

# 小分子荧光探针的光谱<sup>①</sup>

任翔 任跃红 薛华 董金龙<sup>①</sup>  
(太原师范学院化学系 太原市黄陵路 19 号 030031)

**摘要** 运用紫外-可见光谱、荧光光谱法研究了以二烯酮为荧光团的 1,5-双(4-羟基)-1,4-戊二烯-3-酮探针的光学性质。一系列 pH 滴定实验表明探针的紫外吸收和荧光光谱随溶液的 pH 值的改变而变化。同时,探针紫外吸收光谱发生明显的红移,荧光光谱强度也随之变化,在碱性条件下,相对荧光强度浮动较大。解离常数  $pK_a$  为 9.25, 荧光量子产率为 0.066。

**关键词** 二烯酮; 荧光探针; pH 滴定

中图分类号: O657.32

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2011)03-424-03

## 1 引言

荧光探针特别是化学小分子荧光探针在生命科学, 医学研究, 环境分析等领域具有广泛的应用和重要的意义<sup>[1]</sup>。荧光探针检测的对象包括 pH 值、各种离子、小分子、自由基、多肽、酶等。荧光探针因具有高灵敏性、专一性、实时性和原位检测性能<sup>[2]</sup>等优点备受人们的关注。

荧光探针的设计一般包括荧光团和受体两部分。二烯酮结构是一种典型的荧光团结构, 姜黄素及其类似物由于其二苯烯酮结构的酮式与烯醇式之间的异构化转变赋予其许多独特的光化学性质<sup>[3]</sup>。本文运用紫外-可见光谱、荧光光谱法研究了系列单羧基姜黄素衍生物在不同 pH 环境中的光谱曲线及参数, 基于 1,5-双(4-羟基)-1,4-戊二烯-3-酮光谱分析结果可知, 该物质的光谱性能随体系的 pH 改变而变化, 并且具有相对较好的荧光性能。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

Fluoromax-4 荧光光谱仪(法国 Horiba 公司); UV 2450 型紫外可见分光光度计(日本岛津公司); pH-3C 型精密 pH 计(上海雷磁仪器厂); AG 245 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

二烯酮; 二甲基亚砷等; 所用试剂均为分析纯。实验用水为二次蒸馏水。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 光谱 pH 滴定

用二甲基亚砷(DMSO)溶剂将化合物配成浓度为  $10\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的储备液。在不同 pH 值的磷酸钠缓冲溶液中加入定量的化合物储备液, 使其终浓度为  $1.0 \times 10^{-3}\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。待溶液稳定 2—3min 后进行紫外-可见吸收光谱扫描, 扫描范围为 300—650nm, 并根据化合物的吸收光谱确定其荧光光谱的激发波长, 进而对不同 pH 值的化合物稀溶液(稀释后浓度为  $1.0 \times 10^{-3}\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )

① 联系人, 电话: (0351) 2275246; E-mail: dongjinlong7576@yahoo.com.cn

作者简介: 任翔(1988—), 男, 江西省宜春市人, 主要从事应用化学研究工作。

收稿日期: 2011-04-05; 接受日期: 2011-04-10

进行荧光光谱扫描, 荧光扫描范围是  $\text{pH} > 7$  下是 550—750nm,  $\text{pH} < 7$  下是 450—700nm, 狭缝宽度  $E_x = 10\text{nm}$ ,  $E_m = 10\text{nm}$ 。研究荧光性能与体系 pH 值的关系。

### 2.2.2 荧光量子产率

测量化合物和标准样品(硫酸奎宁)的稀溶液在相同吸收波长下的吸光度和激发波长下的积分荧光强度。根据公式  $\Phi = \Phi \cdot A_u \cdot F / (F_u \cdot A_s)$  即可得到待测样品的荧光量子产率。式中:  $\Phi$  和  $\Phi$  分别——待测样品和参比样品的荧光量子产率;  $F_u$  和  $F_s$  分别——待测样品和参比样品的积分荧光强度;  $A_u$  和  $A_s$  分别——待测物质和参比物质对该波长激发光的吸光度。

## 3 结果和讨论

### 3.1 紫外-可见光吸收光谱 pH 滴定

图 1 所示为紫外-可见光吸收光谱随 pH 值变化的改变趋势图。其中, 在  $\text{pH} < 9$  大致范围内化合物的最大吸收峰在 380nm, 吸收峰强度随 pH 的增加逐渐变小; 随着溶液 pH 的增加, 在 465nm 处出现另一个新的吸收峰, 吸收峰红移了 85nm, 同时溶液颜色也发生一定变化。产生此变化主要原因可能是在碱性溶液中酚基解离脱质子化所致, 产生的电荷在分子内转移, 可使分子的光谱性能发生改变。

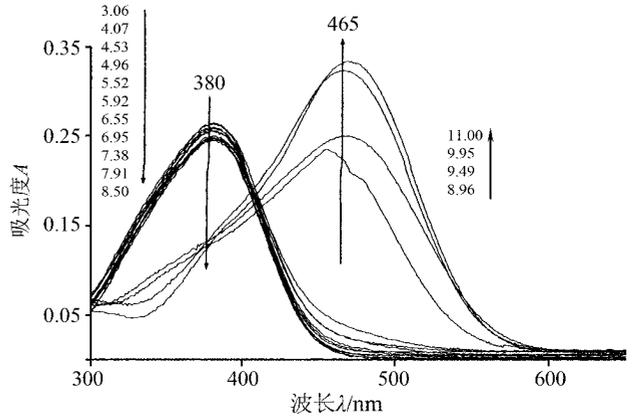


图 1 紫外-可见光吸收光谱随体系 pH 的变化曲线

### 3.2 荧光光谱 pH 滴定

图 2 和图 3 是荧光强度随 pH 值变化的改变趋势图。在碱性条件下, 荧光最大发射波长在 607nm ( $\lambda_{ex} = 465\text{nm}$ ), 荧光强度随 pH 的增加显著增强(图 2); 而在酸性条件下分子探针的最大发射波长在 525nm ( $\lambda_{ex} = 380\text{nm}$ ), 荧光强度随 pH 变化不大(图 3)。在酸性条件下斯托克斯位移值为 145nm, 在碱性条件下为 142nm。根据 Henderson-Hasselbach 公式, 求得  $\text{pK}_a$  为 9.25。以硫酸奎宁的标准荧光量子产率<sup>[4]</sup> ( $\Phi = 0.546, 0.5\text{mol/L H}_2\text{SO}_4$ ) 为基准, 通过比较法测得探针的荧光量子产率为 0.066。实验结果表明可利用分子探针的荧光光谱性质定性的测定体系的 pH 值。

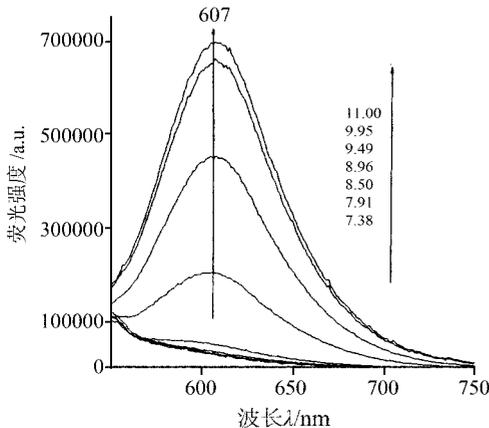


图 2 荧光光谱随体系 pH ( $\text{pH} > 7$ ) 的变化

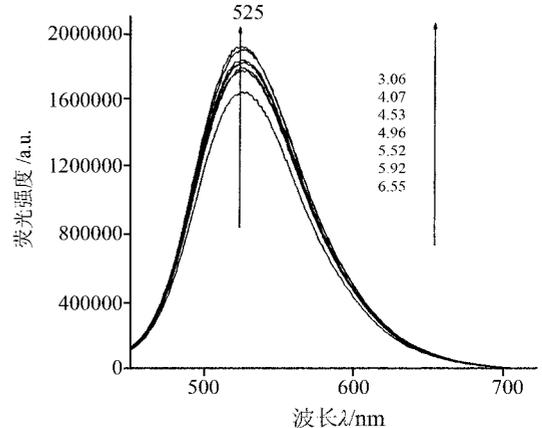


图 3 荧光光谱随体系 pH ( $\text{pH} < 7$ ) 的变化

## 4 结论

以二烯酮为荧光团的分子探针 1, 5-双(4-羟基)-1, 4-戊二烯-3-酮, 是一种基于光电荷转移 (ICT) 作用机理的去定性判断体系的 pH 变动。该荧光探针对 H<sup>+</sup> 具有良好的选择性和监控力。其荧光特性 pH= 7.38—11.00 范围内随 pH 的增加变化显著。

## 参考文献

- [1] Zhu M Q, Zhang G F, Li C. Reversible Two-Photon Photoswitching and Two-Photon Imaging of Immunofunctionalized Nanoparticles Targeted to Cancer Cells[J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**(2): 365—372.
- [2] 朱维平, 徐玉芳, 钱旭红. 具有重要生物学意义的重金属及过渡金属离子荧光分子探针[J]. 化学进展, 2007, **19**(9): 1229—1238.
- [3] Yamabe S, Tsuchida N, Miyajima K. Reaction Paths of Keto-Enol Tautomerization of  $\beta$ -Diketones[J]. *J. Phys. Chem. A*, 2004, **108**(14): 2750.
- [4] Love J C, Upton L M, Ritter A W. Solvent Effects on Fluorescence Spectra Decay Times and Quantum Yields of Atabrine and Its Homologs[J]. *Anal. Chem.*, 1978, **50**(14): 2059—2064.

## Spectra of a Small-Molecule Fluorescent Probe

REN Xiang REN Yue-Hong XUE Hua DONG Jin-Long  
(Department of Chemistry, Taiyuan Normal University, Taiyuan 030031, P. R. China)

**Abstract** The optical properties of 1, 5-bis (4-hydroxy) -1, 4-pentadiene-3-ketone fluorescent probe based on the ketene structure as fluorophore was studied by ultraviolet-visible spectra, fluorescence spectra. A series of pH titration experiments indicated that the probe displayed strong spectral sensitivity to pH in absorption spectra as well as fluorescence emission spectra. The absorption was obvious red shifted and fluorescence spectra intensity also changed, and the larger relative fluorescence intensity fluctuations were occurred under alkaline conditions. The fluorescence dissociation constant ( $pK_a$ ) was 9.25, and the fluorescence quantum yield was determined as 0.066.

**Key words** Ketene; Fluorescent Probe; pH Titration

### 17 种科技期刊单篇论文的平均售价

刊名	刊期	开本	每期 页码	单价 (元)	论文 篇数	单篇论文 平均售价 (元)	单篇论文 平均售价的 排序 <sup>①</sup>
福建分析测试	双月	大 16	64	5	18	0.27	1
理化检验(化学分册)	月	大 16	144	15	48	0.31	2
分析科学学报	双月	大 16	124	10	30	0.33	3
分析化学	月	大 16	160	15	40	0.38	4
岩矿测试	双月	大 16	100	10	25	0.40	5
分析测试学报	月	大 16	124	12	28	0.42	6
光谱实验室	双月	16	496	60	115	0.56	7
分析试验室	月	大 16	124	18	30	0.60	8
中国激光	月	大 16	320	35	58	0.60	8
高等学校化学学报	月	大 16	188	30	40	0.75	9
冶金分析	月	大 16	80	15	19	0.79	10
质谱学报	双月	大 16	64	15	17	0.88	11
光学学报	月	大 16	216	40	40	1.00	12
化学通报	月	大 16	96	20	18	1.11	13
化学学报	半月	大 16	120	20	18	1.11	13
量子电子学报	双月	大 16	128	30	25	1.20	14
钢铁研究学报	月	大 16	64	20	15	1.33	15

### 2011 年《光谱实验室》 征订启事

《光谱实验室》, 双月刊, 16 开, 每册 496 页, 发表论文约 115 篇, 单月 25 日出版。单价: 60 元/册; 年价: 360 元/卷。单篇论文平均售价(单价与发表论文篇数之比)的排序, 在 17 种科技期刊中为 7(右表), 居中。

欲订阅的读者请到当地国家邮电局(所)办理订阅手续, 邮发代号为 82-863。错过时间者, 可通过电子邮件(发到 [gpsys@periodicals.net.cn](mailto:gpsys@periodicals.net.cn))与本编辑部联系直接订阅。

《光谱实验室》编辑部