

荧光偏振发射平台法及其应用

黄贤智* 陈胜**

(厦门大学化学系, 厦门, 361005)

摘要 本文从原理上叙述荧光偏振发射平台法,并用荧光单体-单体混合物及单体-聚合物体系进行验证试验。前者如荧光黄-罗丹明S(或四碘荧光素、或罗丹明B),后者如罗丹明6G-罗丹明6G聚合物体系,结果满意。

关键词 荧光, 荧光偏振。

1 引言

自然界样品中往往共存着多种荧光单体,或者共存着单体和聚合物,人们常用其吸收光谱和荧光发射光谱的差异来加以辨别。Lakowicz^[1]指出,荧光体的荧光偏振值与荧光发射波长无关,若荧光偏振发射谱有差异,就意味着存在不同状态的荧光体。Handa等^[2]曾用其差异来辨别2-乙基吡啶及其激基缔合物,但未见有关偏振发射平台法的系统报道。本文从原理上进一步阐述了荧光偏振发射平台法,并用荧光黄和罗丹明S(或四碘荧光素、或罗丹明B)混合物,以及罗丹明6G和罗丹明6G聚合物体系,验证了方法的可靠性,结果满意。

2 方法原理

在偏振光激发下,粘性介质中的荧光体所发射的荧光亦为偏振光。荧光偏振 P 定义为

$$P = \frac{I'_{\parallel} - I'_{\perp}G}{I'_{\parallel} + I'_{\perp}G} \quad (1)$$

式中 I'_{\parallel} 、 I'_{\perp} 分别为起偏片和检偏片偏振取向互为平行和互为垂直时所测得的荧光强度, G 为校正因子。由于溶液中的荧光体被激发时存在着光选择性,以及吸收光子和发射光子时电偶极矩并非共线,即存在平均角移 α ,因此, P 值应落于 $0.50 \sim -0.33$ 之间。由实践得知 α 值与激光波长有关而与发射波长无关,故由偏振激发谱可知,在一定波长的偏振光激发下,不同荧光体的发射区会出现一偏振值不同的平台区^[1]。

设溶液中存在有荧光体A和B两个组分,它们具有如图1(上)所示的发射光谱;另设在同一偏振波长光激发下, $P_A < P_B$,则可以预计,在其偏振发射谱中会出现如图1(下)所示的不同偏振值的平台区及其过渡区。据此可以用来辨别共存的不同荧光体。

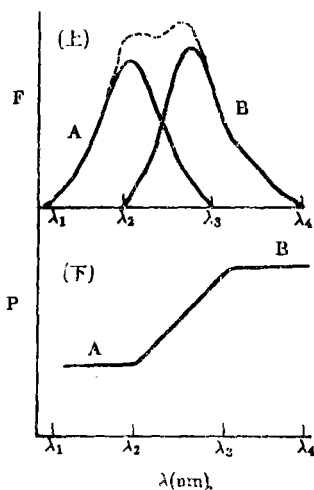


图1 荧光体A和B共存时的发射谱(上)和荧光偏振发射谱(下)

** 厦门大学化学系88届硕士论文的一部分。

3 结果与讨论

3.1 不同荧光单体的分辨

图2为荧光黄(80ng/ml)和罗丹明S(3200ng/ml)混合物于490nm光激发下的荧光发射光谱(虚线)和偏振发射谱(实线),可见由其偏振发射谱来辨别荧光黄($P = 0.2$)和罗丹明S($P = 0.36$)容易得多。荧光黄和四碘荧光素(或罗丹明B)混合物的实验结果相似,文中不予详述。

3.2 荧光单体和聚合物共存的分辨

图3(上)的曲线a和b分别为浓度 10^6 ng/ml和 10^3 ng/ml罗丹明6G溶液的发射谱。曲线a于600nm附近有一明显的肩部,而曲线b则没有,根据一般知识,可以认为在 10^6 ng/ml高浓度的罗丹明6G溶液中已有部分转化为相应的聚合物,其偏振发射光谱应出现两个平台区,曲线b相应的溶液稀得多,基本上不存在聚合物,其偏振发射谱应只出现一偏振值基本恒定的平台。实验结果与设想相符(见图3下)。

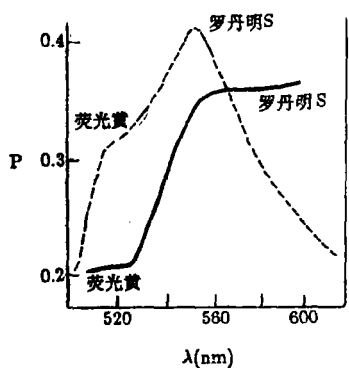


图2 荧光黄和罗丹明S的发射谱(虚线)和偏振发射谱(实线)

λ_{ex} : 490nm; 介质: 60%甘油

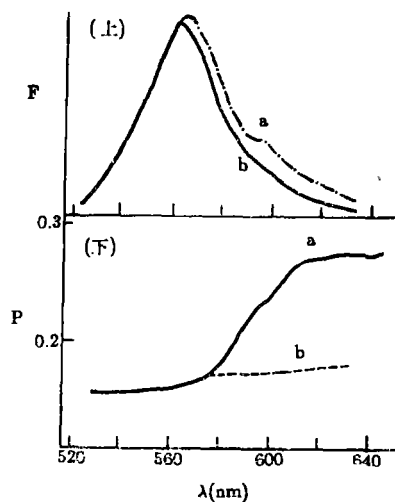


图3 罗丹明6G的发射谱(上)和偏振发射谱(下)

曲线a罗丹明6G 10^6 ng/ml,
曲线b罗丹明6G 10^3 ng/ml

λ_{ex} : 500nm; 介质: 甘油50%。

最近本实验室江云宝等用此法来辨别共存的十六烷基三苯基溴化磷及其激基缔合物,亦获得满意的结果。

4 参 考 文 献

- 1 Lakowicz J R. "Principles of Fluorescence Spectroscopy". New York: Plenum Press, 1983, P.120~121
- 2 Handa T, Utena Y, Yajima H, Ishii T. *J.Phys.Chem.*, 1986, 90: 2589~2596

(收稿日期: 1990年11月14日, 修回日期: 1991年3月9日)

A New Method for Resolving Each Fluorophore in Mixture Based on the "Plateau" in Fluorescence Emission Polarization Spectrum

Huang Xianzhi*, Chen Sheng

(Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen 361005)

Abstract The principle for resolving each component in fluorophore mixture, such as fluorescein-rhodamine S (or tetraiodofluorescein, or rhodamine B), or in fluorophore monomer and aggregate mixture, such as rhodamine 6G-rhodamine 6G aggregate using "plateau" in fluorescence emission polarization spectrum was described and verified.

Keywords Fluorescence, Fluorescence polarization.

(Received November 14, 1990, Revised March 9, 1991)