

自制开放式荧光光谱仪的搭建、性能测试与实际应用

孙春霖*, 姜姚乐, 陈雨, 郭荣婧, 沈永雯, 惠新平, 张保新, 潘效波*

兰州大学化学化工学院, 化学国家级实验教学示范中心(兰州大学), 兰州 730000

摘要: 荧光检测在化学分析、生物检测等多个领域得到广泛应用, 因此对本科生进行相关实验教学具有重要意义。本实验成功创制了一套价格低廉、体积小巧的开放式荧光光谱仪, 对其性能进行全面评估, 并成功应用于实际样品的检测。这有助于培养学生的仪器设计和创制意识, 增强他们对自主创制仪器的信心。

关键词: 荧光检测; 自制荧光光谱仪; 本科实验教学; 四方酸素染料; 国产仪器设备

中图分类号: G64; O6

Construction, Performance Testing, and Practical Applications of a Home-Made Open Fluorescence Spectrometer

Chun-Lin Sun*, Yaole Jiang, Yu Chen, Rongjing Guo, Yongwen Shen, Xiping Hui, Baoxin Zhang, Xiaobo Pan*

National Demonstration Center for Experimental Chemistry Education (Lanzhou University), College of Chemistry and Chemical Engineering, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China.

Abstract: Fluorescence detection has found extensive applications in various fields such as chemical analysis and biological testing. Therefore, conducting experiments related to fluorescence detection is of significant importance in undergraduate laboratory education. This experiment successfully developed a low-cost, compact open-source fluorescence spectrometer, whose performance was comprehensively evaluated and applied to the detection of real samples. The aim is to foster students' awareness and confidence in designing and creating instruments.

Key Words: Fluorescence detection; Home-made fluorescence spectrometer; Undergraduate laboratory teaching; Squaraine dyes; Domestic instruments

1 引言

荧光分析方法以其快速响应、高检测限和可视化检测等特点^[1], 作为一种高灵敏度、非破坏性的光学技术, 深刻影响了生命科学、环境监测^[2]、医学、材料等多个领域^[3], 其应用涵盖了细胞成像、药物研发、环境污染检测、食品安全监测、材料性质研究以及医学诊断等多个方面。荧光光谱学通过探测样品发出的荧光信号, 揭示物质的结构、组成和动态过程^[4], 为科学研究提供了丰富的信息源^[5]。荧光检测法已成为仪器分析的关键组成部分, 并在化学材料等专业领域得到广泛应用。然而, 在本科教学中, 市售的荧光光谱仪通常高度一体化, 检测过程不可视, 这极大降低了学生实验时的参与度, 同时也不利于学生深入理解仪器的工作原理及荧光分析方法的相关理论^[6]。另外, 市售荧光光谱仪的价格普遍较高, 导致实验教学中人均台数不足, 使得荧光分析实验在本科教学中的开展

收稿: 2023-11-29; 录用: 2024-02-04; 网络发表: 2024-04-12

*通讯作者, Emails: suncl@lzu.edu.cn (孙春霖); boxb@lzu.edu.cn (潘效波)

基金资助: 兰州大学2023年度教育教学改革研究项目(202317); 基础学科拔尖学生培养计划2.0研究课题(20212090); 中央高校基本科研业务费(lzujbky-2023-cy03, lzujbky-2017-k07); 国家自然科学基金(22075117, 22171111)

受到了一定的限制。

本论文介绍一种开放性荧光光谱仪的搭建与性能优化方法。实验内容包括仪器创制与改进、仪器准确度与检测限检测,以及有机合成与光谱性质测试。通过对常规市售荧光光谱仪工作原理进行优化和简化,实现荧光光谱仪的小型化和可视化。荧光光谱仪的搭建与性能测试实验可促进学生对荧光光谱仪的结构和原理的理解,增强他们的化学实验操作能力,提高实验过程的参与度。同时,学生在实验过程中通过参与荧光光谱仪的设计和创制,培养他们的科研兴趣和创新能力,增强他们研制拥有知识产权的国产仪器设备的信心和意识。

2 实验部分

2.1 实验原理

2.1.1 荧光光谱仪工作原理

荧光光谱仪的组成包括激发光源与激发单色仪、光学系统与样品仓以及检测单色仪与探测器(图1)。激发光源经过激发单色仪选择特定波长,光学系统引导激发光照射样品发出荧光,通过光栅和探测器转换为电信号。自制荧光光谱仪在市售荧光光谱仪原理的基础上进行了优化与简化。选用365 nm紫外灯或激光笔替代传统光源与激发单色仪,而价格低廉、体积小巧的光纤光谱仪取代了传统检测单色仪与探测器。光学系统与样品仓则通过在面包板上搭建的方式实现了替代,进一步优化了光路结构。基本光学结构是将激发光线经聚焦透镜聚焦后至样品夹具处,以正交光路收集荧光信号,并通过聚焦透镜聚焦耦合如光纤,最终导入光谱仪收集光信号,经过光谱仪内部的光栅色散后,直接由光谱性电荷耦合器件(Charge Coupled Device, CCD)一次采集,完成光电转化,电信号实时输入至计算机软件中呈现实时动态光谱,并根据需要进行采集存储。

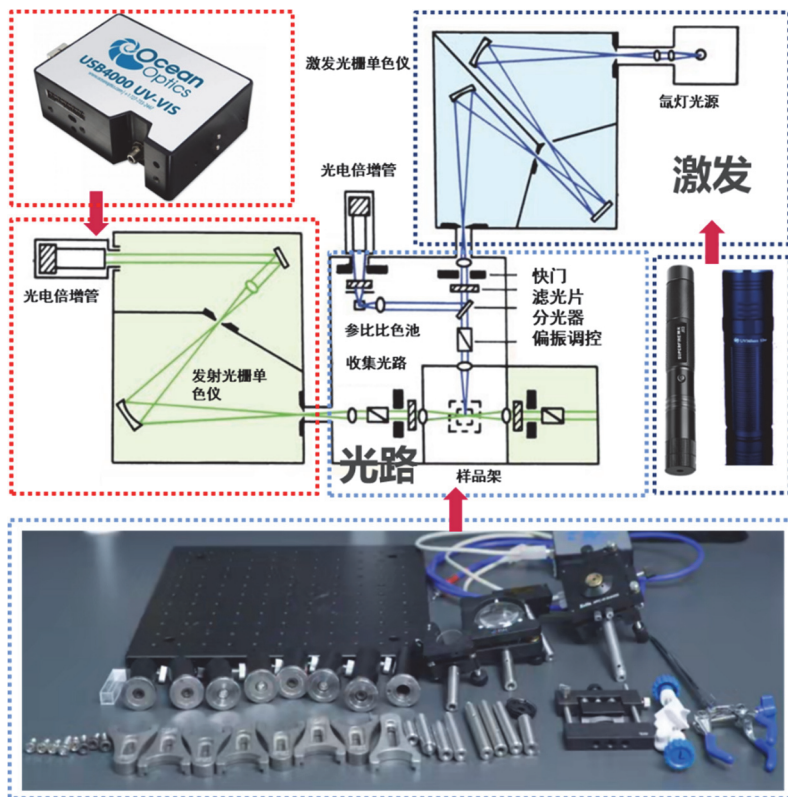


图1 自制荧光光谱仪简化原理示意

箭头显示了针对荧光光谱仪进行简化所用的元件

2.1.2 吡咯四方酸素染料的合成与荧光探针原理

吡咯四方酸素染料具有较大的环状共轭体系和高的荧光量子产率，荧光强烈尖锐。吡咯环-羰基-吡咯环构建的Donor-Acceptor-Donor (D-A-D)电子体系，具有较好的荧光量子产率^[7,8]。这些特性都使吡咯四方酸素染料在离子检测、荧光成像、光动力学医疗等方面受到人们青睐。吡咯四方酸素染料**1**由四方酸与吡咯衍生物经过缩水反应生成^[9]，合成步骤如图2所示。根据文献报道，吡咯四方酸素染料中心的碳四元环易受到如L-半胱氨酸等亲核试剂的进攻，改变分子的平面性。使得分子的共轭程度下降，导致荧光淬灭。生成的化合物**2**中，包含S原子，利用巯基与金属Cu²⁺离子的配位特性，使结构恢复成分子**1**，从而恢复荧光发射^[10]。上述荧光探针分子进行金属离子检测的过程可由自制荧光光谱仪进行表征。

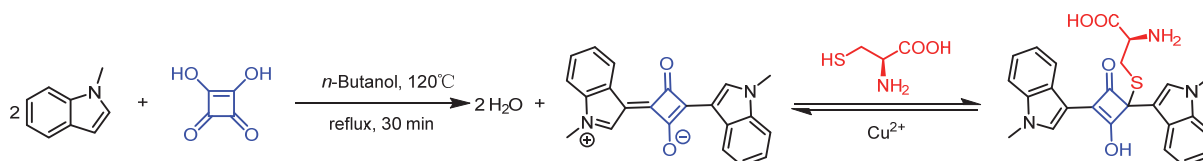


图2 吡咯四方酸素染料的合成与离子探针原理

2.2 所用试剂与材料

自制荧光光谱仪所需主要光学元件如表1所示。30 cm × 30 cm光学面包板、紫外LED激光笔、光源夹具、透镜支架、K9平凸透镜、光学底座套件、可变光阑、高通滤光片、方形镜片架(用于做样品夹具)、紫外-可见光纤、USB4000光纤光谱仪。

表1 实验自制荧光光谱仪各元件

元件名称	型号	生产厂
30 cm × 30 cm光学面包板	M6螺孔	常州博瑞自动化有限公司
紫外LED	365 nm	深圳神火照明有限责任公司
激光笔	532 nm	西安卫来电子科技有限公司
光源夹具	定制	西安卫来电子科技有限公司
透镜支架	1 inch × 2	北京茂丰光电有限公司
K9平凸透镜	1英寸50 mm焦距 × 2	北京茂丰光电有限公司
光学底座套件	8 cm × 7	北京茂丰光电有限公司
可变光阑	1 inch	北京茂丰光电有限公司
高通滤光片	400, 450 nm	北京茂丰光电有限公司
方形镜片架	12 mm夹距	北京茂丰光电有限公司
紫外-可见光纤	400 μm	海洋光学
光纤光谱仪	USB4000	海洋光学
标准Ar-Hg灯	HG-1	海洋光学

所需其他仪器如下：电磁搅拌器(IKA RH DIGITAL S025, 德国IKA仪器设备有限公司), 旋转蒸发仪(OSB-2100, 东京理化器械株式会社), 荧光分光光度计(F-7000, 日本株式会社日立高新技术科学那珂事业所), 电子分析天平(QUINTIX65-1CN, 德国赛多利斯科学仪器有限公司), 100 mL圆底烧瓶2个, 250 mL锥形瓶2个, 50 mL双口烧瓶1个, 250 mL烧杯1个, 50 mL量筒1支, 磁子1个, 回流冷凝管1个, 分水器等1个, 橡胶塞2个, 注射器1支, 玻璃棒1支, 层析柱1个, 硅油浴锅1个($d = 15$ cm), 铁架台1个, 洗耳球1个, 移液管/移液枪1支(250 μL), 石英比色皿1副, 10 mL容量瓶若干, 试管架及试管若干, 称量纸、铝箔纸。合成所需试剂如表2所示, 所有试剂使用前没有经过进一步提纯。

表2 合成实验所需的试剂相关信息

试剂名称	规格	生产商
四方酸	AR 25g	上海阿拉丁试剂有限公司
<i>N</i> -甲基咪唑	AR 100 mL	北京伊诺凯科技有限公司
无水乙醇(EtOH)	AR 500 mL	天津凯通化学有限公司
二氯甲烷(DCM)	AR 500 mL	北京伊诺凯科技有限公司
正丁醇(BuOH)	AR 500 mL	天津大茂化学试剂厂
<i>N,N</i> -二甲基甲酰胺(DMF)	AR 500 mL	北京伊诺凯科技有限公司
石油醚(60-90 °C) (PE)	AR 500 mL	天津利安隆博华医药化学有限公司
L-半胱氨酸	AR 50 g	北京伊诺凯科技有限公司
罗丹明6G	AR 25 g	北京伊诺凯科技有限公司
罗丹明B	AR 25 g	北京伊诺凯科技有限公司
孟加拉玫瑰红	AR 25 g	上海沪试化工有限公司
姜黄素	AR 25 g	北京伊诺凯科技有限公司
柱色谱硅胶	AR 1000 g	北京伊诺凯科技有限公司

2.3 实验步骤

2.3.1 自制荧光光谱仪的搭建

本实验在30 cm × 30 cm的光学面包板上，搭建如图3所示的荧光光谱仪。该系统包括三个主要部分：(1) 激发光路：图3a中采用紫外灯作为光源(也可选用532 nm激光笔作为光源)。通过可调节的光阑调整光束截面积，进而调节激发光的强度。使用平凸透镜将光聚焦到样品池中心。(2) 样品夹具：采用开放式夹具，实现对比色皿以及非标准样品的夹持与角度调整，提高了仪器的灵活性。(3) 检测光路：在激发光的正交位置，通过另一双面凸透镜，实现荧光信号的聚焦。随后，使用400 nm高通滤光片(对于532 nm激发光源，使用560 nm高通滤光片)进一步滤除激发光。通过光纤耦合器的多维度调整，实现信号与采集光纤的高效耦合，最终将光信号引入光纤光谱仪中，实现光谱的采集。载样台上放置装有高荧光量子产率物质标准品溶液的石英比色皿，调整各光学元件的位置、高度与倾角。观察元件在不同位置及不同倾角下对荧光检测结果的影响，调整至软件中显示的荧光信号峰最大，采集效率最高。最后，使用金属压板锁定各光学元件，完成仪器的搭建。

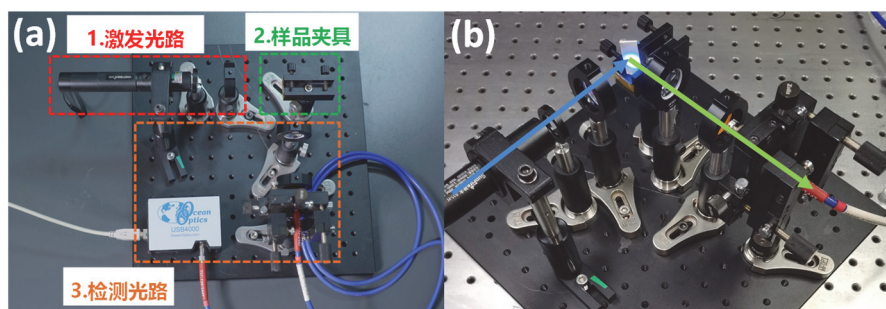


图3 自建荧光光谱仪整体实物图

(a) 俯视图; (b) 工作状态下的自制荧光光谱(箭头示意光路方向)

2.3.2 自制荧光光谱仪性能测试

准确度测试：首先将标准Ar-Hg光源置于样品夹具位置采集光谱。通过对比标准谱图峰位置确定峰位准确性。其次配制罗丹明6G、罗丹明B、姜黄素、孟加拉玫瑰红等常见荧光分子0.01 mmol·L⁻¹

EtOH标准溶液,用自制荧光光谱仪测试其发射波长,并与同一测试条件下的市售荧光光谱仪测得的发射波长进行对比。

信号强度线性检测:在万分之一天平上准确称量4.79 mg罗丹明B,配制 $1.00\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的罗丹明B的EtOH溶液作为母液,稀释获得浓度为0.1、0.08、0.06、0.04、0.02 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的梯度浓度溶液。分别测试其荧光信号强度,用以验证仪器测试的峰高-浓度线性度。

检测限测试:将上述 $1.00\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 母液,稀释1000倍,获得 $0.001\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液。使用自制仪器采集其荧光光谱。 $0.001\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的罗丹明B溶液浓度逐步10倍稀释,直到找到荧光发射峰高小于三倍基线的溶液浓度,作为自制仪器的检测限。

开放性测试:使用荧光笔、姜片等具有荧光性能的非标准制样样品置于样品夹具上进行荧光的采集。为了验证在自然光下的荧光采集性能,首先测试非激发状态荧光光谱仪的“暗”光谱,然后通过软件实现荧光测试过程中对“暗”光谱的实时扣除,以验证仪器在开放条件下的检测效果。

2.3.3 吡啶四方酸素染料的合成及纯化

本实验利用合成的四方酸素染料对搭建的荧光光谱仪的实用性进行测试。合成操作如图4所示,搭建反应装置,依次向两口烧瓶中加入四方酸(0.084 g, 0.74 mmol)和正丁醇20.0 mL,固体溶解后再加入*N*-甲基吡啶(0.32 g, 2.4 mmol),此时溶液呈微黄色,升温回流。0.5 h后溶液颜色将变为深紫色,使用展开剂($V(\text{DCM}):V(\text{MeOH})=10:1$)进行薄层色谱(TLC)监测反应进度,待*N*-甲基吡啶的蓝紫色荧光点基本消失,且出现明显的桃红色荧光产物点后停止反应。冷却,旋转蒸发器减压除去溶剂,得蓝紫色固体粗产物。然后进行柱层析色谱提纯,由于产物的光敏性,使用铝箔纸包裹色谱柱以避光。先用DCM洗脱未反应完全的*N*-甲基吡啶及副产物,再用 $V(\text{DCM}):V(\text{MeOH})=5:1$ 作为洗脱剂分离出溶液态深红色产物,旋转蒸发器去除溶剂后得到蓝紫色粉末(产率约60%)。并通过TLC与标准样品对比以确认产物。

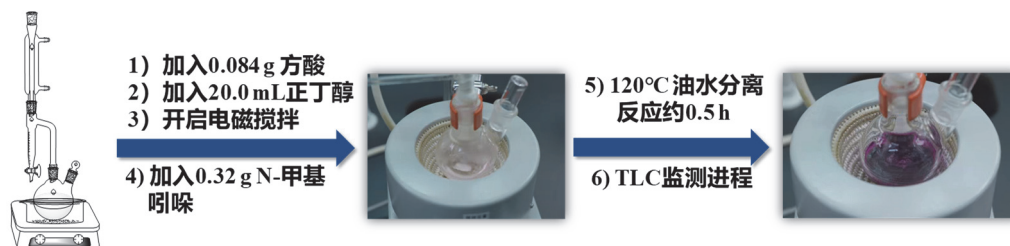


图4 四方酸素的反应基本流程与现象

2.3.4 自制荧光光谱仪实际应用

四方酸素染料荧光光谱测量:准确称取制备的吡啶四方酸0.4 mg,配制浓度 $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的吡啶四方酸的10 mL的DMF溶液,使用自制荧光光谱仪测试其荧光发射光谱并记录。

金属离子检测能力测试:向3 mL $1.0\times 10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的吡啶四方酸溶液中逐次加入 $25\text{ }\mu\text{L}\ 1.00\times 10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的L-半胱氨酸的DMF溶液,测试溶液荧光光谱,直至没有变化后停止滴加L-半胱氨酸的DMF溶液。再逐次加入 $25\text{ }\mu\text{L}\ 1.00\times 10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ 的DMF溶液,测试其荧光光谱。观察向吡啶四方酸中加入L-半胱氨酸及 Cu^{2+} 溶液前后荧光光谱的动态变化过程,并存储光谱数据。

3 结果与讨论

3.1 自制荧光光谱仪性能测试结果

3.1.1 自制荧光光谱仪准确度测试

使用Ar-Hg标准灯^[11]测试的荧光光谱仪波长显示在图5中,与标准波长进行对比,自制光谱仪表现出极佳的波长准确性。随后又测试了罗丹明6G、罗丹明B、姜黄素、孟加拉玫瑰红溶液的荧光光

谱, 并与商业化仪器(日立F-7000荧光光谱仪)测试结果进行了对比, 主要数据显示在表3中, 峰位波长误差小于万分之五。可见自制荧光光谱仪的波长准确度满足本科教学和基本科研要求。

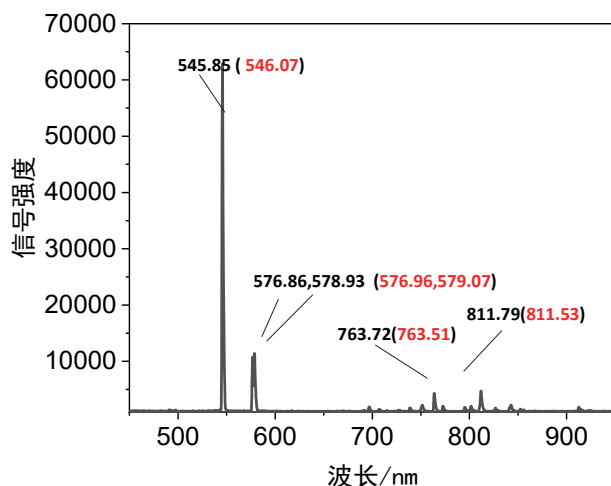


图5 Ar-Hg标准灯测试光谱

括号外标注数值为测试波长, 括号内为灯谱标准波长

表3 自制荧光光谱仪准确度测试结果

物种	$\lambda_{\text{自制光谱仪}}/\text{nm}$	$\lambda_{\text{市售光谱仪}}/\text{nm}$
罗丹明6G	556.6	555.2
罗丹明B	568.9	567.8
孟加拉玫瑰红	575.0	575.0
姜黄素	544.7	544.2

为了检验仪器的强度检测准确度, 进行了线性区间内不同浓度的罗丹明B溶液的荧光光谱测试(图6a), 对峰强度-浓度进行线性拟合(图6b), 发现在此范围内, 线性拟合参数 $R = 0.999$, 表现出非常好的线性。表明搭建的荧光光谱仪具有良好的峰强度测试能力。

3.1.2 自制荧光光谱仪检测限测试

为了标定自制荧光光谱仪的检测限, 我们采用了以 $0.001 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 罗丹明B浓度溶液为起始浓度, 稀释10倍后, 对溶液以荧光光谱采集的方式标定检测限。不断重复稀释和检测过程, 直到无法满足3倍以上的信噪比条件时, 将之前浓度作为该设备的检测限。如图6c所示, 在使用紫外灯光源时, 自制荧光光谱仪的检测限可达约 $1.00 \times 10^{-9} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 虽然其检测限稍逊于市售仪器, 但已满足本科生综合实验分析教学的需求, 综合考虑性价比、便携性等因素, 自制荧光光谱仪仍然具有较大的优势。若使用 532 nm 激光笔光源^[12], 自制荧光光谱仪的检测限可以达到如图6d所示的 $1.00 \times 10^{-16} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 可达到普通市售荧光光谱仪的检测限。

3.1.3 自制荧光光谱仪开放性测试

本实验中搭建的荧光光谱仪使用开放的夹具代替传统比色皿承载器, 可以便捷地对非标准的样品进行检测。将荧光笔的笔迹、西瓜瓤、姜片等具有一定荧光性能的非标准样品固定于自制荧光光谱仪的载样台上并测定其荧光光谱图, 所得结果如图7所示, 结果表明自制荧光光谱仪具有开放性的特点, 由于软件可以实现实时地扣除外界光源信号, 因此可以更便捷地在自然光条件下对各种复杂的荧光物质进行快速检测, 并得到令人满意的测试结果。

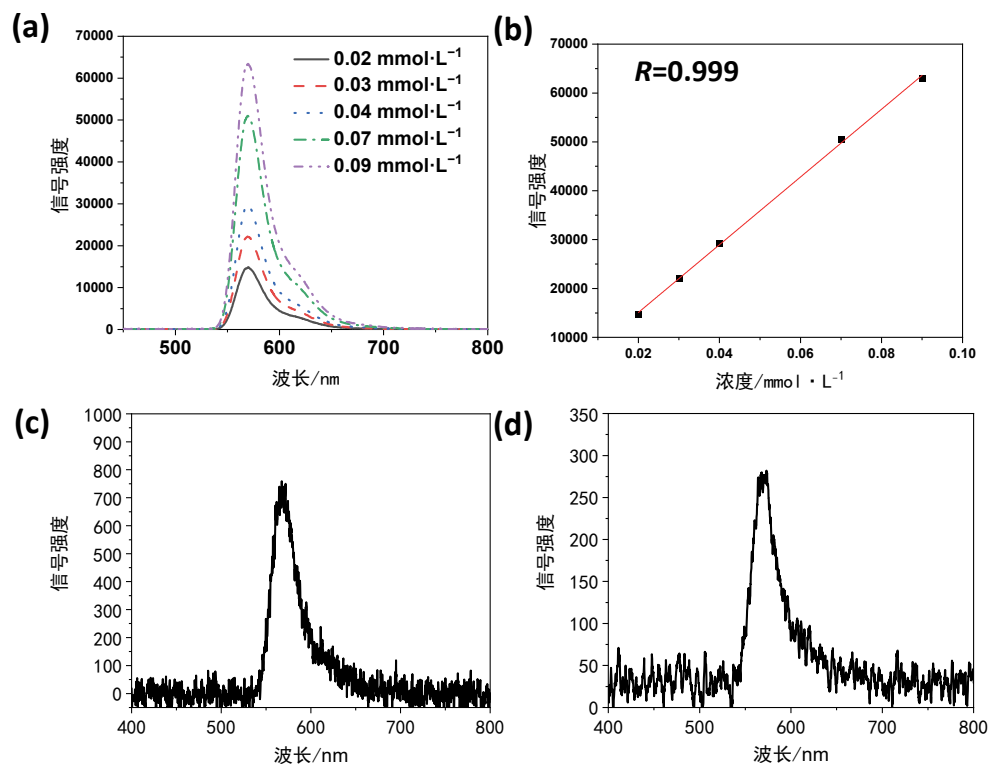


图6 (a) 不同浓度罗丹明B的乙醇溶液的荧光光谱; (b) 峰高-浓度线性拟合图;
(c) 罗丹明B荧光检测限测试: 365 nm LED灯激发 $1.00 \times 10^{-9} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度;
(d) 罗丹明B荧光检测限测试: 532 nm激光笔激发 $1.00 \times 10^{-16} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度

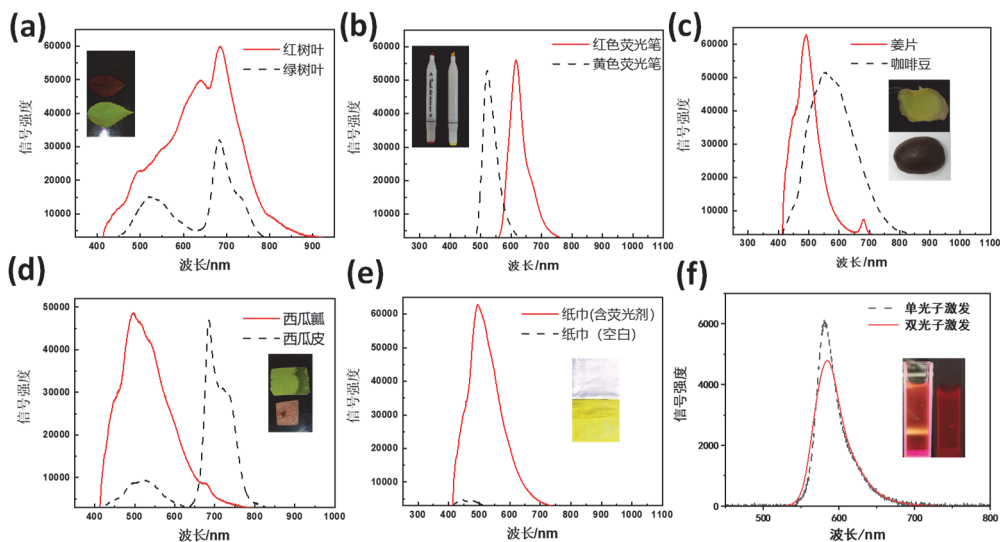


图7 仪器开放性检测

(a-c) 非标准制样样品的光谱测试; (f) 双光子激发荧光光谱

仪器的开放性还表现在光源的可替换性,除了使用紫外手电与激光笔外,还可以使用120 fs脉宽、300 mW、800 nm激光器对样品进行激发,还可以观察到双光子吸收现象。经聚焦后飞秒激光照射在吡啶四方酸溶液样品上,结果如图7f所示,二者荧光发射位置基本不变,而双光子吸收利用三阶非线性效应产生焦点发光的特性^[13]和产生空间点激发的特性^[14]。本实验表明,自制荧光光谱仪可

以采集双光子激发荧光，拓宽了此光谱仪的应用范围。

3.2 吡啶四方酸素的合成与表征

3.2.1 吡啶四方酸合成条件优化

根据文献报道，选取*N*-甲基吡啶与四方酸脱水缩合合成吡啶四方酸素染料，进行多次重复实验优化反应条件，例如：将原文献中 $V(\text{甲苯}):V(\text{正丁醇})=1:1$ 的混合溶剂体系优化为正丁醇，提高了反应的安全性，满足了本科教学中限制使用易制毒溶剂的条件^[9]。反应时长从2 h缩短至0.5 h，降低了光氧化的产率损失。此条件下收率完全可以满足后续溶液配制及荧光性质表征的需求。另外，用铝箔纸包裹色谱柱可以抑制产物在柱层析纯化时的光致分解损失。优化后的实验条件见表4。

表4 实验原始条件与最终确定的实验方案对比

组别	原始条件	优化方案
反应溶剂	$V(\text{甲苯}):V(\text{正丁醇})=1:1$	正丁醇
实验时长	2 h	0.5 h
遮光与否	全程遮光	柱层析遮光
除氧与否	需除氧	无需除氧

3.2.2 吡啶四方酸素染料金属离子探针性能测试

使用自制荧光光谱仪测定吡啶四方酸素染料溶液($0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的荧光光谱，结果如图8所示， $\lambda_{\text{em}}=578 \text{ nm}$ 。使用250 μL 移液枪向染料溶液中逐渐加入25 μL 体积的 $1.00 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的L-半胱氨酸DMF溶液，记录荧光信号。收集到的荧光信号逐渐降低，最后接近消失。然后逐渐加入25 μL 体积的 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ 的DMF溶液，充分混合均匀，继续测试其荧光信号，荧光在数秒内快速回复，荧光强度随着 Cu^{2+} 量的增加而增强，但是由于存在聚集效应，不能完全返回到原有高度。

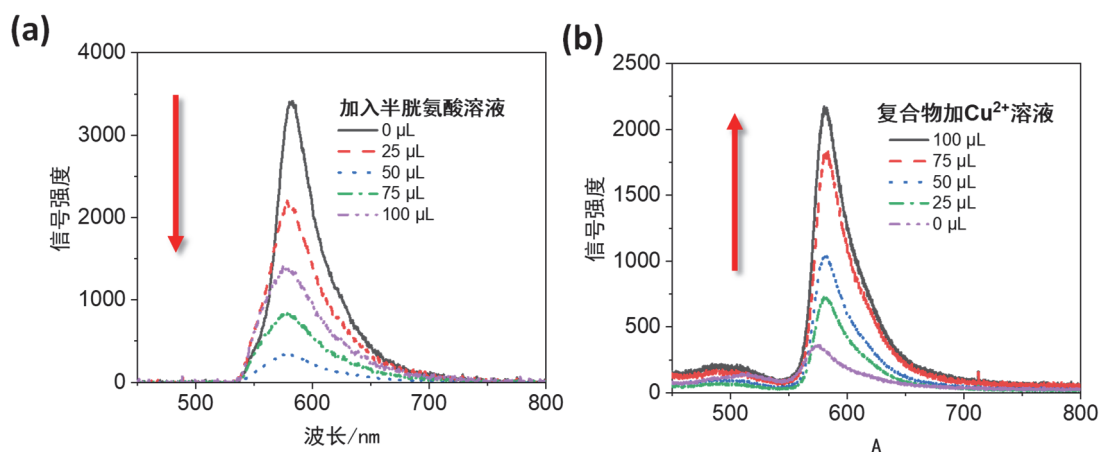


图8 吡啶四方酸素染料溶液体系荧光发射光谱

(a) 随着滴入L-半胱氨酸溶液后的荧光变化情况；(b) 化合物2加入 Cu^{2+} 离子溶液后荧光恢复情况

3.3 自制荧光光谱仪测试结果讨论

上述一系列实验结果表明：(1) 本实验创制的荧光光谱仪准确度好、检测限高，完全可以满足本科生综合化学实验教学需求；(2) 与市售荧光光谱仪相比，自制荧光光谱仪具备开放可视的优点，在样品实时监测以及非标准样品测试方面具有一定优势；(3) 将自制荧光光谱仪应用于实际未知样品的测定，得到的结果科学准确，进一步证实自主创制的荧光光谱仪的可靠性与良好的整体性能。

4 结语

本实验创制出一套体积小、成本低, 可实现动态监测的开放式荧光光谱仪, 并开展了以下实验内容:

(1) 通过自主安装并调整荧光光谱仪, 提高学生实验参与度, 促进学生深入理解荧光光谱仪的基本构造及其中各元件的作用, 了解光路状态、外界环境等因素对检测的影响。

(2) 检测自制光谱仪的仪器性能, 并与市售光谱仪进行对比, 证明自制光谱仪具备高性价比、高准确度、开放性、便携性、可动态监测等优点, 可以满足本科生实验教学要求。

(3) 使用吡啶四甲酸作为样品测试自制光谱仪的实际应用效果, 拓展了聚集性效应、双光子吸收、荧光探针等知识, 加深学生对荧光作用机制与荧光分析技术的理解。

本实验将原有的荧光光谱分析法实验改进为包括仪器设备创制及性能检测、有机化合物合成及表征、荧光光谱分析检测等内容的综合性实验, 实验安全性高、内容丰富、成本低, 在本校的本科实验教学中已开设两学期, 可行性强, 且实验用时在16学时以内, 教学时长合理, 适合在本科实验教学中开展。

5 特点声明

(1) 创制小体积、低成本开放式荧光光谱仪, 有助深入理解仪器结构与原理。

(2) 巩固并拓展了荧光分析相关知识, 加强对荧光深层作用机制的理解。

(3) 将原有单一荧光光谱分析实验改进为内容丰富、参与度强的综合性化学实验。

参 考 文 献

- [1] Lakowicz, J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3rd.; Springer: New York, NY, USA, 2006.
- [2] Carstea, E. M.; Bridgeman, J.; Baker, A.; Reynolds, D. M. *Water Res.* **2016**, *95*, 205.
- [3] Arnaout, R.; Lee, R. A.; Lee, G. R.; Callahan, C.; Yen, C. F.; Smith, K. P.; Arora, R.; Kirby, J. E. *bioRxiv* **2020**, 1.
- [4] Vivian, J. T.; Callis, P. R. *Biophys. J.* **2001**, *80*, 2093.
- [5] Jameson, D. M.; Jameson, I. P. *Fluorescence Spectroscopy: New Methods and Applications*; CRC Press, Taylor and Francis: New York, NY, USA, 2014.
- [6] 潘建章, 张梦婷, 张箫扬, 廖育城, 徐欣然, 方群. *大学化学*, **2023**, *38* (4), 291.
- [7] Sun, C.-L.; Lv, S.-K.; Liu, Y.-P.; Liao, Q.; Zhang, H.-L.; Fu, H.; Yao, J. *J. Mater. Chem. C* **2017**, *5*, 1224.
- [8] Sun, C. L.; Liao, Q.; Li, T.; Li, J.; Jiang, J. Q.; Xu, Z. Z.; Wang, X. D.; Shen, R.; Bai, D. C.; Wang, Q.; *et al.* *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 761.
- [9] Sprenger, H. E.; Ziegenbein, W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *5*, 894.
- [10] Ros-Lis, J. V.; Garcia, B.; Jimenez, D.; Martinez-Manez, R.; Sancenon, F.; Soto, J.; Gonzalvo, F.; Valdecabres, M. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4064.
- [11] Liu, Y.; Zissis, G.; Li, W.; Chen, D.; Chen, Y.; Buso, D.; Bhosle, S. *J. Phys. D Appl. Phys.* **2009**, *42*, 095207.
- [12] Tellinghuisen, J. *J. Chem. Educ.* **1981**, *58*, 438.
- [13] 张楠, 臧建阳, 王刚, 刘太宏. *大学化学*, **2023**, *38* (1), 88.
- [14] Denk, W.; Strickler, J. H.; Webb, W. W. *Science* **1990**, *248*, 73.