

DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20140145

## 水杨基荧光酮的荧光光谱与荧光量子产率

张 锋<sup>1</sup>, 张洪锋<sup>2</sup>, 杨明非<sup>1</sup>, 顾 睿<sup>1</sup>

(1. 东北林业大学理学院, 哈尔滨 150040; 2. 天津科技大学理学院, 天津 300457)

**摘要:** 研究了水杨基荧光酮(SAF)的荧光光谱和荧光量子产率,发现在 pH 2.0 以下,SAF 无荧光,随 pH 升高,SAF 由非荧光体转化为荧光体,荧光强度增强,在 pH 6.0~7.0,SAF 有稳定的强荧光,最大发射波长 537 nm,最大激发波长 507 nm. 在碱性条件下,随 pH 升高,SAF 荧光强度下降,当 pH 在 10.0 以上 SAF 无荧光. 在 pH=6.5 的缓冲溶液中,SAF 稀水溶液的荧光强度与浓度之间存在良好的线性关系,线性范围为  $2.0 \times 10^{-7} \sim 1.2 \times 10^{-6}$  mol/L,检出限为  $5.2 \times 10^{-9}$  mol/L. SAF 在醇溶液中,激发波长蓝移,发射峰红移,Stokes 位移增大. 在稀水溶液中, $\beta$ -环糊精对 SAF 的荧光强度有很强的增敏作用. 以罗丹明 6 G 为参比,使用 Williams 梯度法测量了 SAF 的荧光量子产率,在激发波长 500 nm 处的荧光量子产率为 0.68.

**关键词:** 水杨基荧光酮; 荧光光谱; 荧光量子产率; 罗丹明 6 G

**中图分类号:** O657.39

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1672-6510(2015)05-0032-05

## Fluorescence Spectra and the Quantum Yield of Salicylfluorone

ZHANG Feng<sup>1</sup>, ZHANG Hongfeng<sup>2</sup>, YANG Mingfei<sup>1</sup>, GU Hao<sup>1</sup>

(1. College of Science, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China;

2. College of Science, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** Fluorescence spectra and fluorescence quantum yield of Salicylfluorone (SAF) have been studied. Under the condition of  $\text{pH} < 2.0$ , SAF has no fluorescence. With the increase of pH value, SAF changes from non-luminous chemical to fluorophore and its fluorescence intensity increases. In the range of pH 6.0-7.0, SAF gives a strong and steady fluorescence with a maximum emission wavelength of 537 nm and excitation wavelength of 507 nm. In alkaline solution, fluorescence intensity of SAF decreases with the increase of pH value, and it has no fluorescence when  $\text{pH} > 10.0$ . There is an excellent linear relationship between fluorescence intensity and the concentration of SAF in pH = 6.5 buffer solution. The linear range is  $2.0 \times 10^{-7} \sim 1.2 \times 10^{-6}$  mol/L, and the detection limit is  $5.2 \times 10^{-9}$  mol/L. In alcoholic solutions, Stokes drift of SAF increases as blue shift occurs on molecular excitation wavelength and red shift occurs on emission wavelength.  $\beta$ -cyclodextrin can be used as an excellent sensitizer because fluorescence intensity of SAF is enhanced enormously by adding  $\beta$ -CD. Rhodamine 6 G was used as a reference, and fluorescence quantum yield of SAF was measured by means of Williams gradient method. At the excitation wavelength 500 nm, the fluorescence quantum yield of SAF is 0.68.

**Key words:** Salicylfluorone; fluorescence spectra; fluorescence quantum yield; Rhodamine 6 G

水杨基荧光酮(Salicylfluorone, SAF), 化学名为 2, 6, 7-三羟基-9-(2-羟基苯基)-3 H-占吨-3-酮, 作为高灵敏显色剂在无机离子光度分析中得到了广泛的研究和应用<sup>[1-5]</sup>. 除作显色剂外, Zhang 等<sup>[6]</sup>报道了 SAF 在电化学伏安法中的应用. SAF 自身属强荧光

物质, 近年来作为荧光探针在荧光分析中的应用研究蓬勃开展<sup>[7-8]</sup>, 特别是在表面活性剂的作用下, 利用荧光酮与金属离子形成配合物而使荧光消失建立的荧光熄灭法已用于痕量重金属离子的测定<sup>[9-12]</sup>. 清华大学 Liu 等<sup>[13-14]</sup>使用羧甲基纤维素铝搭载发光的

收稿日期: 2014-11-07; 修回日期: 2015-01-22

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2572014BB18)

作者简介: 张 锋(1982—), 男, 河南西峡人, 工程师; 通信作者: 张洪锋, 工程师, fszhf@126.com.

数字出版日期: 2015-07-08; 数字出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1355.N.20150708.1607.003.html>.

SAF 在室温固相条件下的磷光猝灭法成功实现了对痕量重金属钨、银的测定. 但是, 到目前为止, 对于 SAF 荧光光谱性质的研究却不够深入和细致, 特别是对荧光量子产率的数据鲜有报道. 本文对 SAF 荧光光谱的 pH 效应以及其他环境因素的影响进行了较为详尽的研究, 并以罗丹明 6 G 为参比<sup>[15-16]</sup>, 测定了荧光量子产率, 以期对荧光性质的分析应用和稳定性研究提供基础数据.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

LS 55 型荧光分光光度计、Lambda 35 型 UV/Vis 分光光度计, PerkinElmer 公司; 1 cm 四通荧光池; PB-10 型数显酸度计, Sartorius 公司.

SAF, 分析纯, 天津市光复精细化工研究所, 准确称取 SAF 0.084 1 g, 用无水乙醇进行溶解, 配制成  $1.0 \times 10^{-3}$  mol/L 乙醇溶液, 使用时适当稀释. 罗丹明 6 G, 生物染色剂, 阿拉丁化学试剂, 配制成  $1.0 \times 10^{-3}$  mol/L 乙醇溶液, 使用时适当稀释. KOH、KNO<sub>3</sub>、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、甲醇、乙醇、乙二醇, 分析纯; HNO<sub>3</sub>, 优级纯; 二次去离子水.

表面活性剂及浓度: 溴化十六烷基三甲基铵 (CTMAB),  $1.0 \times 10^{-3}$  mol/L;  $\beta$ -环糊精 ( $\beta$ -CD), 15 g/L; 曲拉通 X-100 (Triton X-100), 3.0 g/L; 吐温 80 (Tween-80), 40 g/L; 聚乙二醇辛基苯基醚 (OP), 40 g/L; 十二烷基硫酸钠 (SDS), 20 g/L. 各种表面活性剂在溶液体系中均达到临界胶束浓度.

### 1.2 实验方法

在 25 mL 容量瓶中, 分别加入 SAF 或罗丹明 6 G 乙醇溶液, 加入 1.0 mol/L KNO<sub>3</sub> 溶液控制离子强度, 以酸、碱溶液或 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 缓冲溶液调节 pH, 以水稀释到刻度, 摇匀. 扫描荧光光谱或紫外可见吸收光谱.

为了准确计算荧光量子产率, 预先用罗丹明 B 量子计和散射板对 LS 55 型荧光分光光度计的激发和发射光谱进行校正. 荧光测量时仪器的激发和发射狭缝均为 5.0 nm, 使用 515 nm 截止滤光片, 检测器负高压设置为固定值.

## 2 结果与讨论

### 2.1 SAF 在不同 pH 下的荧光光谱

固定 SAF 浓度为  $1.0 \times 10^{-6}$  mol/L (溶液在波长

500 nm 下吸光度  $A \leq 0.050$ ), 改变 pH, 测量 SAF 稀溶液在不同 pH 下的荧光光谱. SAF 在酸性条件下的荧光光谱如图 1 所示. 当溶液 pH 小于 2.0 时, SAF 没有荧光. 随着 pH 升高, 同步荧光峰和发射峰均逐步升高, 荧光发射峰由 526 nm 红移至 537 nm, 最大激发峰由 497 nm 红移至 507 nm. 当 pH 大于 6.0 时, 荧光强度显著增强, 表明 pH 升高使 SAF 由非荧光体逐步转变为荧光体. 在碱性条件下, SAF 的荧光光谱如图 2 所示. 随 pH 升高, 同步荧光峰和发射峰均显著降低, 但形状没有改变. 当 pH 大于 10.0 时, SAF 溶液已基本没有荧光.

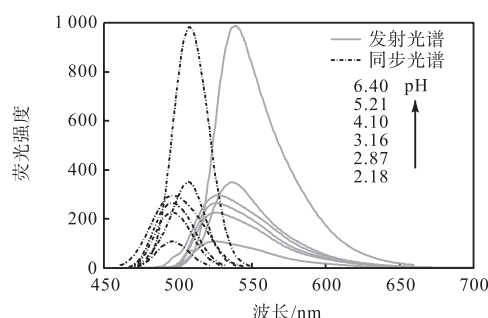


图 1 SAF 在酸性条件下的荧光光谱  
Fig. 1 Fluorescence spectra of SAF in acidic solutions

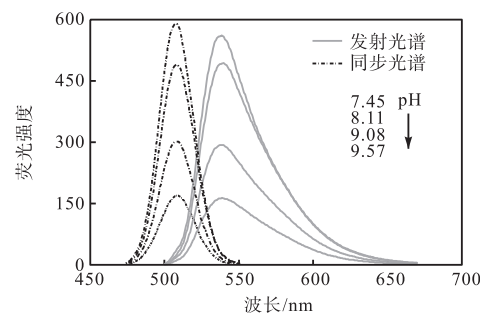
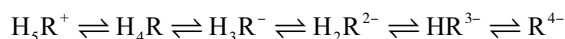


图 2 SAF 在碱性条件下的荧光光谱  
Fig. 2 Fluorescence spectra of SAF in alkaline solutions

从 SAF 的分子结构<sup>[6,17]</sup>可知, pH 的改变影响到 SAF 的离解平衡:



因此, 在不同的 pH 下, SAF 有不同的主要存在形式<sup>[18]</sup>. 随着溶液 pH 的升高, SAF 的羟基氧逐级离解为 O<sup>-</sup>, SAF 不同形式下  $\pi$  电子的共轭度不同. 由于分子中羟基氧上未共用电子对的增加, 给电子能力增强, 提高了共轭体系的共轭度, 使基态的能级发生改变, 仅需吸收较小的能量便可使  $\pi$  电子激发跃迁, 从而使最大激发波长  $\lambda_{\text{ex}}$ 、最大发射波长  $\lambda_{\text{em}}$  红移. 随着 pH 的逐步升高, 羟基的离解度越大,  $\lambda_{\text{ex}}$ 、 $\lambda_{\text{em}}$  越红移, 同时荧光强度也显著增大. 在强酸性溶液中, 可

能是羟基的离解度很小,分子共轭度小,荧光弱.而在碱性溶液中,由于试剂的逐渐分解,共轭体系被破坏,因此荧光逐渐变弱.

## 2.2 荧光强度与浓度的关系

在 pH = 6.5 的  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$  缓冲溶液中,探讨 SAF 荧光强度与浓度的关系. 在  $2.0 \times 10^{-7} \sim 1.2 \times 10^{-6}$  mol/L 的浓度范围内,荧光强度  $I_F$  与 SAF 浓度  $c$  ( $10^{-6}$  mol/L) 之间有良好的线性关系,回归方程为  $I_F = 21.4 + 158.6c$ , 相关系数  $R^2 = 0.9992$ , 检出限为  $5.2 \times 10^{-9}$  mol/L. 当浓度大于  $1.5 \times 10^{-6}$  mol/L 时,荧光强度不仅不随溶液浓度线性增大,反而出现了随浓度的增大而下降的现象,这可能是由浓度效应而导致的. 随着浓度提高,发生了 SAF 分子的相互作用,产生了 SAF 激发态分子与其基态分子的二聚物,从而导致荧光强度的下降. 当浓度更大时,甚至发生了 SAF 基态分子的聚集,导致荧光强度急剧下降.

## 2.3 溶剂对荧光光谱的影响

固定 SAF 浓度为  $1.0 \times 10^{-6}$  mol/L, 测定其在不同溶剂下的荧光光谱,结果如图 3 所示.

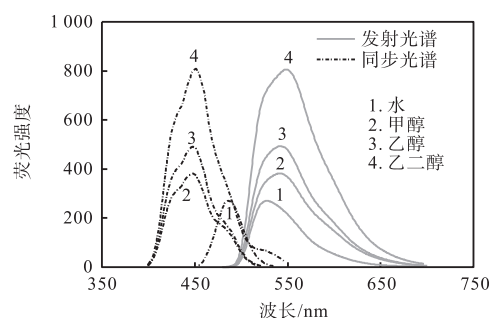


图 3 SAF 在不同溶剂下的荧光光谱

Fig. 3 Fluorescence spectra of SAF in different solvent

由图 3 可知: SAF 在醇溶液中光谱形状发生一定变化,最大激发波长蓝移,而最大发射峰红移,Stokes 位移增大,且强度显著增强,这是由溶剂效应造成的. 溶剂的影响可分为一般的溶剂效应和特殊的溶剂效应,前者指的是溶剂的介电常数  $\zeta$ 、折射率  $n$  以及定向极化率  $\Delta f$  的影响,后者指的是荧光体和溶剂分子间的特殊化学作用,如形成氢键和配合作用等. 实验所选取的 4 种溶剂的物理参数见表 1<sup>[19]</sup>. 由表 1 可知: 4 种溶剂的定向极化率相差不大. 一般情况下,  $n$  增大,  $\zeta$  减小,将使荧光体基态与激发态能差减小,Stokes 位移减小,这显然与实验结果相矛盾,因此不能用一般的溶剂效应来解释光谱的改变,特别是 Stokes 位移的增大主要是由特殊的溶剂效应造成的. 一方面,水电离出质子的能力比醇强,抑制荧光

体的电离,造成 SAF 在水溶液中荧光弱;另一方面,在醇溶液中,SAF 基态分子被溶剂分子包围,通过氢键生成氢键配合物,降低基态的能量,使基态更稳定,需要更大的能量激发,故激发波长蓝移;同时最低激发态分子与溶剂分子发生氢键作用,使荧光发射光谱向长波方向移动. 因此,在醇溶液中,Stokes 位移显著增大. 氢键等溶剂化作用使 SAF 共轭结构的共轭度进一步提高,SAF 在醇溶剂中荧光强度更大.

表 1 不同溶剂的物理常数

Tab. 1 Physical parameters of different solvent

溶剂	$\zeta$	$n$	$\Delta f$
水	78.3	1.33	0.32
甲醇	33.1	1.33	0.31
乙醇	24.3	1.35	0.30
乙二醇	37.0	1.43	0.29

## 2.4 表面活性剂对荧光光谱的影响

分别实验了 SDS、CTMAB、Triton X-100、Tween-80、OP 以及  $\beta$ -CD 几种表面活性剂对 SAF 荧光强度的影响. 结果表明:除 SDS 外,其他表面活性剂对 SAF 的荧光强度均有一定的增敏作用. 其中以 15 g/L 的  $\beta$ -CD 水溶液增敏效果最好.  $\beta$ -CD 空腔体内径约 0.65 nm, SAF 的苯基(直径约 0.28 nm)可被  $\beta$ -CD 腔体包络,且酚羟基与  $\beta$ -CD 的氢键作用,使 SAF 共轭体系共轭程度提高,荧光强度显著增大.

## 2.5 荧光量子产率

荧光量子产率 ( $Q$ ) 定义为荧光物质吸光后发射的光子数与所吸收的激发光的光子数之比. 在实验中,一般采用参比法测定物质的荧光量子产率,具体过程可以使用“一点法”和“Williams 梯度法”. 前者操作方便,但数据不够精确;后者测量过程繁琐,但数据精准可靠. 本实验选择“Williams 梯度法”,该方法要求分别绘制荧光待测物质和参比物质积分荧光强度对吸光度的工作曲线,然后利用式 (1) 计算待测物质的荧光量子产率<sup>[20-21]</sup>.

$$Q = Q_R \times \left( \frac{\text{Grad}}{\text{Grad}_R} \right) \times \left( \frac{n}{n_R} \right)^2 \quad (1)$$

式中:  $Q$  和  $Q_R$  分别表示待测物质和参比物质的量子产率; Grad 和  $\text{Grad}_R$  分别表示待测物质和参比物质积分荧光强度对吸光度作图工作曲线的斜率;  $n$  和  $n_R$  分别表示待测物与参比物溶液的折射率,如在同一溶剂条件下,  $n/n_R$  值为 1.0. 罗丹明 6G 化学性质稳定、量子产率高,本文选择罗丹明 6G 为参比物,测量 SAF 的量子产率. 实验测得罗丹明 6G 在不同激发波长下的量子产率,结果见表 2.

表 2 不同激发波长下罗丹明 6 G 的荧光量子产率

Tab. 2 Fluorescence quantum yield of Rhodamine 6 G at different excitation wavelength

激发波长/nm	吸光度	积分荧光强度	$Q$	$Q/Q_{525}$
490	0.026	11 825	0.93	0.98
495	0.029	13 236	0.93	0.98
500	0.031	14 277	0.94	0.99
510	0.042	19 695	0.95	1.00
520	0.064	29 948	0.95	1.00
525	0.072	33 429	0.95	1.00
530	0.071	33 218	0.95	1.00

配制一系列适当浓度的 SAF 和罗丹明 6 G 水溶液, 保证吸光度不大于 0.050, 测定在 500 nm 下的吸光度值, 再分别在 500 nm 激发波长下扫描 SAF 和罗丹明 6 G 的荧光光谱, 绘制积分荧光强度对吸光度的工作曲线, 如图 4、图 5 所示. 结合罗丹明 6 G 在 500 nm 激发波长下的荧光量子产率 0.94(表 2)可按式(1)计算 SAF 的荧光量子产率. 有分析应用价值的荧光化合物, 其荧光量子产率的数值通常处于 0.1~1 之间. 如常用的荧光染料罗丹明 B 水溶液的量子产率为 0.31; 硫酸奎宁在 0.1 mol/L 硫酸水溶液中的量子产率为 0.58; 甲酚紫乙醇溶液的量子产率为 0.53. 而在激发波长 500 nm 下, SAF 的荧光量子产率为 0.68, 表明 SAF 是一种强荧光化合物.

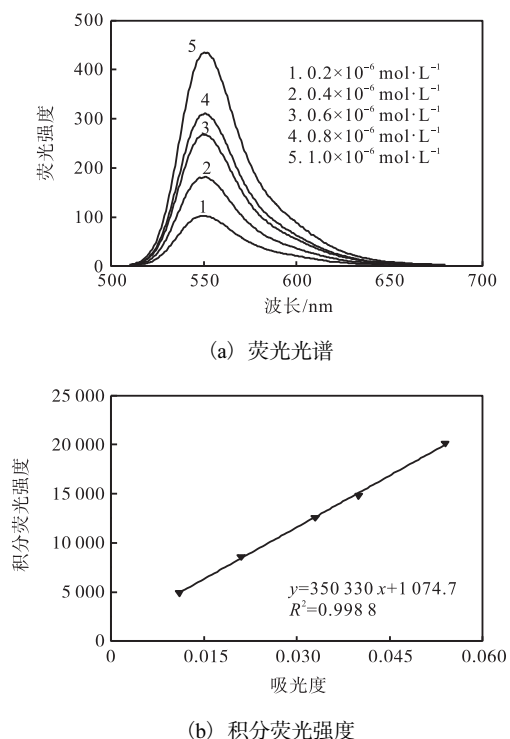


图 4 不同浓度罗丹明 6 G 的荧光光谱与积分荧光强度  
Fig. 4 Fluorescence spectra of Rhodamine 6 G and integrated fluorescence intensity under different concentration

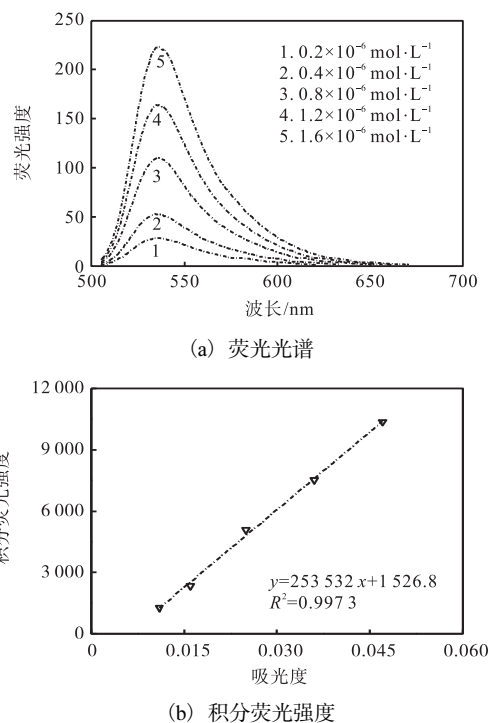


图 5 不同浓度 SAF 的荧光光谱与积分荧光强度  
Fig. 5 Fluorescence spectra of SAF and integrated fluorescence intensity under different concentration

### 3 结 论

溶剂性质、pH、表面活性剂以及水杨基荧光酮自身浓度大小均对 SAF 的荧光光谱有较大影响. 在 pH 6.0~7.0, SAF 稀水溶液有稳定的强荧光, 且荧光强度与浓度之间存在良好的线性关系. 在激发波长为 500 nm 下, 以罗丹明 6 G 为参比, 测得 SAF 水溶液的荧光量子产率为 0.68.

### 参考文献:

- [1] 王影, 沈亮亮, 李艳杰, 等. 2,3,7-三羟基-9-水杨基荧光酮分光光度法测定痕量铈[J]. 理化检验: 化学分册, 2013, 49(6): 725-727.
- [2] 沈亮亮, 董洪敏, 樊子庆, 等. 2,3,7-三羟基-9-水杨基荧光酮分光光度法测定铈钼矿中钼[J]. 光谱实验室, 2013, 30(6): 2973-2977.
- [3] 刘小毛. 水杨基荧光酮-溴化十六烷基三甲基铵光度法测定铜矿石中钨[J]. 理化检验: 化学分册, 2004, 40(9): 550-551.
- [4] 卢玉琪, 苏少朋. 水杨基荧光酮-溴代十六烷基三甲基铵分光光度法测定饮用天然矿泉水中的钼[J]. 环境与健康杂志, 2001, 18(4): 240-242.
- [5] Li Quanmin, Zhao Xiaohong, Guan Xia, et al. A novel

- method of the separation/preconcentration and determination of trace molybdenum(VI) in water samples using microcrystalline triphenylmethane loaded with salicyl fluorine[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 562(1): 44–50.
- [6] Zhang Xiaoli, Chen Rongli, Wang Lizeng, et al. Studies on the voltammetric behaviour of salicyl fluorone and gallium-salicyl fluorone complex[J]. *Microchimica Acta*, 1995, 118(3/4): 213–219.
- [7] 程定玺, 杜钢锋, 毕新慧, 等. 水杨基荧光酮二聚体作为荧光探针测定乐果[J]. *河南师范大学学报: 自然科学版*, 2010, 38(4): 178–182.
- [8] 任凤莲, 吴南, 司士辉. 水杨基荧光酮荧光法测定钴 II-过氧化氢体系产生的羟自由基[J]. *分析化学*, 2001, 29(1): 60–62.
- [9] 朱霞萍, 郭兵, 曾春霖. 水杨基荧光酮荧光猝灭法测定铜原矿中铜[J]. *冶金分析*, 2014, 34(3): 43–47.
- [10] 高金霞, 赵福阳, 刘嘉祺, 等. 5-溴水杨基荧光酮-曲拉通 X-100-羟丙基- $\beta$ -环糊精荧光猝灭法测定痕量锰[J]. *光谱实验室*, 2013, 30(3): 1434–1436.
- [11] 崔新宇, 叶虹婷, 齐悦, 等. 水杨基荧光酮-表面活性剂-羟丙基- $\beta$ -环糊精体系荧光反应机理初步探讨[J]. *理化检验: 化学分册*, 2013, 49(11): 1281–1284.
- [12] 崔新宇, 谷红梅, 牛莹莹, 等. 水杨基荧光酮-吐温-80-羟丙基- $\beta$ -环糊精荧光猝灭法测定痕量锌[J]. *冶金分析*, 2011, 31(9): 67–69.
- [13] Liu Jiaming, Wu Aihong, Xu Huanhuan, et al. Determination of trace mercury by solid substrate room temperature phosphorescence quenching method based on lead carboxymethyl cellulose (Pb(CMC)<sub>2</sub>) particles containing luminescent salicyl fluorones molecules[J]. *Talanta*, 2005, 65(2): 501–504.
- [14] Liu Jiaming, Li Wenqi, Li Xuelin, et al. Determination of trace silver by solid substrate room temperature phosphorescence quenching method based on lead carboxymethyl cellulose particles (Pb(CMC)<sub>2</sub>) containing luminescent salicyl fluorones molecules[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2005, 61(13/14): 3077–3081.
- [15] Lakowicz J R. 荧光分析法原理[M]. 3版. 北京: 科学出版社, 2008: 87–90.
- [16] Hu Juan, Zhang Chunyang. Simple and accurate quantification of quantum yield at the single-molecule/particle level[J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(4): 2000–2004.
- [17] 李光祖, 宋宾, 张悟铭. 苯基荧光酮衍生物化学发光反应性质的研究[J]. *分析实验室*, 1993, 12(4): 16–18.
- [18] 符连社, 任英. 三羟基荧光酮的荧光性质及其在分析中的应用进展[J]. *化学试剂*, 1994, 16(3): 161–164.
- [19] 许金钩, 王尊本. 荧光分析法[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 49–53.
- [20] Williams A T R, Winfield S A, Miller J N. Relative fluorescence quantum yields using a computer-controlled luminescence spectrometer[J]. *Analyst*, 1983, 108: 1067–1071.
- [21] Zhao Kui, Li Jun, Wang Hongzhe, et al. Stoichiometric ratio dependent photoluminescence quantum yields of the thiol capping CdTe nanocrystals[J]. *Journal of Physical Chemistry C*, 2007, 111(15): 5618–5621.

责任编辑: 周建军