

文章编号:1673-1689(2007)04-0056-06

几种醇类物的荧光效率及荧光寿命研究

徐辉¹, 朱拓², 虞锐鹏³, 顾恩东¹, 史爱敏¹

(1. 江南大学 通信与控制工程学院, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 理学院, 江苏 无锡 214122; 3. 江南大学 分析测试中心, 江苏 无锡 214122)

摘要:以硫酸奎宁稀溶液为参比, 计算了 7 种醇类物的荧光量子效率。结果发现这几种醇类物的荧光量子效率较低, 属于弱荧光物质; 作者对不同体积比的甲醇-乙醇混合溶液的荧光量子效率进行了计算, 发现存在着最佳体积比使荧光量子效率达到最大; 同时, 通过 Forster 公式对这 7 种醇类物的荧光寿命进行了计算, 其数值均处在荧光寿命允许的范围, 进一步证明了紫外激励下这几种醇类物质发射的光是荧光, 为醇类物质的进一步深入研究提供了依据。

关键词: 光谱学; 荧光光谱; 荧光效率; 荧光寿命; 参比法; 硫酸奎宁

中图分类号: O 433. 4

文献标识码: A

Fluorescence Efficiency and Fluorescence Lifetime of Several Alcohol Materials

XU Hui¹, ZHU Tuo², YU Rui-peng³, GU En-dong¹, SHI Ai-ming¹

(1. School of Communication and Control Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122; 2. School of Science, Jiangnan University, Wuxi 214122; 3. Analysis and Test Center, Jiangnan University, Wuxi 214122)

Abstract: In this study, with quinine bisulphate as a reference, fluorescence efficiency for seven alcohol materials were determined. It is found that all of them are weak fluorescence materials. In order to get the best fluorescence efficiency from the mixture of methanol and ethanol materials, the optimum volume ratio was determined. Furthermore, the fluorescence lifetime values for the seven materials were calculated through Forster equation. All of them are located at the sphere of the fluorescence lifetime. This results further proved that the light emitted under UV-light should be the very fluorescence light.

Key words: spectroscopy; fluorescence spectra; fluorescence efficiency; fluorescence lifetime; reference techniques; quinine bisulphate

荧光效率和荧光寿命作为荧光物质的重要发光参数, 经常需要加以测量。影响荧光量子效率的因素很多, 如温度、溶剂的介电常数、溶剂粘度、pH

值、激发波长等^[1-3]。L. C. Pereira 等发现 9, 10-diphenyl anthracene 的荧光效率在室温下为 0.88, 而在 190 K 以下时, 却近似为 1^[4]; S. Astilean 在对有

收稿日期: 2006-07-05.

基金项目: 国家自然科学基金项目(20276027); 江苏省自然科学基金项目(BK2005010).

作者简介: 徐辉(1983-), 男, 江苏扬州人, 检测技术与自动化装置硕士研究生.

通讯作者: 朱拓(1957-), 男, 江苏苏州人, 教授, 博导, 主要从事现代光学研究. Email: tzhu@jiangnan.edu.cn

机染料分子荧光进行分析后发现,荧光效率还会影响物质的自发辐射速率^[5]。在实验中,可以通过上述因素的调节使待测物质的荧光效率达到最佳。在荧光寿命的测量应用方面,荧光寿命成像技术(FILM)目前被广泛应用于荧光探针技术之中^[6-10],以帮助人们更深入地了解所研究体系发生的变化。

许多学者在测量其他物质的荧光效率及荧光寿命的过程中,经常将醇类物质作为有机溶剂进行分析。Klaue Suhling等在研究水和丙三醇混合溶液的荧光特性时发现,随着混合溶液中丙三醇含量的增大,荧光寿命不断减小,发现荧光寿命与混合溶液的折射率成反比^[11];G. T. Ruiz等以甲醇为溶剂,对dppz的荧光寿命及荧光效率进行了测量^[12];沈强等以不同单元醇作为溶剂,发现单体苊的荧光寿命随着醇分子烃链长度的增长而增长^[13]。

作者在前期工作中,已经对几种醇类物质的自身荧光特性进行了分析讨论,但尚未见到对醇类物质自身荧光效率及荧光寿命的报道。为了进一步深入了解醇类物质,作者对7种醇类物质的上述两项数值进行了计算分析。结果发现,这几种醇类物的荧光效率都很低,与常规荧光物质相比,属于弱荧光物质,这就解释了为何在过去的实验中醇类物质大多作为有机溶剂出现,而很少有学者去考虑它的荧光特性;同时计算了单元醇和多元醇的荧光寿命值,得出的数值均在荧光寿命允许的范围内,进一步证实了醇类物能够在紫外激励下发射出荧光。

1 材料与方 法

1.1 装置

采用北京瑞利分析仪器公司的UV1201-紫外/可见光光度计测量系统获得待测样品的吸收光谱,美国Roper Scientific公司的SP-2558多功能光谱测量系统获得荧光光谱。所使用的光源为氘灯,样品所发射的荧光经单色仪系统再由CCD采集信号。激发单色仪系统中的光栅为每毫米1200刻线的闪耀光栅(闪耀波长为300 nm),发射单色仪中用每毫米150刻线光栅(闪耀波长为500 nm)。

1.2 试剂

甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇:美国天地公司生产;乙二醇、丙三醇:Sigma公司生产;所用醇均为色谱纯;超纯水:无锡华晶公司产品;硫酸奎宁:分析纯,中国国药集团化学试剂有限公司产品。

1.3 方法

实验中将硫酸奎宁溶于0.05 mol/L的稀硫酸

溶液,配成 2.5×10^{-5} mol/L的硫酸奎宁溶液。测量吸收光谱时,以水为参比,光谱带宽2 nm,取样间隔2 nm,用190~400 nm波长的紫外光照射;在荧光效率实验时,选择激发波长为198 nm,扫描时间为5 s;在荧光寿命实验中,选择激发波长为220 nm,扫描时间为15 s。利用多功能光谱仪得到相应的荧光光谱图。

2 结果与讨论

2.1 醇类物的荧光效率

实验上可以用参比法测定荧光量子效率。通过选择吸收光谱中标准溶液与待测物溶液吸收曲线的相交点所对应的波长作为激发波长,以此来激发待测物和标准物,获得相应的荧光强度。荧光量子效率可以表示为^[14]:

$$\Phi_{fx} = \frac{n_x^2}{n_{std}^2} \cdot \frac{F_x}{F_{std}} \cdot \Phi_{std} \quad (1)$$

式中 Φ_{std} 为标准物的荧光量子效率, n_x 和 n_{std} 分别为样品和标准物的折射率, F_x 和 F_{std} 分别为样品和标准物的荧光峰值强度。由于硫酸奎宁化学性质比较稳定、量子产率高且吸收光谱与发射光谱基本不重叠,因而经常被用来作为标准物^[15]。硫酸奎宁在0.05 mol/L的稀硫酸溶液中的荧光量子效率为0.55,因此(1)式又可以写成:

$$\Phi_{fx} = \frac{n_x^2}{n_{std}^2} \cdot \frac{F_x}{F_{std}} \cdot 0.55 \quad (2)$$

图1给出了在7种醇类物和硫酸奎宁溶液的紫外吸收图,硫酸奎宁由于自身具有 $n \rightarrow \sigma^*$ 、 $\pi \rightarrow \pi^*$ 两种跃迁,所以出现两个吸收峰。从图1可以看出,吸收曲线几乎都相交于198 nm这一点。因此,以198 nm为激发波长,测得上述溶液的荧光光谱,如图2(a)-(g),图中左侧波形依次为甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、乙二醇和丙三醇的荧光光谱,右侧则为硫酸奎宁在198 nm下的荧光光谱。图中上下横坐标所示均为荧光对应波长,左侧、右侧纵坐标分别为所测醇、硫酸奎宁的相对荧光强度。在获得相对荧光强度比值后再根据式(2)计算得出7种待测醇类物的荧光效率。

以甲醇为例,在室温下其折射率 $n_x = 1.3288$,而配得的硫酸奎宁溶液在相同测试条件下的折射率 $n_{std} = 1.336$,在198 nm激发下,甲醇和硫酸奎宁溶液的相对荧光强度分别为 $F_x = 115.13$ 和 $F_{std} = 62\ 235.69$,代入公式(2),可得甲醇的荧光量子效率

$$\Phi_{fx} = \frac{n_x^2}{n_{std}^2} \cdot \frac{F_x}{F_{std}} \cdot 0.55 = \left(\frac{1.3288}{1.336} \right)^2 \cdot \frac{115.13}{62\ 235.69} \cdot 0.55 = 0.001$$

其他醇类物的荧光量子效率可以此类推,结果见表1。

表1 7种醇类物荧光效率的测定结果

Tab.1 The calculated fluorescence efficiency of the 7 alcohol materials

物质	折射率 ^[16]	激发波长	相对荧光强度	荧光效率
甲醇	1.328 8	198	115.13	0.001 0
乙醇	1.361 1	198	260.87	0.002 4
正丙醇	1.385 0	198	124.53	0.001 2
异丙醇	1.377 6	198	124.73	0.001 2
正丁醇	1.399 3	198	157.54	0.001 5
乙二醇	1.430 0	198	142.51	0.001 4
丙三醇	1.474 0	198	148.47	0.001 6
硫酸奎宁	1.336 0	198	62 235.69	0.550 0

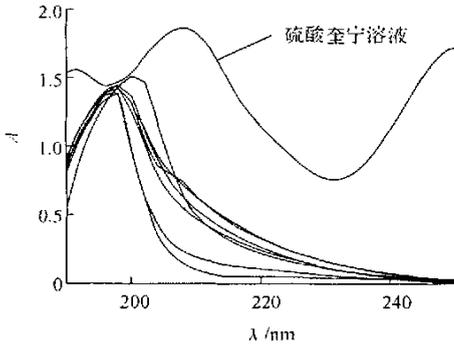


图1 7种醇类物和硫酸奎宁溶液的紫外吸收图

Fig.1 Absorption spectra of quinine bisulphate and alcohol materials

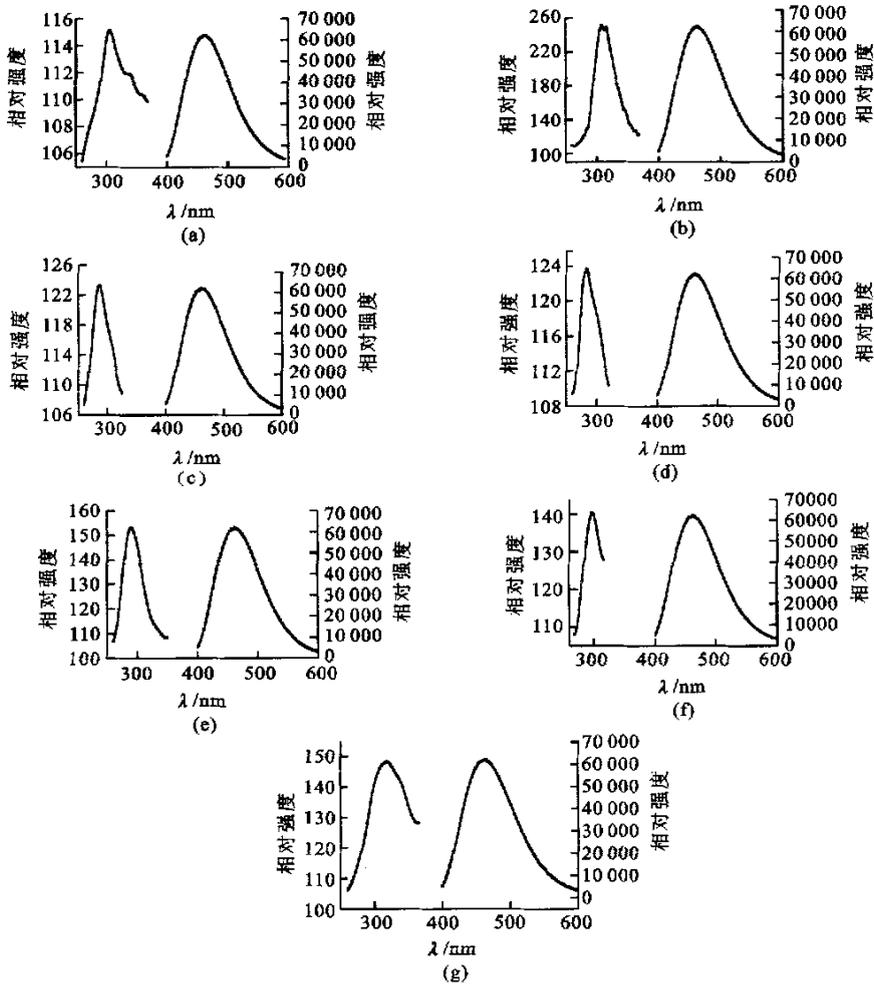


图2 198 nm激发下7种醇类物和硫酸奎宁溶液的荧光光谱

Fig.2 Fluorescence spectra of quinine bisulphate and alcohol materials excited by 198 nm

常用的荧光化合物的荧光效率通常处在 0.1~1.0 之间。表 1 可见,这几种待测醇类物质的荧光效率都很低,最强的乙醇也仅有 0.002 4。这也许就是为什么很长一段时间以来,人们在实验中往往忽略了醇类物质的荧光特性,而单纯将它们作为有机溶剂进行分析的原因。另外,醇类物质的荧光效率相对较为稳定,除乙醇外,随着碳原子数的增加,其荧光效率略有微弱的上升,但基本维持在 0.001 5 左右。

2.2 甲醇-乙醇混合溶液的荧光效率

为进一步深入探索混合溶液的荧光效率与其组分之间的关系,将甲醇、乙醇按不同体积比混合,按照 3.1 的方法对其量子效率进行了测定。混合溶液的紫外吸收光谱吸收曲线与图 1 相比并无变化,仅是吸光度略有增加,如图 3。图中混合溶液与硫酸奎宁吸收曲线相交点有两处:194 nm 和 198 nm。但由于在 194 nm 激发下,混合溶液的荧光

光谱中毛刺较多,故选用 198 nm 为荧光光谱的激发波长。所得混合溶液荧光光谱如图 4(a)~(i)所示,其中乙醇与甲醇体积比依次为 1:9、1:8……9:1。坐标衡量标准和图 2 一样。

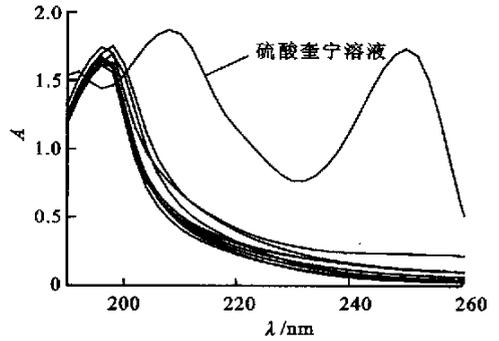


图 3 甲醇-乙醇混合溶液和硫酸奎宁溶液的紫外吸收图
Fig. 3 Absorption spectra of quinine bisulphate and the mixture of methanol and ethanol

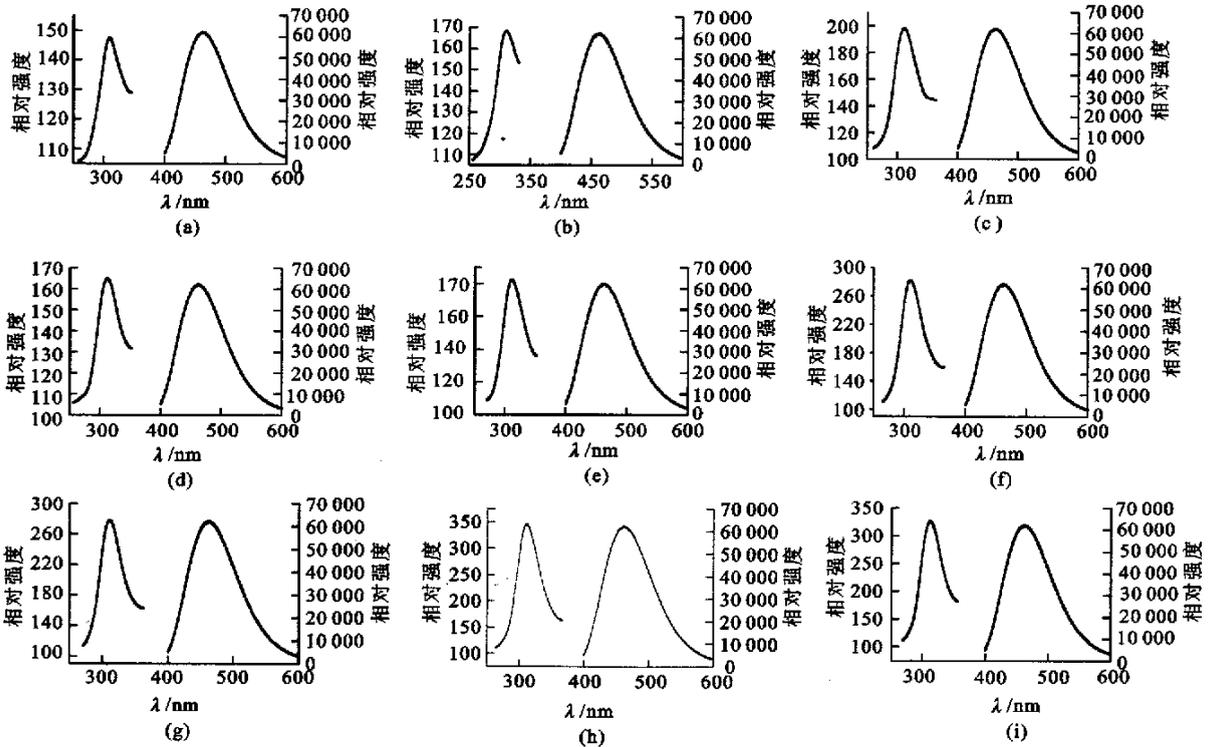


图 4 198 nm 激发下甲醇-乙醇混合溶液和硫酸奎宁溶液的荧光光谱

Fig. 4 Fluorescence spectra of quinine bisulphate and the mixture of methanol and ethanol excited by 198 nm

从表 2 中可以看出,混合溶液的荧光效率并不是随着乙醇体积比的增加而升高,也没有随着甲醇体积比的增加而降低,而是存在着一个最佳的体积比。在乙醇和甲醇的体积比达到 4:1 时,荧光效

率达到最大,甚至超过了 100%乙醇的荧光效率。这可能是由于在该体积比下,甲醇和乙醇分子的结合进一步趋近于平面刚性结构,导致荧光效率的加大。其具体原因有待进一步探索。

表2 甲醇-乙醇混合溶液荧光效率的测定结果

Tab.2 The calculated fluorescence efficiency of the mixture of methanol and ethanol

乙醇 体积 分数/%	甲醇 体积 分数/%	折 射 率	激 发 波 长/ nm	相 对 荧 光 强 度	荧 光 效 率
10	90	1.34	198	148.41	0.0013
20	80	1.345	198	168.38	0.0015
30	70	1.346	198	197.79	0.0018
40	60	1.347	198	164.71	0.0015
50	50	1.348	198	181.92	0.0016
60	40	1.355	198	281.53	0.0026
70	30	1.357	198	277.41	0.0025
80	20	1.361	198	345.46	0.0032
90	10	1.363	198	327.85	0.0030

2.3 醇类物的荧光寿命

没有非辐射去活化过程存在的情况下荧光分子的寿命成为内在寿命,用 τ_0 表示,又称本征辐射寿命;而通常意义上所说的荧光寿命是指实际辐射寿命 τ ,且 τ_0

$$\tau = \Phi\tau_0 \quad (3)$$

Φ 为辐射过程物质的荧光量子产率。

当物质的紫外吸收光谱和荧光光谱在波数 $\tilde{\nu}_0$ 处存在镜像关系时,Förster提出以下列公式计算 τ_0 ^[11]:

$$\frac{1}{\tau_0} = 2.88 \times 10^{-9} n^2 \int \frac{(2\nu - \tilde{\nu})^3}{\tilde{\nu}} \epsilon d\tilde{\nu} \quad (4)$$

式中 $\tilde{\nu}$ 为波数, $\epsilon(\tilde{\nu})$ 为在一定激发波长下,待测物质的摩尔消光系数; n 为待测物质的折射率。

根据 Beer 定律 $A = \epsilon Cl$,得

$$\epsilon = \frac{A}{Cl} \quad (5)$$

其中 ϵ 为物质的摩尔消光系数, C 为物质的摩尔浓度, l 为光程, A 为吸光度。实验所用比色皿的口径为1 cm,故 $l = 1$ 。

(5)代入(4):

$$\frac{1}{\tau_0} = 2.88 \times 10^{-9} n^2 \int \frac{(2\nu - \tilde{\nu})^3}{\tilde{\nu}} d\tilde{\nu} \quad (6)$$

因为在220 nm激发下这几种醇类物质的荧光谱线较为清晰,且荧光强度较大,故在进行荧光寿命测定中将该波长作为激发光。

同样以甲醇的荧光寿命计算过程为例。在室温下其折射率 $n = 1.3288$,甲醇对220 nm紫外光的吸光度 $A = 0.2736$,甲醇的摩尔浓度 C 为固定值24.75,根据公式(5),计算出甲醇的摩尔消光系数

$$\epsilon = \frac{A}{C} = \frac{0.2736}{24.75} \cdot 0.011 \quad (7)$$

公式(6)中的积分范围为在220 nm激发下甲醇的荧光展宽27174~38462 cm^{-1} , $\tilde{\nu}_0$ 为该激发波长下荧光峰所对应的位置37594 cm^{-1} 。将公式(7)和上述数值代入公式(6)得到:

$$\tau_0 = [2.88 \times 10^{-9} (1.3288)^2 \cdot 0.011 \cdot \int_{38462}^{27174} \frac{(2 \times 37594 - \tilde{\nu})^3}{\tilde{\nu}} d\tilde{\nu}]^{-1} \cdot 0.647 \times 10^{-3} \text{s}$$

由表1得到的甲醇荧光量子效率 Φ ,根据公式(3)计算甲醇的荧光寿命:

$$\tau = \Phi\tau_0 = 0.001 \times 0.647 \times 10^{-3} = 647 \text{ ns}$$

其他醇类物的荧光寿命的具体数值如表3所示。醇类物质的荧光寿命较长,几种单元醇的荧光寿命都在数百纳秒,不同醇之间荧光寿命差别较大,异丙醇最低仅有117 ns,而两种多元醇的荧光寿命急剧加大,达到2000 ns以上,产生差异的原因有待于今后的进一步探索。

表3 7种醇类物荧光寿命的测定结果

Tab.3 The calculated fluorescence lifetime of the 7 alcohol materials

物质	折 射 率 n	吸 光 度 A	摩 尔 浓 度 C / (mol/L)	荧 光 展 宽/ cm^{-1}	$\tilde{\nu}_0$ / cm^{-1}	$\int \frac{(2\nu - \tilde{\nu})^3}{\tilde{\nu}} \cdot d\tilde{\nu}$	τ_0 / s	荧 光 效 率	τ / ns
甲醇	1.3288	0.2736	24.75	38462~27174	37594	2.75×10^{13}	6.47×10^{-5}	0.0010	647
乙醇	1.3611	0.2509	17.15	38462~23810	39370	5.49×10^{13}	2.33×10^{-5}	0.0024	559
正丙醇	1.3850	0.3349	13.42	38462~30769	41152	2.46×10^{13}	2.95×10^{-5}	0.0012	354
异丙醇	1.3776	0.3396	13.10	38462~31250	41152	2.25×10^{13}	9.79×10^{-6}	0.0012	117
正丁醇	1.3993	0.2226	10.95	38462~28571	41152	3.54×10^{13}	2.46×10^{-5}	0.0015	369
乙二醇	1.4300	0.1059	17.95	37313~31646	40486	1.67×10^{13}	1.73×10^{-4}	0.0014	2422
丙三醇	1.4740	0.0466	13.71	38462~27397	37313	2.56×10^{13}	1.83×10^{-4}	0.0016	2928

3 结 语

通过实验分析与理论计算,得出了醇类物属于弱荧光物质这一结论,其荧光量子效率只有常规荧

光物质的百分之一甚至千分之一,这也解释了为什么其荧光特性一直为众多学者所忽略的原因。另外,通过荧光寿命的理论计算,再次证明了作者之前的结论,即在紫外激励下,醇类物可以发射出荧光。

参考文献(References):

- [1] 王彦吉,宋增福,光谱分析与色谱分析[M]. 北京:北京大学出版社,1995:111.
- [2] Richardson M C. Self-focusing and optical damage in Cr:LiSAF and Cr:LiCAF[J]. **Proceeding of SPIE**,1993,1848:392-402.
- [3] Farrukh U O. Temperature distribution in side and end pumped laser crystal rods: temporal and spatial variation[J]. **Applied Optics**,1993,32(12):2075-2081.
- [4] Pereira L C. Temperature effects on fluorescence quantum efficiency of 10-diphenyl anthracene[J]. **Journal of Photochemistry**,1978,9(4):363-367.
- [5] Astilean S. Quantum efficiency and the photonic control of molecular fluorescence in the solid state[J]. **Applied Physics**,2002,B75:591-594.
- [6] Scully A. Development of a laser-based fluorescence microscope with subnanosecond time resolution[J]. **Journal of Fluorescence**,1996,6(2):119-125.
- [7] Scully A. Application of fluorescence lifetime imaging microscopy to the investigation of intracellular PDT mechanisms [J]. **Bioimaging**,1997,5:9-18.
- [8] Dowling K. High resolution time-domain fluorescence lifetime imaging for biomedical applications[J]. **Journal of Modern Optics**,1999,46(2):199-209.
- [9] Dowling K. Fluorescence lifetime imaging with picosecond resolution for biomedical applications[J]. **Optical Letters**,1998,23(10):810-812.
- [10] Bastiaens P. Fluorescence lifetime imaging microscopy: spatial resolution of biochemical processes in the cell[J]. **Trends in Cell Biology**,1999,(9):48-52.
- [11] Klause Suhling. The influence of the refractive index on EGFP fluorescence lifetimes in mixtures of water and glycerol [J]. **Proceeding of SPIE**,2001,4259:92-101.
- [12] Ruiz G T. A contrast between the electrochemically and photochemically induced reduction of dppz[J]. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**,2006,179(3):289-297.
- [13] 沈强,李干佐,黄延章,等,醇对水中 DDAHPS 分子聚集行为的影响[J]. 物理化学学报,1999,15(3):216-221.
SHEN Qiang, LI Gan-zuo, HUANG Yan-zhang, et al. The Influence of alcohol on the aggregation behavior of DDAHPS molecules in water[J]. **CTA Physico-Chemical SINI A**,1999,15(3):216-221. (in Chinese)
- [14] 慈云祥,贾欣,荧光量子效率的简化测量方法[J],分析化学,1986,14(6):616-617.
CI Yan-xiang, JIA Xing. Determination of relative fluorescence quantum yields using a simplified method[J]. **Analysis Chemistry**,1986,14(6):616-617.
- [15] 魏永巨,李娜,秦身钧,磺基水杨酸的荧光光谱与荧光量子产率[J]. 光谱学与光谱分析 2004,24(6):648-651.
WEI Yong-ju, LI Na, QIN Shen-jun. Fluorescence spectra and fluorescence quantum yield of sulfosalicylic acid[J]. **Pectroscopy and Spectral Analysis**,2004,24(6):648-651.
- [16] 徐寿昌. 有机化学[M]. 北京:高等教育出版社,1993.

(责任编辑:朱明)