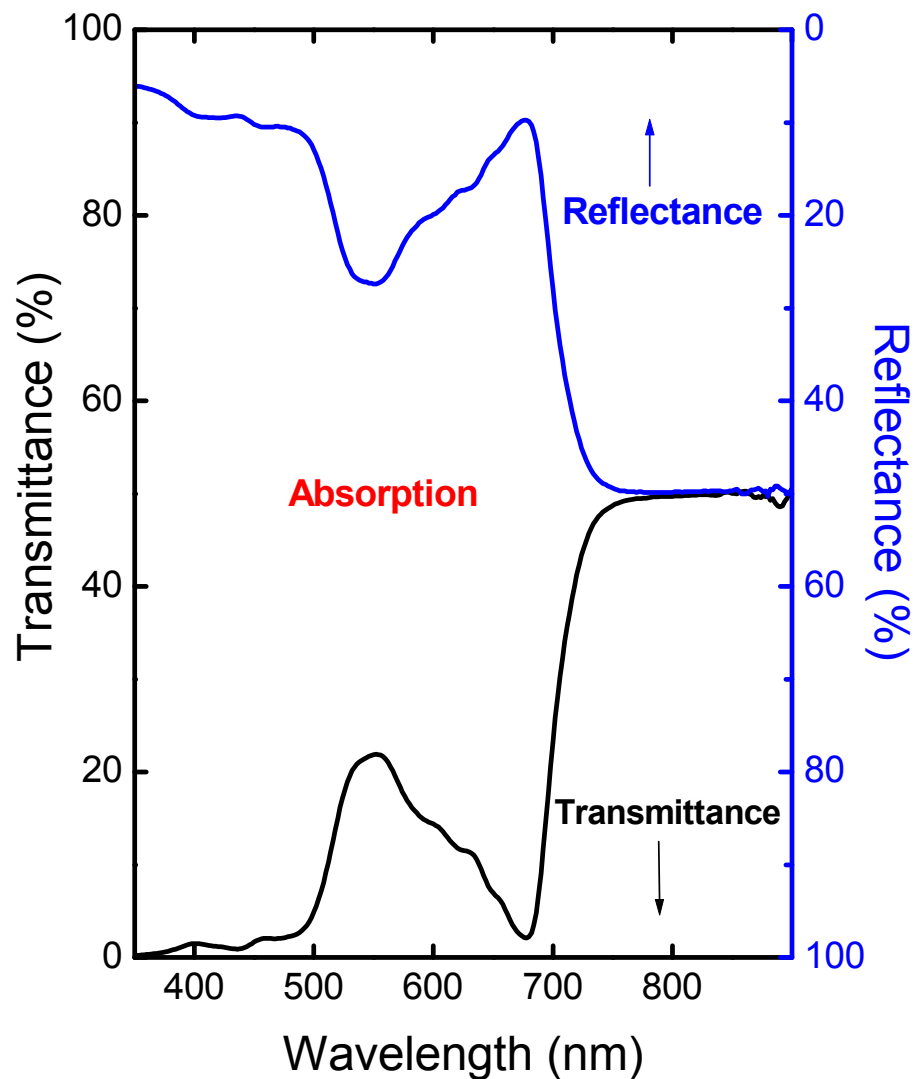
Пропускание
(T, Transmission)

Поглощение
(A, Absorption)

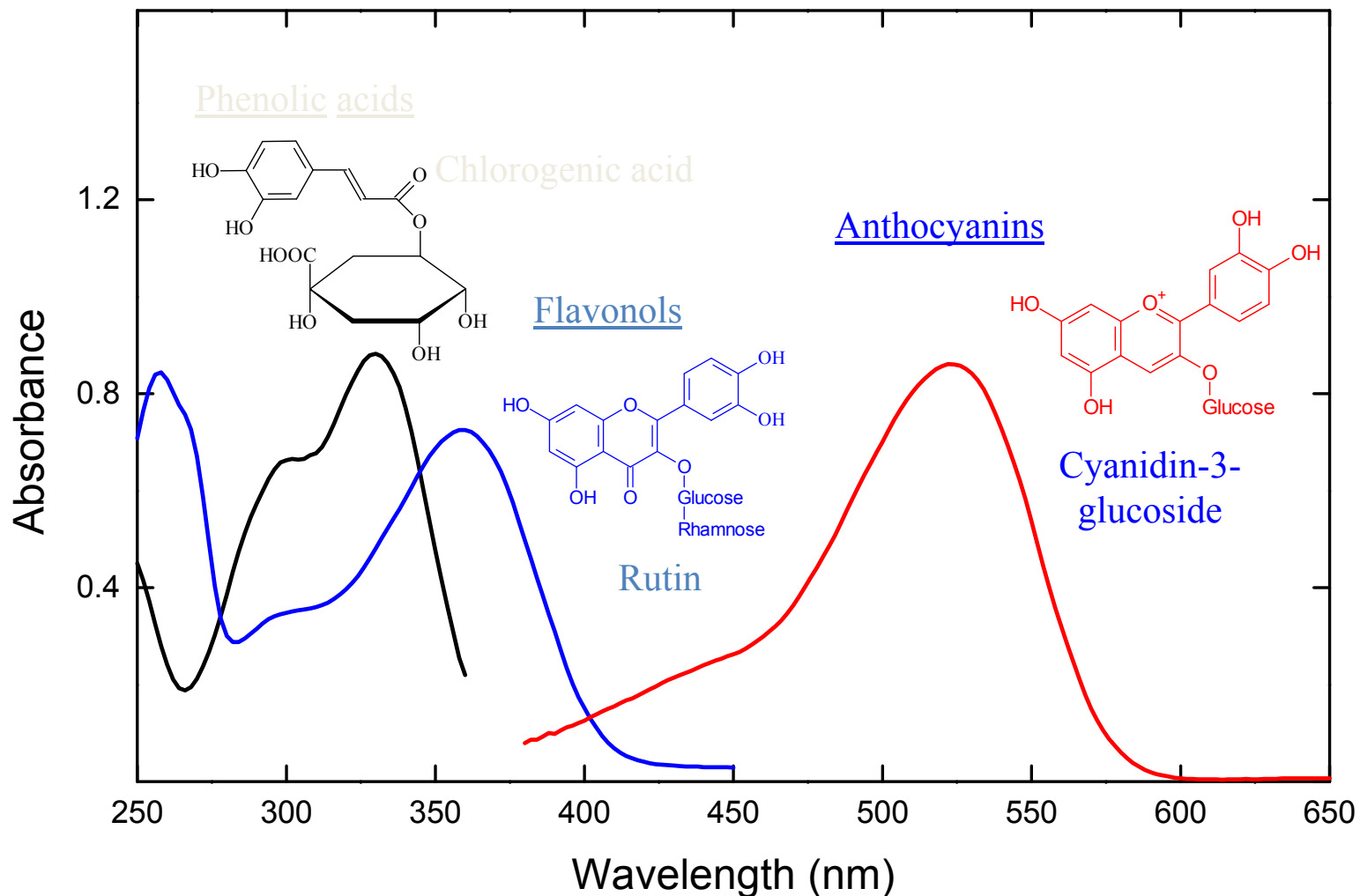


Отражение
(R, Reflection)

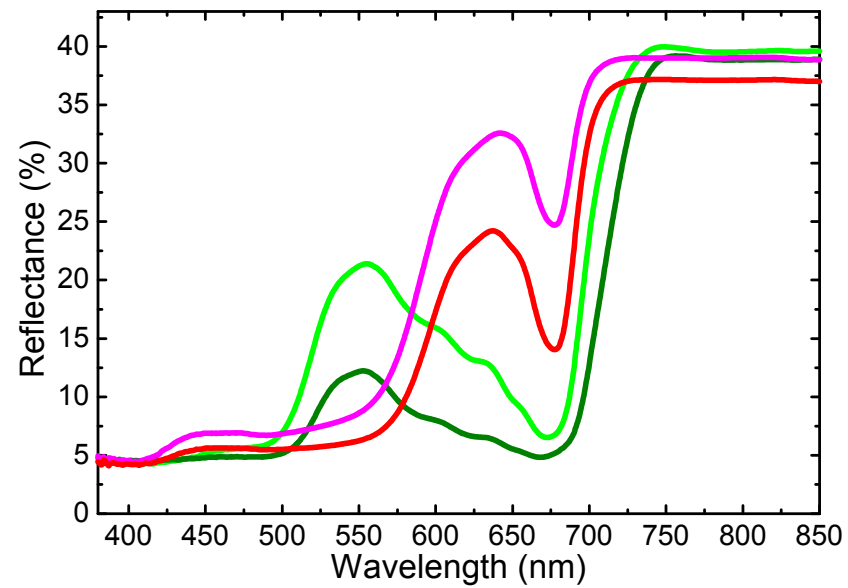
Спектры пропускания, отражения и поглощения листа



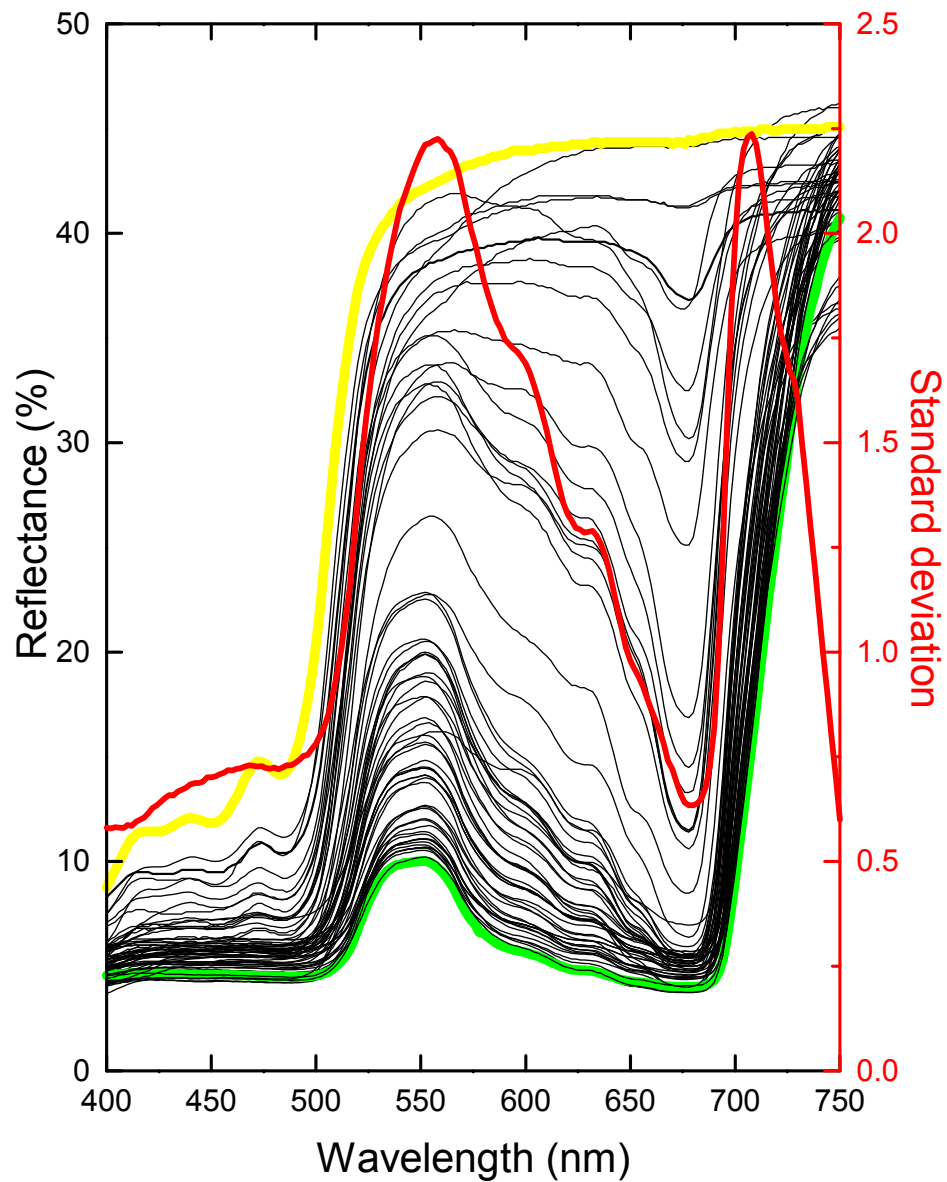
Фенольные соединения высших растений, обладающие фотозащитным действием



Aloe arborescens

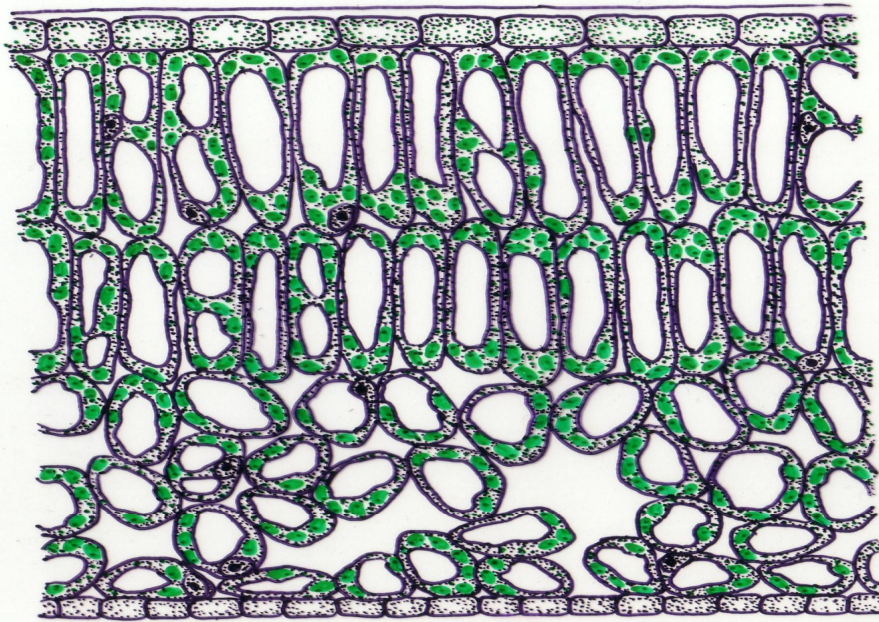


Спектры отражения листьев клёна (*Acer platanoides* L.)

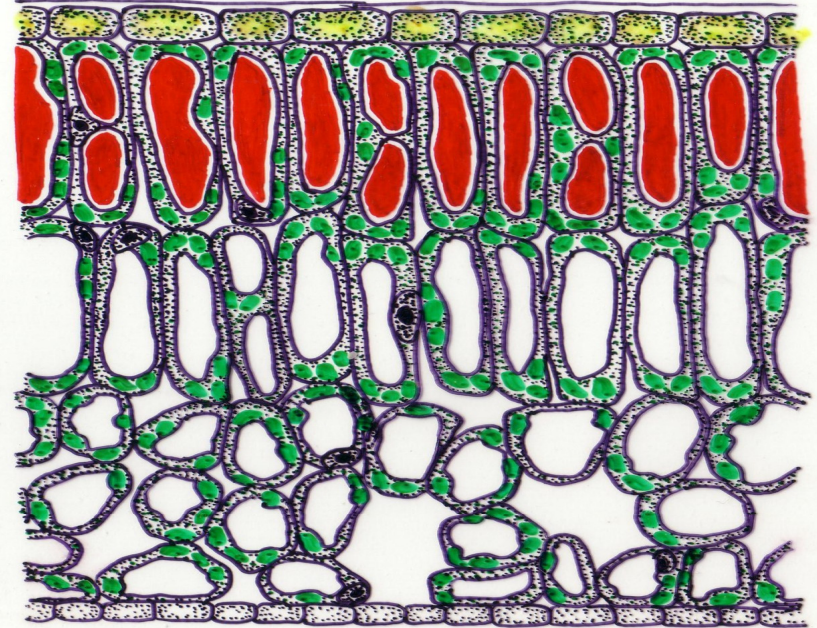


Cotoneaster integerrimus L. (осенние листья)

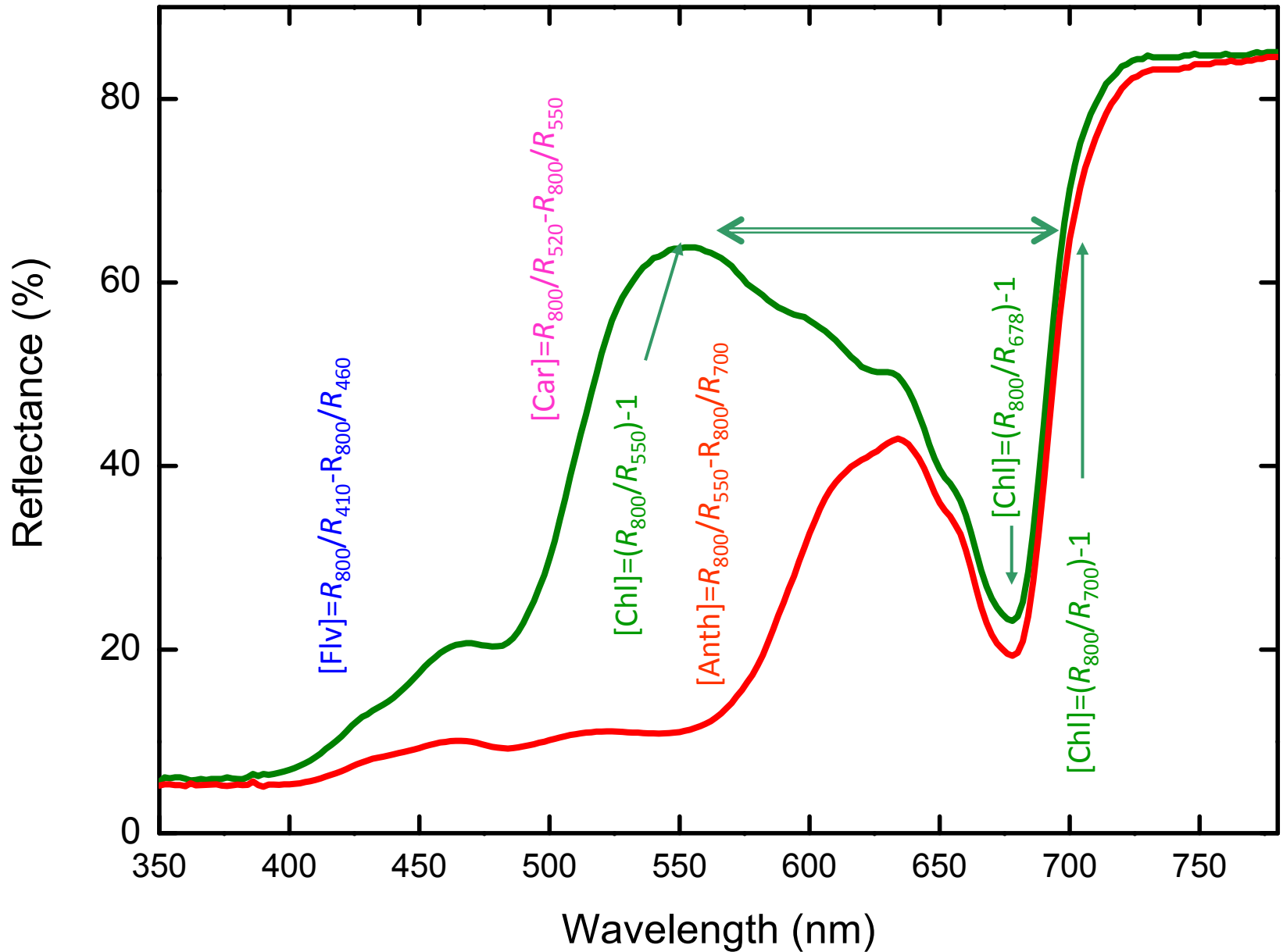
Green

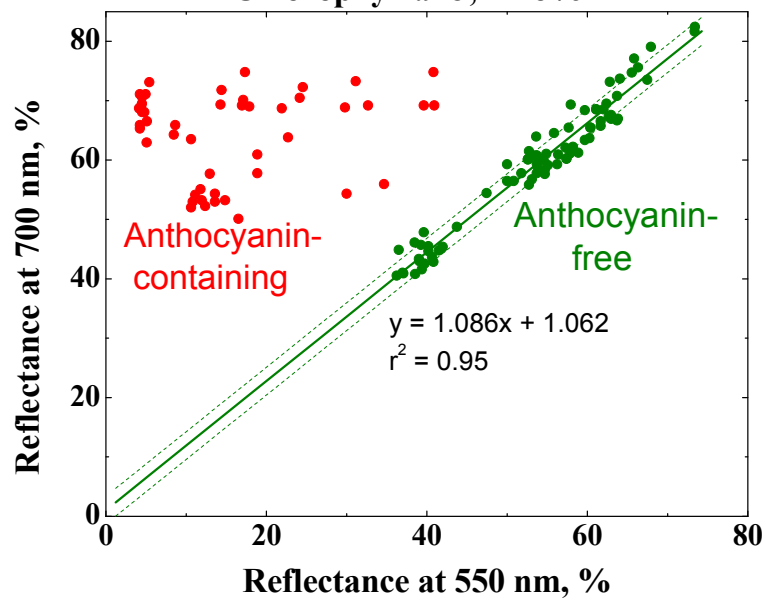
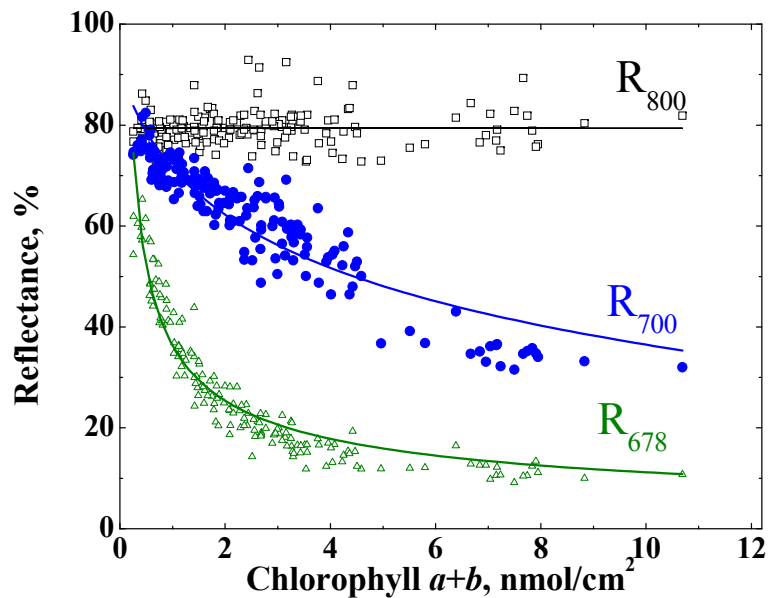


Red



Алгоритмы для определение пигментов *in situ*

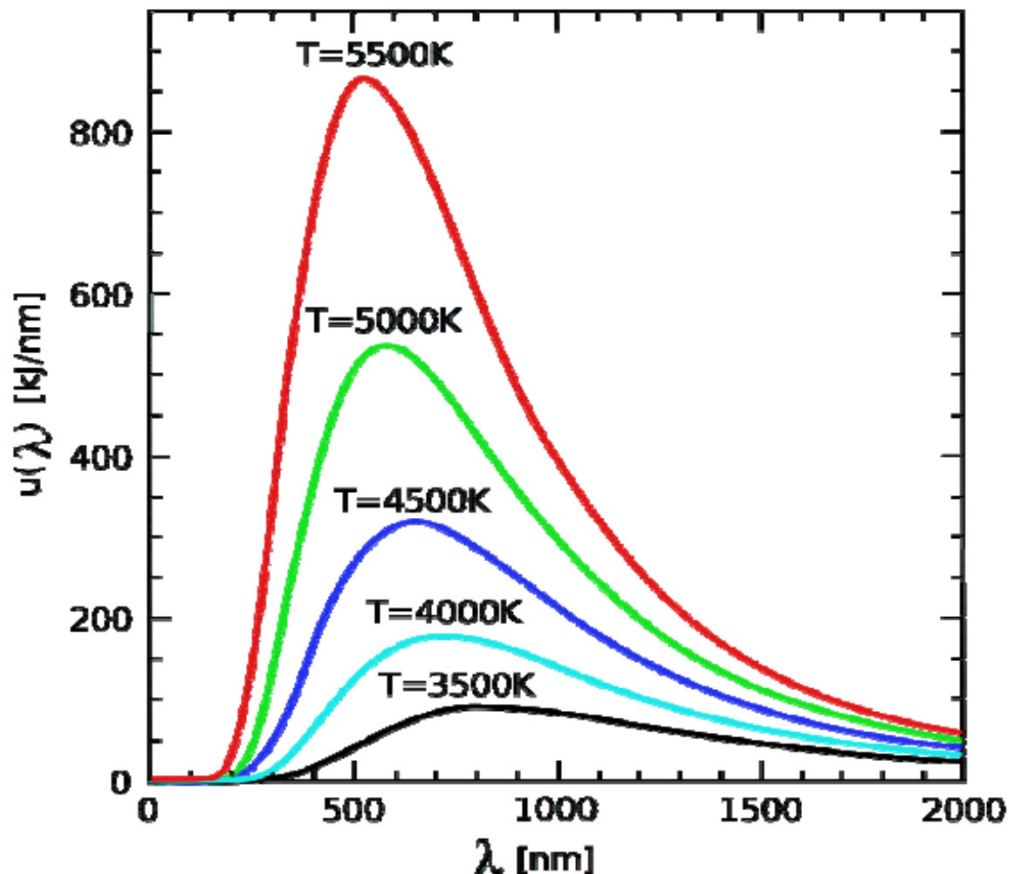






Люминесценцией называют избыток излучения над равновесным при условии, что это излучение по длительности превышает период световых колебаний.

Равновесное излучение



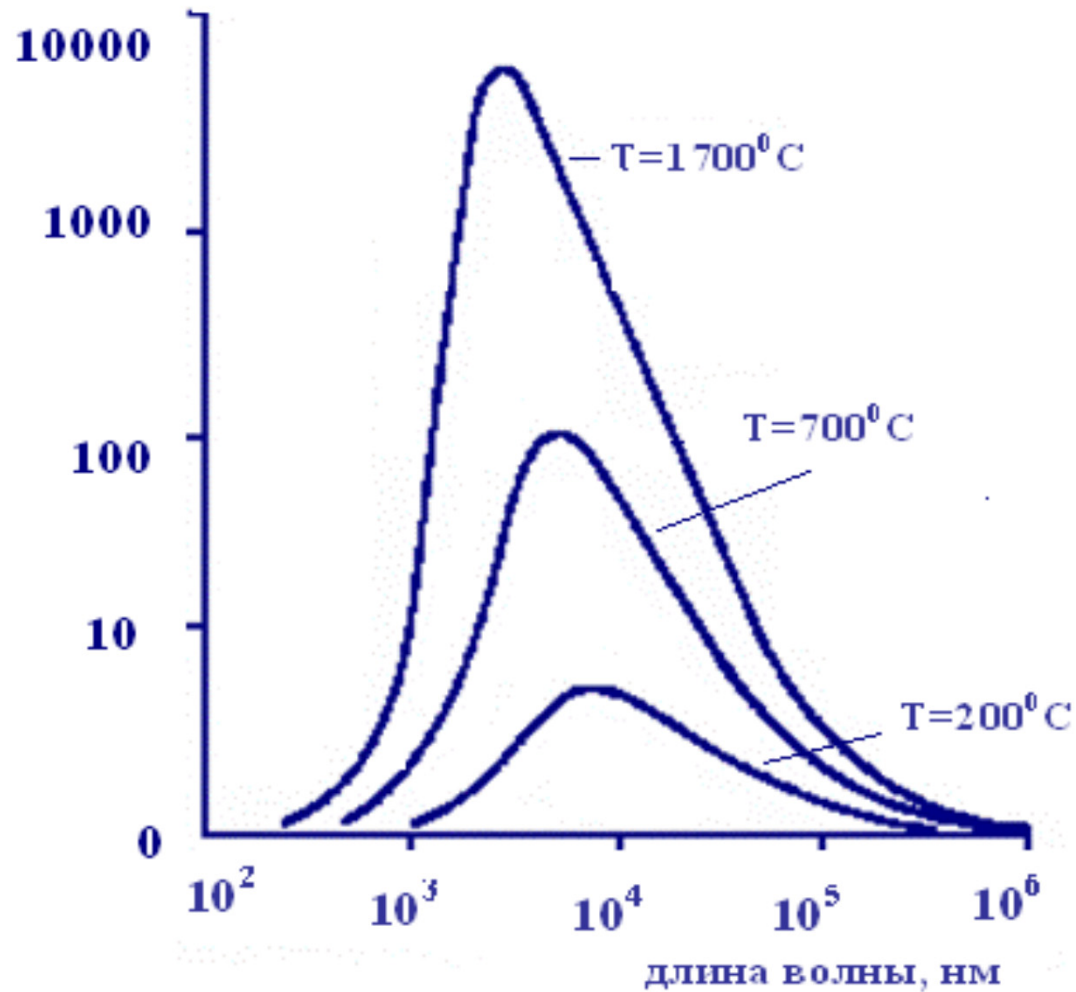
$$u_{\lambda} = \frac{8\pi h c}{\lambda^5} \cdot \frac{1}{e^{\frac{hc}{\lambda kT}} - 1}$$

$$u_{\nu} = \frac{8\pi h^3}{c^3} \cdot \frac{1}{e^{\frac{h\nu}{kT}} - 1}$$

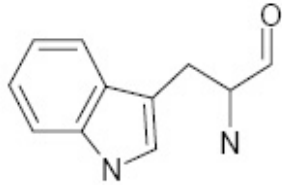
$$\lambda_{\max} = \frac{b}{T} \quad [\lambda] = [\text{мкм}], \quad b \approx 3000$$

Закон смещения Вина

относительное число фотонов



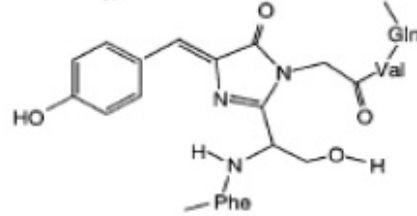
typical fluorophores



tryptophane

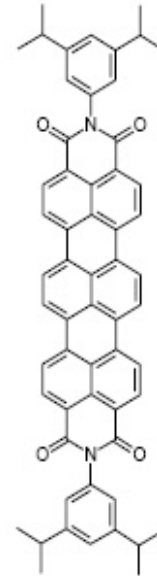
$\lambda = 280 \text{ nm}$

-Phe-Ser-Tyr-Gly-Val-Gln-
64 69



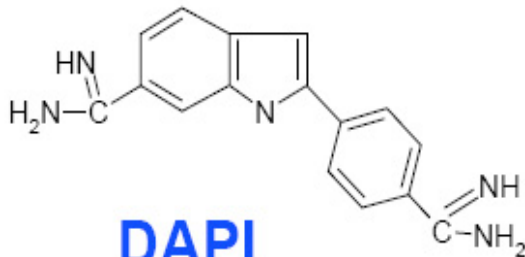
eGFP

$\lambda = 488 \text{ nm}$



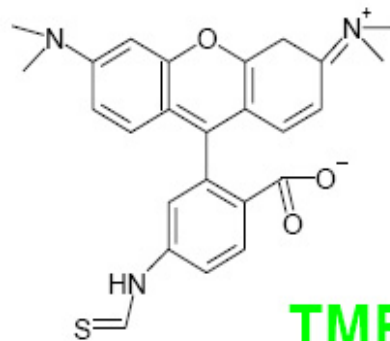
TDI

$\lambda = 630 \text{ nm}$



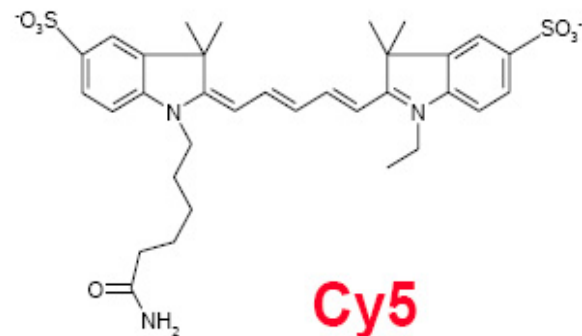
DAPI

$\lambda = 355 \text{ nm}$



TMR

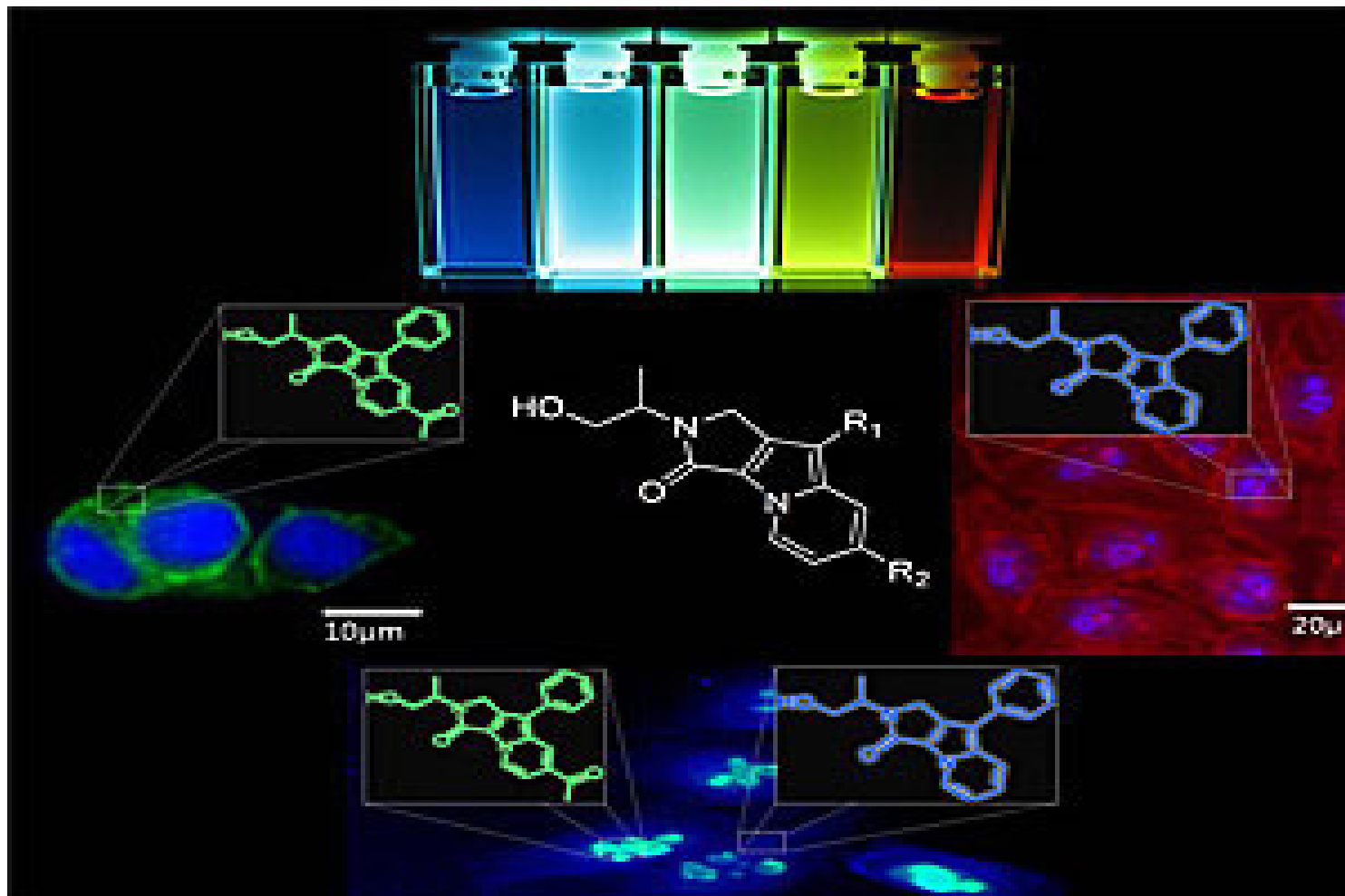
$\lambda = 514 \text{ nm}$



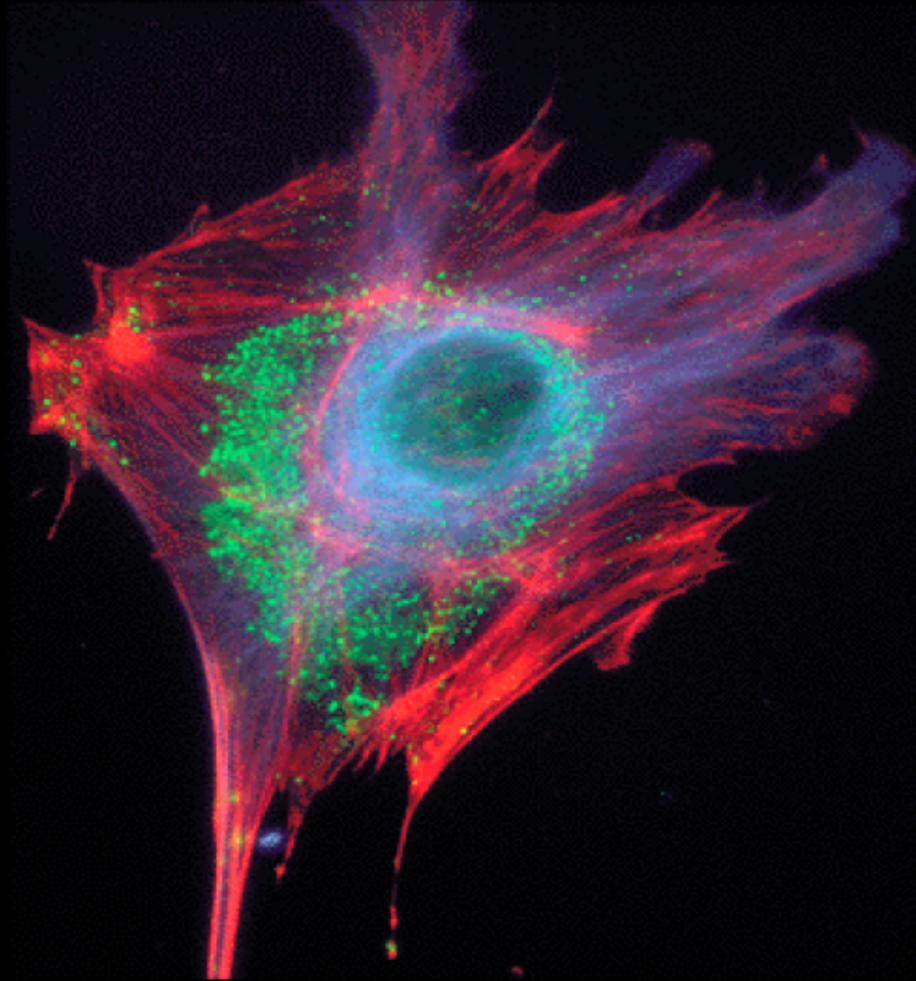
Cy5

$\lambda = 630 \text{ nm}$

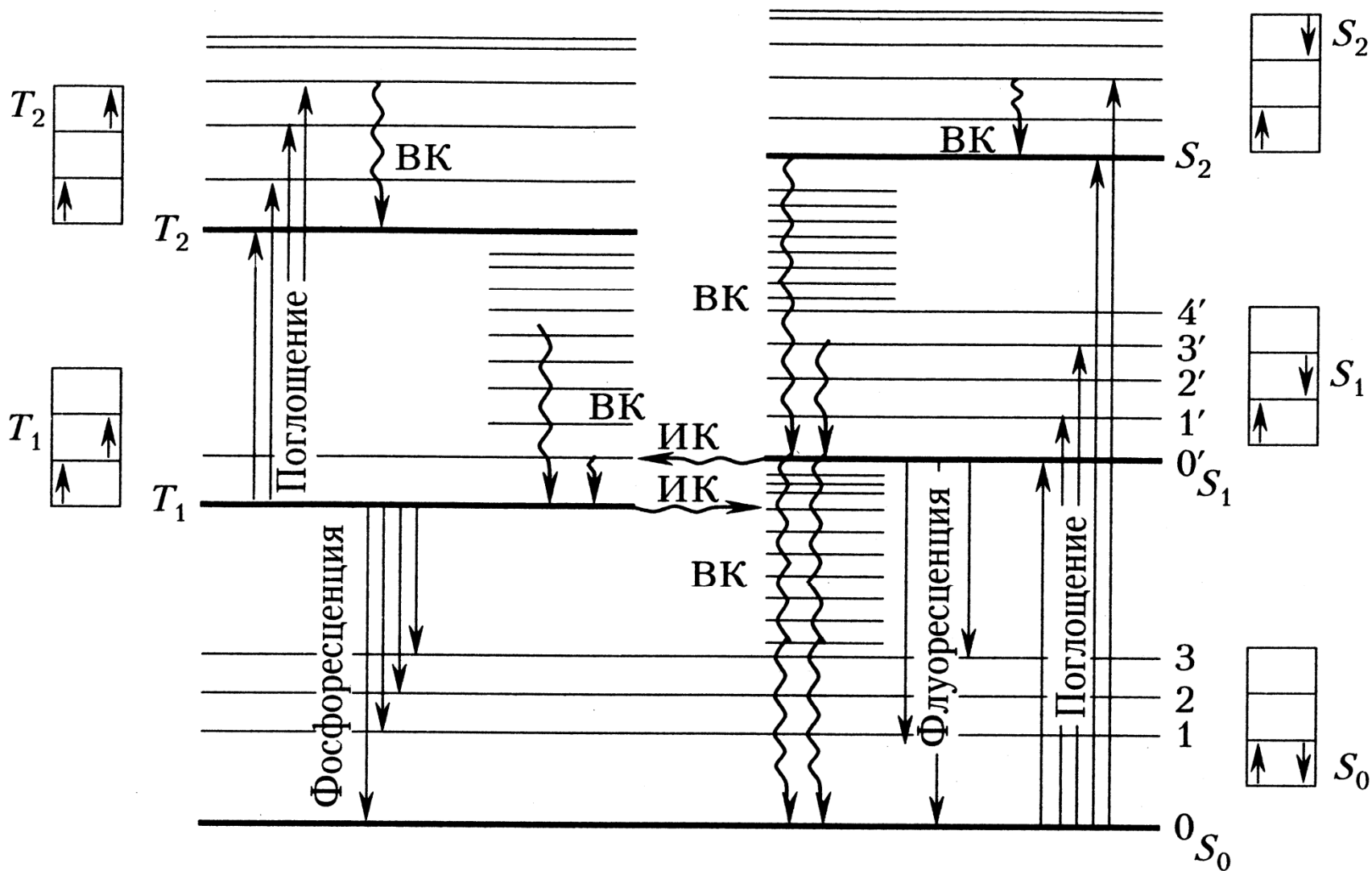
Эмиссионные свойства некоторых флуоресцентных меток и их молекулярное строение.



fluorescence microscopy



Электронные переходы в биомолекулах (диаграмма Яблонского)

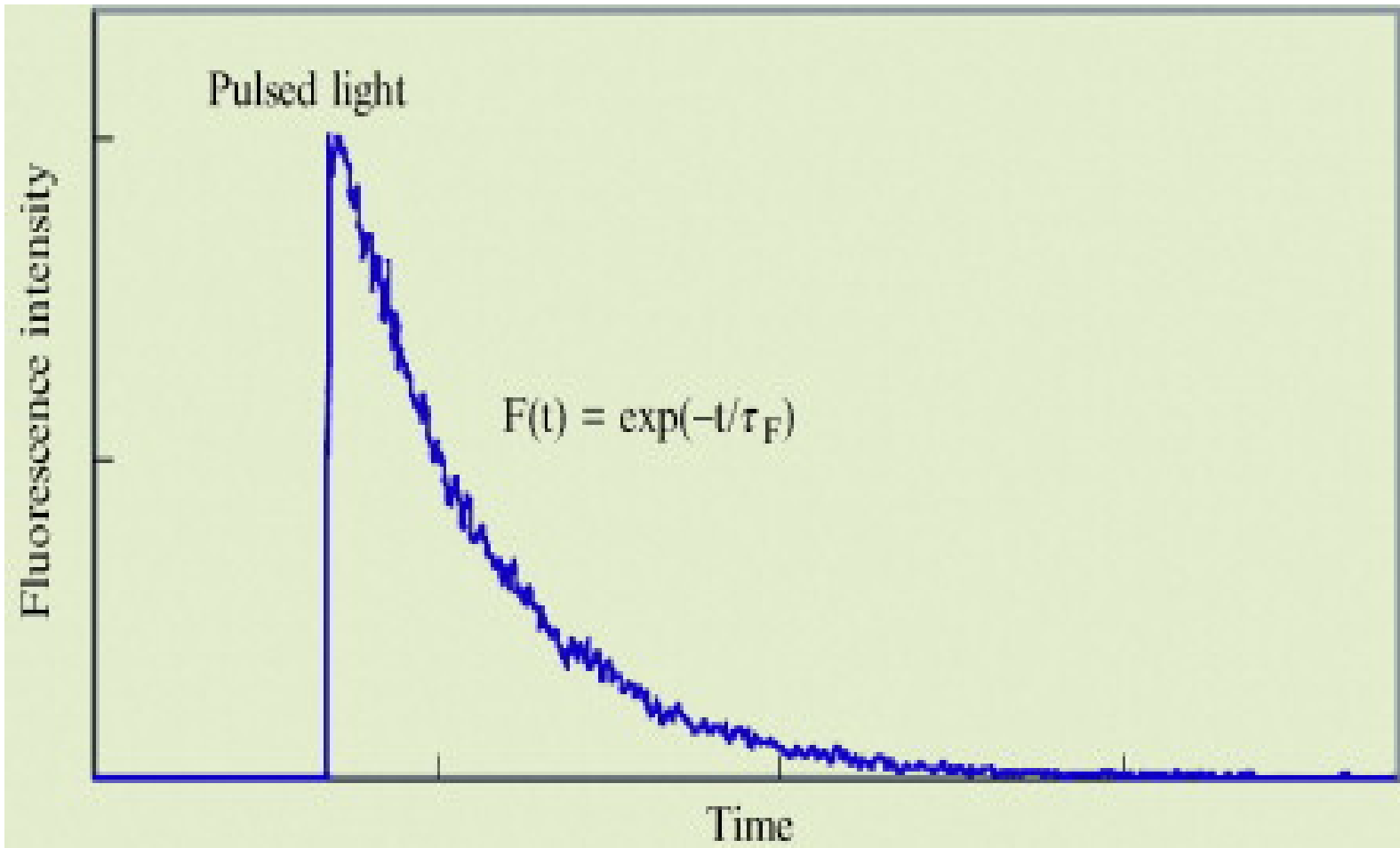


Спектр люминесценции – зависимость интенсивности люминесценции от длины волны при постоянной длине волны возбуждающего излучения.

Спектр возбуждения люминесценции – зависимость интенсивности люминесценции от длины волны возбуждающего света.

Квантовым выходом люминесценции (η) называют вероятность перехода возбужденной молекул в основное состояние с испусканием кванта излучения.

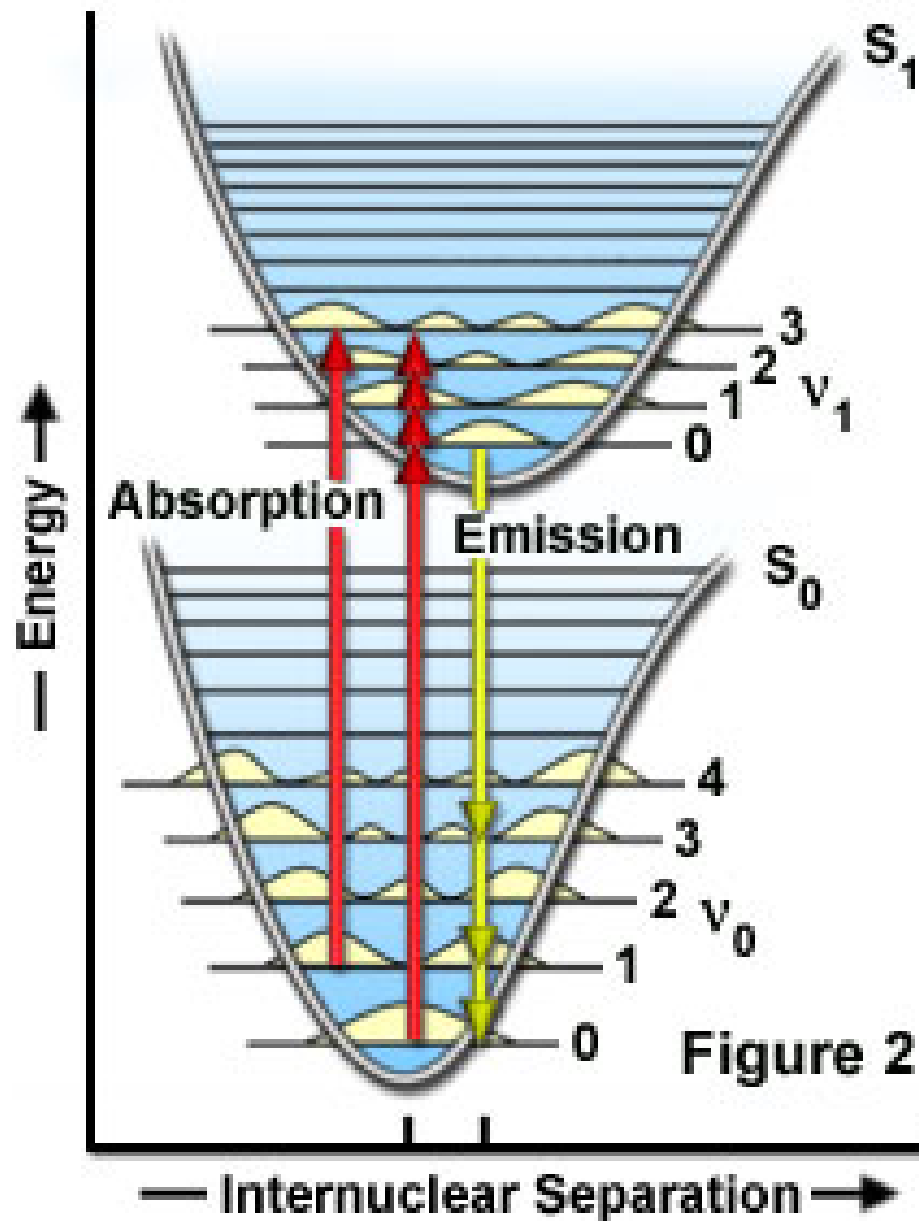
Временем жизни возбужденного состояния вещества считается время, за которое количество возбужденных молекул снижается в e раз ($e = 2,71$).



Законы люминесценции

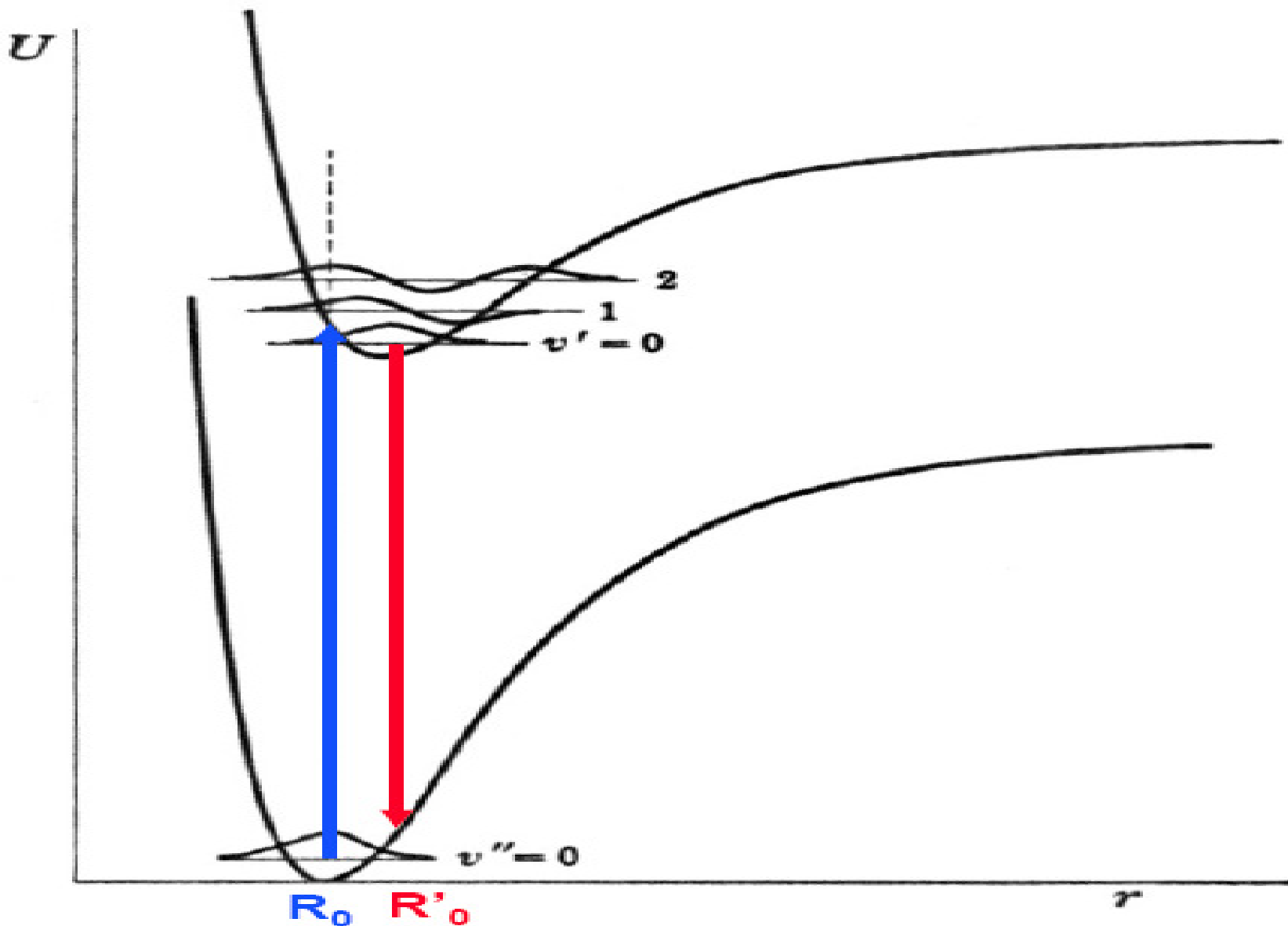
- Закон Стокса: спектр люминесценции лежит в более длинноволновой области, чем спектр поглощения того же соединения.
- Правило Каши: спектр люминесценции не зависит от длины волны возбуждающего излучения (способа возбуждения).
- Закон Вавилова: квантовый выход люминесценции не зависит от длины волны возбуждающего излучения (способа возбуждения).
- Правило Левшина: спектры флуоресценции по форме зеркально симметричны длинноволновой полосе спектра поглощения, если они построены в шкале частот (энергий).

Franck-Condon Energy Diagram

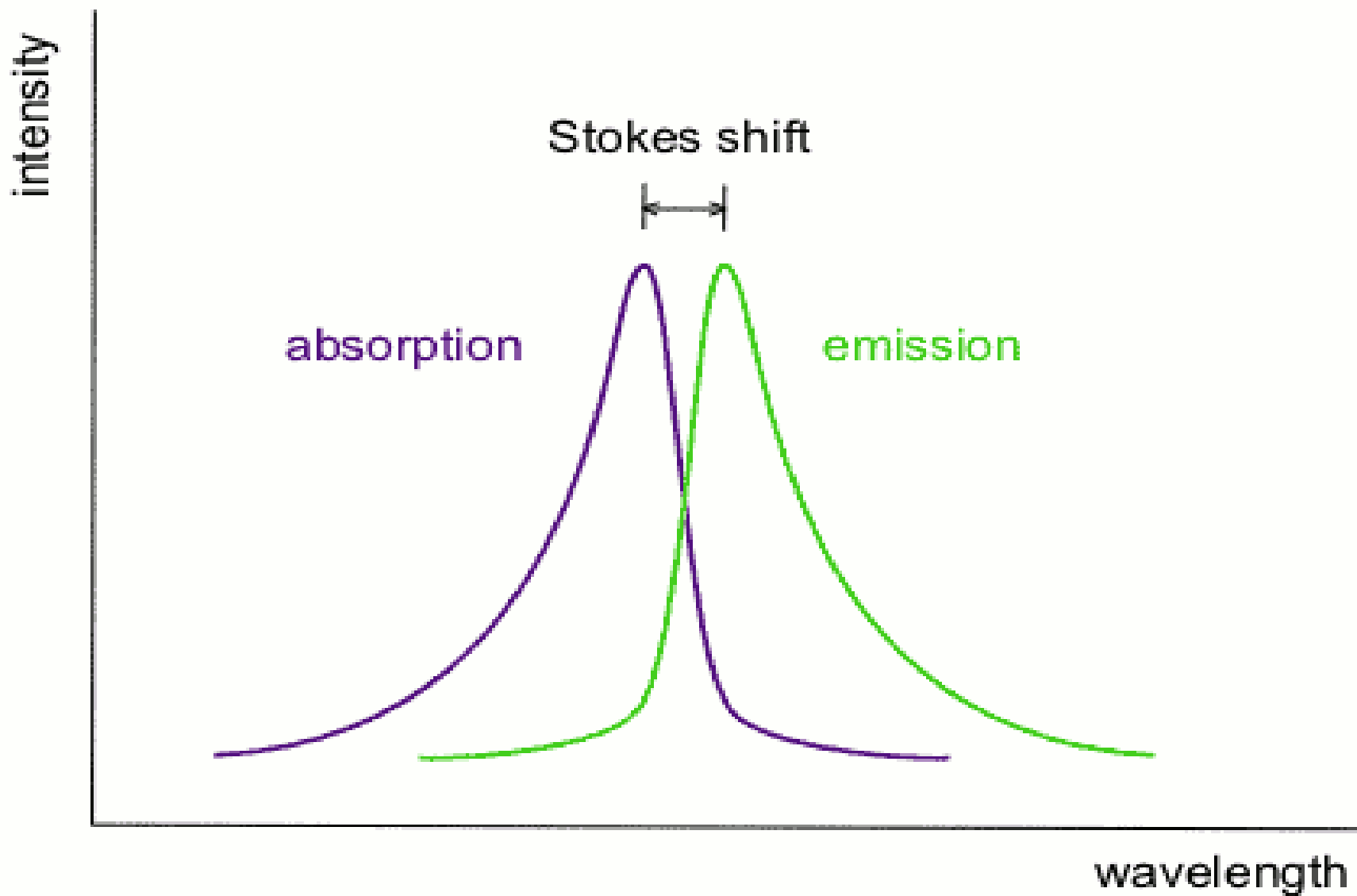


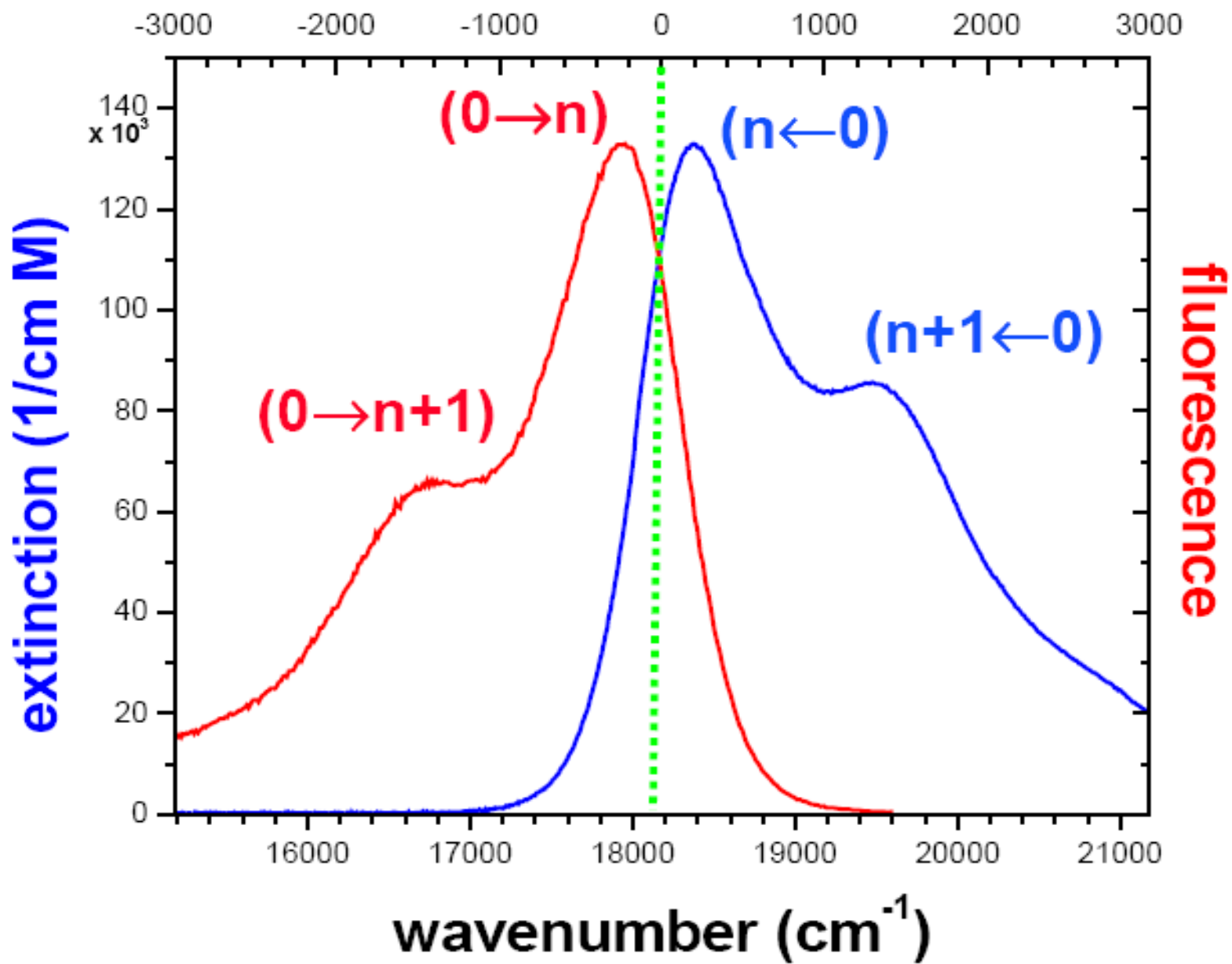
Принцип Франка-Кондона

За время электронного перехода расположение ядер не успевают измениться

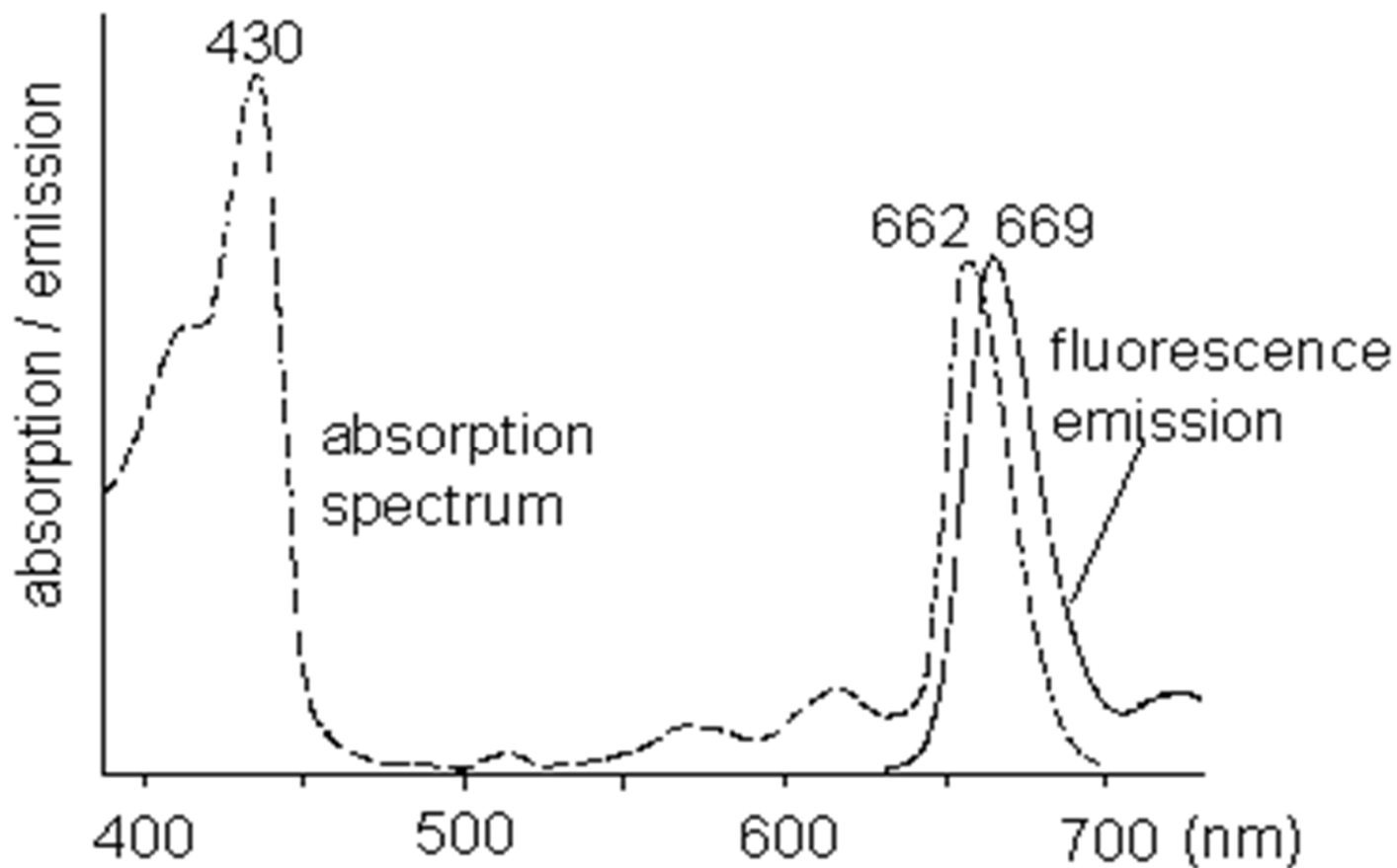


Закон Стокса



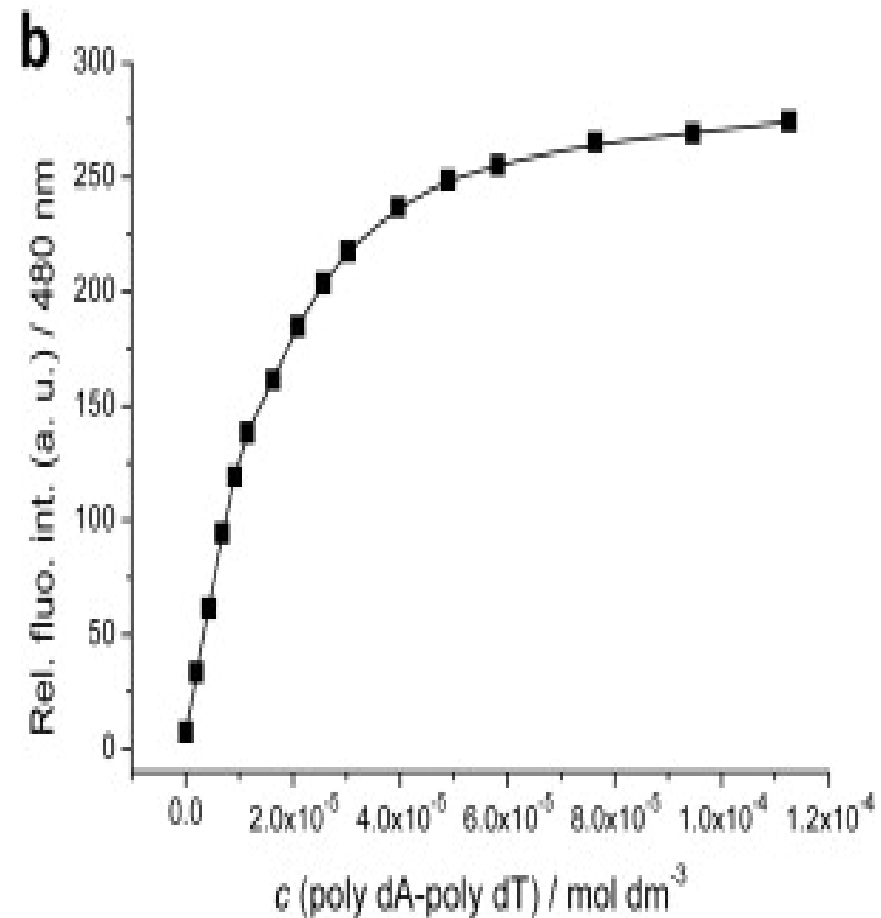
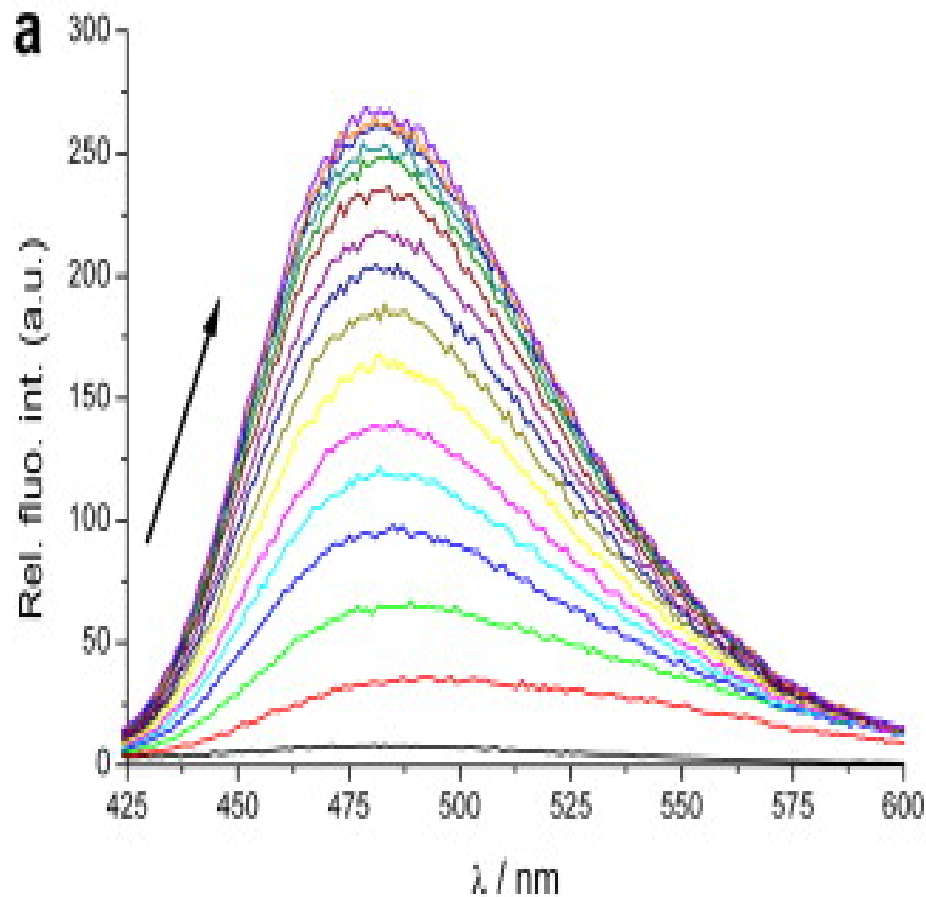


Спектр поглощения и флуоресценции раствора хлорофилла



Зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации флуорофора

$$I_f = I_o \eta (1-T) = I_o \eta (1-10^{-\epsilon c l})$$



- Эффект экранирования вызван поглощением части возбуждающего света посторонними веществами и приводит к уменьшению количества фотонов поглощаемых флуорофором, а следовательно и к снижению интенсивности люминесценции.
- Реабсорбция – это поглощение квантов люминесценции в толще самого образца. Как правило, реабсорбция наблюдается в объектах с большой оптической плотностью. Реабсорбция приводит к ослаблению интенсивности люминесценции в коротковолновой части спектра и искажению спектра люминесценции.