

# HINTS ON THE LUMINESCENCE PHENOMENA THEORY

## ASPECTOS CLAVE EN LA TEORÍA DE LOS FENÓMENOS LUMINISCENTES

Mauro Bacci

*“Nello Carrara” Institute of Applied Physics of the National Research Council (IFAC-CNR), Italy*  
bacci@ifac.cnr.it

### Introduction

The aim of this text is to supply some basic concepts concerning the phenomenon of the fluorescence, while more detailed discussions can be found in the literature (Guilbaut, 1973; Lakowicz, 1999).

Fluorescence is a physical phenomenon within a wider phenomenology, which is called luminescence. It is observed when certain materials, suitably excited, emit electromagnetic radiation. After excitation by radiation, temperature or by chemical/biochemical reactions, materials can dissipate the total energy increase by means of radiative and non-radiative processes. Therefore, low fluorescence emission corresponds to large non-radiative processes and

### Introducción

El objetivo de este texto es presentar algunos conceptos básicos del fenómeno de fluorescencia, pudiéndose encontrar un debate más extenso si se consulta la literatura especializada (Guilbaut, 1973; Lakowicz, 1999).

La fluorescencia es un fenómeno físico que forma parte de una fenomenología más amplia, llamada luminescencia. Se observa cuando ciertos materiales, adecuadamente excitados, emiten radiación electromagnética. Después de provocar la excitación por radiación, temperatura o por reacciones químicas/bioquímicas, los materiales pueden disipar el aumento total de energía por medio de procesos radiativos y

*vice-versa*, high fluorescence occurs at the expense of the non-radiative pathway.

In the past centuries the seemingly magic properties of luminescent materials stimulated a wide scientific interest, but it was not until 1852 that luminescence was described on a solid scientific basis, when Stokes (Stokes, 1852) introduced the term fluorescence to indicate the light emission from the mineral fluorspar ( $\text{CaF}_2$ ) and observed that the emitted light was always of a longer wavelength than the exciting light (Stokes' law). Moreover, it was Stokes himself who gave the helpful directions for observing fluorescence, suggesting the use of two different filters, one to select the exciting radiation and one to isolate the luminescent light.

From a phenomenological point of view, fluorescence is luminescence observed during the excitation, while the term phosphorescence is reserved for the emission that lasts also after removal of the exciting radiation source. So, it is lifetime that is the factor that can be used to distinguish the two phenomena. The physical origin of the two phenomena depends on the spin multiplicity of the electronic states between which the transitions occur: fluorescence refers to an emission between states of the same multiplicity (usually singlets), whereas phosphorescence refers to an emission involving electronic states with different multiplicity (usually from the lowest excited triplet to the ground singlet state). The lifetime of the emission is different in the two cases, depending on whether the transition is permitted (fluorescence) or forbidden (phosphorescence). Typical lifetimes for fluorescence are  $10^{-10}$  to  $10^{-7}$  s, while longer lifetimes ( $10^{-3}$  to 10 s) are characteristic of phosphorescence.

Luminescence can occur in a wide variety of materials, from inorganic crystals to living organisms, even if the emitted radiation is often very weak and

no-radiativos. Por lo tanto, la baja emisión de fluorescencia corresponde a grandes procesos no radiativos y *viceversa*, la alta fluorescencia se produce a expensas de la no radiatividad.

En los siglos pasados, las propiedades aparentemente mágicas de los materiales luminiscentes despertaron un gran interés científico, pero no fue hasta 1852 que se dotó de una base científica sólida a la luminescencia, cuando Stokes (Stokes, 1852) introdujo el término fluorescencia para describir la emisión de luz del mineral fluorita ( $\text{CaF}_2$ ) y observó que la luz emitida siempre tenía una longitud de onda más larga que la luz excitante (Ley de Stokes). Además, fue el propio Stokes quien dio las instrucciones necesarias para observar la fluorescencia, sugiriendo el uso de dos filtros diferentes, uno para seleccionar la radiación excitante y otro para aislar la luz luminiscente.

Desde un punto de vista fenomenológico, la fluorescencia es la luminescencia observada durante la excitación, mientras que el término fosforescencia se reserva para la emisión que continúa aún después de eliminar la fuente de radiación excitante. Es por ello que el tiempo de vida es el factor que se utiliza para distinguir entre los dos fenómenos. El origen físico de ambos fenómenos depende de la multiplicidad de espín de los estados electrónicos entre los que se producen las transiciones: la fluorescencia se refiere a la emisión entre estados de la misma multiplicidad (generalmente singletes), mientras que la fosforescencia se refiere a la emisión que involucra estados electrónicos con multiplicidad diferente (por lo general, desde el triplete excitado más bajo hasta el estado de singlete fundamental). La duración de la emisión es diferente en los dos casos, dependiendo de si la transición está permitida (fluorescencia) o prohibida (fosforescencia). Los tiempos de vida típicos para la fluorescencia son de  $10^{-10}$  a  $10^{-7}$  s, mientras que tiempos de vida más largos ( $10^{-3}$  a 10 s) son característicos de la fosforescencia.

therefore requires very sensitive detectors and/or very intense exciting sources such as lasers to be seen/perceived. Moreover, it must be taken into account that the emission in each material can be quenched by the presence of other compounds that facilitate the return to the ground state through non-radiative channels and, accordingly, reduce the energy dissipated by luminescence. Therefore, the same fluorophore can display different fluorescence lifetimes (and, consequently, different emission intensities) depending on its chemical environment. When works of art are considered, the situation is particularly complicated owing to the variety of materials involved. In fact, many artists' materials (tempera and oil binders, varnishes, dyes, etc.) can exhibit fluorescence. Pigments can complicate the phenomenology, because in some cases pigments are strongly fluorescent, for example zinc white (ZnO) or cadmium pigments, while other pigments (for instance ochres and some copper-based pigments) have an inhibiting effect on the development of fluorescence (de la Rie, 1982). Furthermore, it must be considered that fluorescence from old varnish layers can partially conceal the fluorescence of the paint layers, and hence, render emissions from different pigments (or dyes) difficult to clearly perceive. For instance, the different fluorescence of zinc white and lead white can be masked by an old varnish layer and become clearly evident only after the cleaning procedure (Bacci et al., 2003).

In fact, when more than one material contributes to the fluorescence, as in the case of paintings, the emission spectrum is nothing but the convolution of the emission spectra of each material. Therefore, the emission peak is, as a rule, shifted in comparison to the single peaks. It is important to consider that sometimes, when strong excitation sources are used, further emission due to the Raman effect (Grasselli, Snaveley and Bulkin, 1980; Vandenabeele, Edwards and Moens, 2007) can add up to the fluorescence

La luminiscencia puede ocurrir en una amplia variedad de materiales, desde cristales inorgánicos hasta organismos vivos, incluso cuando la radiación emitida es muy débil, en ese caso se requiere detectores muy sensibles y / o fuentes excitantes muy intensas, como láseres para poder percibirla. Además, debe tenerse en cuenta que la emisión en cada material puede detenerse por la presencia de otros compuestos que facilitan el retorno al estado fundamental a través de canales no-radiativos y, en consecuencia, reducen la energía disipada por la luminiscencia. Por lo tanto, el mismo fluoróforo puede mostrar diferentes tiempos de vida de fluorescencia (y, en consecuencia, distintas intensidades de emisión) dependiendo de su entorno químico. Cuando hablamos de obras de arte, la situación es particularmente complicada debido a la variedad de materiales involucrados. De hecho, muchos materiales artísticos (tempera y aglutinantes a base de aceite, barnices, tintes, etc.) pueden exhibir fluorescencia. Los pigmentos pueden complicar la fenomenología, porque en algunos casos los pigmentos son muy fluorescentes, por ejemplo el pigmento blanco de zinc (ZnO) o los pigmentos a base de cadmio, mientras que otros pigmentos (por ejemplo, ocre y algunos pigmentos a base de cobre) tienen un efecto inhibitorio sobre el desarrollo de la fluorescencia (de la Rie, 1982). Además, debe tenerse en cuenta que la fluorescencia de capas de barniz envejecidas puede ocultar parcialmente la fluorescencia generada por la película pictórica y, por lo tanto, interferir con la fluorescencia emitida por diferentes pigmentos (o tintes). Por ejemplo, la diferencia entre la fluorescencia emitida por los pigmentos blanco de zinc y blanco de plomo se puede ver enmascarada por una capa de barniz envejecido y hacerse evidente solo después del procedimiento de limpieza (Bacci et al., 2003).

De hecho, cuando más de un material contribuye a la fluorescencia, como en el caso de las pinturas, el espectro de emisión no es más que la convolución de los espectros de emisión de cada material. Por lo tanto, el pico de emisión aparece, por regla general, desplazado

radiation. Without entering into details about the Raman effect, for practical purposes it is important to keep in mind that Raman radiation follows the exciting radiation, whereas in other cases the emission peak does not change when the exciting radiation is changed, so it is easy to discriminate between the two effects.

In complex cases, excitation spectra can be useful to distinguish the various materials that fluorescence results from. The procedure followed is to select and fix one emitted wavelength (usually corresponding to the maximum) and record its intensity with a monochromator while varying the exciting radiation. In such a way, one obtains information not only about the most efficient excitation wavelengths, but also about the presence of the different chromophores that contribute to the fluorescence examined.

Recently (Comelli et al., 2004), an innovative fluorescence lifetime imaging (FLIM) technique was proposed, which is very suitable to discriminate different chromophores and to visualise their spatial distribution by means of a 2D map. The technique is based on the exponential decay of fluorescence intensity immediately following excitation (see above). In cases when different materials have similar emission spectra, lifetime provides a further means of discriminating between fluorophores.

Care must be taken when the colour of fluorescent materials is measured. In fact, in such a case, the perceived colour is the result of the additive mixture of the normally reflected colour and the emitted fluorescence radiation. The colour is described by means of CIE tristimulus values (X, Y and Z), calculated using the reflectance (or better radiance) factor, which is the ratio of the radiation diffused by the sample in comparison with the radiation diffused by a white standard, such as BaSO<sub>4</sub> or Spectralon®

en comparación con los picos individuales de cada material. Es importante mencionar que a veces, cuando se utilizan fuentes de excitación fuertes, la emisión adicional debida al efecto Raman (Grasselli, Snavely y Bulkin, 1980; Vandenabeele, Edwards y Moens, 2007) puede aumentar la radiación de fluorescencia. Sin entrar en detalles sobre el efecto Raman, para propósitos prácticos es importante tener en cuenta que la radiación Raman sigue la radiación excitante, mientras que en otros casos el pico de emisión no cambia cuando se cambia la radiación excitante, por lo que es fácil discriminar entre los dos efectos.

En casos complejos, los espectros de excitación pueden ser útiles para distinguir los diversos materiales que producen la fluorescencia. El procedimiento a seguir es seleccionar y corregir una longitud de onda emitida (que generalmente corresponde al máximo) y registrar su intensidad con un monocromador mientras varía la radiación excitante. De esta manera, se obtiene información no solo sobre las longitudes de onda de excitación más eficientes, sino también sobre la presencia de los diferentes cromóforos que contribuyen a la fluorescencia examinada.

Recientemente (Comelli et al., 2004), propuso una técnica innovadora de microscopía de tiempo de vida de imagen fluorescente (FLIM, de sus siglas en inglés), que es muy adecuada para discriminar diferentes cromóforos y visualizar su distribución espacial por medio de un mapa 2D. La técnica se basa en la disminución exponencial de la intensidad de fluorescencia inmediatamente después de la excitación (ver arriba). En los casos en que diferentes materiales tienen espectros de emisión similares, el tiempo de vida proporciona un medio adicional para discriminar entre fluoróforos.

Se debe tener cuidado cuando se mide el color de materiales fluorescentes. De hecho, en tal caso, el color percibido es producto de la suma del color normalmente reflejado y la radiación de fluorescencia emitida.

(Johnston-Feller, 2001), while they are illuminated under exactly the same conditions. The reflectance factor of a nonfluorescent material is independent of the source used in its determination, whereas for fluorescent materials this factor depends on the spectral power distribution of the source irradiating the sample. In fact, in this latter case, the fluorescence intensity, which is added to the diffused radiation, can change by changing the illuminating source. Consequently, highly fluorescent materials may show a reflectance higher than their actual one, due to the contribution of their fluorescence component. Finally, another aspect must be considered to properly interpret the experimental findings when complex materials are examined. In fact, if a nonfluorescent compound absorbs in the spectral range that excites the fluorescent compound or in the spectral range of the fluorescence emission, decrease or even complete quenching of the fluorescence can occur when the two materials are both present (Dyer, Verri and Cupitt, 2013).

El color se describe mediante valores triestímulos CIE (X, Y y Z), calculados utilizando el factor de reflectancia (o mejor radiancia), que es la relación de la radiación difundida por la muestra en comparación con la radiación difundida por un estándar blanco, como BaSO<sub>4</sub> o Spectralon® (Johnston-Feller, 2001), mientras son iluminados exactamente en las mismas condiciones. El factor de reflectancia de un material no fluorescente es independiente de la fuente utilizada, mientras que para los materiales fluorescentes, este factor depende de la distribución de potencia espectral de la fuente que irradia la muestra. De hecho, en este último caso, la intensidad de la fluorescencia, que se agrega a la radiación difusa, puede cambiar al cambiar la fuente de iluminación. En consecuencia, los materiales altamente fluorescentes pueden mostrar una reflectancia más alta que la real, debido a la contribución de su componente de fluorescencia. Finalmente, hay otro aspecto que debe tenerse en cuenta para interpretar adecuadamente los resultados experimentales cuando se examinan materiales complejos. Si un compuesto no fluorescente absorbe en el rango espectral que excita el compuesto fluorescente o en el rango espectral de la emisión de fluorescencia, puede producirse una disminución o incluso una extinción completa de la fluorescencia cuando ambos materiales están presentes (Dyer, Verri y Cupitt, 2013).

## References | Bibliografía

- Bacci, M., Casini, A., Cucci, C., Picollo, M., Radicati, B., and Vervat, M. (2003). Non-invasive spectroscopic measurements on the "Il Ritratto della Figliastro" by Giovanni Fattori: identification pigments and colourimetric analysis. *Journal of Cultural Heritage*, 4, pp. 329-336.
- Comelli, D., D'Andrea, C., Valentini, G., Cubeddu, R., Colombo, C., and Toniolo, L. (2004). Fluorescence lifetime imaging and spectroscopy as tools for non-destructive analysis of works of art. *Applied Optics*, 43, pp. 2175-2183.
- Comelli, D., Artesani, A., Nevin, A., Mosca, S., Gonzalez, V., Eveno, M., and Valentini, G. (2017). Time-Resolved Photoluminescence Microscopy for the Analysis of Semiconductor-Based Paint Layers. *Materials*, 10, pp. 1335-1351.
- Dyer, J., Verri, G., and Cupitt, J. (2013). *Multispectral Imaging in Reflectance and Photo-induced Luminescence Modes: A User Manual*. London: The British Museum
- Grasselli, J.G., Snavely, M.K., and Bulkin, B.J. (1980). Applications of Raman Spectroscopy. *Physics Reports*, 65, pp. 231-344.
- Guilbaut, G.G. (1973). *Practical Fluorescence: Theory, Methods, and Techniques*. New York: Marcel Dekker Inc.

- Johnston-Feller, R. (2001). *Color Science in the Examination of Museum Objects: Nondestructive Procedures*. Los Angeles: The Getty Conservation Institute.
- Lakowicz, J.R. (1999). *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 2<sup>nd</sup> Ed. New York: Kluwer Academic.
- Lakowicz, J.R. (2006). *Principles of fluorescence spectroscopy*. New York: Springer.
- de la Rie, R.E. (1982). Fluorescence of Paint and Varnish Layers (Part I). *Studies in Conservation*, 27, pp. 1-7.
- de la Rie, R.E. (1982). Fluorescence of Paint and Varnish Layers (Part II). *Studies in Conservation*, 27, pp. 65-69.
- de la Rie, R.E. (1982). Fluorescence of Paint and Varnish Layers (Part III). *Studies in Conservation*, 27, pp. 102-108.
- Stokes, G.G. (1852). On the Change of Refrangibility of Light. *Phil. Trans. R. Soc. Lond*, 142, pp. 463-562.
- Thoury, M., Delaney, J.K., de la Rie, E.R., Palmer, M., Morales, K., and Krueger, J. (2011). Near-infrared luminescence of cadmium pigments: in situ identification and mapping in paintings. *Applied Spectroscopy*, 65(8), pp. 939-951.
- Vandenabeele, P., Edwards, H.G.M., and Moens, L. (2007). A Decade of Raman Spectroscopy in Art and Archaeology. *Chemical Reviews*, 107, pp. 675-686.
- Verri, G., Clementi, C., Comelli, D., Cather, S., and Piqué, F. (2008). Correction of Ultraviolet-Induced Fluorescence Spectra for the Examination of Polychromy. *Applied Spectroscopy* 62(12), pp. 1295-1301.
- Verri, G., Comelli, D., Cather, S., Saunders, D., and Pique, F. (2008). Post-capture data analysis as an aid to the interpretation of ultraviolet-induced fluorescence images. In D. G. Stork and J. Coddington (Eds.), *Computer Image Analysis in the Study of Art*, *Proc. SPIE 6810*, pp. 681001-681012.
- Verri, G. (2009). The application of visible-induced luminescence imaging to the examination of museum objects. In *Proceedings of SPIE, the International Society for Optical Engineering*, 7391, pp. 7391051-7391063.
- Verri, G., and Saunders D. (2014). Xenon flash for reflectance and luminescence (multispectral) imaging, in Cultural heritage applications. *The British Museum Technical Bulletin*, 8, pp. 83-92.
- Verri, G., Keller, A.T., Piqué, F., and Aldrovandi, A. (2015). Ultraviolet-Induced Luminescence Imaging. In F. Piqué and G. Verri (Eds.), *Organic Materials in Wall Paintings*, pp. 76-82. Los Angeles: The Getty Conservation Institute.