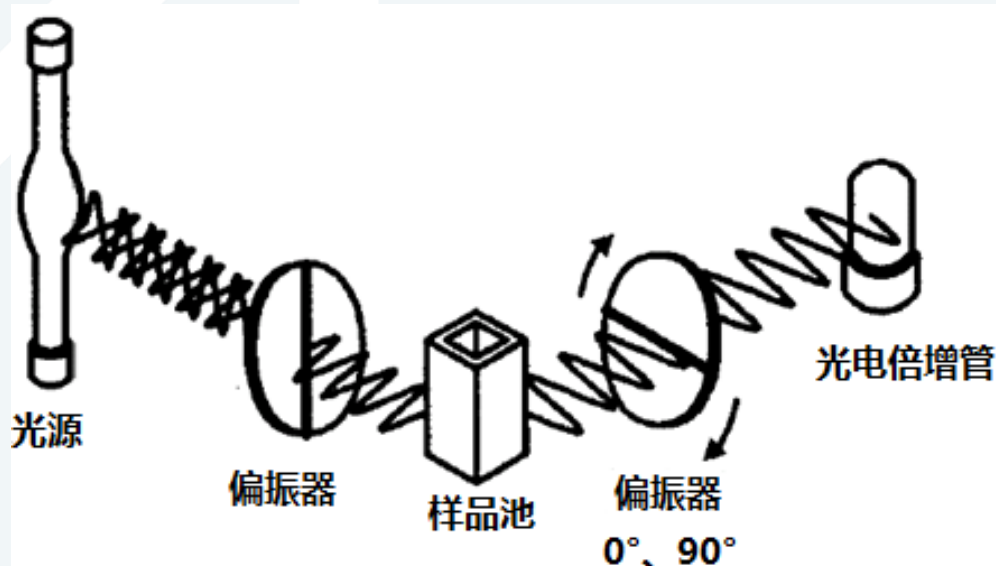


罗丹明 6G 在不同溶剂中的偏振发光特性测试

前言

荧光偏振法是法国人 Perrin 于 1926 年第一次报道的，是在 1970 年代后期广泛应用于生物化学研究。荧光偏振法是用偏振光照射在样品上，根据检测得到的荧光所拥有什么样的偏振光来得到分子的旋转运动或溶剂粘度等信息。任何物质都处于不断运动当中，液态环境中的荧光分子也不例外。因此当受到偏振光激发时，荧光分子的运动状态例如旋转、翻转、相互结合、排斥、溶液的粘度、温度等这些因素都有可能对这个荧光因子受激发后发出的偏振光的性质产生影响。因此，对其进行分析比较，有可能揭开物质活动的内在规律，达到研究“荧光偏振”的目的。近年来，以这种物理学现象为基础的技术在生命科学研究的多个领域中扮演着越来越重要的角色。



当荧光分子受平面偏振光激发时，如果分子在受激发时期保持静止，发射光将位于同样的偏振平面。如果在受激发时期，分子旋转或翻转偏离这一平面，发射光将位于与激发光不同的偏振面。如果用垂直的偏振光激发荧光素，可以在垂直的和水平的偏振平面检测发射光光强（发射光从垂直平面偏向水平平面的程度与荧光素标记的分子的迁移率有关）。如果分子很大，激发时发生的运动极小，发射光偏振程度较高。如果分子小，分子旋转或翻转速度快，发射光相对于激发光平面将去偏振化。

在荧光偏振测量系统中，激发光束被偏光器偏光后照射到样品上。在样品的荧光分子中，只有与偏光器一个方向的分子会发出荧光。发射的荧光根据入射偏振角分别地检测平行和垂直组分。分子的偏振特性通常用荧光偏振度 P 和各向异性来进行计算，计算过程中需要考虑仪器自身校正因子 G，计算内容如下表所示：

Signal	偏光角度	
	激发	发射
$I_{//}$ (平行组分)	0°	0°
I_{\perp} (垂直组分)	0°	90°
$i_{//}$ (平行组分)	90°	90°
i_{\perp} (垂直组分)	90°	0°

(1) 仪器常数的计算(G 因子):

$$G = \frac{i_{\perp}}{i_{//}}$$

(2) 荧光偏光角度的计算(P 值):

$$P = \frac{I_{//} - I_{\perp} \times G}{I_{//} + I_{\perp} \times G}$$

(3) 荧光各向异性的计算(A 值):

$$A = \frac{I_{//} - I_{\perp} \times G}{I_{//} + 2I_{\perp} \times G}$$

通常，分子在环境中的运动越慢，分子的偏振特性越明显，这与分子自身结构（分子量、刚性等）以及所处环境（溶剂粘度、温度）等都有关系。

测试条件

仪器：FL970 荧光分光光度计、偏振测试附件

测试参数：测量方式：波长扫描；Ex 波长：488 nm；Em 波长：530 nm-620 nm；扫描速度：60 nm/min；采样间隔：1 nm；Ex 带宽：5 nm；Em 带宽：5 nm；PMT 值：300

测试结果

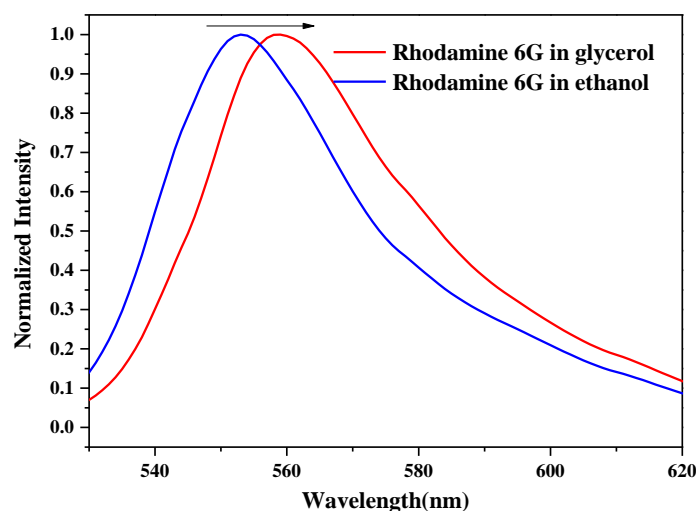


图 1 不同溶剂中罗丹明 6G 的荧光光谱

图一显示的是在不同的溶剂中罗丹明 6G 的荧光光谱，可以看出，罗丹明 6G 的光谱随着其所处的溶剂不同发生了一定的变化，当溶剂由乙醇转变为粘度更大的丙三醇时，光谱发生了红移，溶剂对其发光特性产生了影响，这是由于溶剂丙三醇的极性更大，使得在分子内电荷跃迁过程中因为电子重排时发生了较大的偶极矩变化，使得波长红移。

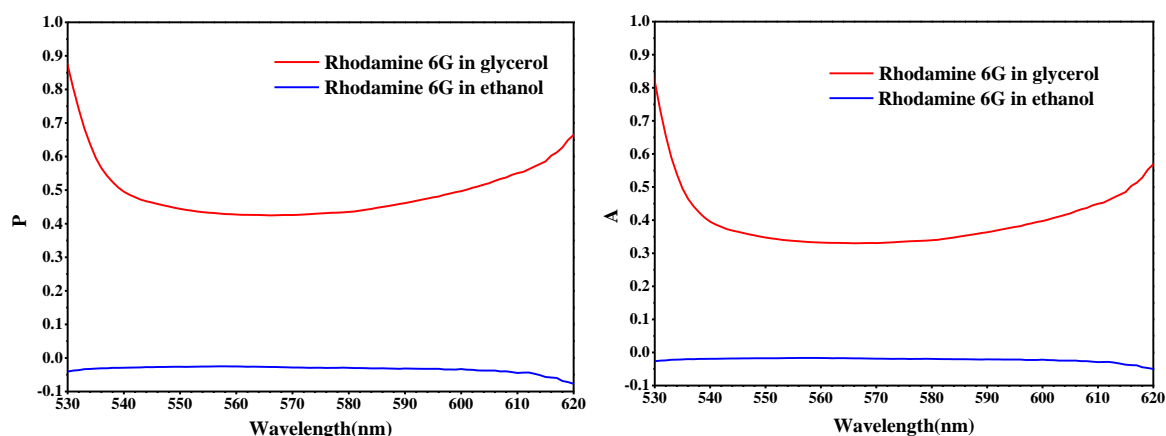


图 2 不同溶剂中罗丹明 6G 偏振度（左）及各向异性（右）曲线

P 以及 A 值越接近 ± 1 ，荧光分子运动越慢，取向越有序，P 以及 A 值越接近 0，荧光分子运动越快，取向越随机。图二显示的是在不同的溶剂中罗丹明 6G 的偏振度及各向异性曲线，可以看出当罗丹明 6G 所处的溶剂环境是丙三醇时，偏振度及各向异性显著大于所处溶剂环境是乙醇时，这是由于丙三醇具有较大的粘度，禁锢了罗丹明 6G 分子的运动速度和取向，因此使得罗丹明 6G 在该溶剂环境中表现出了很强的荧光偏振特性。图一由于偶极矩变化导致的光谱红移也进一步佐证了偏振效应的发生。

总结

使用 FL970 搭配偏振测试附件可以很好地测试液体样品的现象。偏振测试附件可以实现溶液的 0° 、 90° 在 400-700 nm 的偏振及各向异性测试。在聚合物科学、生物系统、分子生物学、免疫学、材料科学等领域有着广泛的应用。

