

瞬态荧光光谱

瞬态荧光光谱反应的是发射过程，分子吸收光后，从 S_0 跃迁到激发态 S_1 ，荧光光谱是表征激发态 S_1 跃迁回 S_0 的过程。染料不同，其激发态的命运也是不同的，一些会直接跃迁到 S_0 此时为荧光发射，荧光寿命一般在纳秒级；一些途径 T_1 再跃迁到 S_0 ，为磷光发射，磷光寿命一般在微秒级。荧光寿命成像技术可以同时获得分子状态以及空间分布的信息，在生物学和医学领域得到了越来越广泛的应用。下图为瞬态荧光原理。

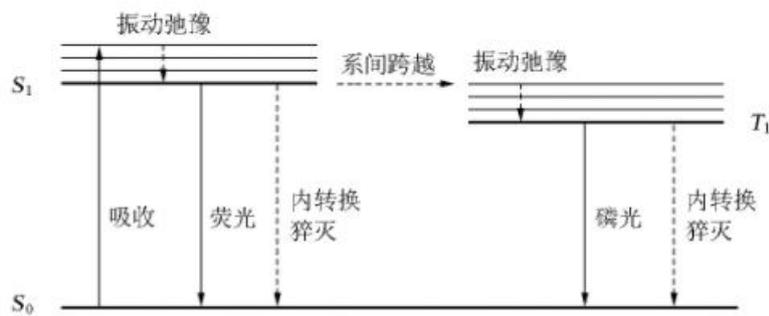


图 1 Perrin-Jablonski 简图

在目前针对荧光寿命或荧光衰减的检测中，常使用脉冲法，其中单光子计数法(TCSPC)是较普遍的手段。图 2 所示为常见的单光子技术测量仪器示意图。

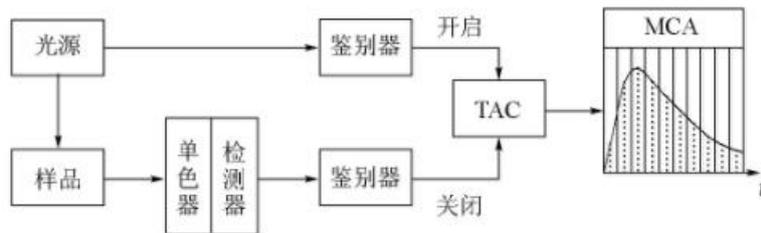


图 2、单光子技术测量仪器示意图

测量实例分析：

一、当体系中含有多种荧光物质时，由于各物质的荧光发射光谱可能会出现重叠和干扰的情况，单独依靠通常的荧光发射光谱手段可能无法得到体系准确的信息。而利用荧光时间分辨技术，可以通过荧光寿命的差异，解析出体系中荧光物质的组成情况，从而提供有价值的信息。图 3 所

示为利用 TCSPC 法对一个混合体系的测量实例。

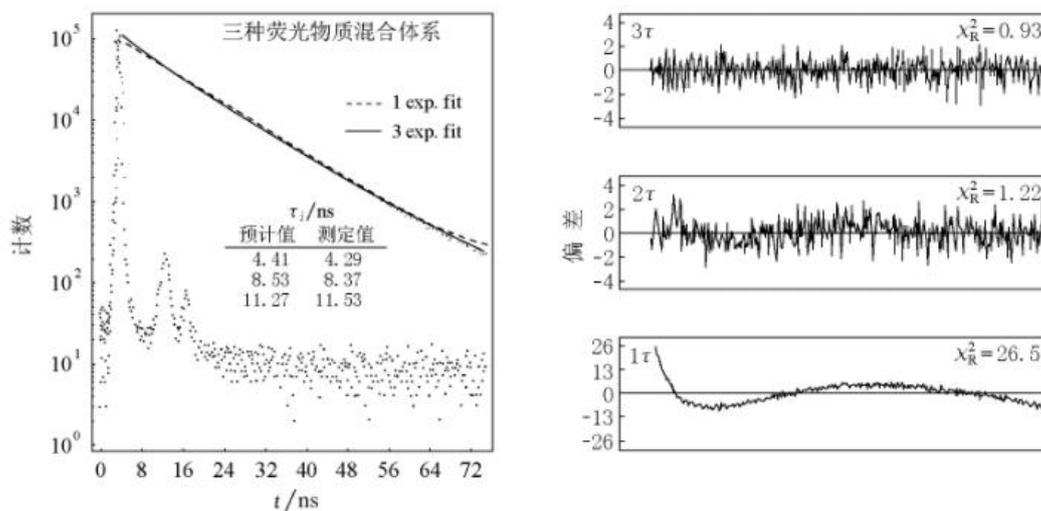


图 3、TCSPC 法测量吲哚、氨基苯甲酸及氨基嘌呤混合体系的荧光衰减

二、利用荧光时间分辨技术,可以辨别处于不同微环境的同种荧光团。利用荧光时间分辨技术,可以辨别处于不同微环境的同种荧光团。譬如在一个蛋白质分子中含有两个色氨酸残基,其中一个被包埋在蛋白质分子内部,另一个则暴露在蛋白质分子表面。利用荧光技术可以判断蛋白质分子内含有位于不同微环境下的色氨酸残基。

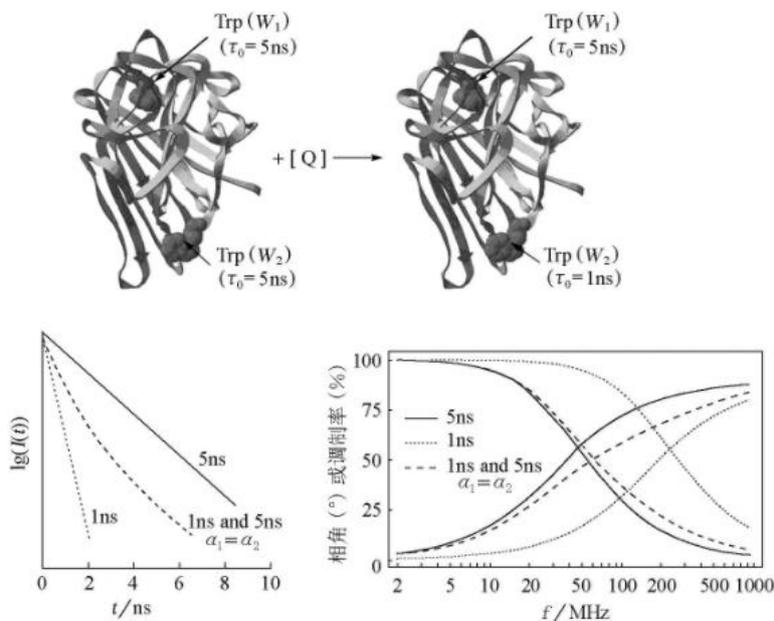


图 4、处于两种微环境的色氨酸荧光衰减曲线