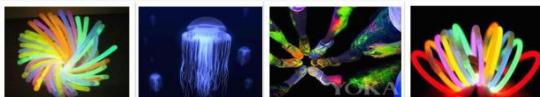
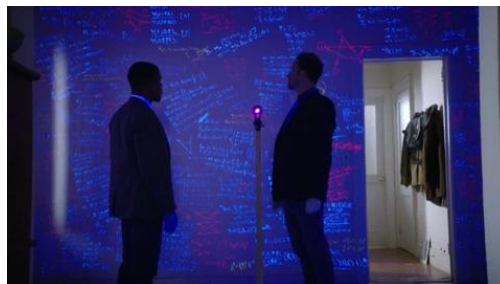


荧光分析法

——《分析化学》



荧光是什么？

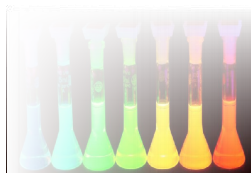


美剧《福尔摩斯：基本演绎法》片段



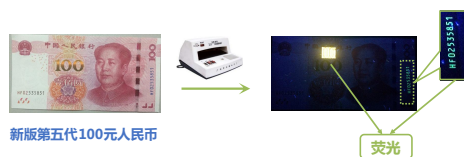
目录

1. 知识引入
2. 荧光的基本定义
3. 荧光的基本理论
 - ◆ 荧光的原理
 - ◆ 斯托克斯位移
 - ◆ 量子产率(QY)
 - ◆ 影响量子产率的因素
4. 荧光光谱仪的基本结构
5. 课堂小测



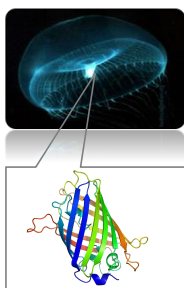
知识引入	荧光的基本定义	荧光的基本理论	荧光光谱仪
------	---------	---------	-------

荧光与生活



知识引入	荧光的基本定义	荧光的基本理论	荧光光谱仪
------	---------	---------	-------

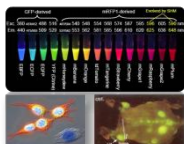
荧光与科学研究 —— 绿色荧光蛋白(GFP)



2008年 诺贝尔化学奖



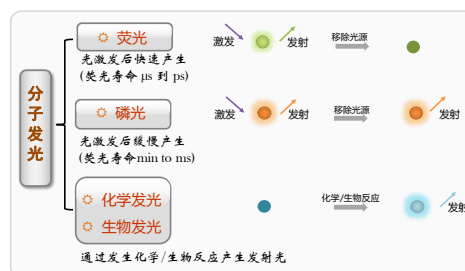
Roger Y. Tsien
(钱永健)
加利福尼亚大学,
圣地亚哥分校
分享三分之一的奖励



荧光分析法

知识引入	荧光的基本定义	荧光的基本理论	荧光光谱仪
------	---------	---------	-------

定义: 荧光分子在经过**激发光照射**后, 产生**寿命较短**的发射光



荧光分析法

单选题 1分

设置

思考：萤火虫与荧光棒



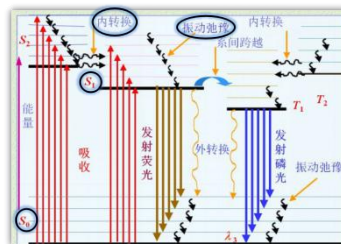
萤火虫与荧光棒哪种属于荧光？

- ☐ A 萤火虫 ☐ B 荧光棒 ☐ C 都不属于 ☐ D 都属于



提交

荧光产生的原理



电子以辐射跃迁的形式回到基态的过程产生荧光

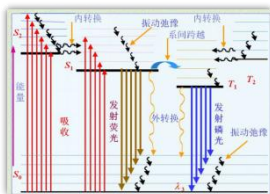
多选题 1分

设置

下列跃迁方式属于非辐射跃迁的有哪些？

- ☐ A 振动弛豫 ☐ B 内转换 ☐ C 系间跨越
☐ D 荧光发射 ☐ E 磷光发射

提交

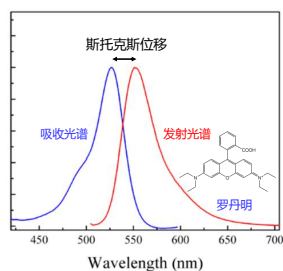


接下来学习的内容

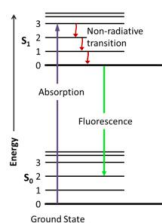
- ◆ 斯托克斯位移
- ◆ 荧光量子产率(QY)的概念
- ◆ 影响量子产率的因素
- ◆ 荧光光谱仪的基本结构

荧光分析法

斯托克斯位移

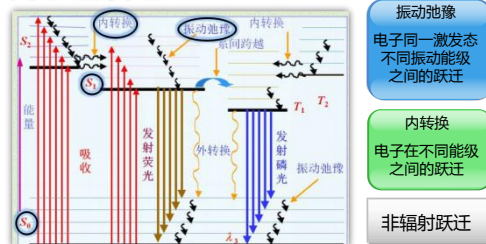


内转换与振动弛豫



荧光分析法

荧光产生的原理



荧光分子在经过 激发光照射后，产生 寿命较短的发射光

荧光分析法

考考你



下列跃迁方式属于非辐射跃迁的有？ A、B、C

A、振动弛豫

B、内转换

C、系间跨越

D、磷光发射

荧光分析法

量子产率

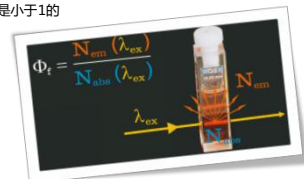
指荧光物质发射光子数与吸收激发光子数之比

当非辐射跃迁A返回基态的概率很小时， Φ_f 接近于1

在通常情况下， Φ_f 总是小于1的

N_{em} = 发射光子数

N_{abs} = 吸收光子数



量子产率主要与荧光分子的结构有关

荧光分析法

考考你



荧光量子产率是指 (B)

A、荧光强度与吸收光强度之比

B、发射荧光的光子数与吸收激发光的光子数之比

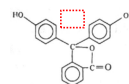
C、发射荧光的分子数与物质的总分子数之比

D、激发态的分子数与基态的分子数之比

E、物质的总分子数与吸收激发光的分子数之比

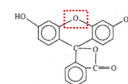
荧光分析法

影响量子产率的因素 (1) 刚性结构



酚酞

pH指示剂，无荧光



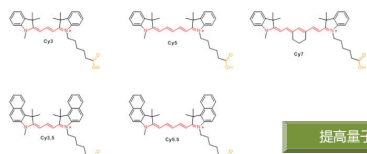
荧光素

高量子产率



荧光分析法

影响量子产率的因素 (2) 共轭结构



Probe	Ex (nm)	Em (nm)	MW	Quantum yield
Cy3	(512) 550	570 (615)	767	QY 0.15 ^[5]
Cy3.5	581	594 (640)	1102	QY 0.15
Cy3.5	581	594 (640)	1102	QY 0.15
Cy5	(625) 650	670	792	QY 0.27 ^[5]
Cy5.5	675	694	1128	QY 0.28 ^[6]
Cy7	743	767	818	QY 0.28

提高量子产率

产生更多的激发态分子

更高的摩尔吸光系数(ϵ)

分子内共轭程度越高

荧光分析法

影响量子产率的因素 (3) 温度

一般说来，大多数荧光物质的溶液随着温度的降低，量子产率将增加，相反，温度升高量子产率将下降。

如荧光素的乙醇溶液在0℃以下每降低10℃，量子产率增加3%，冷至-80℃时，量子产率为100%。

荧光分析法

荧光的基本定义	荧光的基本理论	荧光光谱仪的基本结构	知识拓展
---------	---------	------------	------

影响量子产率的因素 (4) 取代基效应

化合物	荧光相对强度
苯	10
苯酚 	18
苯胺 	20
苯甲酸 	3
硝基苯 	0

◆ 给电子基团：如 $-\text{OH}$, $-\text{OR}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NR}_2$ 等，增强荧光。

◆ 吸电子基团：如 $-\text{COOH}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{NO}$ 等，减弱甚至熄灭荧光。

荧光分析法

荧光分析法

考考你



下列结构中量子产率最高的物质是 (A)

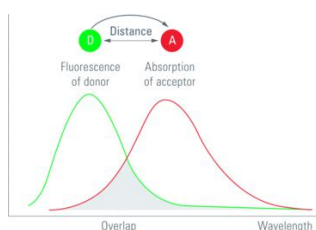
- A、苯酚
- B、苯
- C、硝基苯
- D、苯甲酸
- E、碘苯

荧光的基本定义	荧光的基本理论	荧光光谱仪的基本结构	知识拓展
---------	---------	------------	------

影响量子产率的因素 (5) 猝灭

荧光物质分子与溶剂或其它溶质分子相互作用，引起荧光强度降低、消失或荧光强度与浓度不呈现线性关系的现象。

- 碰撞
- 能量转移
- O_2 的作用 (光漂白)
- 自熄灭、自吸收 (内滤效应)



荧光分析法

荧光分析法

考考你



一种物质能否发出荧光主要取决于 (A)

- A、分子结构
- B、激发光的波长
- C、温度
- D、溶剂的极性
- E、激发光的强度

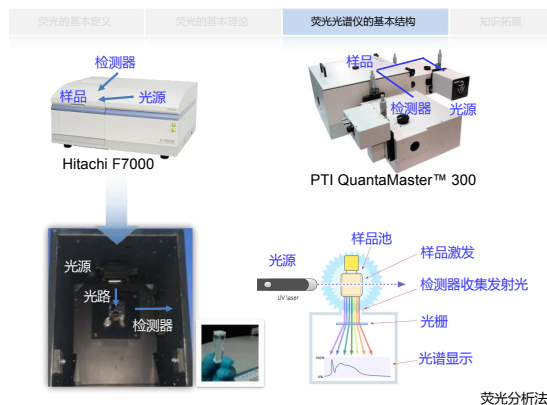
考考你



分子中有利于提高量子产率的结构特征是 (B、D、E)

- A、双键数目较多
- B、共轭双键数目较多
- C、含重金属原子
- D、分子为平面刚性
- E、苯环上有给电子基团

荧光分析法



荧光分析法

