

时间分辨激光荧光光谱分析技术研究^{*}

II. 微秒级时间分辨激光荧光光谱测量

潘利华 董向明 杜继贤

刘莉萍 李华成 陈杭亭

(中国科学院长春应用化学研究所)

摘 要

本文主要以进行稀土元素分析为目的, 在已建立的激光荧光寿命测量装置^[1]的基础上, 建立了时间分辨激光荧光光谱测量装置。结合在此装置上取得的初步实验结果, 对装置的原理、特点、使用范围、工作条件进行了讨论。为进行稀土元素的时间分辨激光荧光光谱分析建立了必要的手段, 也为某些发光材料的发光动力学研究提供了一定的方法。

关键词: 激光荧光光谱, 时间分辨光谱, 稀土。

时间分辨光谱技术最初提出是在1957年^[2]。开始它只是被用于长寿命(ms-s)的磷光体的研究。随着脉冲激光器的问世, 快速信号检测系统和数据采集系统的出现, 使得时间分辨光谱技术在光化学^[3,5], 光生物学, 光物理学等领域有了更广泛的应用。

仅就稀土元素的痕量分析而言, 激光诱导荧光的方法使常规荧光分析法有了新的进步, 其检测限从ppb降到ppt甚至更低。1982年, Sunao Yamada^[6]首次用重复频率为20Hz, 输出能量为2.5mJ, 脉冲宽度为10ns的氮分子激光器为光源, 以光子计数器为数据采集系统, 对铈和钐与TTA的乙醇体系的配合物进行了时间分辨激光荧光光谱法分析测定, 解决了铈、钐测定中的光谱干扰问题, 检测限比常规荧光分析法降低了四个数量级。徐永源继采用激光-液体荧光法测定铈、钐、镱^[7]之后, 又报道了对UA-3铈分析仪进行改装, 加入门检测系统, 以时间分辨激光荧光光谱法测定铈和钐, 在国内首次实现了不经化学分离对混合体系中铈、钐元素测定。其灵敏度较普通光源的液体荧光法提高了四个数量级^[4]。

时间分辨激光光谱技术, 以激光和门检测技术相结合, 它不仅带来了低于普通荧光法的检测限和较高的灵敏度, 还可以有效地解决光谱峰有干扰, 而寿命有明显差异的组分的测定。采用相应的时间延迟, 对于解决背景噪声, 激发光干扰也是行之有效的办法, 因此, 时间分辨激光荧光光谱技术引起了分析化学工作者的极大关注。

实 验

时间分辨荧光光谱, 与常规的二维荧光光谱不同在于: 它引入了第三个变量-时间。其表达式为 $I = f(\lambda_{ex}, \lambda_{em}, \tau_i)$ 。此处I为荧光强度, τ 为待测样品的荧光寿命。

* 国家自然科学基金资助项目。

当一个发光的分子体系被光脉冲激发后,样品的分子便被激发到高能态,由于在激发和弛豫过程中分子的结构状态发生了变化,导致它产生的光谱也随之变化。如果我们能够测量某一瞬间的光谱,则可以得到有关分子在某一瞬间所发生的某种变化的微观图象及动力学过程。我们建立的时间分辨激光荧光光谱测量装置如图1所示。

装置采用国产氮分子激光器为激发光源,其发射波长为3371 Å,输出能量为5mJ左右。用此光源的主要部分激发样品,分出小部分激光打在光敏二极管上,用以触发Boxcar平均器,样品被激发后所产生的荧光经聚焦滤光后射入单色器,然后由光电倍增管接收,经前置放大器放大,同时输入SJ3型记忆示波器和Boxcar平均器,示波器可用于显示荧光衰减曲线,与Boxcar平均器相连的记录仪则记录样品的时间分辨光谱。

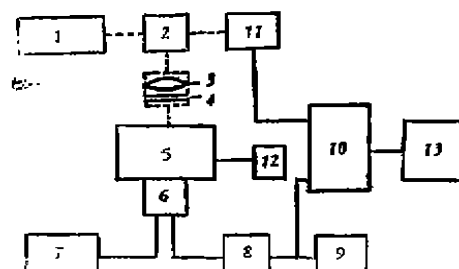


图1 时间分辨激光荧光光谱装置示意图

1. QJD-9氮分子激光器, 2. 自制样品架, 3. 聚焦透镜, 4. 滤光片, 5. WDS-3光栅单色器, 6. GDB-423型光电倍增管, 7. FH-426B型高压电源, 8. 113型前置放大器, 9. SJ3型二踪记忆示波器, 10. Boxcar平均器, 11. 光敏二极管, 12. 单色器扫描系统, 13. K-200记录仪。

结果与讨论

装置采用氮分子激光器为激发源,其光源脉冲宽度5—10ns,远远小于我们所要测量的微秒级以上荧光寿命值,不会响影光谱分辨和造成光谱失真。但对整个装置来说,接收器光电倍增管的响应时间和所采用的负载电阻 R_L 对系统响应时间的影响却是不可忽视的,通常, R_L 越大,信号电压越高,但另一方面,由于电阻电容放电时间过长,会造成谱图失真。为了使装置能用于微秒级以上荧光寿命的样品的时间分辨光谱测量并能在合适条件下工作,装置采用在0.2—200kΩ范围内可变的光电倍增管(PMT)负载(R_L)。在一般条件下,不加样品以反射部分激发光进入单色器入射狭缝,接收单色器出口处3371 Å的光信号,在示波器上显示其激光衰减曲线,以其半峰宽度定义为系统响应时间^[8],其结果如表1。

表1 PMT不同负载电阻(R_L)的系统响应时间(PMT高压:~1000V)

R_L (kΩ)	0.2	1.5	15	51
半峰宽(μs)	2	5	10	20

表2 PMT的 R_L 经验选择值

待测样品 τ (μs)	3—10	10—50	100—500	>500	>1000
R_L (kΩ)	0.2	1.5	15	51	200

对不同荧光寿命的样品的测试结果表明, R_L 的选择对于准确测量时间分辨光谱是很重要的,这里取经验选择条件为表2。

为了消除系统的杂散光,在0.3米单色器前备有可拆装的聚焦透镜和滤光片。聚焦透镜加入与否取决于待测样品。例如,在进行液相—稀土离子荧光测定时,加入聚焦透镜,可使

样品产生的荧光成像于单色器入口处,而在进行晶体的时间分辨光谱测量时,则无需采用聚焦透镜,就可以得到较好结果。对于滤光片的使用,以对待测样品产生的荧光有较高的透过率和尽可能地抑制激发光及杂散光为宜。

装置采用了能够增强重复信号的取样仪器Boxcar平均器为门检测系统。为了准确地进行时间分辨光谱测量,对Boxcar平均器的有关参数以讨论。

a. 延迟范围 (RANGE): 此参数可选范围为 $0.1\mu\text{s}$ — 50ms ,通常所选值大于 3τ 。

b. 初始延迟 (% Initial A和% Initial B): 确定此参数与所测样品的需求有关。延迟的零点即触发的时刻。如在进行某样品指定瞬间的动力学过程及形态的信息研究时,则以此瞬间为延迟起点记录其波形或图象。而在进行样品的荧光分析测定研究中,应以尽可能较少损失信号强度,较多地消除共存物质和杂散光干扰为前提,以具体实验而定。

c. 持续时间 (AD),即门宽: 此参数与时间分辨光谱的分辨能力和信号强度有关。从所测量的谱图看来,门宽太窄,会使信号幅度变小,灵敏度降低,而门宽太宽,会使分辨能力降低。

d. 取样头 (164,165) 时间常数 (TC): 取样头时间常数决定了取样保持时间,要使每次取样幅度保持到下次取样的到来,在这种模拟电路中是相当困难的。由于积分电容总要

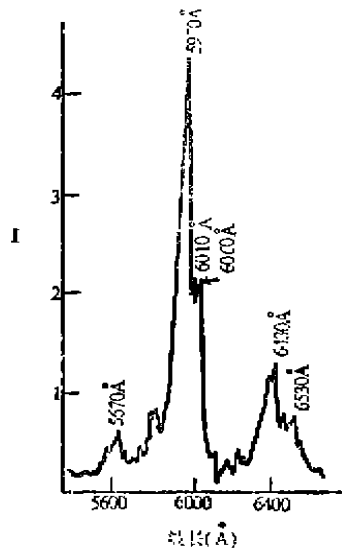


图2 稀土五磷酸盐晶体 $\text{Sm}_{0.2}\text{La}_{0.8}\text{P}_5\text{O}_{14}$ 的时间分辨激光荧光光谱
($x=0.2\text{mol/L}$, $\tau=300\mu\text{s}$) $\lambda_{\text{ex}}:3371\text{Å}$
Boxcar延迟范围:2ms 门宽:60 μs 延迟:60 μs ,
高压:-700V

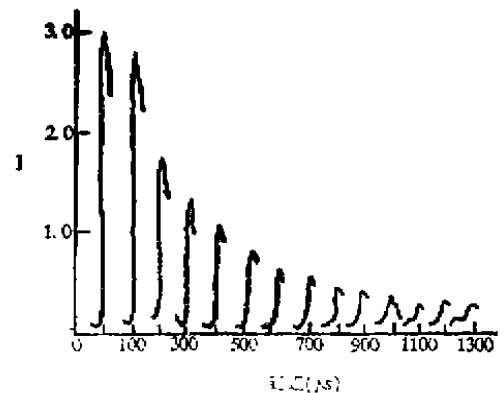


图3 不同延迟时间的稀土五磷酸盐晶体 $\text{Sm}_{0.2}\text{La}_{0.8}\text{P}_5\text{O}_{14}$ 的激光荧光光谱
($x=0.2\text{mol/L}$ 能级 $^4G_{5/2} \rightarrow ^6H_{7/2}$)
Boxcar延迟范围:2ms, 门宽:50 μs
 $\lambda_{\text{ex}}:3371\text{Å}$, $\lambda_{\text{em}}:5960\text{Å}$

表3 几个主要参数参考值

$\tau(\mu\text{s})$	参数	取样头输入阻抗($\text{k}\Omega$)	延迟范围(μs)	门宽(μs)	取样头TC(μs)	主机TC(S)
>3		10	10—30	0.5	1	1
>10		10	>30	5	10	1
>100		10 ^b	>300	50	10	1
>1000		10 ^b	>3000	50	100	1

表4 $\text{Sm}_x\text{La}_{1-x}\text{P}_5\text{O}_{14}$ 晶体荧光寿命测量结果

Sm^{3+} 离子浓度(mol/L)	能级	波长 (Å)	寿命 $\tau(\mu\text{s})$	
			时间分辨率	脉冲衰减值
0.01	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_5/2$	5650	3200	8000
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_7/2$	5960	3375	3130
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_9/2$	6450	2625	2750
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_{11/2}$	7010	3100	8250
0.1	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_5/2$	5650	800	900
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_7/2$	5960	640	860
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_9/2$	6450	840	800
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_{11/2}$	7010	850	900
0.2	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_7/2$	5650	260	225
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_7/2$	5960	310	300
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_9/2$	6450	300	250
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_{11/2}$	7010	260	200
0.4	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_5/2$	5650	125	138
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_7/2$	5960	125	125
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_9/2$	6450	160	100
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_{11/2}$	7010	100	100
0.6	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_5/2$	5650	25	20
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_7/2$	5960	20	25
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_9/2$	6450	25	27.5
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_{11/2}$	7010	20	25
1.0	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_5/2$	5650	6.5	6
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_7/2$	5960	73	13
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_9/2$	6450	13	13
	$^4\text{G}_5/2 \rightarrow ^6\text{H}_{11/2}$	7010	12.5	12.5

放电,不可能像数字电路那样不丢失地储存信号,如果选择取样头时间常数太大,则可能造成信号幅度损失或衰减波形畸变。

e. 主机(162)时间常数(TC)是与低通滤波器有关的参数,即把连续取样的台阶再平滑。在激发频率较低的情况下,要使谱图噪声小,必须加大主机时间常数。

本装置上Boxcar平均器处于指数工作方式,其信噪比改善度为 $\text{SNIR} = \sqrt{\frac{2\text{TC}}{\text{AD}}}$

式中TC为取样头时间常数,AD为门宽。

据此,我们总结了对于不同荧光寿命的待测样品进行时间分辨光谱测量应选择的主要参数的经验值列于表3。

利用此装置,我们对于荧光光谱有干扰且荧光寿命有明显差异的稀土配合物 $\text{Eu}(\text{TTA})_3$ 和 $\text{Sm}(\text{TTA})_3$ 共存的乙醇体系进行了时间分辨光谱分析法的原理性实验。结果表明,在10倍 $\text{Sm}(\text{TTA})_3$ 存在条件下,延迟200 μs ,可以较好地测定 Eu^{3+} 的浓度。在此装置上,我们测得了稀土五磷酸盐晶体 $\text{Sm}_x\text{La}_{1-x}\text{P}_5\text{O}_{14}$ 的时间分辨激光荧光光谱,如图2示。采用时间分辨光谱法,即记录样品的某一能级跃迁的荧光在不同延迟时间所获得的荧光峰值,如图3示,然

后逐点描述其衰减波形, 用与脉冲衰减曲线法同样的计算方式计算其荧光寿命。将此结果与脉冲衰减曲线法^[1]所得结果比较, 两种方法测得寿命值基本符合(如表4), 相对误差小于15%。为寻找最佳配比的新激光材料和进行无机化合物的结构及其动力学机理研究提供了一定依据。

本装置可测量在3371 Å有强吸收, 荧光寿命在3μs以上的样品。鉴于氮分子激光器较其它某些激光器价格便宜, 操作简单, 运转费用较低, Boxcar平均器先进、可靠, 该装置具有先进经济之优点, 但由于氮分子激光器发射波长单一, 限制了该装置的使用范围。又因为氮分子激光器重复频率较低, 与Boxcar平均器处于非最佳匹配状态。这些问题可以通过改用性能更好的激光器为激发源而得以解决。

参 考 文 献

- [1] 潘利华、刘莉萍、董向明、李华成、杜继贤、张佩环, 分析化学, 待发表。
- [2] R.J. Kiers, R.D. Britt, Tr and W. T. Wentworth, *Anal. Chem.*, 29, 202(1957).
- [3] S. Yamada, F. Miyoshi, K. Kano and T. Ogawa, *Anal. Chem. Acta*, 127, 195(1981).
- [4] 徐永源、高维祥, 分析化学, 13(7), 16(1985).
- [5] 小川禎一郎, 分析化学(日), 12(8), 651(1984).
- [6] S. Yamada, K. Kano and T. Ogawa, *Anal. Chim. Acta*, 134, 21(1982).
- [7] 徐永源、邱孙泰, 分析化学, 12(8), 703(1984).
- [8] 张兴康、郭 础、马纫兰、胡定国, 化学通报, (1), 30(1982).

(收稿日期: 1988年6月18日)

STUDY OF TIME-RESOLVED LASER FLUORESCENCE SPECTRUM ANALYSIS II. MEASUREMENT OF TIME- RESOLVED LASER FLUORESCENCE SPECTRA

Pan Lihua, Dong Xiangming, Du Jixian, Liu Liping,
Li Huacheng and Chen Hangting

(Changchun Institute of Applied Chemistry, Academia Sinica)

ABSTRACT

A microsecond time-resolved laser fluorescence spectrum set-up suitable for measuring the emission kinetics of the samples which have been excited with state lifetime longer than 3 microsecond is described. The basic parts of the set-up are a nitrogen laser and an emission detection equipment with a pulsed-gated boxcar averager. According to the results obtained with this set-up, the principle, feature, application range and operating condition of the set-up are discussed. We have measured the fluorescence lifetimes of some rare earth compounds and provided a method for measuring time-resolved spectra of different fluorescence lifetimes.

Key words: Laser fluorescence spectra, Time-resolved spectra, Rare earths.

更 正

本刊16卷第11期第1027页中文摘要中第2行当钠为 5×10^{-3} g时, 应改为 5×10^{-8} g。