

采用激光光热偏转法直接测量稀染料溶液的 绝对荧光量子产额*

秦宗益 金巨广

(中国科学院长春应用化学所, 长春 130022)

提要 报道了一种采用激光光热偏转法直接测量稀染料溶液的绝对荧光量子产额的新方法, 以若丹明 6G 甲醇溶液为样品, 证实了该方法的可行性, 并讨论了其优缺点。

关键词 激光光热偏转, 荧光量子产额

1 引言

荧光量子产额是研究受激分子的弛豫过程和光化学历程的重要参数。染料绝对荧光量子产额的测量在激光染料研制与应用和有机光化学反应机理研究等方面有重要意义^[1]。但常规测量方法需对测量结果进行多次校正, 步骤繁琐和对参比物有较高的要求, 测量精度较差。基于光热转换的光热光谱法为荧光量子产额测量提供了多种有效的方法, 如光声光谱法^[2~4]和热透镜法^[5,6], 在该领域都已取得迅速的发展, 并获得满意的结果。我们结合高灵敏的光热偏转法和荧光光谱法, 采用荧光猝灭原理与多点测量数据拟合, 提出了一种更为简便和精确的测量方法。

2 原理

在不发生化学反应的场合下, 物质吸收光能后, 存在相互竞争制约的两种能量转换过程, 即无辐射跃迁与荧光(磷光)衰减过程:

$$E = Y_f E_f + T_s E_a \quad (1)$$

其中 E 为物质吸收的光能, Y_f 为荧光量子产额, E_f 为转化为荧光的能量部分, T_s 为光热转换系数, E_a 为转化为热能的能量部分。激光光热偏转法是基于光热效应的一种检测手段。当物质吸收辐照的光能后, 通过无辐射跃迁将其吸收的部分能量转化成热能, 在加热区域内产生温度梯度而形成折射率梯度。如果让另一束小功率的探测光束通过该区域, 将会发生光束偏转。光热偏转信号取决于转化为热能的能量 E_a 和光热转换系数 T_s 。可见, 所观测的荧光信号越小, 光热

* 国家自然科学基金资助项目。

收稿日期: 1995年1月9日; 收到修改稿日期: 1995年6月12日。

偏转信号就越大,反之亦然。利用这种性质,同时(或分别)测量光热偏转信号和荧光信号,便可确定物质的光热转换效率和荧光量子产额。

在荧光样品溶液中添加少量荧光猝灭剂,一般不会显著改变样品的光热特性,可以认为荧光强度 $I(c)$ 和 $\{1 - T_s(c)\}$ 成线性关系^[7],有

$$\frac{S(c)}{S(0)} = \frac{T_s(c)}{T_s(0)} = \frac{1}{T_s(0)} - \frac{I(c)}{I(0)} \left[\frac{1}{T_s(0)} - 1 \right] \quad (2)$$

其中 $S(c)$, $I(c)$ 和 $T_s(c)$ 分别为猝灭剂浓度为 c 时,荧光样品的光热偏转信号、荧光强度和光热转换系数, $S(0)$, $I(0)$ 和 $T_s(0)$ 分别为纯荧光样品(即 $c = 0$) 的相应值。对一组相同染料浓度,不同猝灭剂浓度的荧光样品的测量数据进行拟合,便可确定 $T_s(0)$ 。荧光量子产额由下式确定

$$Y_f = \frac{\lambda_{em}}{\lambda_{ex}} [1 - T_s(0)] \quad (3)$$

其中 λ_{ex} 为激发波长, λ_{em} 为荧光平均波长。只要激发波长落在染料的 $S_0 \rightarrow S_1$ 吸收带内,就可以避免更高能级激发态能量的体系内变换(包括三重态猝灭),激发波长的差异仅表现为激发光子转化为荧光光子的能量转换效率不同,而染料的荧光量子产额与激发波长无关。

3 实 验

测量染料荧光量子产额的光热偏转实验装置如图 1 所示。作为泵浦束的氩离子激光经调制后,与作为探测束的氦氖激光用同一透镜($f = 500 \text{ mm}$)聚焦,两光束成 5° 角在样品池内相交。

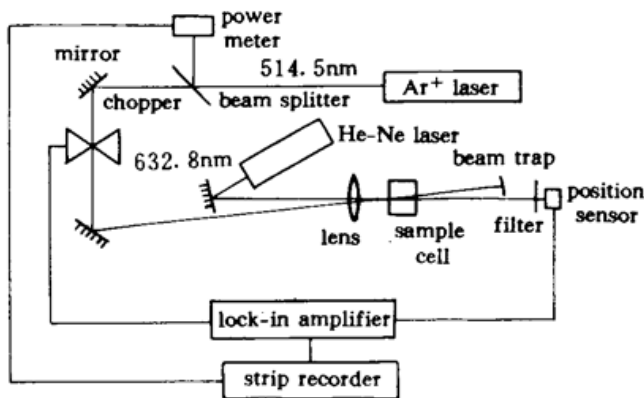


Fig. 1 Schematic of the photothermal deflection apparatus for measuring the fluorescence quantum yield of Rhodamine 6G

样品吸收引起的探测光束偏转,用位置传感器监测。光热偏转信号经锁定放大器放大并记录。同时监测泵浦光束的功率变化,对光热信号作必要的校正。整个光学元件都置于光学导轨上。

荧光样品选用若丹明 6G。若丹明 6G 是最有效的激光染料,具有很高的荧光量子效率和重叠的吸收与发射谱图。常规方法难以消除该样品的自吸收与再发射的影响。基于电荷转移相互作用,阴离子如 I^- , SCN^- , Br^- , Cl^- 和 ClO_4^- 等可以有效地猝灭染料样品的荧光。我们选用 KI 为猝灭剂。

优化光热偏转装置,使之适合于荧光量子产额的测量。测量若丹明 6G 浓度为 $5.0 \times 10^{-8} \text{ g/ml}$, KI 浓度分别为 0, 0.3, 0.8, 1.5, 2.0 和 4.0 mg/ml 的甲醇溶液的光热偏转信号与荧光强度,拟合实验结果,确定若丹明 6G 的荧光量子产额。

4 结果与讨论

光热偏转法具有较强的适用性,可以用于所有物质吸收的检测,还可检测试样的亚表层吸收。Jackson 等人^[8]成功地采用光热偏转法测量了液氮中多孔硅的绝对发光量子产额。对于液

体样品,光热偏转法也具有发展潜力。与已发展起来的光声光谱法和热透镜法相比,光热偏转法具有独特的优势。在光路构型上,光热偏转法采用泵浦光束与探测光束以小角度相交的方式,光热信号仅由光束相互作用区产生,避免了光声光谱法的主要噪声来源,即样品池吸收的影响,也消除了热透镜法中较难克服的、泵浦光束对探测光束所载的光热信号检测的干扰,光路简单,检测灵敏度却比光声光谱法高二个数量级,并略胜于共线热透镜法。光热偏转法对激光束模式的要求也不如热透镜法严格,激光束的强度分布不必一定是高斯模式。本实验采用的探测光束为 TEM_{01} 与 TEM_{10} 的叠加模式,表现为圆环状的光斑。采用非相干光源作为泵浦光源,在固体样品检测中十分常见。此外,光热偏转法比较适于低流速的流动样品检测,易与流动注射技术联用,可望实现自动化分析。这些都大大增强了光热偏转法的实用可行性。

光热偏转法是一种超高灵敏度的测量方法,已经测定了低至 10^{-8} 量级的微弱吸收。我们曾对影响光热偏转信号的实验参数作了比较细致的研究^[9],发现光热偏转信号与调制频率呈反比关系,与泵浦光束功率呈线性关系。泵浦光束与探测光束的紧密聚焦可获得较大的光热信号。据此优化实验装置,并在调制频率为 60 Hz、泵浦光束功率为 200 mW 的情况下,定量测定了若丹明 6G 甲醇溶液。在 $1.0 \times 10^{-8} \sim 5.0 \times 10^{-6}$ g/ml 浓度范围内,光热偏转信号与样品的浓度呈线性关系,若丹明 6G 的最小可测浓度为 5.0×10^{-10} g/ml,如图 2 所示。在这些样品溶液中分别添加 1.5 mg/ml KI 后,光热信号增大,但线性范围收缩,光热信号较早趋于饱和。低浓度下的溶剂效应和高浓度下的吸收饱和效应和荧光猝灭效应,使得定量曲线偏离了线性。可以看出,光热偏转装置比较适合于极稀的染料溶液,还可通过差分构型来消除溶剂效应影响^[9]。

我们知道 KI 是若丹明 6G 有效的猝灭剂。比较 5.0×10^{-8} g/ml 纯若丹明 6G 甲醇溶液和加入 4.0 mg/ml KI 后的溶液的吸收谱图与荧光谱图,吸收谱图有红移倾向,但峰位仅移动 1 nm,峰形保持不变,样品的吸光度也只有较小的差异。这表明在若丹明 6G 甲醇溶液中添加少量的 KI 未使溶液的光热性质发生显著变化。从荧光谱图可以看出, KI 有效地猝灭了若丹明 6G 的强荧光,由荧光谱图求出平均荧光波长为 573 nm。考虑到 KI 易光解,我们将泵浦光束功率降至 100 mW,在半小时内收集数据,发现在这段时间内,光热偏转信号未发生显著变化,可见 KI 的分解速率不足以影响测量结果。

测量一系列添加不同 KI 浓度的若丹明 6G 甲醇溶液的光热偏转信号与荧光强度,其测量结果的相对误差分别为小于 6% 和 2%。以 KI 浓度 C 为函数,分别作相对光热偏转信号 $S(c)/S(0)$ 与相对荧光强度 $I(c)/I(0)$ 的关系曲线,如图 3 所示。较低的 KI 浓度下,相对值曲线可保持一段良好的线性,随后趋于饱和。采用 $T_s(0) = 12.7\%$ 与 $I(c)/I(0)$ 值,通过等式(2)计算 $S(c)/S(0)$,拟合曲线如图 3(a) 所示,大体与测量结果一致。再采用 $T_s(0) = 10.7\%$ 重复上述计算,拟合曲线用图 3(b) 表示,表明估算的 $T_s(0)$ 不准确性小于 2%。将 $T_s(0) = 12.7\%$ 代入等式(3),得到若丹明 6G 的荧光量子产额为 97%。其

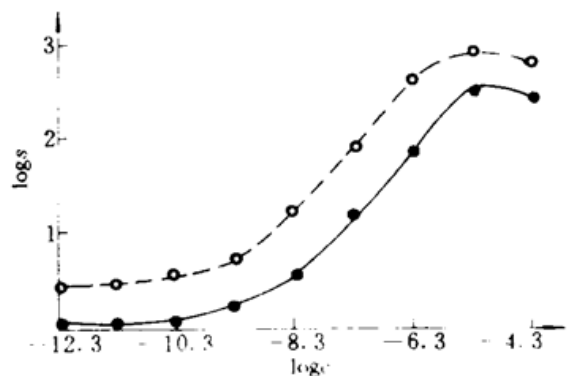


Fig. 2 Photothermal detection signal S (log scale) as a function of Rhodamine 6G concentration c (log scale). Solid line: pure Rhodamine 6G solution; Dashed line: 4.0 mg/ml KI in the solution

他三次的测量结果分别为 96%, 97% 和 99%, 该结果与其他实验测量结果相比较列于表 1。

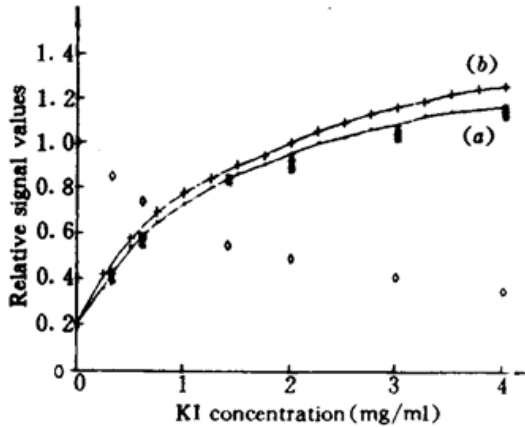


Fig. 3 Relative photothermal deflection signal $S(c)/S(0)$ (“.”) and fluorescence intensity $I(c)/I(0)$ (“.”) of Rhodamine 6G (5.0×10^{-8} g/ml) in methanol as a function of potassium iodide quencher concentration c . (a) prediction of Eq. (2) with $T_s(0) = 12.7\%$; (b) prediction of Eq. (2) with $T_s(0) = 10.7\%$

Table 1 Values of the fluorescence quantum yield of Rhodamine 6G measured by several methods

Method	Quantum yield (%)	Solvent	Concentration (g/ml)	Reference
Fluorescence method	95 ± 5	water	4.7×10^{-8}	10
	95			1
Photoacoustic method	96 ± 2	water	1.4×10^{-7}	2
	88 ± 5	ethanol	4.5×10^{-6}	3
	88 ± 5	PVC	4.5×10^{-4}	4
Thermal lens method	88 ± 2	methanol	4.5×10^{-6}	5
	93 ± 4	PMMA	1.4×10^{-5}	6
Photothermal interference method	98.7 ± 2	methanol	5.0×10^{-7}	7
Photothermal deflection method	97 ± 2	methanol	5.8×10^{-8}	this work

从表 1 可以看出, 报道的测量结果比较分散, 但对较稀的若丹明 6G 溶液, 测量结果还是比较集中。试剂的纯度、样品浓度和环境温度等因素对荧光量子产额的测量结果有很大影响, 但影响测量精度的主要因素是所用方法的灵敏度和参比物的选择。高浓度下的染料分子易形成二聚体, 引起荧光浓度猝灭, 还会发生溶液的自吸收与再发射。采用稀溶液为样品, 测量结果便可较为准确地反映染料分子的能量转换过程。这就要求测量方法具有较高的检测灵敏度。荧光光谱法已经达到单分子检测水平, 而激光光热偏转法也可达到分子个数可数的检测水平, 这两种方法可以方便地结合起来。我们测量的若丹明 6G 的浓度为 5.0×10^{-8} g/ml, 可以忽略染料分子间的相互作用。常规方法的检测灵敏度通常很低, 无法进行稀溶液测量。

参比物的选择对荧光量子产额的测定至关重要。光声光谱法和热透镜法比常规方法优越, 就在于无需准确的发光标准样品, 它们以非荧光物质为参比物, 常见的是将待测的荧光样品猝灭后用作参比物。这主要是考虑到难以找到与待测样品光热特性一致的外参考物, 但并不是所有的荧光样品都能完全猝灭, 猝灭剂加入过多也会影响参比物的光热特性, 因此测量误差大多不低于 5%。我们提出的测量方法属于内标定方法, 避免了非荧光参比物的使用, 还适合于复杂荧光能级体系的测量。我们采用多点测量数据拟合, 大大提高了测量精度, 容易将误差控制在 2% 以内。

本实验的误差主要来源是外界环境振动和样品的光分解。改善实验条件和采用流动样品都可以提高测量结果的精度。正是这些误差, 使得该方法在测量低量子产额 (小于 20%) 时, 测量精度恶化。但激光光热偏转法仍不失为研究物质能量转换过程的一种极其灵敏和十分有效的新方法。

参 考 文 献

- 1 K. H. Drexhage. Structure and properties of laser dyes, in *Dye Lasers*, 2nd ed., ed. F. P. Schäfer, Springer, Berlin, 1977. 149
- 2 W. Lahmann, H. J. Ludewig. Opto-acoustic determination of absolute quantum yields in fluorescence solution. *Chem. Phys. Lett.*, 1977, **45**(1): 177
- 3 张光寅, 李增发, 阎京生. 激光染料的绝对荧光量子产额的光谱测量. *科学通报*, 1985, **30**(3): 175
- 4 W. Görtz, H-H. Perkampus. Bestimmung absolute fluorenszenzquanten-ausbeuten mittles der photo-akustik-spektroskopie. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 1983, **316**(2): 180
- 5 J. Olmstead, III. Calorimetric determination of absolute fluorescence quantum yields. *J. Phys. Chem.*, 1979, **83**(20): 2581
- 6 M. L. Lesiecki, J. M. Drake. Use of the thermal lens technique to measure the luminescent quantum yeilds of dyes in PMMA for luminescent solar concentration. *Appl. Opt.*, 1982, **21**(3): 557
- 7 W-K. Lee, A. Güngör, P-T Ho *et al.*. Direct measurement of dilute dye solution quantum yield by photothermal laser heterodyne interferometry. *Appl. Phys. Lett.*, 1985, **47**(9): 916
- 8 W. B. Jackson, R. J. Nemanich. The absolute luminescence quantum efficiency in hydrogenated amorphous silicon. *J. Non-Cryst. Solid*, 1983, **59/60**: 353
- 9 秦宗益, 金巨广. 正交型光热偏转光谱法及其差分构型研究. *光谱学与光谱分析*, 1993, **13**(5): 17
- 10 R. F. Kubin, A. N. Fletcher. Fluorescence quantum yields of some Rhodamin dyes. *J. Lumin.*, 1982, **27**(4): 455

Determination of Absolute Quantum Yield in Dilute dye Solution by Laser Photothermal Deflection Method

Qin Zongyi Jin Juguang

(Changchun Institute of Applied Chemistry, Academia Sinica, Changchun 130022)

Abstract Direct determination of fluorescence quantum yield in dilute dye solution by a laser photothermal deflection method is reported. An experimental verification of the method is carried out for Rhodamine 6G in methanol and advantages of the method over different methods are discussed.

Key words laser photothermal deflection, fluorescence quantum yield