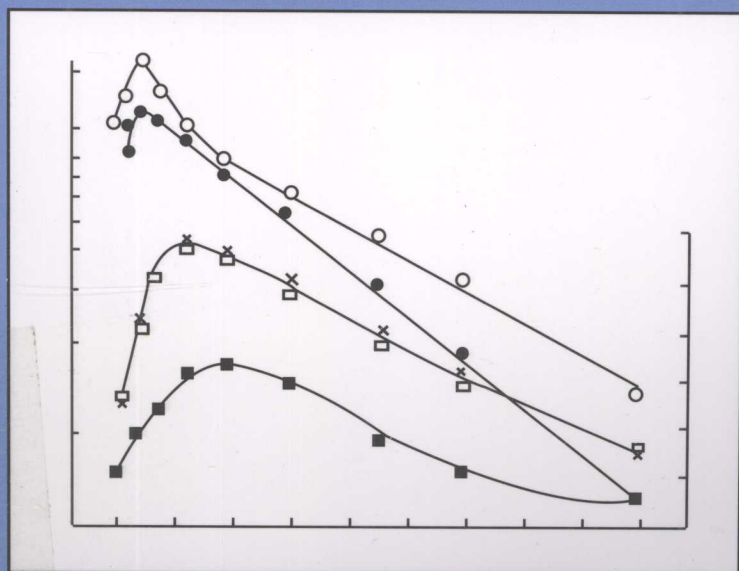


低温磷光分析 原理与应用

黄如衡 著

GH



科学出版社

低温磷光分析原理与应用

黄如衡 著



科学出版社

北京

内 容 简 介

本书共分 11 章, 前 6 章阐述磷光的原理、分子结构与发光、磷光仪器与操作使用、磷光寿命原理与应用、量子产率及磷光分析技术。仪器与方法的改进使磷光分析成为稳定性好的常规分析工具。磷光寿命的特殊性可用作生物样品中微量色氨酸的分析, 也可用来测定化合物物理常数(量子产率、水解常数、动力学参数等)。后 5 章介绍低温磷光在维生素、蛋白质、氨基酸、核酸、激素等方面的分析与应用。有磷光化合物可直接分析, 无磷光化合物经氧化、还原、结合成复合物, 100℃ 加温, 光化学反应等方法转化为强磷光体, 反式转化为顺式后测定, 如建立胺类药物通用分析法, 并将结果应用于药理、生化、药物动力、临床、法医学等。

本书是作者对低温磷光近 30 年工作经验的总结, 实用性强, 可供分析化学、药物代谢、生化、药理、环境保护等学科教学、科研工作者参考。

图书在版编目(CIP)数据

低温磷光分析原理与应用 / 黄如衡著. —北京: 科学出版社, 2008
ISBN 978-7-03-020559-9

I. 低… II. 黄… III. 低温—磷光分析—研究 IV. 0657.39

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 019416 号

责任编辑: 黄 海 / 责任校对: 李奕莹

责任印制: 钱玉芬 / 封面设计: 陈 敬

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷有限责任公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2008 年 3 月第 一 版 开本: B5 (720×1000)

2008 年 3 月第一次印刷 印张: 16 1/2

印数: 1—3 000 字数: 323 000

定 价: 50.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换〈环伟〉)

前言

科学的迅速发展促进化学分析技术日新月异，反过来分析化学的发展又推动了其他学科的发展，磷光分析也受到相应学科的影响。人类认识磷光已很久，在古代，磷光被笼罩上了一层神秘的色彩（如严寒干燥又晴朗无风的冬夜，在坟堆间偶然漂浮的小亮点，被人们认为是鬼火）。有的宝石在暗处会发光，如 1603 年，鲍络纳（Bologna）的一个鞋匠发现当地一种石头（含硫酸钡）经阳光照射被移到暗处后，会继续发光。当时关于磷光的记载中描述：鲍络纳石经阳光照射，须孕育一段时间后才产生光。经过几个世纪后，人们才弄清楚这一现象的发光原理与发光过程。1845 年，Herschel 报道硫酸奎宁溶液经日光照射后发射出强烈的光。当然，磷光的发展离不开荧光研究的进展，无论在理论上还是在仪器结构及应用方面两者都是相通的。例如，1852 年 Stokes 在研究奎宁化合物时发现发射光的波长与吸收光的波长不同，这一现象即 Stokes 位移。另外，他在测量时还发现，发光过程灵敏度远比吸光过程灵敏度高。为了证明莱茵河与多瑙河上游地下有巨大的多孔石灰石相连，1877 年，由 Baeyer 合成 10 kg 荧光素，倾入多瑙河上游。经过 60 h 后，在一条与多瑙河不相连的小河中发现了荧光素并且流入 Constance 湖，最后出现在莱茵河中。

关于磷光测量仪器，1858 年，Becquerel 首先设计制成磷光镜，用它测定出磷光寿命可达 10^{-3} s。以后发展为旋转罐式，将样品加入一头封闭的石英比色管中，插入盛有液氮的杜瓦瓶中冻结测量。磷光产生的原理也与荧光相似，同为分子激发后发射的光，但实质不同。1944 年，Lewis 阐明，荧光为分子激发后的单线态发射的光，而磷光为三线态发射的光。因为三线态电子跃迁回单线态是禁阻（forbid）的，在三线态停留时间长（寿命长），所以要在低温 77K 测量。通常磷光仪用机械的办法就可测量磷光寿命，而荧光寿命太短（ 10^{-8} s），需要特殊装置才能测定，普通荧光灯是测不了的。

由于磷光寿命长，在常温水溶液中，三线态电子能量极易受溶剂分子运动碰撞而丢失，所以必须在固态才能测定，这样样品处理就较麻烦。最简单的方法是将溶液在低温（77K 液氮）中冻结固化后测定。由于需要低温，仪器结构也就复杂，如同为分光光度仪，磷光分光光度仪比荧光灯要多加磷光镜、杜瓦瓶、液氮、液氮储存与运输罐等装置。更重要的是样品冻结后样品冻柱不透明，常呈霜状且有裂缝，导致磷光不稳定，改用有机溶剂后冻柱变透明了，但水溶性化合物

测定就又不准确。Winefordner 等尝试了许多方法反复改进仪器结构与测试方法,结果均不理想。他们于 1981 年后多次宣布“低温磷光用作常规分析工具的研究已经失败”,从此低温磷光分析文献就快速在学术界消失。

硝基化合物没有荧光而有磷光,为了开展硝基化合物代谢研究,自 1980 年开始,我们尝试用磷光技术作为带硝基药物的代谢研究工具,同样遇到磷光不稳定的困难,经过反复改进仪器结构和改革操作技术,基本克服了结果不稳定的困扰,应用它完成了 20 多个新药代谢和动力学研究。开展磷光寿命研究,发现不同寿命磷光体混合后其寿命是各磷光体寿命的加和。可利用磷光寿命变化做定量分析,分析生物体内色氨酸含量及测定动力学参数。吖啶的激发光谱与牛血清白蛋白的发射光谱相覆盖,将两者混合后用血清白蛋白激发光激发,出现吖啶磷光,用来研究分子间的能量转移。利用光化学反应后磷光增强来分析硫胺、2-二乙基雌激素、MTX 等,由于光化学反应后灵敏度提高,只需 $20\mu\text{L}$ 血液或脑液就可测出血液、脑液中 MTX 含量。发现患者脑室注射 5mg MTX 后,脑液中 MTX 比血液中高 900 倍,且维持时间久,72h 后还比血液中高达百倍,为脑室给药治疗肿瘤患者提供实验依据。通过研究,前后公开发表有关磷光的理论、仪器、磷光体分子改造及应用等论文 50 多篇。实验证明,低温磷光技术是可以用作规定量分析工具的。

本书主要介绍作者在磷光分析技术方面的经验与体会,同时对磷光、荧光的一些基本理论也加以简单介绍,以帮助读者了解与开展磷光技术的研究与应用。

本书首先简介光与光相关的一些基本知识,其次介绍产生磷光的分子结构的一些规律,以便了解磷光发生的条件与规律,接着介绍磷光仪器结构与操作中应注意的事项及磷光用作定量分析的研究。第 7 章药物分析因药物较多,所以按药物性质,以有强磷光的、没有强磷光或有弱磷光的、季铵类,分 I、II、III 三部分介绍。在应用方面,介绍几个药物的代谢动力学及用磷光寿命变化作定量分析与动力学参数测定,光化学反应与加温 (100°C),氧化还原对磷光体分子结构改变以提高磷光强度,光化学反应使烯烃化合物反式转化为顺式而增强磷光,用染料与胺类药物、季铵类药物反应后测染料磷光的通用分析法,扩大磷光技术应用于有机化合物的分析,磷光技术应用于生物化学中分析核酸、蛋白质、氨基酸及应用于维生素、激素的微量分析,还介绍磷光技术在药理学、毒理学及法医学中的应用。

由于作者水平有限,年事已高,书中难免有不少不足和错误之处,望读者不吝指正。另外,我要感谢我的子女们对本书编辑打印方面的帮助。最后,青年读者阅读本书后若有所开拓、创新,我则非常高兴,达到了写作本书的初衷。

“片言传新意 只语导创机”

目 录

前言

第 1 章 光概论	1
1.1 光的性质	1
1.2 光能的转换	4
1.3 发射光	7
1.4 激发能的消失	8
1.5 物质结构与发光	9
第 2 章 分子结构与发光	12
2.1 分子结构与分子发光	12
2.2 分子结构与磷光	29
第 3 章 磷光仪器与操作使用	53
3.1 简介	53
3.2 磷光分光光度计	54
3.3 操作	57
3.4 磷光测定	58
3.5 滤纸低温磷光	60
3.6 操作中注意事项	62
第 4 章 磷光寿命原理与应用	69
4.1 原理	69
4.2 磷光寿命的测定	70
4.3 磷光寿命的特征性	72
4.4 影响磷光寿命的因素	74
4.5 应用	76
第 5 章 量子产率	94
5.1 量子产率的计算	94
5.2 荧光量子效率测定	95
5.3 磷光量子产率	97
第 6 章 磷光分析技术	103
6.1 一般观察	103

6.2	100℃加温	104
6.3	紫外线光照	105
6.4	氧化	105
6.5	铜离子的作用	106
6.6	还原作用	106
6.7	间接测定	107
6.8	尿素衍生物化	108
6.9	重原子作用	109
第7章 药物的磷光分析与应用		110
I 直接测定与应用		110
7.1	氨甲喋呤的磷光分析及应用	110
7.2	氯丙嗪的磷光分析	117
7.3	氟胺安定的磷光分析	120
7.4	吲满氨酯的磷光分析	123
7.5	阿司匹林的磷光分析及应用	127
7.6	尼可刹米的磷光分析与应用	134
7.7	氟卡胺的磷光分析与应用	137
7.8	对二甲氨基酚的磷光测定与应用	140
7.9	对氨基苯丙酮的磷光分析与应用	145
7.10	对羟胺苯丙酮的磷光分析及应用	150
II 弱或无磷光的胺类药物通用分析法及应用		153
7.11	胺类药物通用分析法	153
7.12	阿托品的磷光分析	161
7.13	二氢埃托啡的磷光分析	164
7.14	二甲苯胺基噻唑	168
III 季铵类药物的分析		172
7.15	筒箭毒磷光	172
第8章 毒物磷光分析及应用		180
8.1	毒物磷光分析	180
8.2	毒扁豆碱的磷光分析应用	182
8.3	芬太尼和二氢埃托啡	184
8.4	槲皮素的磷光分析	188
8.5	筒箭毒的磷光及其他	189

第 9 章 维生素的磷光分析及应用	190
9.1 维生素 B ₁ 的磷光分析与应用	190
9.2 维生素 B ₂ (核黄素) 的磷光分析及应用	197
9.3 叶酸的磷光分析及应用	201
9.4 吡哆辛的磷光分析与应用	209
9.5 辅酶 I 的磷光分析	213
9.6 辅酶 II 磷光分析及应用	216
第 10 章 蛋白质、核酸的磷光分析及应用	219
10.1 蛋白质及其组分的磷光	219
10.2 核酸磷光	224
第 11 章 激素磷光分析及应用	229
11.1 雌激素的磷光	229
11.2 乙烯雌酚的磷光	234
11.3 5-羟色胺的磷光分析与应用	239
11.4 肾上腺素的磷光分析	243
11.5 顺-雄甾酮的磷光性质	244
11.6 黄体酮的磷光性质	245
参考文献	247
索引	250

第1章 光 概 论

为了方便读者深入了解磷光的特点与原理,首先介绍与磷光密切相关的光学基本知识。

1.1 光的性质

光是电磁波的一种形式,具波动与粒子二向性。

1.1.1 光的波动性

光的波动性表现在其传播是波浪式前进的(图 1.1)。两波峰间的距离为波长,单位为纳米 (nm)。可见光波长在 400~800nm 之间。400 nm 以下为紫外光,紫外光又分为近紫外光和真空紫外光。800 nm 以上为红外光。

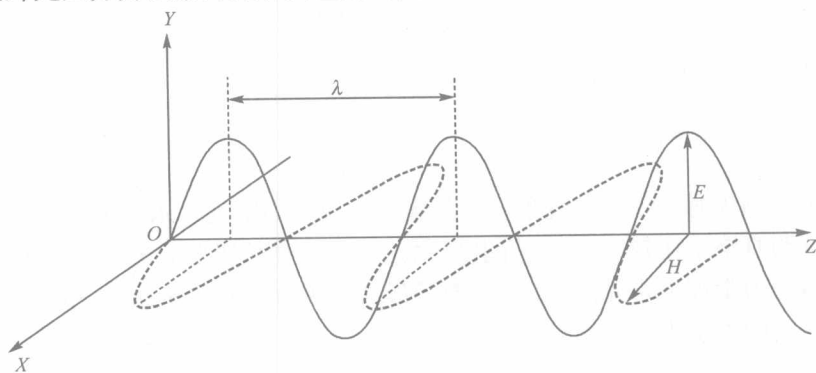


图 1.1 光波在电场(YZ 平面)与磁场(XZ)平面中传播

光每秒振动的次数为频率。在真空中光速为 3×10^{10} cm/s, 故频率为

$$\nu = c/\lambda \quad (1.1)$$

式中: ν 为频率 (Hz 或 s^{-1}); c 为光速 (cm/s); λ 为波长 (cm)。

用式 (1.1) 可计算任何波长光的频率。例如, 波长为 500nm 的光, 其频率为

$$\nu = 3 \times 10^{10} \text{ cm/s} / (500 \times 10^{-7} \text{ cm}) = 6 \times 10^{14} / \text{s}$$

与频率相关的另一个常用名词为波数。它是指在单位长度 (cm) 中的振动次数, 即

$$\tilde{\nu} = 1/\lambda$$

(1.2)

波数的常用单位为厘米⁻¹ (cm⁻¹)。

各种电磁波的波长如图 1.2 所示。

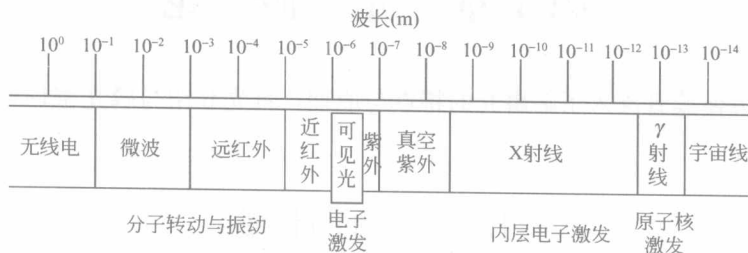


图 1.2 各种电磁波的波长关系

各种光波的波长范围:

宇宙线	0.005nm	红外线	0.0008~0.8mm
γ射线	0.1~0.05nm	短赫兹线	0.8~10mm
X射线	1~100nm	赫兹线	0.01~5000m
紫外线	130~400nm	无线电波	1~50 000m
可见光	400~800nm	慢振动	10 000 000m

1.1.2 光的粒子性

光进入物体时产生两种现象。一是穿过物质,如空气、水、玻璃等,同时光速减慢(与真空中比较),产生折射现象;二是被物质吸收,光的能量转移到物质。按量子力学理论,光能(E)以粒子形式被吸收,叫光量子。光的能量 E 与光的波长 λ 的关系为

$$E = h\nu = hc/\lambda \quad (1.3)$$

式中: h 为常数, $h=6.626 \times 10^{-27} \text{ erg} \cdot \text{s}$,即普朗克常量 $=6.626 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$ 。

利用式(1.3)可计算各种波长光的能量。例如,波长为500nm的光,其能量为

$$E = 6.6 \times 10^{-27} \times 3 \times 10^{10} / (500 \times 10^{-7}) = 3.96 \times 10^{-12} (\text{erg})$$

人们常用摩尔(mol)为单位,值为 6.02×10^{23} ,故1mol、波长500nm的光的能量为

$$E(\text{摩尔能量}) = 6.02 \times 10^{23} \times 3.96 \times 10^{-12} = 24 \times 10^{11} (\text{erg/mol}) = 24 \times 10^4 (\text{J/mol})$$

又1000cal为 $4.18 \times 10^{10} \text{ erg}$,故

$$E = 24 \times 10^{11} / (4.18 \times 10^{10}) = 57.4 (\text{kcal/mol})$$

所以当 1mol 物质吸收 500nm 的光时, 就是吸收了 57.4kcal 能量。表 1.1 为近红外、可见光、近紫外光的波长、频率与能量的关系。

表 1.1 波长、频率与能量的关系

波长 λ/nm	频率 ν/s^{-1}	能量/(kcal/mol)	颜色	分子效应
1000	3.0×10^{14}	29		
800	3.8×10^{14}	35.8	红外	分子振动
750	4.0×10^{14}	38.2	可见光极限	
700	4.3×10^{14}	40.9	红	
650	4.6×10^{14}	44.1	红	
620	4.9×10^{14}	46	橘红	
600	5.0×10^{14}	47.7		
580	5.2×10^{14}	49	黄	
550	5.4×10^{14}	52.1	黄绿	
530	5.8×10^{14}	54	绿	
500	6.0×10^{14}	57.4	绿	
470	6.4×10^{14}	60	蓝绿	
450	6.67×10^{14}	63.8	蓝	
420	7.2×10^{14}	68	紫	
400	7.5×10^{14}	71.5	可见光极限	
380	7.9×10^{14}	75.5	紫外	
350	8.57×10^{14}	82.0		
300	1.1×10^{15}	95.4		
250	1.2×10^{15}	114.5		
200	1.5×10^{15}	143		

表 1.1 说明: 从近红外光到近紫外光的能量为 29~143 kcal/mol。波长愈短, 能量愈高。光能愈高, 物质吸收光后电子跃迁愈大, 同时引起的光分解也愈多(即跃迁的电子不再跳回原来轨道)。当光的能量降低, 不足以使电子跃迁, 但促使分子振动、转动增加。光子能量再低, 则只能使分子转动增加而已。

式 (1.2) 中如将能量单位改为电子伏特 (eV), 波长单位改为 $\text{\AA}$ (10^{-8}cm), 则可简化为

$$E = 12\,345/\lambda \quad (1.4a)$$

例如, 波长为 4000 $\text{\AA}$ 的紫光, 其能量为

$$E = 12\,345/4000 = 3(\text{eV})$$

式 (1.4a) 是粗略的计算能值, 如要精细些可改用:

$$E = 12\,398.1/\lambda \quad (1.4b)$$

为了换算方便, 将一些物理单位的关系列表 (表 1.2)。

表 1.2 能量单位的换算

1 电子伏 (eV)	$= 8065.8 \text{ 厘米}^{-1} (\text{cm}^{-1}) = 12\,398 \text{ 埃}^{-1} (\text{\AA}^{-1})$
	$= 1.60 \times 10^{-12} \text{ 尔格 (erg)}$
	$= 1.15 \times 10^4 \text{ 开 (K)}$
	$= 23.06 \text{ 千卡/摩尔 (kcal/mol)}$
1 厘米 ⁻¹ (cm ⁻¹)	$= 1.44 \text{ 开 (K)}$
1 开 (K)	$= 0.868 \times 10^{-4} \text{ 电子伏 (eV)}$
1 卡 (cal)	$= 4.18 \times 10^7 \text{ 尔格 (erg)} = 4.18 \text{ 焦耳 (J)}$
	$= 2.6 \times 10^{13} \text{ 兆电子伏 (MeV)}$
1 焦耳 (J)	$= 1 \text{ 瓦} \cdot \text{秒 (W} \cdot \text{s)} = 10^7 \text{ 尔格 (erg)}$

注: 为了方便用文字和符号单位。

1.2 光能的转换

光能可通过物质物理的、化学的变化而产生, 光能与物质相互作用产生能量转换而发生物理与化学变化。

1.2.1 光化学反应

光能转移到分子而起化学变化, 叫做光化学反应。光化学反应是非常快的, 因为光以 $3 \times 10^{10} \text{ cm/s}$ 的速度前进, 而分子的大小是以 nm 或 $\text{\AA}$ 计算, 即半径为 10^{-8} cm , 所以光通过分子的时间只有 $10^{-18} \sim 10^{-15} \text{ s}$, 也即在这么短的时间内, 分子将入射的光子截住, 并将光能转移到分子, 成激发分子。若激发分子的电子离开分子轨道, 并进一步分解或转移到其他分子, 就产生光化学反应。

1.2.2 分子能量的变化

分子 (或原子) 中的电子是处在一定能阶的, 电子从低能阶跃迁到高能阶需要吸收一定的能量。反之, 从高能阶回到低能阶, 就放出一定的能量。吸收光能 (紫外、可见或红外光) 使分子中的电子产生跃迁, 或使分子振动或转动加剧。其中, 电子产生跃迁需要的能量最高, 分子振动加剧所需的能量次之, 分子转动增加要求的能量最小。表 1.3 是电子跃迁、分子振动、转动与动能的关系。

表 1.3 电子跃迁、分子振动、转动与能量的关系

名称	电子伏/eV	波长/cm ⁻¹	能量/ (kcal/mol)
电子跃迁	2.5	20000	30
分子振动	0.24	2000	5.8
分子转动	0.0012	10	0.029
动能* (=1/2KT)	0.013	100	0.3

* 动能 KE 的推导: 按光的波动性与粒子性, 其能量:

$$E=mc^2 \text{ 或 } E=h\nu$$

$$\nu=c/\lambda, \text{ 代入得:}$$

$$E=mc^2=h\nu=hc/\lambda, \lambda=hc/mc^2=h/mc$$

$$\text{而 } mc=\text{动量}=p$$

$$\text{所以 } \lambda=h/p, \text{ KE}=1/2mv^2$$

$$\text{当 } V=c \text{ 时, KE}=1/2m(h/m\lambda)^2=1/2(h^2/m\lambda^2)$$

所以, 一个电子的动能与波长倒数的平方有关。

从表 1.3 可见, 电子跃迁与分子振动、转动所需的能量差别很大, 分别为 60、5.8 与 0.029 kcal/mol。要使分子转动改变, 只要很小的能量就可以达到。通常在室温 (300K) 下, 其热能 (1/2KT) 约为 0.3 cal, 比分子振动能量低, 但比转动能量大得多, 故热能可增加分子的转动。按 Maxwell-Boltzman 能量分配公式, 可容易弄清:

$$n_s/n_g = e^{-\Delta E/KT} \quad (1.5)$$

式中: n_s/n_g 为激发分子数 n_s 与基态分子数 n_g 之比; ΔE 为基态与激发态之间的能量差, 即

$$\Delta E = E_s - E_g \quad (1.6)$$

在常温 300K 下, 电子基态与激发态之间的关系可计算如下:

电子从基态转移 (跃迁) 到激发态 $-\Delta E=60$ kcal/mol

$$\text{所以, } n_s/n_g = e^{-\Delta E/KT} = e^{-60/0.6} = e^{-100} \approx 1/10^{43}$$

即激发分子与基态分子之比为 $1:10^{43}$ 。显然在常温下, 热能不可能使分子中电子从基态激发到激发态, 但转动可大大加剧。将转动能 0.029 kcal/mol 代入, 得

$$n_s/n_g = e^{-0.029/0.6} = e^{-0.048} \approx 0.953$$

分子总能量是电子的跃迁、振动和转动三种能量的和。用算式表示为

$$E_{\text{总}} = E_{\text{电子}} + E_{\text{振动}} + E_{\text{转动}} \quad (1.7)$$

由于能量差别大, 能量大的改变常伴随有能量小的改变, 如分子振动的改变常伴随分子转动的变化; 而电子的跃迁, 又可伴有振动、转动的变化。因此, 在紫外-可见光谱上常有细微的结构。Morse 用双原子分子的位能图来说明相对能

阶的关系，如图 1.3 所示。

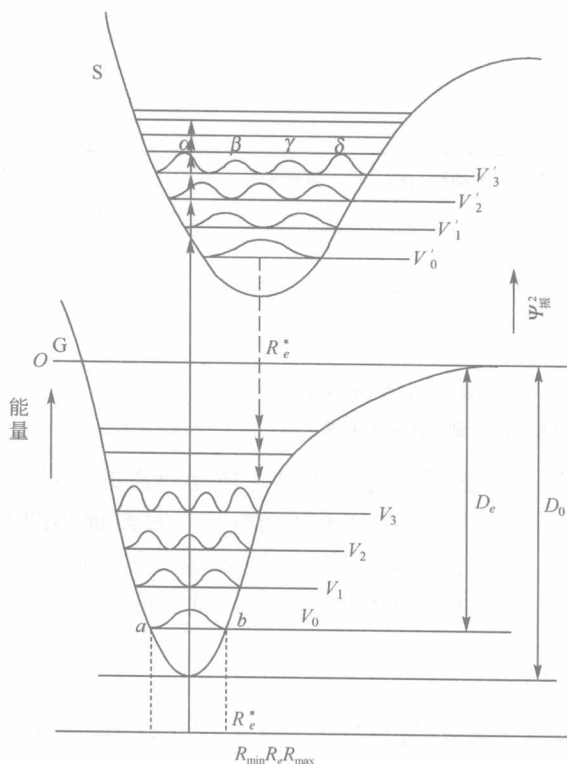


图 1.3 双原子的基态与激发态位能图解波

横坐标为核距，纵坐标为能量，G 为基态电子能阶，S 为激发态电子能阶， R_e^* 、 R_e 分别为激发态、基态的平衡距离， R_e^* 比 R_e 短或长取决于激发态性质， $V_1, V_2, \dots, V'_1, V'_2, \dots$ 为振动能阶

图中有两曲线，下为基态 (G)，上为激发态 (S)。曲线上每一点代表特定键距下核-核、电子-电子间相互作用的净能值。 V_i 、 V'_i 分别代表在基态与激发态中第 i 个振动能阶，虚线为波动公式中的振动概率，以 $\Psi_{\text{振动}}^2$ 表示， $\Psi'_{\text{振动}}$ 为振动波函数。光与物质作用，在常温有热搅动、吸力与斥力等因素，使原子在轨道上振动。当光量子射入该分子，分子截住光子，吸收了能量而成为激发态（这一过程极快，只需 10^{-15}s 左右，在这样短的时间内，可以考虑原子与原子间的距离是恒定的）。电子从基态跃迁到高一层能阶（如图 1.3 中曲线 S），激发态电子经振动一段时间 (10^{-8}s) 后，能量逐渐降低，同时与其他分子碰撞而失去激发能，电子也回到基态，这个能量的丢失可有多种形式，如热、光等。

1.3 发 射 光

发射光(辐射)由于产生条件的不同有以下五种类型。

1.3.1 共振辐射

在低压力下,有些气体吸收光能后不经振动丢失能量,而将吸收的能量完全释放出来,其波长与吸收光的波长相同,叫做共振辐射(resonance-radiation)。这种辐射在压力稍大的情况下与溶液中是不可能发生的,因为激发分子容易因振动碰撞失去部分能量而到较低振动能阶再发射。

1.3.2 瑞利散射

在测溶液或固体发射光时,有发射的光与激发光波长完全相同,叫瑞利(Rayleigh)散射。散射程度取决于波长,具有 $1/\lambda^4$ 关系,这种瑞利散射也可由仪器壁、溶液中丁氏反射等引起,所以不是专一的。

1.3.3 拉曼光

当光子击在分子上,分子吸收了光子能量而产生振动、转动的激发,拉曼光是分子振动能加上或减去光子能量,它取决于电子的频率。在重新发射时,电子可含较多正或负的能量。因此,物体可以发射比激发光能量高(+)或低(-)的光,以负(-)为主,这叫做拉曼(Raman)光。拉曼光比激发光频率低些,而比荧光又高些,它与激发光有一定的频率差距,相差量取决于分子结构,故可用于研究分子结构。在研究溶液发光时,拉曼光远比瑞利散射弱。在用高强度激发光源时,又因拉曼光与荧光接近,故对荧光有影响。

1.3.4 荧光

分子吸收光子能量,激发为激发态(S),在激发态,电子不断振动到最低激发态点(约 10^{-11} s),有的分子激发到更高的激发态 S_2 ……再不断振动回到激发态最低点,然后跃回基态,并发射光,其波长比激发光的波长要长、能量要低。寿命为 10^{-9} s左右。

1.3.5 磷光

激发态电子有时可改变自旋方向,分子处于三线态。由单线态转变到三线态叫作分子内交联(窜越)。三线态电子经振动到三线态最低点,再回到基态,并

发射光，其能量比荧光更低、波长更长，寿命也更长（可达 10^{-3} s 至几秒），叫磷光。通常由单线态跃迁到三线态的概率很低，只有 $S_0 \rightarrow S_1$ 概率的百万分之一。磷光大多要在低温下才能发生，所以磷光又常称冷光。在干燥无水或与水隔离的情况下，室温也可产生磷光，叫室温磷光。

上面各种光的关系可总结如图 1.4 所示。

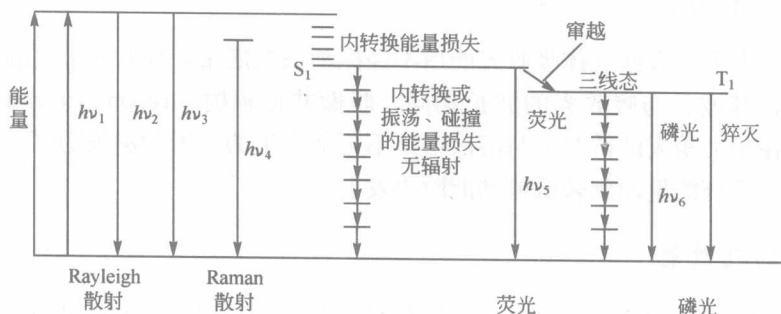


图 1.4 分子内能量转变关系

1.4 激发能的消失

1.4.1 分子运动

激发态的激发能量通过分子碰撞、振动、转动等转移到周围溶剂，可以一小部分一小部分的消失，回到基态，如图 1.4 中小箭头所示。在激发态能量与基态能量相差不大时，也可由激发态直接进入基态较高振动能阶，再逐渐通过振动回到基态最低点，如图 1.5 (a) 所示。

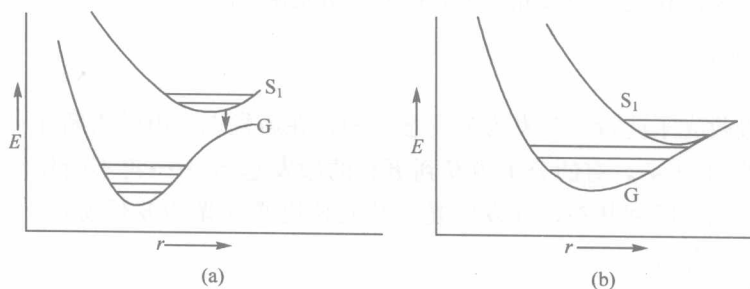


图 1.5 能量转变图

r 为核距， E 为能量

有时激发态与基态相覆盖, 则分子更易自激发态转移到基态振动能阶, 如图 1.5 (b) 所示。

1.4.2 猝灭作用

当激发态分子与另一种可吸收激发能的分子碰撞, 即失去能量, 不再发射磷光、荧光。这种可吸收激发能的分子叫猝灭剂, 用 Q 表示。



被猝灭的能量最后以热形式消失。

1.5 物质结构与发光

1.5.1 分子、原子结构

为了使读者弄清荧光与磷光的区别, 先简单介绍一下分子结构理论。分子、原子中电子均按一定的轨道函数运动, 另外, 还按电子自己的轴坐标旋转, 叫作自旋 (spin), 以 S 表示。自旋方向分 $+1/2$ 与 $-1/2$, 即方向相反。通常原子、分子中轨道上电子大多数是成对的, 且自旋方向相反, 即自旋量子数之和为零 [$S=1/2+(-1/2)=0$]。

一基态原子或分子, 其电子的轨道角动量以 $2S+1$ 表示, 如分子中所有电子是成对的, 则 $2S+1=2 \times (1/2-1/2)+1=1$, 这样的分子状态叫做单线态。在多原子分子中, 当受激发时, 电子产生能量跃迁, 一个电子跃迁到新轨道 (能量高的轨道), 这样两个电子各占一轨道。若自旋不变, 则 $2S+1=1$ 为激化单线态; 若自旋改变, 则 $2S+1=2 \times (1/2+1/2)+1=3$, 这种电子状态叫做三线态。具三线态的分子是不稳定的, 电子容易改变自旋, 恢复单线态状况。

在辐射能作用下, 使分子产生电中心的改变, 叫偶极矩 (dipole moment) 的跃迁。原子中电子转移有一定的选择定则, 分子中, 能量跃迁不生成足够的偶极矩, 跃迁是极不可能的。从单线态跃迁到另一能阶, 或从三线态跃迁到另一个三线态, 常伴随发生无跃迁动量。从单线态到三线态需自旋逆转是禁阻的, 相对的要弱, 在给定能阶转移, 称容许跃迁 (allowed transition)。相反三线态到单线态, 又需自旋逆转为禁戒跃迁 (forbidden transition), 可能性较少。

Jablonski^[1]与 Kasha^[2]认为, 大部分可吸收能量的分子具有两种激发态, 即 S (单线态) 与 T (三线态), 如图 1.6 所示: