

同步—导数荧光分光光度计的研制

黄贤智 刘震 纪国仙

(厦门大学化学系)

荧光分析法具有灵敏度高和选择性好的优点,因此该法仍在快速发展中。^[1,2]在提高荧光分析选择性的方法中,同步扫描荧光法^[3,4]、导数荧光法^[5,6]和同步导数荧光法^[7]颇引入的注目。荧光分光光度计是荧光分析必备的仪器,虽然目前已有几种国产商品化的、性能较好的荧光分光光度计,例如 910 型和 WFD-9 型,但均缺乏进行导数荧光及同步导数荧光分析的功能。国外已商品化的荧光分光光度计,例如日立 850 型、F-2000 型; SPEX 公司 Fluorolog[®]-2 等,若不另配数据处理附件,则每次也只能做同步扫描分析或导数荧光分析,而无法进行同步—导数分析,而后者正是人们最感兴趣的技术。为此,我们研制了具有同步—导数荧光分析性能的荧光分光光度计,经测试表明,该仪器不仅可以测绘荧光激发光谱、荧光发射光谱,而且还可以测绘同步荧光光谱,一阶(或二阶)导数荧光光谱和同步导数荧光光谱。仪器波长准确度 $\pm 1\text{nm}$; 波长范围 220-700nm(激发), 250-880nm(发射); 灵敏度约 0.1ppb 奎宁; 稳定度 $\sim 1.5\%$ 。本仪器已成功地应用于 B_1 和 B_2 的同步荧光法分析^[10]。

一、仪器的设计

1. 仪器的组成

仪器由以下几部分组成:

光源: 氙灯, 150 瓦, 上海电光器件厂。

单色仪: WYF 型平面光栅, 1200 线/mm, 波长精度 $\pm 1\text{nm}$, 泉州光仪厂。

电子微分器: 参照文献[5], 本实验室自己组装。可进行一阶、二阶导数荧光分析。

光电倍增管: R456, 日本。

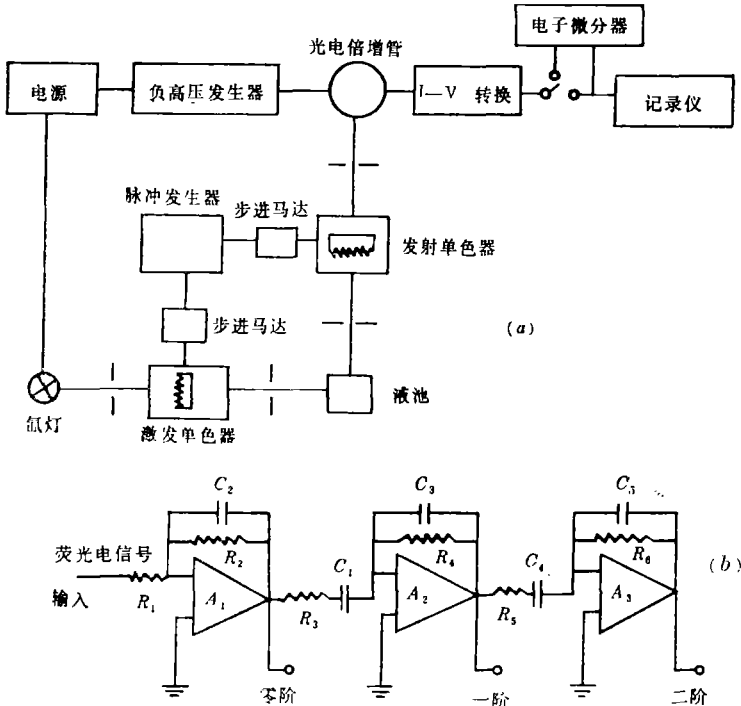
记录仪: XWFS 型, 上海自动化仪表三厂。

负高压电源及 I-V 转换电子装置: 参照 YF-1 型荧光分光光度计^[9]。

2. 仪器的工作原理:

仪器的原理图见图 1(a), 电子微分器电路见图 1(b)。仪器的工作原理: 由氙灯辐射的光束激发单色仪色散出的单色光照射于液池, 液池中的荧光物质受激发并发射出荧光, 荧光经发射单色仪色散后照射于光电倍增管, 光电倍增管把荧光信号转化为电流信号, 再经 I-V 转化器转化为电压信号, 最后在数字电压表上显示或记录仪上记录。

激发单色仪和发射单色仪的波长盘由步进马达驱动, 其驱动速度由脉冲发生器控制。



(图中 R_1 至 R_6 为电阻, C_1 至 C_5 为电容, A_1 至 A_3 为运算放大器)

图 1 仪器的原理图 (a) 和电子微分电路示意图 (b)。

激发光谱的测绘：固定发射单色仪的波长于荧光发射峰波长处，然后驱动激发单色仪并记录其光谱。

发射光谱的测绘：固定激发单色仪的波长于激发峰处，然后驱动其发射单色仪并记录其光谱。

同步扫描光谱的测绘：固定发射单色仪与激发单色仪的波长 $\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{ex}$ ，然后两个单色仪同时匀速驱动，所记录的谱图为同步光谱。

导数荧光光谱的测绘：实验时把电子微分器串接于荧光电信号输出和记录仪之间，然后按激发光谱或发射光谱测绘的步骤进行，所测绘的谱图为导数激发光谱或导数发射光谱。

同步-导数荧光光谱的测绘：实验时先于荧光信号输出和记录仪之间串接上一电子微分器（见图 1），然后按同步荧光光谱测绘步骤进行同步扫描，测绘得到谱图为同步-导数荧光光谱。

二、结果与讨论

图 2 为 1ppm 葱的环己烷溶液，在 $\lambda_{ex} = 350\text{nm}$ 光激发下扫描得的发射光谱，和在 $\lambda_{em} = 342\text{nm}$ 测量波长下扫描得的激发光谱，与标准图谱^[10] 相较，其谱形和峰的波长位置基本一致。

图 3 为经本仪器电子微分器微分后的葱的一阶和二阶导数荧光光谱，经与本实验室的日立 850 型荧光分光计的对照实验，其二阶导数荧光光谱基本一致。由于本机没有倒相装置，一阶导数光谱呈倒相谱形。

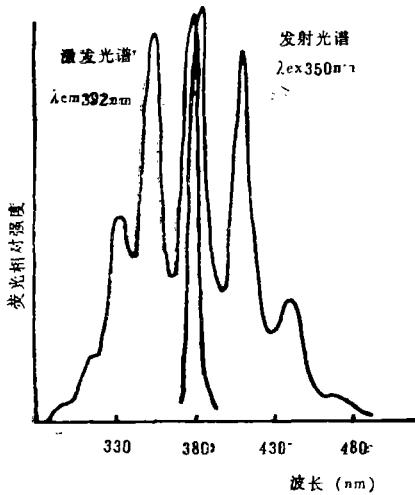


图 2 葱的激发和发射光谱

葱：1ppm 环己烷介质，扫描速度：60nm/min
室温：25℃

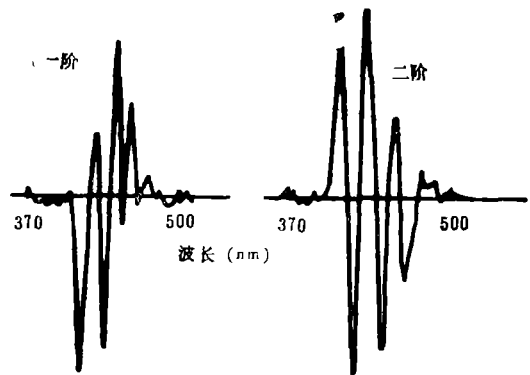


图 3 葱的一阶和二阶导数荧光光谱

葱：1ppm 环己烷介质，扫描速度：
60nm/min

图 4 为葱、菲、萘和芴四种调环芳香烃混合物（介质：环己烷）以 $\Delta\lambda = 3\text{nm}$ 的同步荧光法扫描得的同步光谱。由图可见，上述四种组分的同步光谱已能清晰地分开，这说明本仪器可用于多组荧光物质的同步荧光分析。

为检查本仪器的同步-导数光谱功能，进行荧光黄、罗丹明 B 和罗丹明 6G 混合样品为例的实验。在进行 $\Delta\lambda = 3\text{nm}$ 的同步扫描之前，把电子微分器串接于荧光电信号输出和记录之间，而后进行同步扫描。图 5 为测绘得的上述三种荧光体的同步光谱（图a）、同步-一阶导数荧光光谱（图b）和同步-二阶导数荧光光谱（图c）。可见本仪器已具备一和二阶的同步-导数荧光光谱分析的功能，它能提高同步光谱的分辨率，使同步荧光法和导数荧光法的优点在一次实验中同时得到发挥。

经试验，本仪器的检测灵敏度为 0.1 ppb 奎宁（0.05 摩尔/升 H_2SO_4 ），水拉曼峰（ $\lambda_{ex} = 350\text{nm}$ ）信/噪比大于 20。最近，我们把仪器与微机联用，使该仪器进

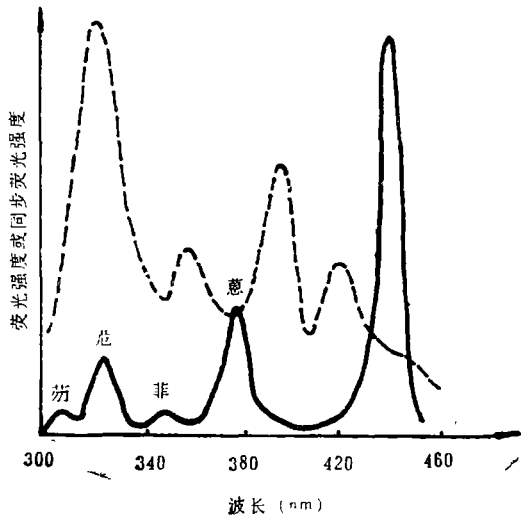


图 4 葱、菲、萘和芴的同步光谱（实线）
 $\Delta\lambda = 3\text{nm}$ ，葱 0.4ppm、菲、芴和萘各 40ppm，
介质：环己烷虚线为相应溶液的发射光谱

一步兼有恒能同步和可变角同步荧光法功能^[13]。(1990.1.)

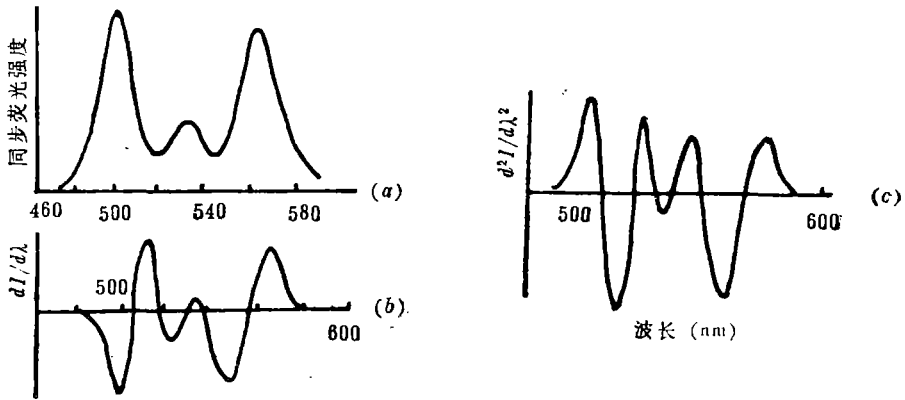


图 5 荧光黄、罗丹明 6G 和罗丹明 B 的 $\Delta\lambda=3\text{nm}$ 的同步光谱 (a)、同步一阶导数光谱 (b) 及同步二级导数光谱 (c)。

荧光黄 0.1ppm, 罗丹明 6G 0.06ppm, 罗丹明 B 0.4ppm。介质 0.01N NaOH, 扫描速度 60nm/min。

参 考 文 献

- [1] I. M. Warner, Anal Chem 60 162R-175R(1988).
- [2] M. J. Kerckhoff, et al. Appl. Spectrosc. 33, 239 (1984).
- [3] J. B. F. Lloyd, Nature (Phys, Sci) 231, 64 (1971).
- [4] T. Vo-Dinh, Anal. Chem. 50, 396 (1978).
- [5] G. L. Green, et al Anal. Chem. 46, 1291 (1974).
- [6] 黄贤智、许金钩、蔡挺, 分析化学, 15, 293 (1987).
- [7] J. N. Miller, et al, Anal. Proc. 19, 37(1982).
- [8] 许金钩、黄贤智、黄新建, 医药工业, 11,7 (1985).
- [9] 黄贤智、翁新桥、厦门大学学报, 自然科学版, 4, 443 (1981).
- [10] Sadtler Standard Spectra, Standard Fluorescence Spectra 1—500, Sadtler Research Laboratories, INC, 1974, P.84.
- [11] 李耀群、黄贤智, 中国化学会第二届发光分析学术会议文集 B70. B71. 1988 年 11 月于厦门。