

УДК 535.2

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛА ФОТОНОВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ

*А.Л. Щужина*

### Аннотация

Рассматривается флуоресценция нескольких невзаимодействующих молекул. Предполагается, что они возбуждаются непрерывным лазерным излучением. Трехуровневая модель молекул, описывающая мерцающую флуоресценцию, рассматривается наряду с двухуровневой моделью. Выводятся теоретические формулы для распределения числа фотонов молекулярного комплекса с помощью ранее выведенных формул для распределения фотонов одиночной молекулы.

**Ключевые слова:** одиночные молекулы, распределение числа фотонов флуоресценции.

### Введение

В последние годы были разработаны новые методы молекулярной спектроскопии. Эти методы позволяют регистрировать флуоресценцию одиночных молекул. Исследуемые молекулы встраиваются в твердую матрицу в качестве примесных и облучаются непрерывно лазером. Под действием лазерного света они переходят в возбужденное состояние, а затем флуоресцируют. Их можно удалить друг от друга на такое расстояние, чтобы наблюдать флуоресценцию индивидуальной молекулы.

Так как поглощение и испускание фотона молекулой происходят в случайные моменты времени, такая флуоресценция флуктуирует [1]. Эти флуктуации, наблюдаемые в эксперименте, затем подвергаются статистической обработке. Один из способов такой обработки – расчет вероятности обнаружить  $N$  испущенных молекулой фотонов флуоресценции за время  $T$ , то есть расчет функции распределения числа фотонов. Здесь будет обсуждаться вид этого распределения для одиночных молекул различного типа (описываемых двух- и трехуровневыми моделями, см. ниже) и для молекулярных кластеров различного типа.

### 1. Распределение числа фотонов флуоресценции одиночных молекул

Как было показано в работе [2], чтобы построить распределение числа фотонов  $w_N(T)$ , достаточно знать единственную функцию, описывающую флуоресценцию интересующей нас молекулы, – коррелятор старт-стоп  $s(T)$ :

$$w_N(T) = \frac{1}{\tau_0} \int_0^T T-t \{ [s(\lambda)^{N-1}]_t - 2 [s(\lambda)^N]_t + [s(\lambda)^{N+1}]_t \}, \quad N \geq 1. \quad (1)$$

Здесь  $s(\lambda)$  – лапласовский образ корректора. Физический смысл функции  $s(T)$  таков: она является плотностью вероятности обнаружения фотона через временной

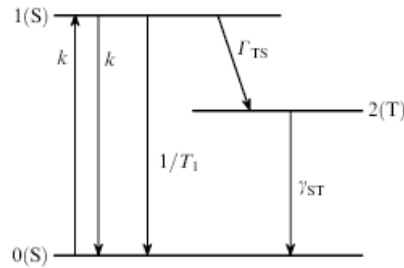


Рис. 1. Трехуровневая энергетическая схема молекулы с триплетным уровнем

интервал  $T$  после испускания предыдущего. Конкретный вид коррелятора старт-стоп определяется микроскопической моделью, описывающей флуоресцирующую молекулу. Согласно [1] коррелятор  $s(T)$  пропорционален вероятности  $W_1$  обнаружения молекулы в момент времени  $T$  в возбужденном состоянии, если в нулевой момент времени она находилась в основном и не испустила за время  $T$  ни одного фотона. Вероятность  $W_1$  можно найти, пользуясь балансными уравнениями для вероятностей  $W_i$  различных состояний молекулы.

Многие органические молекулы описываются энергетической схемой, представленной на рис. 1. Здесь  $k$ ,  $\Gamma$ ,  $1/T_1$  – скорости соответственно вынужденных, безизлучательных и спонтанных переходов между основным и возбужденным синглетными уровнями.  $A$  и  $a$  – скорости синглет-триплетных переходов  $1 \rightarrow 2$  и  $2 \rightarrow 0$ . Скорость перехода  $1 \rightarrow 2$  мала по сравнению с  $1/T_1$ . Сначала рассмотрим простейший случай, когда можно считать  $A$  равным нулю. Тогда мы имеем дело с двухуровневой моделью. Молекула переходит с основного уровня 0 на возбужденный 1 и обратно, поглощая фотоны лазерного света и спонтанно испуская фотоны флуоресценции. Точный расчет распределения фотонов флуоресценции для такой модели приводит к следующему выражению для вероятности  $w_N(T)$  обнаружить  $N$  фотонов за время  $T$  (см. [3]):

$$w_N(T) = \frac{\lambda_1 + \lambda_2}{1 - \exp[-(\lambda_1 + \lambda_2)t]} \int P_N[(x - \lambda_1)t] P_N(x\lambda_2) dx, \quad (2)$$

где  $\lambda_1 = k + 1/2T_1 - \sqrt{k^2 + (1/2T_1)^2}$ ,  $\lambda_2 = k + 1/2T_1 + \sqrt{k^2 + (1/2T_1)^2}$ ,  $P_N(x)$  – распределение Пуассона  $P_N(x) = \frac{x^N}{N!} \exp(-x)$ .

Распределение (2) оказывается близко по форме к пуассоновскому, но все же уже его, то есть является субпуассоновским (см. рис. 2).

Два фотона флуоресценции не могут быть испущены друг за другом сразу же: они будут разделены временем, которое требуется молекуле для повторного возбуждения. Невозможность испускания таких двух фотонов, которые разделял бы временной интервал, стремящийся к нулю, получила название антигруппировки фотонов. Субпуассоновость распределения фотонов флуоресценции двухуровневой молекулы обусловлена именно антигруппировкой фотонов. Если предположить, что фотоны флуоресценции могут испускаться друг за другом через сколь угодно малое время, то рассчитанное с учетом этого предположения распределение будет точно совпадать с пуассоновским.

Теперь рассмотрим трехуровневую модель флуоресцирующей молекулы, то есть такую, где  $A \neq 0$ . Тогда возможен переход молекулы в триплетное состояние 2 (см. рис. 1). После этого поглощение лазерного света и, следовательно, флуоресценция

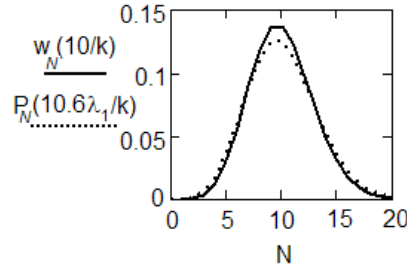


Рис. 2. Распределение фотонов, описываемое функцией 2, для интервала  $T = 10/k$  (сплошная линия) и распределение Пуассона с тем же положением максимума при  $T = 10.6\lambda_1/k$  (точки)

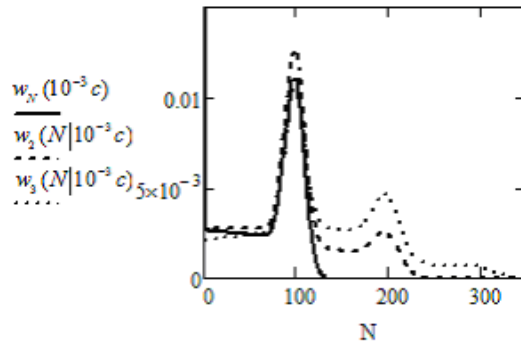


Рис. 3. Распределение фотонов флуоресценции одной (сплошная линия), двух (пунктирная линия) и трех (точки) одинаковых трехуровневых молекул. Скорости перехода между уровнями:  $k = 10^5$ ;  $G = 10^7$ ;  $T_1 = 10^{-8}$ ;  $a = 200$ ;  $A = 3.7 \cdot 10^5 \text{ c}^{-1}$

прекращаются, а после скачка молекулы в основное синглетное состояние 0 восстанавливаются. Такая флуоресценция имеет мерцающий характер, то есть интервалы со светом (оп-интервалы) перемежаются интервалами без света (офф-интервалами). В работе [2] было получено следующее выражение для  $[s^N(\lambda)]_t$  для трехуровневой модели:

$$\begin{aligned}
 [s^N(\lambda)]_t = & \lambda_1 \lambda_2 \left(\frac{\lambda_0}{a}\right)^N \left\{ \int_0^t P_{N-1}[\lambda_1(x-t)] P_{N-1}(\lambda_2 x) dx + \right. \\
 & + \lambda_0 \sum_{m=1}^N C_N^m \left(\frac{a-\lambda_0}{\lambda_0}\right)^m \times \\
 & \left. \times \int_0^t P_{m-1}[\lambda_0(t-x)] \int_0^x P_{N-1}[\lambda_1(x-y)] P_{N-1}(\lambda_2 y) dy dx \right\}. \quad (3)
 \end{aligned}$$

Подставляя формулу (3) в формулу (1), можем получить интересующее нас распределение числа фотонов флуоресценции  $w_N(T)$ . Типичный вид зависимости для трехуровневой молекулы приведен на рис. 3 (сплошная линия).

Средние длительности флуктуирующих оп- и офф-интервалов флуоресценции при таких значениях параметров:  $\tau_{\text{оп}} = 3 \cdot 10^{-3} \text{ с}$ ,  $\tau_{\text{офф}} = 5 \cdot 10^{-3} \text{ с}$ . Временной интервал наблюдения может по-разному соотноситься с оп- и офф-интервалами

флуоресценции. При данных параметрах велика вероятность того, что все время наблюдения придется на off-интервал, поэтому функция  $w_N$  достигает большого значения  $w_0 = 0.515$  в нуле. Если все время наблюдения приходится на один on-интервал, распределение фотонов становится подобным распределению для двухуровневой молекулы, отсюда субпуассоновский пик при  $N = 100$  на рис. 3. Пологое плечо сверху от субпуассоновского пика появляется, так как возможна ситуация, когда в интервал наблюдения попадают частично on- и частично off-интервалы.

## 2. Распределение числа фотонов флуоресценции комплексов нескольких молекул

Пятно возбуждающего лазерного света может накрыть не одну, а две, три и больше молекул (мезоскопическую структуру). Тогда в свет флуоресценции будут вносить вклад фотоны всех этих молекул.

Рассмотрим, как будет выглядеть распределение фотонов флуоресценции нескольких молекул, не взаимодействующих друг с другом.

Пусть нам известны функции  $w_{N_1}^{(1)}(T)$  и  $w_{N_2}^{(2)}(T)$ , описывающие распределение на временном интервале  $T$  фотонов флуоресценции молекул 1 и 2 соответственно. Поскольку процессы испускания фотонов молекулами 1 и 2 независимы, то функция

$$W(N_1, N_2, T) = w_{N_1}^{(1)}(T) w_{N_2}^{(2)}(T)$$

является вероятностью наблюдения на интервале  $T$   $N_1$  фотонов, испущенных первой молекулой, и  $N_2$  фотонов, испущенных второй молекулой. Если измеряться интегральная интенсивность всего спектра флуоресценции двух молекул, то есть подсчитываются все фотоны, испущенные обеими молекулами, функция распределения фотонов двух молекул на временном интервале  $T$  будет описываться следующей формулой:

$$W_2(N|T) = \sum_{n=0}^N w_{N-n}^{(1)}(T) w_n^{(2)}(T).$$

Формула для функции распределения фотонов на интервале  $T$ , испущенных  $M$  молекулами, имеет следующий вид:

$$W_M(N|T) = \sum_{n_1=0}^N w_{N-n_1}^{(1)}(T) \sum_{n_2=0}^{n_1} w_{n_1-n_2}^{(2)}(T) \times \\ \times \sum_{n_3=0}^{n_2} w_{n_2-n_3}^{(3)}(T) \cdots \sum_{n_{M-1}=0}^{n_{M-2}} w_{n_{M-2}-n_{M-1}}^{(M-1)}(T) w_{n_{M-1}}^{(M)}(T).$$

На рис. 4 представлены графики распределения числа фотонов флуоресценции одной, двух, трех и четырех молекул, регистрируемых вместе.

Среднее число  $N(M)$  фотонов флуоресценции  $M$  излучающих молекул пропорционально числу  $M$  самих молекул:  $N(M) \sim M$ . Среднее число фотонов соответствует положению максимумов функций распределения, представленных на рис. 4. Ширина распределения тоже нарастает пропорционально числу молекул. Отклонение от пуассоновского распределения во флуоресценции многих молекул сохраняется. Это показывает рис. 5. Таким образом, субпуассоновская статистика флуоресценции одиночной двухуровневой молекулы порождает субпуассоновскую статистику ансамбля молекул.

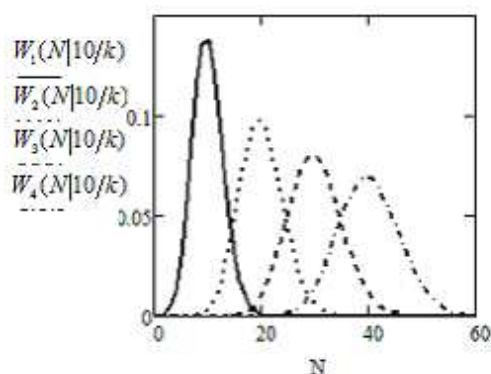


Рис. 4. Распределение фотонов флуоресценции одной, двух, трех и четырех молекул

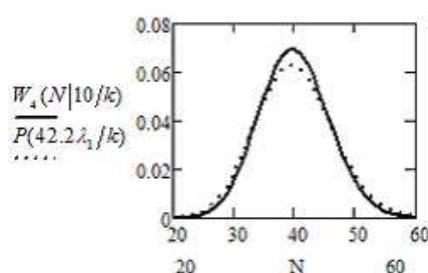


Рис. 5. Распределение фотонов флуоресценции четырех молекул (сплошная линия) и распределение Пуассона с тем же средним числом фотонов (точки)

Типичный вид зависимости  $w_N(T)$  для трехуровневых молекул приведен на рис. 3. Распределение фотонов во флуоресценции двух не взаимодействующих молекул представлено на рис. 3 пунктирной линией. В этом распределении имеется уже два пика с максимумами при  $N = 100$  и  $N = 200$ , причем второй пик существенно ниже первого:  $W_2(0|10^{-3}c) = 0.265$ . Та же тенденция сохраняется и во флуоресценции трех не взаимодействующих молекул, распределение фотонов которой представлено на рис. 3 точками. Третий пик при  $N = 300$  выражен весьма слабо:  $W_3(0|10^{-3}c) = 0.137$ . В функции распределения фотонов флуоресценции четырех молекул пик при  $N = 400$  практически не виден.

### Summary

*A.L. Shchukina.* Fluorescence Photon Number Distribution for Molecular Complexes.

The article deals with the fluorescence of several noninteracting molecules. It is supposed that they are excited by CW laser radiation. The three-level model describing blinking fluorescence of single molecules is considered along with the two-level one. Theoretical equations for the photon number distribution of a molecular complex are derived from the earlier deduced equations for the photon distribution of a single molecule.

**Key words:** single molecules, fluorescence photon number distribution.

### Литература

1. *Осадько И.С.* Селективная спектроскопия одиночных молекул. – М.: Физматлит, 2000. – 320 с.

2. *Osad'ko I.S., Fedyanin V.V.* Manifestation of single macromolecule quantum dynamics in photon distribution function of blinking fluorescence // J. Chem. Phys. – 2009. – V. 130, No 6. – P. 064904-1–064904-11.
3. *Осадько И.С.* Субпуассоновская статистика фотонов флуоресценции одиночного атома, возбуждаемого непрерывным лазерным светом // ЖЭТФ. – 2005. – Т. 128, Вып. 1. – С. 77-87.

Поступила в редакцию  
22.12.09

---

**Щукина Александра Леонидовна** – аспирант Московского педагогического государственного университета.

E-mail: *a.schukina@inbox.ru*