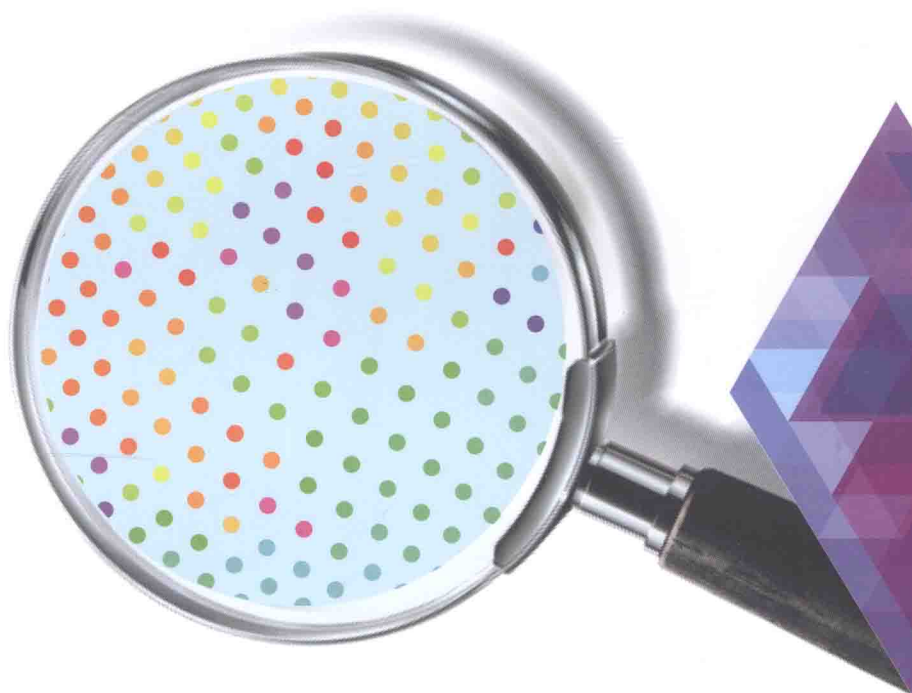


纳米荧光探针

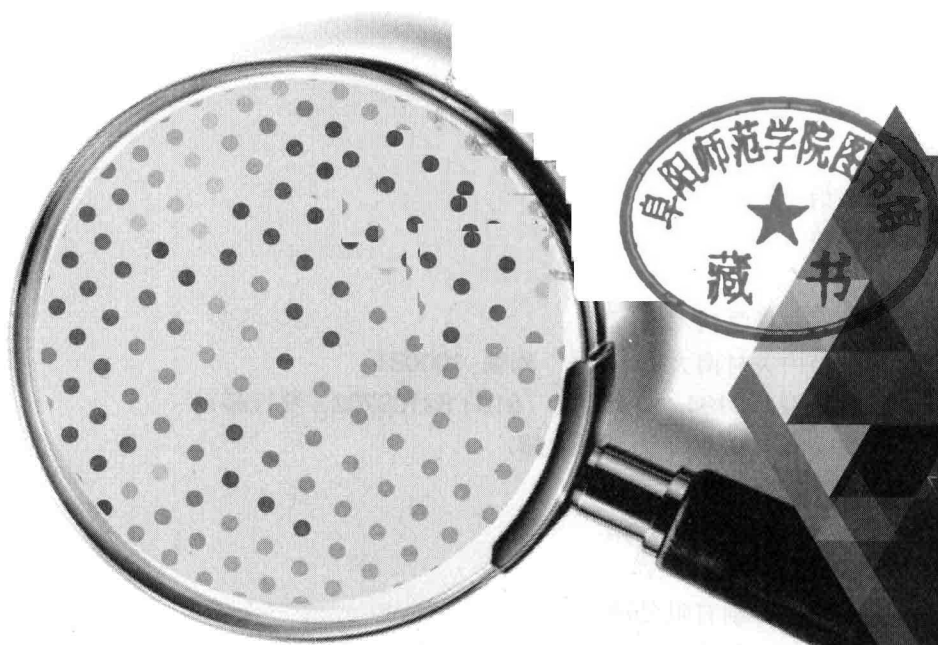
梁建功 编著



中国农业科学技术出版社

纳米荧光探针

梁建功 编著



中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

纳米荧光探针 / 梁建功编著. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2015. 5
ISBN 978-7-5116-2064-4

I. ①纳… II. ①梁… III. ①纳米技术-应用-荧光探头-研究
IV. ①O482.31

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 075775 号

责任编辑 褚 怡 崔改泵

责任校对 李向荣

出 版 者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010) 82109194 (编辑室) (010) 82109702
(010) 82109709 (读者服务部)

传 真 (010) 82106650

网 址 <http://www.castp.cn>

经 销 者 各地新华书店

印 刷 者 北京华正印刷有限公司

开 本 787mm × 1 092mm 1/16

印 张 10.25

字 数 237 千字

版 次 2015 年 5 月第 1 版 2015 年 5 月第 1 次印刷

定 价 38.00 元

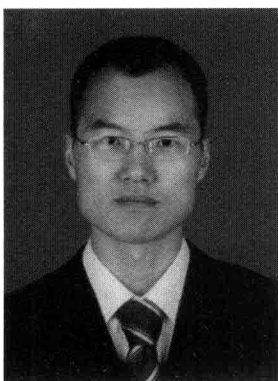
—— 版权所有 · 翻印必究 ——

内容简介

光学分子成像技术已在生物和医学领域发挥了重要的作用，纳米荧光探针作为一类重要的光学成像分析工具，在小分子分析、病毒检测、细胞成像、活体诊断等方面受到研究者的广泛关注。本书介绍了目前研究比较多的半导体量子点、荧光金属纳米团簇、碳点、石墨烯量子点、稀土掺杂上转换纳米荧光探针及多功能纳米荧光探针的合成方法、表征手段、光学性质及在化学检测、生物检测、生物成像及生物效应等方面的应用与研究进展。

本书可供材料科学、生命科学、分析化学、医疗诊断等领域的科研工作者阅读，也可作为化学、生命科学等专业高年级本科生及研究生的教材及教学参考书。

作者简介



梁建功, 男, 1978 年生, 博士, 副教授

1997/09—2001/07, 山西师范大学, 化学学院, 学士

2001/09—2006/06, 武汉大学, 化学与分子科学学院, 博士 (硕博连读)

2006/07—2008/12, 华中农业大学, 理学院, 讲师

2009/01—至今, 华中农业大学, 理学院, 副教授, 硕士生导师

2013/09—2014/09 美国 Clemson 大学遗传与生物化学系 访问学者

农业微生物学国家重点实验室流动人员, 湖北省自然科学基金创新群体核心成员 (排名第三), Chem. Commun., J. Phys. Chem. C, RSC Advances, Spectrochim. Acta A 等杂志审稿人, 研究方向为纳米生物分析。先后承担国家自然科学基金面上项目、青年基金项目各 1 项, 武汉市青年科技晨光计划 1 项, 参与 973 计划项目 1 项。参与编写学术专著《纳米药物》、《纳米生物检测》2 部。截至 2014 年 12 月, 已在 J. Phys. Chem. C, Chem. Commun., J. Phys. Chem. B, Analyst, Talanta 等杂志发表 SCI 收录论文 48 篇, 其中以第一作者或通讯作者发表 SCI 收录论文 18 篇, 论文共被引用超过 1 000 次。

目 录

绪论	(1)
参考文献	(2)
第1章 荧光分析法基础知识简介	(3)
1.1 荧光产生的机理	(3)
1.2 荧光激发光谱与发射光谱	(3)
1.3 荧光强度	(5)
1.4 荧光量子产率	(6)
1.5 荧光寿命及荧光寿命成像技术	(7)
1.6 荧光共振能量转移	(7)
1.7 荧光猝灭	(8)
1.8 荧光偏振	(9)
1.9 双光子荧光技术	(9)
1.10 荧光相关光谱	(10)
1.11 比率荧光测定技术	(10)
1.12 超分辨荧光显微成像技术	(11)
1.13 小结	(11)
参考文献	(11)
第2章 纳米荧光探针简介	(14)
2.1 半导体量子点荧光探针	(15)
2.2 荧光金属纳米团簇探针	(17)
2.3 碳点荧光探针	(18)
2.4 石墨烯量子点荧光探针	(19)
2.5 稀土掺杂上转换纳米荧光探针	(19)
2.6 多功能纳米荧光探针	(21)
2.7 小结	(21)
参考文献	(23)

第3章 纳米荧光探针的制备	(27)
3.1 半导体量子点的制备	(27)
3.1.1 单核型量子点的制备	(27)
3.1.2 核—壳型量子点的制备	(34)
3.1.3 合金型量子点的制备	(36)
3.1.4 掺杂型量子点的制备	(37)
3.2 荧光金属纳米团簇的制备	(40)
3.2.1 金簇的制备	(40)
3.2.2 银簇的制备	(41)
3.2.3 铜簇的制备	(42)
3.2.4 金银合金型团簇的制备	(43)
3.3 碳点的制备	(43)
3.3.1 “自上而下”法制备碳点	(43)
3.3.2 “自下而上”法制备碳点	(44)
3.3.3 表面修饰法制备碳点	(44)
3.4 石墨烯量子点的制备	(45)
3.4.1 “自上而下”法制备石墨烯量子点	(45)
3.4.2 “自下而上”法制备石墨烯量子点	(45)
3.5 稀土掺杂上转换荧光探针的制备	(46)
3.5.1 稀土掺杂 NaYF_4 上转换荧光探针的制备	(46)
3.5.2 稀土掺杂 NaGaF_4 上转换荧光探针的制备	(47)
3.5.3 稀土掺杂 LaF_3 上转换荧光探针的制备	(47)
3.6 多功能纳米荧光探针的制备	(47)
3.6.1 增强型纳米荧光探针的制备	(48)
3.6.2 比率型纳米荧光探针的制备	(48)
3.6.3 荧光共振能量转移探针的制备	(49)
3.6.4 磁性、荧光双功能纳米荧光探针的制备	(50)
3.7 小结与展望	(50)
参考文献	(51)
第4章 纳米荧光探针的表征	(60)
4.1 透射电子显微镜法	(60)
4.2 扫描电子显微镜法	(61)
4.3 扫描探针显微镜法	(61)
4.4 紫外—可见吸收光谱法	(63)
4.5 荧光光谱法	(64)

4.6 红外光谱法	(65)
4.7 拉曼光谱法	(66)
4.8 激光粒度分析法	(67)
4.9 核磁共振法	(67)
4.10 质谱法	(68)
4.11 X-射线衍射分析法	(68)
4.12 X-射线光电子能谱法	(69)
4.13 凝胶过滤色谱法	(70)
4.14 小结与展望	(70)
参考文献	(71)
第5章 纳米荧光探针在化学检测中的应用	(75)
5.1 纳米荧光探针在金属离子检测中的应用	(75)
5.1.1 半导体量子点在金属离子检测中的应用	(75)
5.1.2 荧光金属纳米团簇在金属离子检测中的应用	(79)
5.1.3 碳点在金属离子检测中的应用	(79)
5.1.4 石墨烯量子点在金属离子检测中的应用	(80)
5.1.5 稀土掺杂上转换纳米荧光探针在金属离子检测中的应用	(80)
5.1.6 多功能纳米荧光探针在金属离子检测中的应用	(81)
5.2 纳米荧光探针在阴离子检测中的应用	(82)
5.2.1 半导体量子点在阴离子检测中的应用	(82)
5.2.2 荧光金属纳米团簇在阴离子检测中的应用	(82)
5.2.3 碳点在阴离子检测中的应用	(83)
5.2.4 石墨烯量子点在阴离子检测中的应用	(83)
5.2.5 稀土掺杂上转换纳米荧光探针在阴离子检测中的应用	(83)
5.2.6 多功能纳米荧光探针在阴离子检测中的应用	(83)
5.3 纳米荧光探针在有机小分子及药物分子检测中的应用	(84)
5.3.1 半导体量子点在有机小分子及药物分子检测中的应用	(84)
5.3.2 荧光金属纳米团簇在有机小分子及药物分子检测中的应用	(85)
5.3.3 碳点在有机小分子及药物分子检测中的应用	(86)
5.3.4 石墨烯量子点在有机小分子及药物分子检测中的应用	(86)
5.3.5 稀土掺杂上转换纳米荧光探针在有机小分子及药物分子检测中的 应用	(87)
5.3.6 多功能纳米荧光探针在有机小分子及药物分子检测中的应用	(87)
5.4 小结与展望	(88)
参考文献	(88)

第 6 章 纳米荧光探针在生物检测中的应用	(94)
6.1 纳米荧光探针在蛋白质检测中的应用	(94)
6.1.1 半导体量子点在蛋白质检测中的应用	(94)
6.1.2 荧光金属纳米团簇探针在蛋白质检测中的应用	(95)
6.1.3 碳点在蛋白质检测中的应用	(95)
6.1.4 石墨烯量子点在蛋白质检测中的应用	(96)
6.1.5 稀土掺杂上转换纳米荧光探针在蛋白质检测中的应用	(96)
6.1.6 多功能纳米荧光探针在蛋白质检测中的应用	(96)
6.2 纳米荧光探针在核酸检测中的应用	(97)
6.2.1 半导体量子点在核酸检测中的应用	(97)
6.2.2 荧光金属纳米团簇探针在核酸检测中的应用	(97)
6.2.3 碳点在核酸检测中的应用	(98)
6.2.4 石墨烯量子点在核酸检测中的应用	(98)
6.2.5 稀土掺杂上转换纳米荧光探针在核酸检测中的应用	(98)
6.2.6 多功能纳米荧光探针在核酸检测中的应用	(98)
6.3 纳米荧光探针在细菌检测中的应用	(99)
6.3.1 半导体量子点在细菌检测中的应用	(99)
6.3.2 荧光金属纳米团簇探针在细菌检测中的应用	(99)
6.3.3 碳点在细菌检测中的应用	(100)
6.3.4 石墨烯量子点在细菌检测中的应用	(100)
6.3.5 稀土掺杂上转换纳米荧光探针在细菌检测中的应用	(100)
6.3.6 多功能纳米荧光探针在细菌检测中的应用	(100)
6.4 纳米荧光探针在病毒检测中的应用	(101)
6.4.1 半导体量子点在病毒检测中的应用	(101)
6.4.2 荧光金属纳米团簇探针在病毒检测中的应用	(102)
6.4.3 稀土掺杂上转换纳米荧光探针在病毒检测中的应用	(102)
6.4.4 多功能纳米荧光探针在病毒检测中的应用	(103)
6.5 小结与展望	(104)
参考文献	(104)
第 7 章 纳米荧光探针在生物成像分析中的应用	(108)
7.1 纳米荧光探针的表面修饰	(108)
7.1.1 基于有机小分子的表面修饰方法	(108)
7.1.2 基于硅烷化的表面修饰方法	(109)
7.1.3 基于高分子化合物的表面修饰方法	(110)
7.1.4 基于生物大分子的表面修饰方法	(110)

7.2 纳米荧光探针与生物分子的偶联	(110)
7.2.1 纳米荧光探针与有机小分子的偶联	(111)
7.2.2 纳米荧光探针与核酸的偶联	(111)
7.2.3 纳米荧光探针与多肽的偶联	(112)
7.2.4 纳米荧光探针与蛋白质的偶联	(112)
7.2.5 纳米荧光探针与病毒的偶联	(112)
7.3 纳米荧光探针在细胞成像分析中的应用	(113)
7.3.1 半导体量子点在细胞成像分析中的应用	(113)
7.3.2 荧光金属纳米团簇在细胞成像分析中的应用	(116)
7.3.3 碳点在细胞成像分析中的应用	(117)
7.3.4 石墨烯量子点在细胞成像分析中的应用	(118)
7.3.5 稀土掺杂上转换纳米荧光探针在细胞成像分析中的应用	(118)
7.3.6 多功能纳米荧光探针在细胞成像分析中的应用	(119)
7.4 纳米荧光探针在活体成像分析中的应用	(119)
7.4.1 半导体量子点在活体成像分析中的应用	(120)
7.4.2 荧光金属纳米团簇探针在活体成像分析中的应用	(120)
7.4.3 碳点在活体成像分析中的应用	(121)
7.4.4 石墨烯量子点在活体成像分析中的应用	(121)
7.4.5 稀土掺杂上转换荧光材料在活体成像分析中的应用	(121)
7.4.6 多功能纳米荧光探针在活体成像分析中的应用	(122)
7.5 纳米荧光探针在病毒侵染细胞成像分析中的应用	(122)
7.6 小结与展望	(123)
参考文献	(123)
第8章 纳米荧光探针的生物效应研究	(129)
8.1 纳米荧光探针与蛋白质的相互作用	(129)
8.1.1 半导体量子点与蛋白质的相互作用	(129)
8.1.2 荧光金属纳米团簇与蛋白质的相互作用	(130)
8.1.3 碳点与蛋白质的相互作用	(131)
8.1.4 稀土掺杂上转换纳米荧光探针与蛋白质的相互作用	(131)
8.1.5 多功能纳米探针与蛋白质的相互作用	(132)
8.2 纳米荧光探针与核酸相互作用	(132)
8.2.1 半导体量子点与核酸的体外相互作用	(132)
8.2.2 半导体量子点在细胞内与核酸的相互作用	(133)
8.3 纳米荧光探针与细胞的相互作用	(133)
8.3.1 半导体量子点与细胞的相互作用	(134)

8.3.2	荧光金属纳米团簇与细胞的相互作用	(135)
8.3.3	碳点与细胞的相互作用	(136)
8.3.4	石墨烯量子点与细胞的相互作用	(137)
8.3.5	稀土掺杂上转换纳米荧光探针与细胞的相互作用	(137)
8.3.6	多功能纳米荧光探针与细胞的相互作用	(138)
8.4	纳米荧光探针对活体的生物效应	(139)
8.4.1	半导体量子点对活体的生物效应	(139)
8.4.2	荧光金属纳米团簇对活体的生物效应	(140)
8.4.3	碳点对活体的生物效应	(140)
8.4.4	石墨烯量子点对活体的生物效应	(140)
8.4.5	稀土掺杂上转换纳米荧光探针对活体的生物效应	(141)
8.4.6	多功能纳米荧光探针对活体的生物效应	(141)
8.5	小结与展望	(142)
参考文献		(142)
附录 作者发表的 SCI 收录论文目录		(147)

绪 论

光学分子成像技术在生物及医学领域发挥了重要的作用。2008 年 10 月,日本科学家下村修 (Osamu Shimomura)、美国科学家马丁·沙尔菲 (Martin Chalfie) 和美籍华裔科学家钱永健 (Roger Y. Tsien) 因发现并发展了新的光学分子成像探针而获得诺贝尔化学奖 (Weiss P S, 2008)。2014 年 10 月,美国科学家艾力克·贝齐格 (Eric Betzig)、W·E·莫尔纳尔 (W. E. Moerner) 和德国科学家斯特凡·W·赫尔 (Stefan W. Hell) 因在超分辨率荧光显微技术领域取得的成就,被授予 2014 年诺贝尔化学奖 (Meixner A J, 2015)。

荧光成像探针在光学成像分析中起着举足轻重的作用。自从 1998 年《Science》杂志报道量子点用于生物成像分析以来 (Chan and Nie, 1998; Bruchez et al., 1998), 纳米荧光探针在小分子分析、病毒检测、细胞成像、活体诊断等方面受到研究者的广泛关注 (Michalet et al., 2005)。到 2014 年 11 月,这两篇发表在《Science》上的论文被引用均超过 5 000 次。下图是以纳米 (nano*)、荧光 (fluorescence) 和探针 (probe) 为主题词在 Web of Science 数据库中搜索的 2005—2014 年论文发表情况。从下图中可看出,自 2005 年,有关纳米荧光探针领域的论文迅速增长,2012 年后,每年发表论文数已经超过 1 000 篇。

本书主要介绍目前研究比较多的半导体量子点、荧光金属纳米团簇、碳点、石墨烯量子点、稀土掺杂上转换纳米荧光探针及多功能纳米荧光探针的合成方法、表征手段、光学性质及其在化学、生命科学等方面的应用。全书共分 8 章:第 1 章概述了荧光分析法基础知识;第 2 章简要介绍了荧光纳米探针及荧光产生的机理;第 3 章介绍了纳米荧光探针的制备方法;第 4 章介绍了纳米荧光探针的表征手段;第 5 章介绍了纳米荧光探针在化学检测中的应用,包括基于纳米荧光探针的金属离子、阴离子、有机小分子及药物分子的检测;第 6 章介绍了纳米荧光探针在生物检测中的应用,包括纳米荧光探针用于蛋白质、核酸、细菌及病毒的检测等方面;第 7 章介绍了纳米荧光探针在生物成像分析中的应用,包括细胞成像、活体成像及病毒成像分析等;第 8 章介绍了纳米荧光探针的生物效应,包括纳米荧光探针对蛋白质、核酸、细胞、活体等的影响。本书将给读者呈现纳米荧光探针的最新研究动态,使读者对纳米荧光探针这一热点领域有一全面了解。由于作者水平有限,书中肯定存在一些不当甚至错误,欢迎读者批评指正。

在作者从事科研过程中,曾主持及参与国家自然科学基金 (项目编号:31372439,

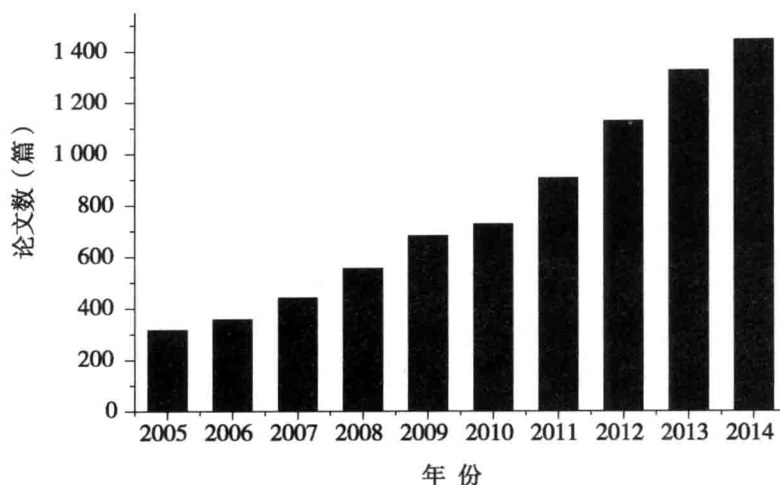


图 2005—2014 年纳米荧光探针相关论文发表情况
(数据来自 Web of Science)

20905028, 20675034, 20575046, 20275028)、国家 973 计划 (项目编号: 2014CB54270) 等项目, 本书很多内容均来自这些基金资助的研究成果, 在此对这些基金的资助表示感谢。

参考文献

1. Bruchez M Jr, Moronne M, Gin P, et al. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science*, 1998, 281 (5385): 2 013 – 2 015.
2. Chan W C, Nie S. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection. *Science*, 1998, 281 (5385): 2 016 – 2 018.
3. Meixner A J. The Nobel Prize in Chemistry 2014 for the development of super – resolved fluorescence microscopy. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2015, 407 (7): 1 797 – 1 800.
4. Michalet X, Pinaud F F, Bentolila L A, et al. Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics. *Science*, 2005, 307 (5 709): 538 – 544.
5. Weiss P S. 2008 Nobel Prize in Chemistry: Green Fluorescent Protein, Its Variants and Implications. *ACS Nano*, 2008, 2 (10): 1 977 – 1 977.

第1章 荧光分析法基础知识简介

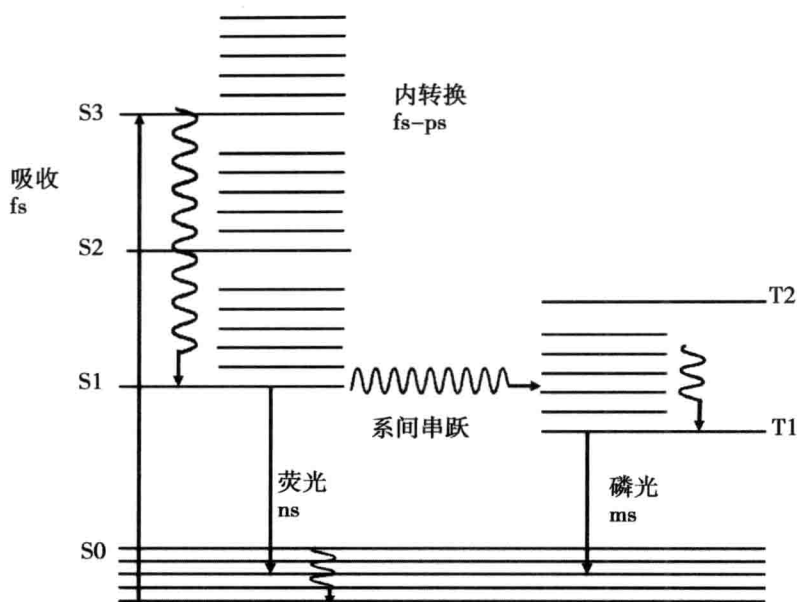
荧光分子或荧光纳米粒子吸收一定能量的光子后，分子或纳米粒子中的电子就会从基态跃迁到激发态，当处于第一激发态最低振动能级的电子以辐射的方式回到基态时，所发出的光就称为荧光（fluorescence）或光致发光（photoluminescence）（夏锦尧，1992）。目前，测定荧光通常可采用荧光分光光度计及荧光显微镜。如美国 PerkinElmer 公司生产的 LS55 荧光/磷光/发光分光光度计，日本岛津公司生产的 RF-5301PC 荧光分光光度计是目前测定荧光光谱常用的仪器。荧光显微镜是目前常用的荧光成像观测仪器，主要由德国蔡司公司、德国徕卡公司和日本奥林巴斯公司等生产。有关荧光光谱仪及荧光显微镜的使用方法可参考《细胞生物荧光技术原理及应用》一书（刘爱平等，2007）。本章主要介绍荧光的基础知识及常用的荧光分析基本方法。

1.1 荧光产生的机理

如图 1-1 所示，当荧光分子或荧光纳米粒子吸收一定能量的光子后，就会从基态跃迁到激发态，如果吸收光子的能量不同，可能跃迁到第一激发单线态、第二激发单线态或第三激发单线态等，这个过程在飞秒级（fs）的时间就可以完成，由于基态分子可以跃迁到不同的激发态能级，导致所检测到的吸收光谱通常为带状光谱。跃迁到不同激发单线态的光子会通过内转换的方式回到第一激发单线态，这个过程在飞秒（fs）或皮秒（ps）级的时间就可以完成。处于第一激发单线态最低振动能级的电子以辐射的方式回到基态时，就产生了荧光，这一过程通常在纳秒（ns）级时间完成。而处于不同激发单线态的电子也可以通过系间串跃，到第一激发三线态或第二激发三线态，再通过内转换到达第一激发三线态最低振动能级，处于第一激发三线态最低振动能级的电子以辐射的方式回到基态时所产生的光成为磷光，这一过程通常在毫秒（ms）级时间完成。

1.2 荧光激发光谱与发射光谱

在测定有机荧光染料或纳米粒子荧光时，如果固定激发波长，在一定范围内扫描，就可获得所测物质的发射光谱，反之，如果固定发射光谱进行反扫，就可获得所测物质的激发光谱。对大多数的荧光物质来说，其荧光激发光谱的形状与紫外—可见吸收光谱



S0: 基态; S1: 第一激发单线态; S2: 第二激发单线态; S3: 第三激发单线态; ms: 毫秒; ns: 纳秒; ps: 皮秒; fs: 飞秒; T1: 第一激发三线态; T2: 第二激发三线态

图 1-1 Jablonski 示意图及有机分子跃迁的时间尺度

(Berezin, 2010)

相类似。有机荧光染料的激发光谱及发射光谱符合以下规律。

(1) 荧光分子发射光谱一般的波长比激发光谱长，也就是说荧光发射光光子的能量一般比激发光光子的能量低。

(2) 有机荧光染料荧光发射光谱与激发光谱呈镜像对称分布（半导体量子点及很多其他纳米荧光探针的激发光谱和发射光谱不符合这一特点）。

(3) 当采用不同激发波长激发荧光染料时（如采用 470nm、480nm、490nm 光激发异硫氰酸荧光素溶液），其荧光最大发射波长的位置不变，但荧光强度会发生改变。很多纳米荧光探针的激发光谱（或吸收光谱）与发射光谱并不呈对称分布，但改变激发波长时，其最大荧光发射波长一般不变。

图 1-2 为 $3.2 \pm 0.2\text{nm}$ 的 CdSe 量子点的吸收光谱及荧光发射光谱（Dong et al., 2008），可看出其吸收光谱与荧光发射光谱之间并不呈镜像对称，荧光金纳米团簇、碳点等纳米荧光探针也有类似的规律。图 1-3 是银纳米团簇的荧光发射光谱，可以看出 220nm、240nm、260nm 激发光激发时，银纳米团簇的最大发射波长保持不变（Zheng et al., 2013）。图 1-4 是碳点的紫外—可见吸收光谱、荧光激发光谱及荧光发射光谱，可看出对碳点来说，其紫外—可见吸收光谱与荧光激发光谱之间有较大的差别，荧光激发光谱与荧光发射光谱之间基本呈镜像对称。

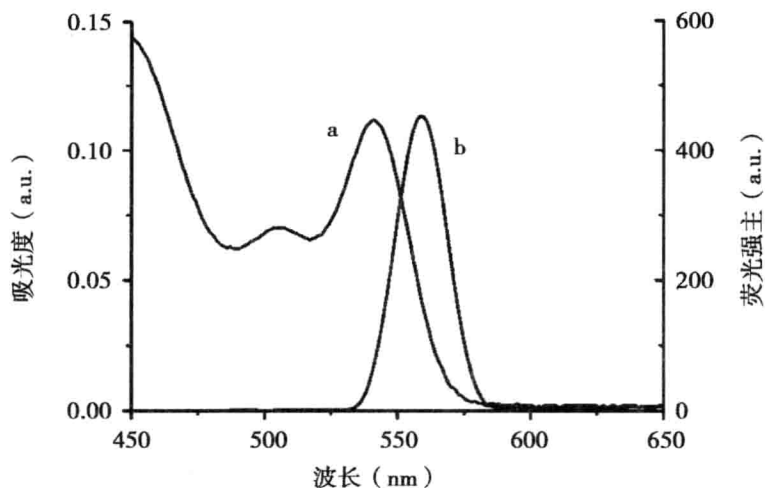
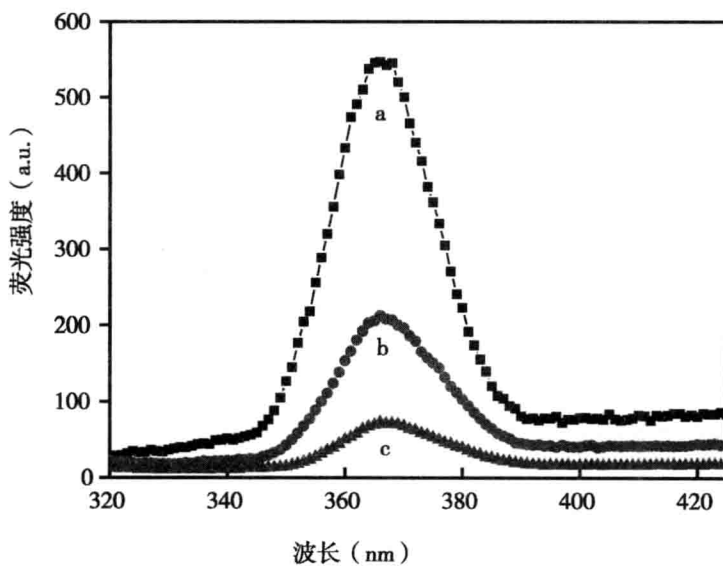


图 1-2 尺寸为 $3.2 \pm 0.2 \text{ nm}$ 的 CdSe 量子点的紫外—可见吸收光谱 (a) 及荧光光谱 (b)
(Dong et al., 2008)



激发波长分别为 220nm (a)、240nm (b) 和 260nm (c)
图 1-3 Ag 纳米团簇在不同激发波长条件下的荧光发射光谱
(Zheng et al., 2013)

1.3 荧光强度

通常荧光强度指荧光物质在最大发射波长处的强度值。由于荧光测定过程中受到激

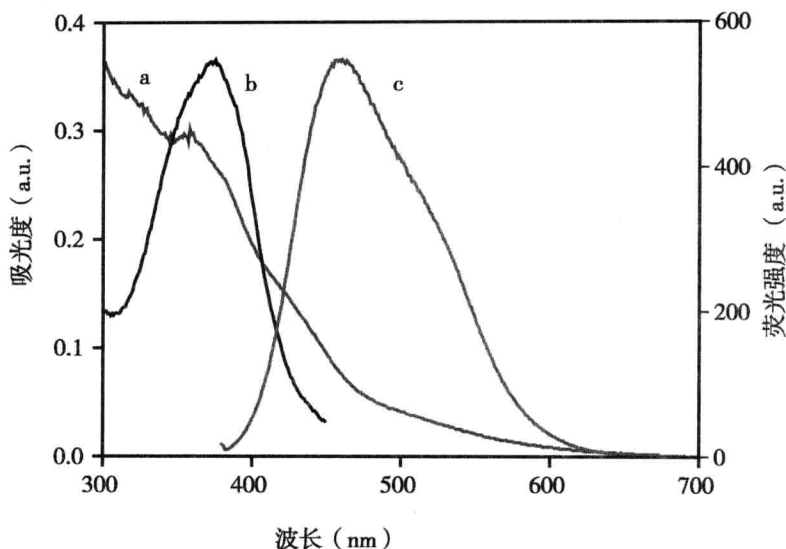


图 1-4 碳点的紫外—可见吸收光谱 (a)、荧光激发光谱 (b) 及荧光发射光谱 (c)

(本图来自课题组实验数据)

发狭缝、发射狭缝等多种因素的影响，因此，荧光强度只是一个相对值。在一定浓度的荧光物质溶液中，荧光强度符合式 (1-1) (夏锦尧, 1992)。

$$F = \Phi I_0 K \varepsilon C L \quad (1-1)$$

式中， F 为待测物质荧光强度； Φ 为荧光量子产率； I_0 为激发光强度； K 为荧光仪器常数； ε 为样品的吸收系数； C 为荧光物质样品浓度； L 为吸收池光径。

当荧光仪器激发狭缝、发射狭缝及样品池的规格确定后，荧光物质测定过程中 Φ 、 I_0 、 K 、 ε 、 L 成为定值，此时荧光强度在一定范围内与待测物质的浓度成正比，这就是荧光强度定量分析的依据。

1.4 荧光量子产率

荧光量子产率 (fluorescent quantum yield) 是指以辐射方式回到基态的激发态分子占全部激发态分子的数目，表示物质发射荧光的能力 (<http://baike.baidu.com/view/1888738.htm?fr=aladdin>)，通常用下式表示：

$$\Phi_f = \text{发射的光量子数} / \text{吸收的光量子数} = k_f / (k_f + \sum k_i)$$

式中， Φ_f 为荧光量子产率； k_f 为荧光发射过程的速率常数； $\sum k_i$ 为其他有关过程的速率常数之和。 k_f 及 k_i 值的大小主要受有机染料分子的化学结构、溶液的极性、溶液 pH 以及温度等多种因素的影响。

荧光量子产率一般通过公式 (1-2) 测定 (Xu et al., 2010)：

$$\Phi_s = \Phi_r \times A_r / A_s \times S_s / S_r \times (n_s^2 / n_r^2) \quad (1-2)$$