

# 摩尔吸光系数在分子荧光分析中的应用

黄淑英<sup>1</sup>, 林竹光<sup>2</sup>, 梁榕源<sup>2</sup>, 李小波<sup>2</sup>, 陈志扬<sup>2</sup>

(1. 厦门市卫生防疫站, 福建 厦门 361004; 2. 厦门大学化学系, 福建 厦门 361005)

摘要: 阐述摩尔吸光系数、入射光强度、荧光强度、检测器的灵敏度和仪器的光学系统损耗与入射光波长的函数关系, 初步提出了较为完整的分子荧光定性、定量理论表达式。

关键词: Lambert-Beer 定律; 吸光系数; 分子荧光; 分析

中图分类号: O657.3

文献标识码: A

## 1 Lambert-Beer 在分子荧光分析中的应用

根据理论推导, Lambert-Beer 定律、荧光的强度与浓度关系的公式分别为:

$$A = -\log T = -\log I_t/I_0 = K\varepsilon(\lambda) bC \quad (1)$$

$$I_F = 2.303I_0 Y_F \varepsilon(\lambda) bC \quad (2)$$

式(1)中:  $\varepsilon(\lambda)$  是摩尔吸光系数;  $\varepsilon(\lambda) = A/(b \cdot C)$ , 在一定的条件下仅与吸光物质的分子结构有关,  $\varepsilon(\lambda)$  是波长的一维函数。式(2)中:  $I_0$ 、 $I_F$  分别是入射光、发射荧光的强度;  $Y_F$  是荧光物质的量子产率, 此式是分子荧光分析的理论依据。

## 2 关于 $I_0$ 与入射光波长关系的讨论

式(1)推导中, 设定  $I_t$ 、 $I_0$  都是以单色光为条件, 所以此定律的理论是严谨的。在式(2)推导中, 得到了  $I_F$  与  $I_0$  成正比关系。对于荧光计的氙灯光源,  $I_t$ 、 $I_0$  应该正确地描述成  $I_t(\lambda)$ 、 $I_0(\lambda)$ 。以乳化剂 OP/水-氯化银乳浊体系的共振光散射(RLS)光谱为例, 配制 2 份不同浓度的乳浊溶液, 用同一个样品池, 在 2 台荧光分光光度计上扫描 RLS 光谱, 所得到的 RLS 光谱的  $I_{RLS}(\lambda)$  关系见图 1。图 1 表明不同仪器扫描得到的 RLS 光谱  $I_{RLS}$  与  $\lambda$  的函数关系皆有所不同。

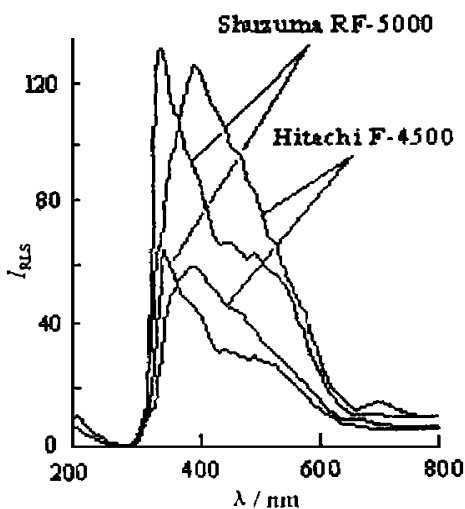


图 1 2 台仪器的 RLS 光谱比较图

## 3 分子荧光光谱中关于 $\varepsilon(\lambda)$ 的讨论

收稿日期: 1999-06-10

作者简介: 黄淑英(1949-), 女, 主管技师。

Lambert-Beer 定律中的  $\varepsilon(\lambda)$ , 在理论与应用中不存在问题, 但把它引到分子荧光光谱法就不完整, 分子荧光光谱涉及  $\lambda_{ex}$  和  $\lambda_{em}$  二维函数关系. 根据数学模拟二维荧光光谱 (简称 TDFS, 本文用  $I_F^{TDFS}$  表示)<sup>[1]</sup> 的结果, 分子荧光的 TDFS 可以表示为:

$$I_{TDFS} = K_{TDFS} \beta_{TDFS} (486 - \lambda_{ex})^{64} (602.5 - \lambda_{ex})^{-130} (\lambda_{em} - 362)^{64} (\lambda_{em} - 271.5)^{-30} C \quad (3)$$

改用更为简练的表达, 式(3)可以表达为:

$$I_{TDFS} = K_{TDFS} \beta_{TDFS} \varepsilon(\lambda_{ex}) \varepsilon(\lambda_{em}) C \quad (4)$$

式(3)、(4)中,  $K_{TDFS}$  为仪器与实验条件有关的参数,  $\beta_{TDFS}$  是与荧光物质的结构有关的参数. 式(3)表达出  $I_{TDFS} F$  与  $\varepsilon(\lambda_{ex})$ 、 $\varepsilon(\lambda_{em})$  的二维函数关系. 式(2)中的  $\varepsilon(\lambda)$  可以认为是:  $\varepsilon(\lambda_{ex}) = Y_F \cdot \varepsilon(\lambda)$ , 既  $\varepsilon(\lambda)$  是吸光物质的特性, 而光致发光过程有一定的量子产率.

#### 4 其它与波长有关的仪器因素

荧光计光电倍增管检测器灵敏度也是波长的一维函数, 可用  $D(\lambda)$  表示. 荧光计的光学系统对光源发射出光强度的损耗也是波长的一维函数关系, 可用  $K(\lambda)$  表示.

综合以上讨论的众多影响因素, 分子荧光光谱定性、定量分析的表达式为:

$$I_{TDFS} = 2.303 I_0(\lambda) D(\lambda) K(\lambda) Y_{F(P)} \varepsilon(\lambda_{ex}) \varepsilon(\lambda_{em}) C$$

#### 参考文献:

- [1] 林竹光, 等. 常规三维荧光光谱的数学模拟方法研究(J). 厦门大学学报(自然科学版), 1994, 33(10): 336~340.

## The Analytical Application of Moore Absorption Coefficient in Molecule Fluorescence Spectra

HUANG Shu-ying<sup>1</sup>, LIN Zhu-guang<sup>2</sup>, LIANG Rong-yuan<sup>2</sup>, LI Xiao-bo<sup>2</sup>, CHEN Zhi-yang<sup>2</sup>  
(1. Anti-Epidemic Station of Xiamen, Fujian Xiamen 361004, China; 2. Department of Chemistry, Xiamen University, Fujian Xiamen 361005, China)

**Abstract:** This paper expound the relations between Moore absorption coefficient, intensity of incidence light, intensity of fluorescence, sensitivity of detector, lose of instrument optics system end wavelength. The more complete qualitative and quantitative formula of molecule fluorescence was put forward.

**Keywords:** Lambert-Beer law; absorption coefficient; fluorescence; analysis