

微型化荧光量子产率测试系统的搭建研究

魏巍, 李莉, 朱倩倩, 李军, 李艳肖

(江苏大学公共实验与服务中心, 镇江 212013)

摘要: 通过微型化荧光量子产率测试系统的搭建, 可以很好地增强弱信号荧光样品的响应, 对有效解决该类样品的绝对量子产率难测定等难点, 微型化的积分球系统实现了快捷简便的操作, 获得液体、薄膜和粉末样品绝对量子产率的测量。首次微型化积分球, 对测试系统关键部件进行设计及优化, 分析了测试系统存在误差和量子效率的影响因素, 进一步完善固体荧光材料量子产率测试技术, 为新型量子产率体系提供理论指导。

关键词 荧光量子产率; 微型化; 荧光光谱; 测试

中图分类号: O63 **文献标识码:**

Construction of miniaturized fluorescence quantum yield measurement system

WEI Wei, LI Li, ZHU Qian-qian, LI Jun, LI Yan-xiao

(Public experiment and Service Center, Jiangsu University, Zhenjiang 212013 China)

Abstract: Through the establishment of the miniaturized fluorescence quantum yield test system, the response of weak signal fluorescence samples can be well enhanced, and the difficulty of determining the absolute quantum yield of such samples can be effectively solved. The miniaturized integrating sphere system can achieve quick and simple operation, and the absolute quantum yield of liquid, film and powder samples can be measured. For the first time, the key components of the test system were designed and optimized, the factors affecting the existence and error of the test system and the quantum efficiency were analyzed, and the quantum yield test technology of solid fluorescent materials was further improved, providing theoretical guidance for the new quantum yield system.

Keywords: fluorescence quantum yield; microminiaturization; fluorescence spectra; measurement

众所周知, 光致发光 (Photoluminescence), 是指物体依赖外界光源进行照射, 从而获得能量, 产生激发导致发光的现象。也指物质吸收光子 (或电磁波) 后重新辐射出光子 (或

电磁波)的过程。从量子力学理论上,这一过程可以描述为物质吸收光子跃迁到较高能级的激发态后返回低能态,同时放出光子的过程。光致荧光发光是多种形式的荧光(Fluorescence)中的一种。而在现阶段光致发光材料的研究中,对荧光量子产率(Quantum Yield of Fluorescence, QY)的数值的准确性和重现性十分重要,因其显示光化学反应中光量子的利用率从而反映光致发光材料发光能力的重要特征。荧光技术的应用几乎涉及了生活的方方面面。材料荧光技术在工业、能源、生物医药、环境监测、军事领域等均扮演着极其重要的角色。新技术、新产品的不断涌现,对该类产品的核心参数荧光量子产率的测量也提出了越来越高的要求。

量子产率的物理意义为单位时间(秒)内,发射二次辐射荧光的光子数与吸收激发光初级辐射光子数之比值,用来描述荧光材料发光能力。目前测量样品的荧光量子产率有两类方法:(1)相对量子产率:需要一种已知量子产率的标准品作为参照,通过对标准物和样品进行吸光度和荧光的测量换算得到样品的量子产率。只适用于液体样品。(2)绝对量子产率:不需要标准样品进行对比,广泛适用于液体、薄膜和粉末样品。荧光量子产率评价指标在光电器件、生物医药、传感器等研究领域有着举足轻重的分量。国外主要的荧光仪器公司均已推出商品化的绝对荧光量子产率测试系统。绝对量子产率测定法可直接对待测试样的量子产率进行测定,对荧光材料的研制有着重大的意义。

随着我国现代化进程的发展,对各类科研分析仪器的需求与日俱增。研制国产绝对荧光量子产率测量系统,将终结这一领域长期依赖国外产品的历史,同时降低检测成本,使得更多的实验室都用得起、用得上荧光量子产率测量技术,促进我国新材料等领域更高速的发展。

1 研究背景

1.1 选题背景

近年来,我校各类学科的持续发展,共有工程学 1 个学科进入 ESI 全球前 1%,农业科学、化学、材料科学、临床医学、药理学与毒理学、生物学与生物化学、环境生态学、分子生物与遗传学等 8 个学科进入 ESI 全球前 1%。其中,2021 年,我校环境生态学、分子生物与遗传学 2 个学科新晋全球排名前 1%。特别是伴随理工和医学药学等学科发展,对于各类研究手段或检测技术提出了更高的要求,量子产率的测试需求也随之增多。目前,我校在研的国家自然科学基金项目有关量子产率要求的科研项目不在少数,2018 年 7 项,2019 年 8 项,2020 年 9 项,平均年资助金额超过 200 万元,特别在能源、医学等热门研究领域对该测试的需求量持续攀升,为我校高质量高影响力论文的发表提供了基础。

与此对应的测试条件，目前全校可测试绝对量子产率的仪器仅我校分析测试中心拥有，该仪器为高级稳态瞬态荧光测量系统（QuantaMaster & TimeMaster Spectrofluorometer，产品型号：QuantaMaster™ 40）。该系统于 2009 年购置安装运行，超过十多年的服务过程，分析测试中心的服务团队根据学校各学科测试需求开发了激发/发射光谱、上转换/下转换光谱、荧光寿命、近红外荧光光谱、激光诱导荧光光谱等测试服务，这些测试手段的开发和使用也获得众多的肯定，如：2022 年获得江苏分析测试科学技术奖一等奖，2019 年作为典型测试服务入驻“江苏高校分测联盟”。但面对不断提高的测试要求和日益发展的测试技术，也逐步发现量子产率测试中存在着亟待解决和改进的问题。

1.2 拟改进的问题

绝对荧光量子产率的定义为样品发射的光子数除以样品吸收的光子数。相比相对量子产率不需要标准品，广泛适用于液体、薄膜和粉末样品。该数值为目前较为认可的量子产率测试。但测量时需要积分球附件（图 1）。积分球（Integrating Sphere）为内表面涂层一般是高反射性材料。样品表面各个方向的激发光或者是发射光进行积分球均匀化后从出射口出来，并进入到单色器中后被检测器检测到。多年的测试经验，研究发现该系统的量子产率测试存在如下拟解决或改进的问题：（1）积分球体积过大-操作复杂；（2）内部材料易损伤-误差较大；（3）反射背景易污染-数据失真。

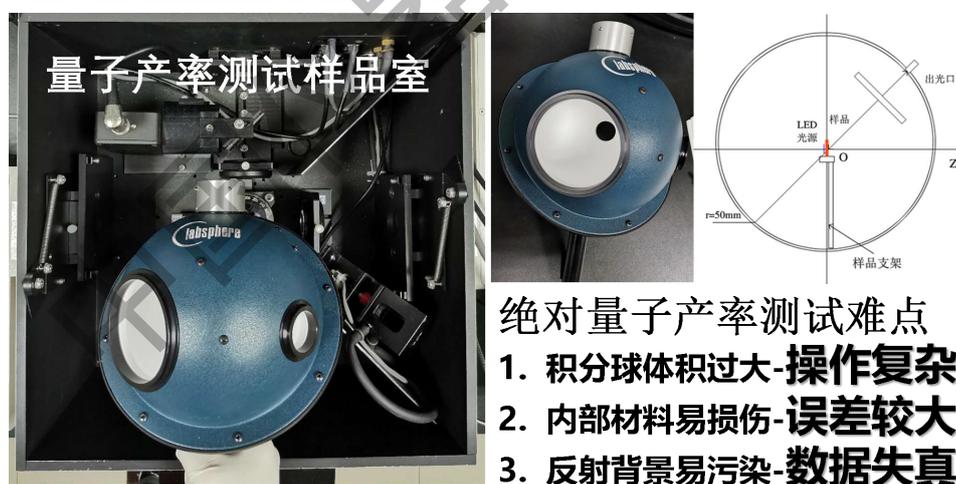


图 1. 绝对量子产率测量系统及存在的难点

不难发现，积分球为该测试模块中最为核心的部件，作为测量系统中收集光的器件，光在积分球内多次漫反射。从图 1 中可以看出该球内部的涂层为全反射材质（中心的配件为硫酸钡），且球体的直径 100 mm，而待测样品需要放置在球体中心位置，仅暂居球体的小部分体积，无疑增加了操作过程的复杂度和清洁的难度。在实际操作过程中，对液体样品来说，采用石英比色皿，只需保证液体体积和浓度在可测试范围内，多次测试扣除背景也能够获得

比较可信的数据。但相比溶液样品，准确测定固体样品量子产率的难度要大。因固体样品槽和积分球本身对光都有吸收，尤其是紫外段，因此量子产率测定肯定会有误差。且内部镀层易年份已经也较易在使用过程受到损伤（硫酸钡被剥落），使用的反射背景也很易受到外部环境污染，造成数据失真等问题。目前，积分球的体积和材质造成绝对量子产率测定中存在难以避免的误差：样品槽、积分球都会吸收光，造成量子产率测定的不准确性；溶液吸光度不同，会显著影响量子产率测定值；积分球污染会产生不必要的荧光，致使量子产率无法测试。所以，如何解决以上问题，是绝对量子产率测定中所面临的巨大挑战。

1.3 拟采取的研制方法

基于前期调研，研究团队拟采用耦合积分球测试理论与反向倍加计算理论，利用现有的高级稳态瞬态荧光测量系统，搭建微型化积分球测试系统，从而实现绝对量子产率的瞬时测定、多种形态样品的测定和高灵敏度探测等测试手段，在测量得到材料的反射率、漫透射率和准直透射率后，利用反向倍加算法得到其基本光学参数如散射系数、吸收系数和各向异性系数，并进一步优化测试方法，从而优于国际上公开的标准绝对量子产率测试方法。

技术路线：项目的具体技术路线如图 2 所示。

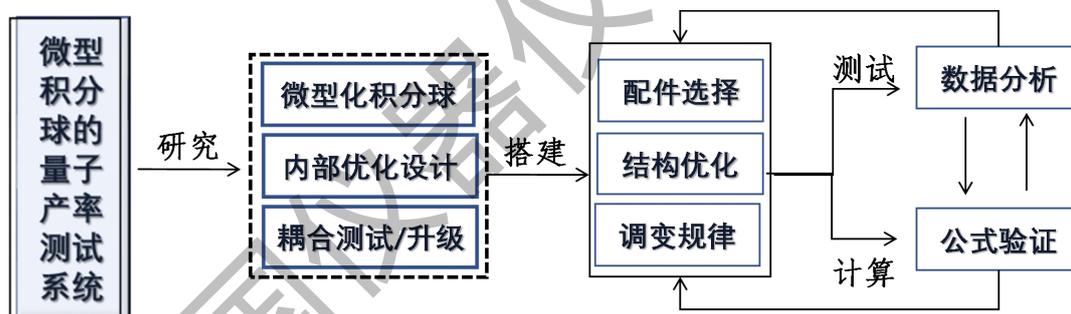


图 2. 微型化量子产率测量系统的技术路线

本项目将从量子产率的发光机理出发，基于宏观参数测量理论和基本参数计算理论等核心技术，研究内容由以下三部分组成：

1) 微型化积分球的可行性

积分球，能够确定量子产率而不依赖于某一项量子产率的标准。使用积分球是确定固体，粉末和薄膜材料的量子效率的唯一方法。设计新型微型积分球提供了一个简单的方法来测量绝对量子产率而无需重新配置硬件。

通过引入半积分球原理来微型化积分球，用一面平面镜堵住半球开口，利用平面镜对称成像原理对半球实物成立一个全等的虚像，实物半球与虚像半球共同构建出一个完整的积分球，进而微型化积分球，构筑微型化的球体方便地取代了常规比色皿支架避免了样品室的光

学干涉。球体的顶部部分可以拆除，将测试样品很快的放进去，而无需使用任何工具。它可以容纳常规比色皿，薄膜和粉末。这是一个用来表征发光半导体，玻璃，陶瓷和纳米材料的重要工具。

2) 积分球内部结构的优化设计

积分球内壁白色漫反射层的质量，对测试精度影响较大。所设计的微型积分球，其所选用的高反射涂层，采用特殊配方和特殊工艺喷涂，反射率接近 100%，反射率随波长变化小，具有良好的耐久性、防水性、耐辐射性。同时因激发光源和样品发射荧光的强度相差较大，在测量时既要满足最大光强不溢出，又要使样品的荧光发射强度满足测试所需的最小信噪比要求，因此对积分球内部设计如：样品与光源位置的设计，夹具的设计、内部挡板尺寸和位置的选择及积分球上用于入光和出光所开的窗口等因素等都需要进行相应的研究，从而最大程度降低测量误差。

3) 耦合积分球和测试系统与优化升级

在原有的高级稳态瞬态荧光测量系统（QuantaMaster™ 40）的基础上，通过上述内容的研究完成微型化积分球及内部结构的优化从而借助原系统的现有功能，完成了微型积分球量子产率测量系统中各个部件的设计与选取，整合各个部件，搭建完整的测试系统。考虑其灵敏度、信噪比及光谱范围，对关键部件进行选取后，根据量子效率测量原理及基于积分球的量子效率测量方案从而耦合微型化积分球和测试系统的整合达到优化升级的效果。

由于受到光源、单色器和探测器等的光谱特性的影响，由仪器直接记录的荧光光谱并不是所测量物质的真实光谱，这样的光谱被称为未校正光谱，这种光谱的形状和最大发射峰位置等与真实光谱都有一定的区别。在对物质进行荧光量子产率测量时，就必须对所使用的荧光分光光度计仪器进行光谱校正，获取物质的真实光谱，才能得出准确的荧光量子产率。

2 结果与分析

2.1 设计思路

针对现有技术的不足，本装置搭建的目的在于提供一种基于双光路微型积分球的量子产率测试装置，有效解决了因现有积分球体积大，不便携，造成的样品难固定且易污染积分球等难题，简化绝对量子产率测试过程。

为了实现上述目的，本发明采取的技术方案如下：提供一种用于量子产率测试的双光路微型积分球，所述积分球装置包括壳体、球体两部分，所述壳体的内部为球体，所述球体壁

上开设有第一入光口、第二入光口和出光口，所述第一和第二入光口均在壳体中，且入光口均配有活塞可以关闭，所述第一入光口和第二入光口均可有光源通过，出光口与输出端连接。优选的，所述双光路积分球装置的外部大小依据配置的样品室调节，壳体为黑色航空铝合金箱体。优选的，所述的入光口对准积分球中心样品槽。优选的，所述的积分球表面喷砂氧化黑，内壁均设有漫反射材料层。进一步的，所述漫反射材料层可为硫酸钡涂层或聚四氟乙烯涂层。（图3中，1、样品架，2、出光口，3、第一入光口，4、第二入光口。）

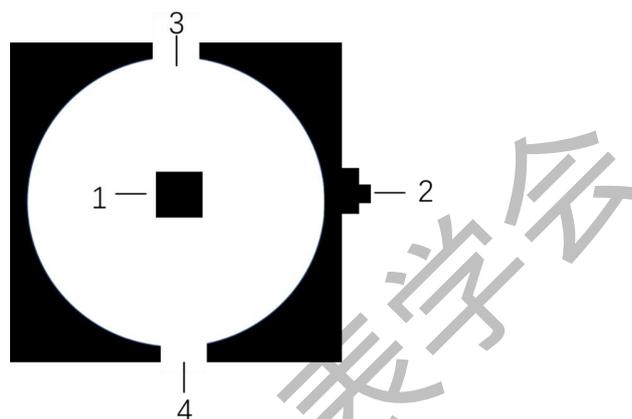


图3. 基于双光路微型积分球的量子产量测试装置的整体俯视示意图

2.2 实物图

针对现有技术的不足，本装置搭建的目的在于提供一种基于双光路微型积分球的量子产率测试装置，有效解决了因现有积分球体积大，不便携，造成的样品难固定且易污染积分球等难题，简化绝对量子产率测试过程。原有的高级稳态瞬态荧光测量系统（QuantaMaster™ 40）的基础上，设定图（图4左），实物图（图4右）。依照原有测试系统的内部格局进行了相关参数的限定，引入可调节底座，更好的符合原有系统的升级。对现有参数）积分球内部结构的优化设计，进行三维建模，实际内部图和模型图如图5所示：



图4. 微型化积分球的实物设计图（左）和实物图（右）

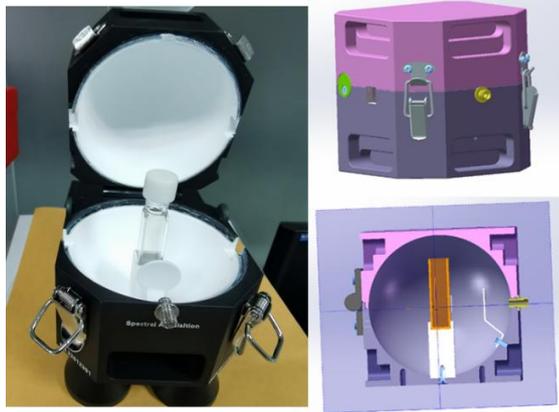


图 5. 微型积分球的内部实物图（左）和三维建模图（右）

1) 主要功能

测试发光材料的**绝对量子产率**（量子效率=样品发射出的光子数/样品吸收的光子数），样品（固体、液体、粉末及薄膜）被放置在**微型化积分球**（相当于样品腔）内，氙灯发射出的连续光谱经过单色仪分光后再通过光纤引入到积分球内的样品上，荧光样品受激发后会发出荧光，荧光光谱通过光纤被后端的光谱探测系统接收，可实现高灵敏度的多波长实时测量。

2) 技术参数、指标要求

微型化量子产率测试系统主要技术参数、指标要求：

（1）光致荧光效率测试范围：200 nm ~ 900 nm；（2）积分球直径 < 100 mm，便于安装操作；（3）量子效率最小测试误差不大于 1%；微型化积分球便于灵活使用，结构稳定，系统无需频繁校准，满足液体、薄膜和粉末样品的绝对量子产率的多次测量。

2.3 测试过程

原则上，要做两次发射扫描。而且，在数据采集时每一次都要做激发校正和发射校正。发射校正为必要检测项是因为检测系统的量子转换效率随波长变化而不同。激发校正为选作项，因为此项是用来校正灯泡功率波动和强度漂移。

1) 第一次样品的发射扫描必须同时记录下激发峰和所有的荧光发射峰。为了保持线性关系，初始强度必须低于 1000,000 counts/s（在使用狭缝和楔形光闸的情况下），选择的步长精度要能解析激发峰。当激发光谱和荧光光谱有效分离时，仪器会分两部分记录光谱扫描结果。

2) 第二次扫描激发光谱和背景曲线是在只有溶剂或缓冲液的条件下测定，作为空白对照值。

2.4 数据分析

荧光量子产率为荧光量子数与吸收量子数的比值。荧光量子数为第一次空白中曲线中全部荧光谱线的积分值。吸收量子数为激发谱线中曲线第二次样品曲线减去第一次空白曲线的面积的积分值。可通过积分软件在选择范围内积分得出两个值。“总面积”代表 X 轴与曲线间面积的积分值。“峰面积”代表在测量范围内曲线与线性背景之间面积的积分值。在此背景下,用“峰面积”来计算比用“总面积”计算更为准确。

3 结 论

研制的国产绝对荧光量子产率测量系统,主机采用高级稳态瞬态荧光测量系统,样品光路设计采用积分球技术,光谱校正采用量子计数器和标准钨灯方式,配合荧光量子产率分析软件,可实现对物质荧光量子产率的绝对法测量。用已知量子产率的标准物质进行验证,通过实现绝对量子产率的升级和改造,增加现有仪器的新功能开发,提高仪器的完好率、利用率、降低维修率等;将新功能应用更好地应用于物理、化学、医药和材料科学等研究领域,以满足日益增长的科研测试需求,从而进一步反馈学校科研项目的发展和高质量科技成果的产出,系统的研制将对我国在绝对荧光量子产率测量方面取得重要进展。

参考文献:

- [1] 石广立,张恒.测量荧光量子产率的方法及装置.CN201811115211.4[P]. 2021-05-18
- [2] 王培虎,潘东杰,蔡贵民.一种使用积分球测量荧光量子产率的测量装置. CN201720505578.1[P]. 2018-02-06
- [3] 张伟,邹贤劭.一种荧光量子产率测试仪及其测试方法. CN201910032496.3[P]. 2019-05-21
- [4] 胡晓月,屈泽华,黄红香.积分球测量荧光量子产率的最优测试条件研究[J].中国测试, 2021, 47(10):59-62,74.
- [5] 魏巍,束爽,寿邱杰,等.一种基于双光路微型积分球的量子产率测试装置. 202310647492[P]. 2023-08-04
- [6] 冯国进,王煜,郭亭亭.固体材料绝对荧光量子产率测量的研究进展[C]//中国计量测试学会光辐射计量学术研讨会.中国计量测试学会, 2009.