

第四章 紫質在不同 pH 值水溶液中及與脫輔基肌紅蛋白結合下的光譜及動力學

為了改善 ZnPP 分子的聚集，我們利用蛋白質和紫質以凡得瓦耳力 (Van-der Waals force) 結合，將 ZnPP 分子孤立在蛋白質中，使之不易產生聚集。這一部份的實驗是和本校生物科技學系吳東昆教授合作，所使用與 ZnPP 結合之蛋白質為脫輔基肌紅蛋白 (apo-myoglobin, Apo-Mb)。

肌紅蛋白 (myoglobin, Mb) 的結構如圖 4-1 A 所示，^[1]在其內部為原血紅素 (heme, 圖 4-2 B) 即中心金屬為鐵的 protoporphyrin，而 Apo-Mb 則是中心沒有原血紅素的一種蛋白質，我們所研究的分子即是將 ZnPP 取代原血紅素後所得的人工蛋白質，以下簡稱 ZnPP-Mb。本章中我們將介紹 ZnPP-Mb 在緩衝液 (buffer) 下以及 ZnPP 單獨於不同 pH 值的緩衝液下之靜態及瞬態光譜，並比較兩者間的光譜與動力行為，再利用時間—解析螢光非等向性動力學實驗來證明 ZnPP 的確與 Apo-myoglobin 形成穩定的錯合物 (complex)。

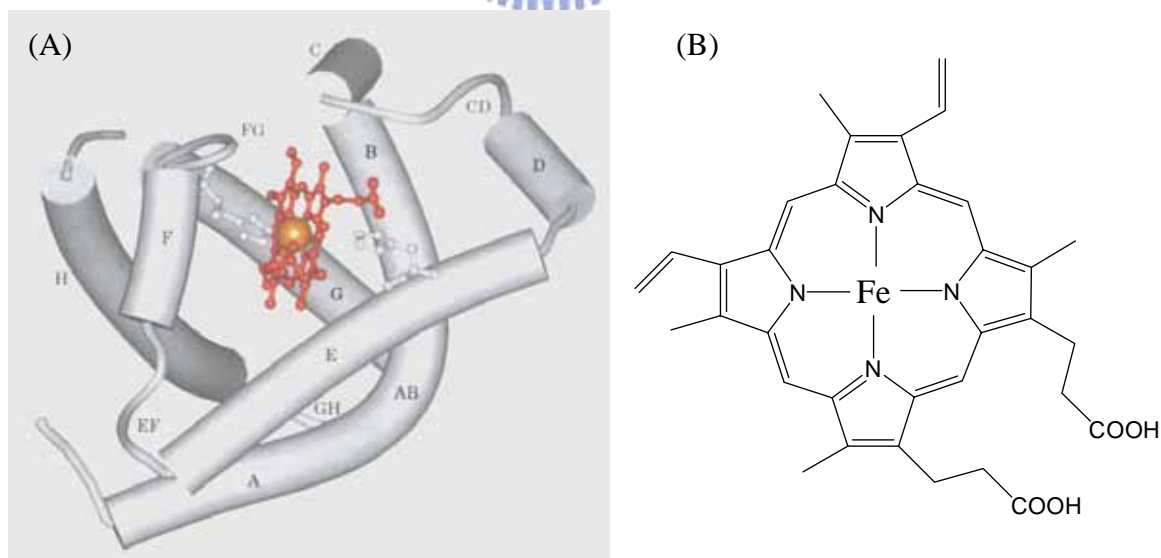


圖 4-1 (A) 肌紅蛋白(myoglobin)之結構圖。^[1]其中 A-H 表示 8 個 α -螺旋體(α -helix)的片段。(B) 原血紅素(Heme)之結構圖。

[1] Nelson, D. L.; Cox, M. M., Lehninger Principles of Biochemistry; Worth, New York, 2000; pp 206

4-1 樣品配置 (sample preparation)

修飾肌紅蛋白的方法最少可分為以下三種類別，示意圖如圖 4-2 所示：包括 (1) 蛋白質的突變 (mutagenesis)；(2) 在蛋白質的表面具有活性的位置引進官能基 (functional groups)；(3) 以具有金屬配位的紫質 (metalloporphyrin) 取代原血紅素。^[2]

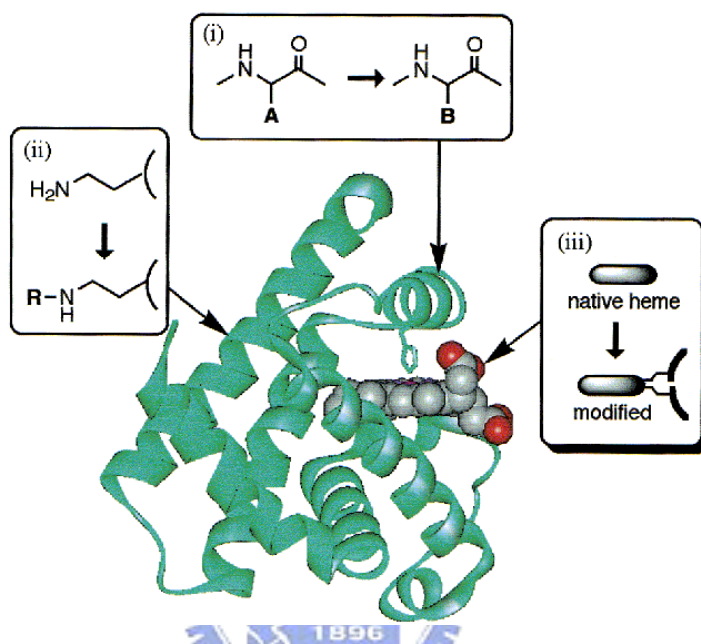


圖 4-2 三種修飾肌紅蛋白的方法之示意圖。^[2]

上述方法中的第三點為我們所使用的修飾方法，ZnPP-Mb 樣品由吳東昆教授實驗室提供，以下簡述其配置流程。

(1) ZnPP-Mb / buffer

將 Apo-Mb 30 mg 溶於 20% 冰的二甲亞砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 水溶液。另一方面將 ZnPP 1.66 mg 溶於 500 μ l 吡啶 (pyridine)，之後將 Apo-Mb 水溶液置於冰浴上攪拌，並緩緩加入 ZnPP 溶液，測量其 pH 值為 8.7，再以 0.1 N HCl 將此溶液之 pH 值調整至 7 後，將溶液置於 4°C 冰箱中攪拌 6 小時，之後將此溶液進行透析，再通管柱 (column)，所使用之洗滌液 (eluent) 為 10 mM 的磷酸鹽 (phosphate) 緩衝液，此緩衝液

[2] Hayashi, T.; Hisaeda, Y. *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 35

之 pH 值為 7，將流出的溶液再以 0.2 μm 的纖維膜 (cellulose membrane) 過濾，收集濾液後再以 PM10 membrane 進行第二次過濾，收集濾液後再調整其 pH 值至 6.8 後得到 ZnPP-Mb 水溶液。

(2) ZnPP / buffer

將 ZnPP 1.66 mg 溶於 500 μl 吡啶 (pyridine)，之後將 20% 二甲亞砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 水溶液置於冰浴上攪拌，並緩緩加入 ZnPP 溶液，此時溶液之 pH 值為 9，再利用 0.1 N HCl 將此溶液之 pH 值調整至 7 後，將溶液置於 4°C 冰箱中攪拌 6 小時，之後將此溶液進行透析，透析後再以 0.2 μm 的纖維膜過濾，收集濾液後得到 ZnPP 水溶液。

4-2 ZnPP 在不同 pH 值下之吸收及發光光譜

由文獻的報告得知 H_2PP 在水溶液中產生聚集的程度會受到 pH 值的影響，^[3] 在 pH 值為 0-3 的範圍下， H_2PP 是以單體的形式存在於溶液中；而當 pH 值大於 8 時為雙體的形式；pH 值為 3-7 時則多體聚集的形式。此理論可由其靜態光譜在不同 pH 值條件下產生明顯的變化而得以證實。圖 4-3 所示為我們重複文獻上的實驗，所得的結果和文獻幾乎一致，唯在 pH = 1 時，可能因為濃度的差異，造成吸收光譜的不同。

我們將 ZnPP / buffer 溶液以鹽酸 (chloric acid, HCl) 或氫氧化鈉 (sodium hydroxide, NaOH) 調控以改變此溶液之 pH 值，觀測 ZnPP 在不同 pH 值溶液中之靜態光譜以及由瞬態光譜的量測瞭解其動力行為。

[3] Scolaro, L. M.; Castriciano, M.; Romeo, A., Patane, S.; Cefali, E.; Allegrini, M. *J. Phys. Chem. B* **2002**, 106, 2453.

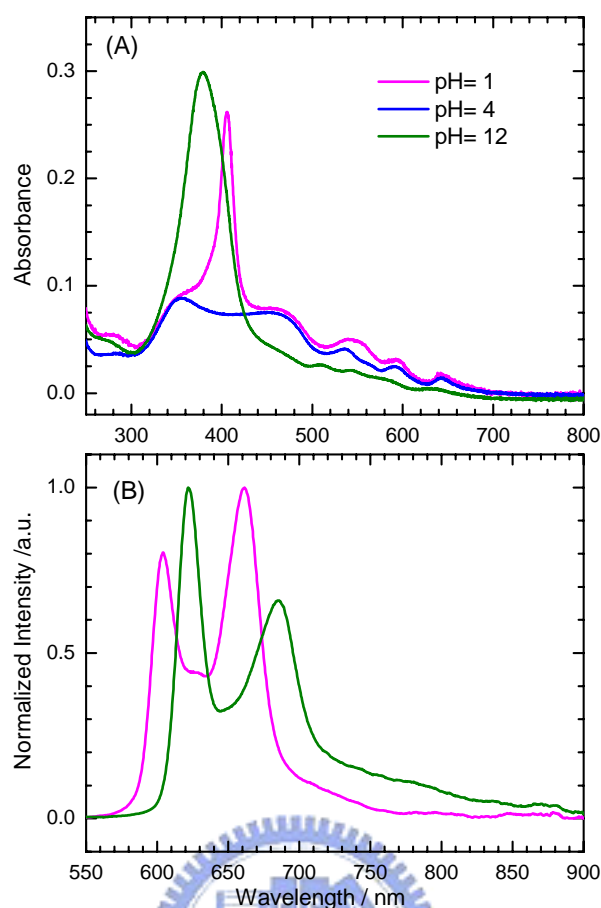


圖 4-3 H_2PP 在不同 pH 值溶液條件下之(A)吸收光譜及(B)螢光光譜。

溶液之 pH 值分別為:pH= 1 (桃紅色線)、pH= 4 (藍色線)及 pH= 12 (綠色線)，激發波長為 435 nm，光譜以 1cm 的樣品槽測得。

圖 4-4 所示為 ZnPP / buffer 溶液 pH= 1、pH= 4、pH= 7、pH= 10、及 pH= 12 之靜態光譜。若將其和 ZnPP 在 THF 溶液中的吸收光譜比較，明顯呈現出頻帶的藍位移現象，螢光光譜上是頻帶的紅位移現象，在中性及酸性環境中更為明顯，此表示 ZnPP 分子在酸性環境比在鹼性環境之聚集情況更為嚴重。與 H_2PP 不同的是 ZnPP 在酸性環境下為多體聚集的形式而 H_2PP 則呈現單體的形式，原因可能為 ZnPP 在強鹼溶液及鹼性有機溶劑擁有較好的溶解度 (solubility) 及穩定性，^[4]而在酸性溶液下因為溶解度較差，使得分子在酸性溶液中產生了嚴重的聚集。且文獻上指出 ZnPP 溶於鹽酸中會失去 Zn 金屬形成 H_2PP ，^[4]因此推測 H_2PP 在酸性溶液中有好的溶解度，因而有機會形成單體。

[4] Labbe, R. F.; Verman, H. J.; Stevenson, D. K. *Clinical Chemistry*, **1999**, 45, 2060.

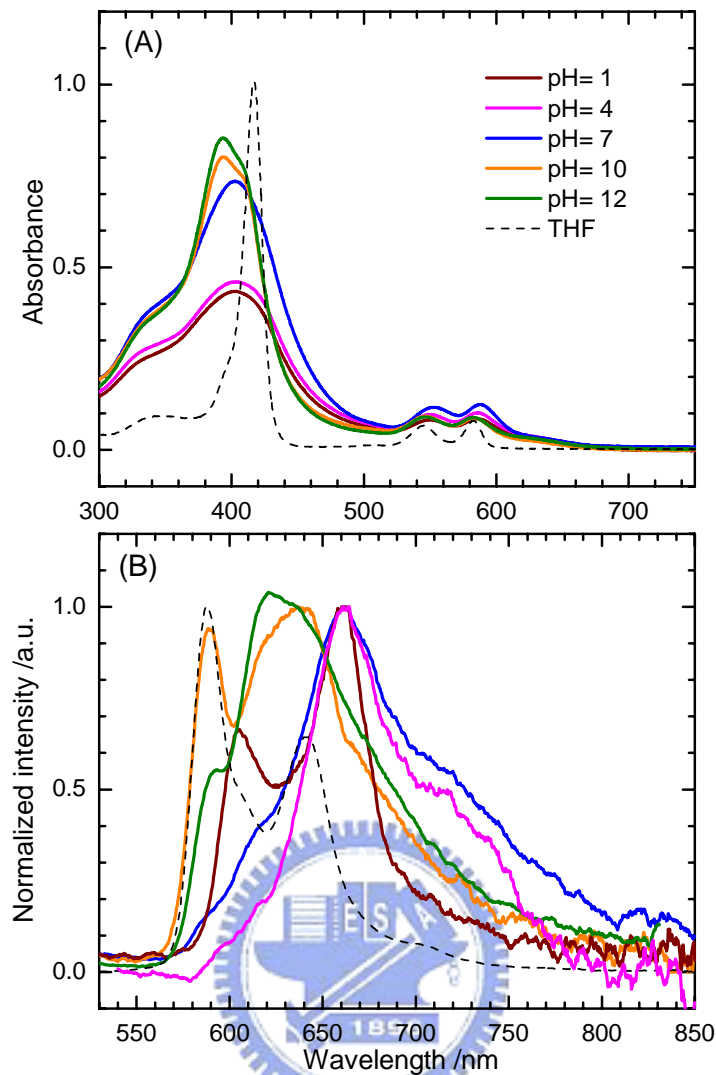


圖 4-4 ZnPP / buffer 在不同 pH 值條件下之(A)吸收光譜及(B)螢光光譜。

溶液之 pH 值分別為：pH= 1 (暗紅色線)、pH= 4 (桃紅色線)、pH= 7 (藍色線)、pH= 10 (橘色線)及 pH= 12 (綠色線)，虛線表示 ZnPP / THF 溶液。激發波長為 435 nm，光譜以 1cm 的樣品槽測得。

在鹼性環境下， H_2PP 是以雙體的形式存在，且表現在螢光光譜上的特徵為 $Q(0,0)$ 及 $Q(0,1)$ 兩個頻帶的中間多了一個新的頻帶。ZnPP 在 pH = 10 及 pH = 12 的環境中的結果類似於 H_2PP ，當 pH = 10 時，ZnPP 之放光位置在 587 nm 及 636 nm；當 pH = 12 時，位於 587 nm 的頻帶變小，使得主要放光的位置在 626 nm。我們針對雙體的部分，以高斯函數來擬合鹼性環境下之螢光光譜，如圖 4-5 所示，以及表 4-1 摘要其擬合所得到的

參數。在 pH = 10 的環境下可以解析出五個放光頻帶，其峰值分別為 587 nm (藍色線)、643 nm (藍色線)、618 nm (桃紅色線)、657 nm (綠色線)及 667 nm (紫色線)；在 pH = 12 環境下放光峰值則是 587 nm (藍色線)、643 nm (藍色線)、617 nm (桃紅色線)、648 nm (綠色線)及 719 nm (紫色線)。將此擬合結果和 THF 溶液比較，我們可以指派 587 nm 為 ZnPP 單體 Q(0,1)的放光，而 643 nm 則為 Q(0,0)的放光，而其他成分應為 ZnPP 雙體或多體聚集的放光。

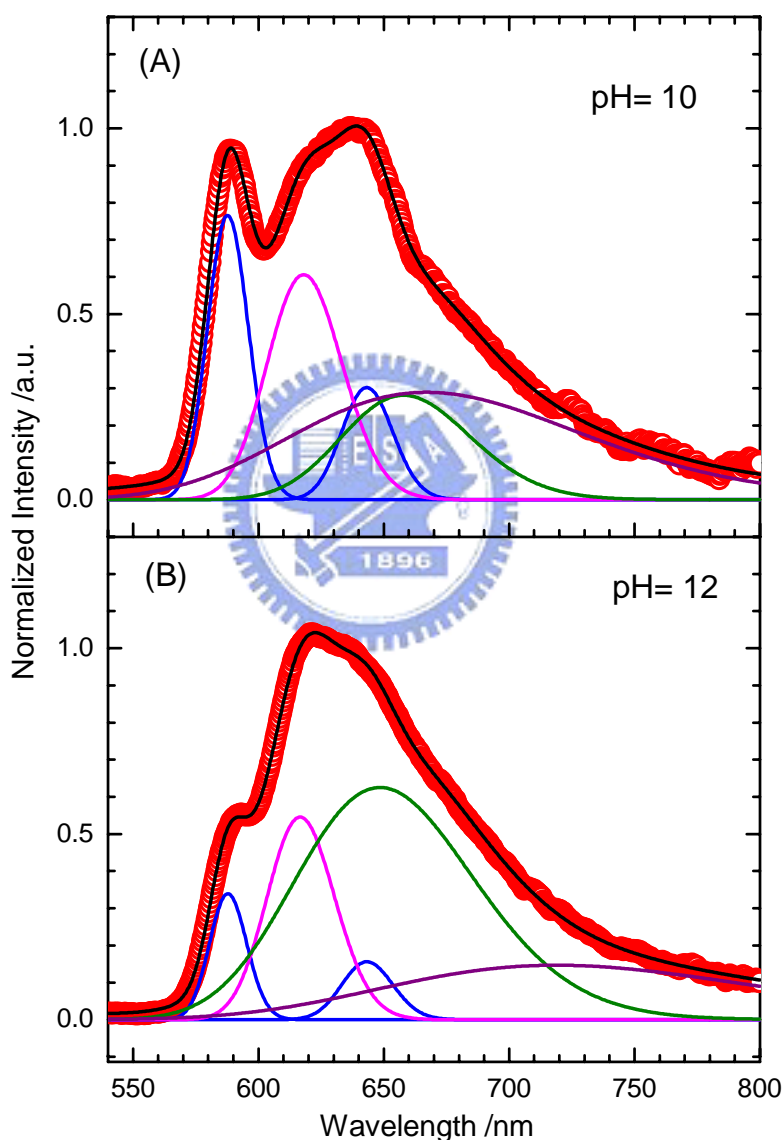


圖 4-5 ZnPP 在鹼性環境下的螢光光譜，經由高斯函數擬合的結果，溶液之 pH 值分別為：(A) pH=10 及(B) pH= 12。紅色線為實驗值，黑色線為擬合結果，藍色線為單體，桃紅色線為雙體，綠色線及紫色線為聚集體。激發波長為 435 nm。

表 4-1 ZnPP 在鹼性環境中之螢光光譜以高斯函數擬合的結果^{a,b}

	Monomer / nm (FWHM / cm ⁻¹)	Dimer / nm (FWHM / cm ⁻¹)	Aggregates / nm (FWHM / cm ⁻¹)
pH=10	587 (273)	618 (391)	657 (588)
	643 (245)		667 (1290)
pH=12	587 (215)	616 (353)	648 (842)
	643 (245)		718 (1425)

^a 激發波長為 435nm。

^b 括號內表示頻帶之半高寬。

將此擬合結果和 ZnPP/THF 溶液 (表 3-1) 以及 ZnPP/AAO (表 3-4) 的螢光光譜擬合結果比較，在單體方面，此三種環境下的位置是一致的；雙體方面，在鹼性環境下和在 AAO 奈米管內得到接近的擬合結果；而聚集體仍然因為聚集的形式不規則因而較難得到一致性。



4-3 ZnPP 在不同 pH 值下之 S₁ 激發態生命期

圖 4-6 為我們利用 TCSPC 所得 ZnPP 在 pH= 10 溶液下之瞬態光譜，首先探討 ZnPP 在鹼性溶液下的動力行為，我們所使用之激發波長為 435 nm，偵測 590 nm、610 nm、630 nm 及 670 nm 等放光波長。表 4-2 摘要其擬合的結果，當偵測波長為 590 nm 時，動力學擬合的結果包含了兩個時間常數，分別是 $\tau_1 \sim 0.18$ ns 及 $\tau_2 \sim 2.0$ ns；而偵測波長為 610 nm 時，其擬合結果為 $\tau_1 \sim 0.19$ ns 及 $\tau_2 \sim 1.5$ ns。當我們偵測更長的波長時，發現 τ_1 成分的比例隨波長增長而增加，依據在 THF 溶液中的實驗結果，我們指派 τ_1 為聚集體分子間能量轉移之時間常數， τ_2 則為單體、雙體或聚集體分子間能量轉移之時間常數。

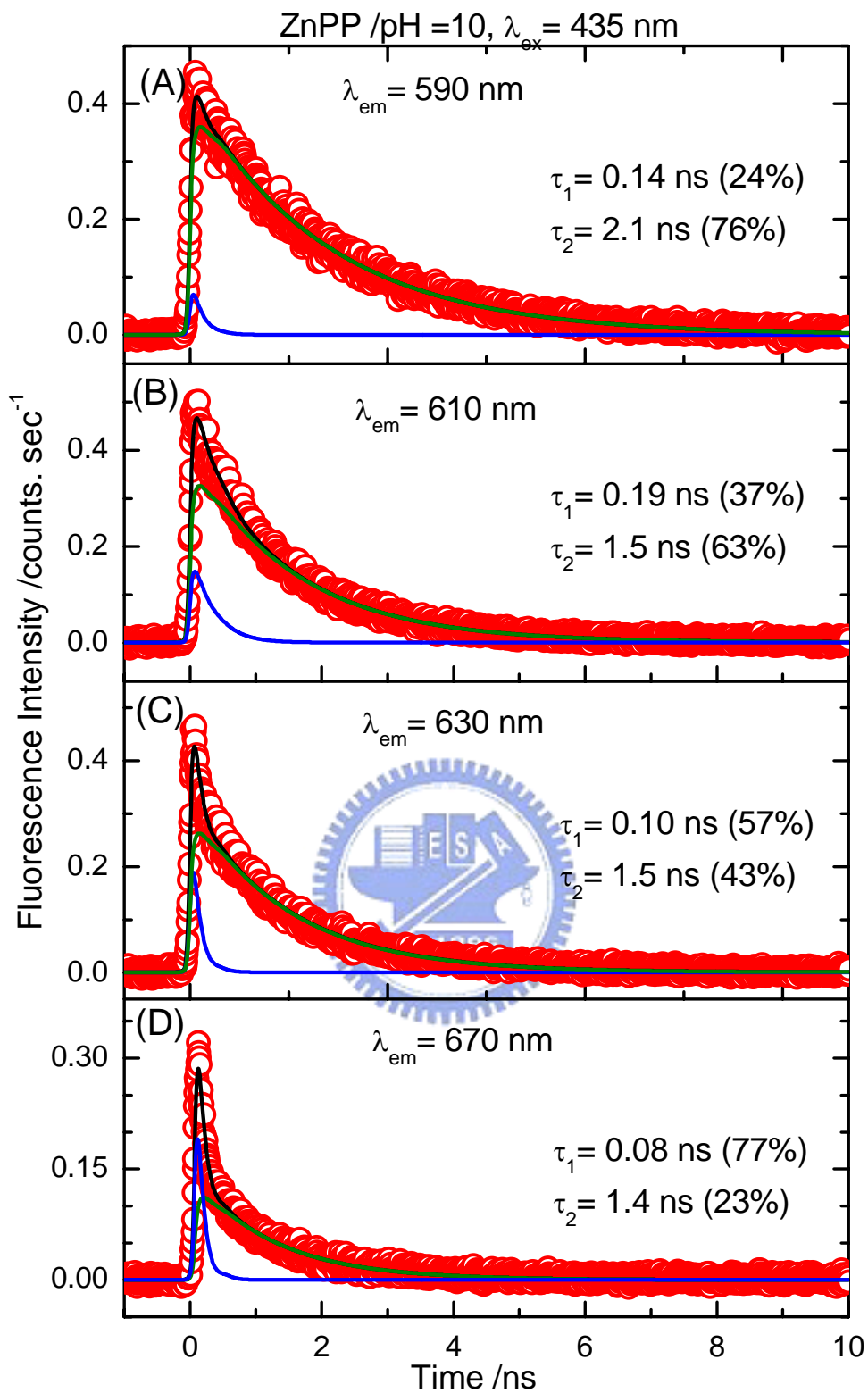


圖 4-6 ZnPP 在 pH = 10 溶液下的螢光瞬態光譜，偵測波長分別為：(A) 590 nm (B) 610 nm (C) 630 nm (D) 670 nm。圈圈為實驗值，黑線為擬合結果，藍色線為 τ_1 的模擬結果，綠色線為 τ_2 的模擬結果。激發波長為 435 nm。

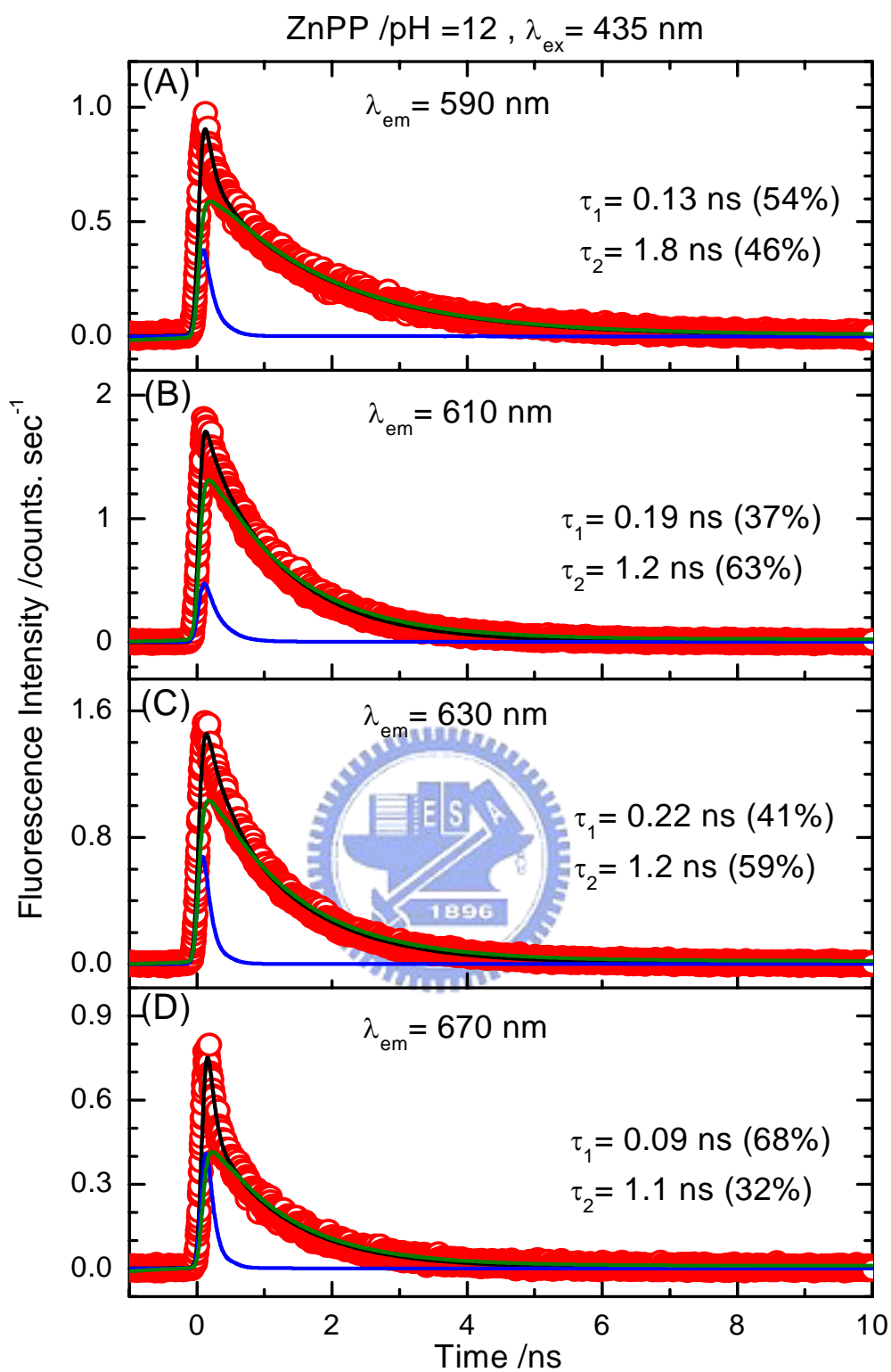


圖 4-7 ZnPP 在 pH = 12 溶液下的螢光瞬態光譜，偵測波長分別為：(A) 590 nm (B) 610 nm (C) 630 nm (D) 670 nm。圈圈為實驗值，黑線為擬合結果，藍色線為 τ_1 的模擬結果，綠色線為 τ_2 的模擬結果。激發波長為 435 nm。

表 4-2 ZnPP 在 pH= 10 溶液下的螢光瞬態光譜之動力學擬合結果^{a,b,c}

λ_{em}/nm	τ_1/ns	τ_2/ns
590	0.14 (24%)	2.1 (76%)
610	0.19 (37%)	1.5 (63%)
630	0.10 (57%)	1.5 (43%)
670	0.08 (77%)	1.4 (23%)

^a 擬合所使用之動力學模型為平行模型。

^b 激發波長為 435 nm。

^c 括號內表示各個時間常數所佔的相對比例。

圖 4-7 為 ZnPP 在 pH= 12 環境下所得的瞬態光譜，並將擬合結果摘要於表 4-3。將其和 pH= 10 的溶液比較，我們發現 τ_1 成分的相對比例增加及 τ_2 的值變小。由靜態和瞬態光譜所得的實驗結果，我們推測在 pH = 12 的條件下 ZnPP 聚集的情況較 pH= 10 更為嚴重。圖 4-8 所示為 ZnPP 在 pH = 1、pH = 4 及 pH = 7 溶液下之瞬態光譜。在此種環境下，我們所測得之螢光強度非常弱，動力學擬合的結果獲得小於儀器相關函數的時間常數，我們推論 ZnPP 在酸性及中性環境下，由於聚集所造成之螢光淬熄遠比在鹼性環境下更為明顯。

表 4-3 ZnPP 在 pH= 12 溶液下的螢光瞬態光譜之動力學擬合結果^{a,b,c}

λ_{em}/nm	τ_1/ns	τ_2/ns
590	0.13 (54%)	1.8 (46%)
610	0.19 (37%)	1.2 (63%)
630	0.22 (41%)	1.2 (59%)
650	0.10 (65%)	1.2 (35%)
670	0.09 (68%)	1.1 (32%)

^a 擬合所使用之動力學模型為平行模型。

^b 激發波長為 435 nm。

^c 括號內表示各個時間常數所佔的相對比例。

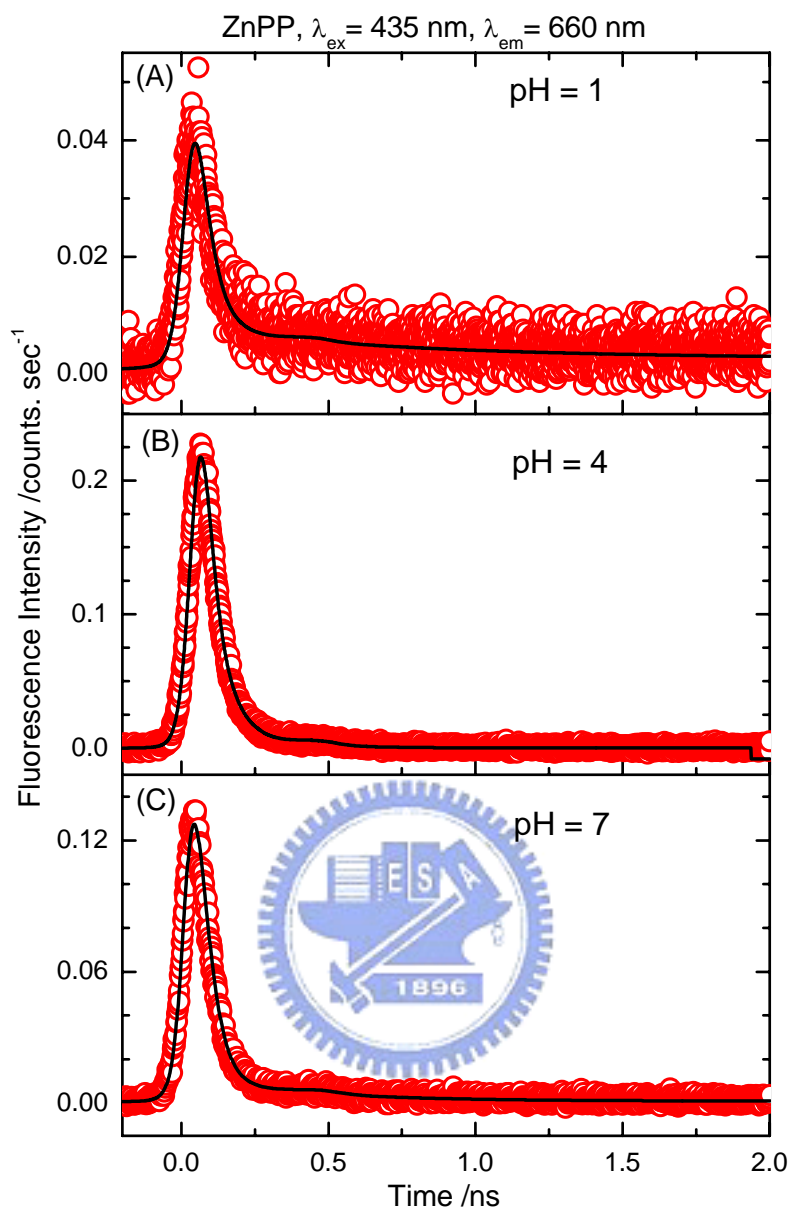


圖 4-8 ZnPP 在 pH = 1 (A 圖)、pH = 4 (B 圖)及 pH = 7 (C 圖)溶液下的
 螢光瞬態光譜，激發波長為 435 nm，偵測波長為 660 nm。圈圈為實驗
 值，實線為擬合結果。

由靜態及瞬態光譜的結果得知，ZnPP 在鹼性的環境下存在著部分之雙體；在中性
 及酸性的環境下，ZnPP 以多體聚集的形式存在於溶液中。

4-4 ZnPP-Mb 錯合物之吸收及螢光光譜

ZnPP-Mb / buffer 溶液的吸收光譜如圖 4-9 所示，其 B 吸收頻帶 ($S_2 \leftarrow S_0$) 的位置在 428 nm 以及 Q 吸收頻帶 ($S_1 \leftarrow S_0$) 的位置在 553 nm 及 595 nm，此緩衝液的 pH 值近似於 7，若和 ZnPP / THF 溶液及 ZnPP / buffer (pH = 7) 溶液的吸收光譜比較，我們可明顯地看到 ZnPP / buffer 之吸收光譜藍位移 (和 THF 溶液中比較) 及頻寬較寬，而 ZnPP-Mb / buffer 則是紅位移 (和 THF 溶液中比較) 且頻寬較窄，將此結果和文獻所得之吸收光譜比較，^[5] 則是得到一致的結果。

由 4-3 節的實驗結果得知 ZnPP 以聚集的形式存在於緩衝液中，使得其在吸收光譜上表現出藍位移及頻寬變寬等特徵，但加入蛋白質後，其吸收光譜的形狀則類似於 ZnPP / THF 溶液的吸收光譜。

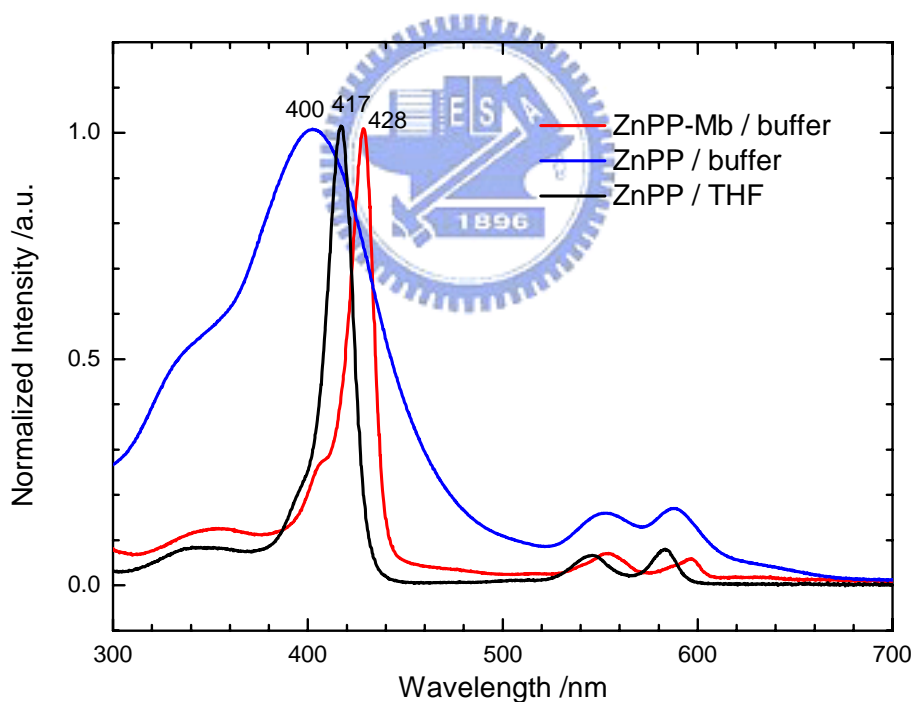


圖 4-9 ZnPP 在三種不同環境下之吸收光譜，這些環境分別為：ZnPP/THF 溶液(黑色線)、ZnPP-Mb / buffer 溶液(紅色線)以及 ZnPP / buffer (藍色線)。

[5] Papp, S.; Vanderkooi, J. M.; Owen, C. S.; Holtom, G. R.; Philip, C. M. *Biophys. J.* **1990**, 58, 177

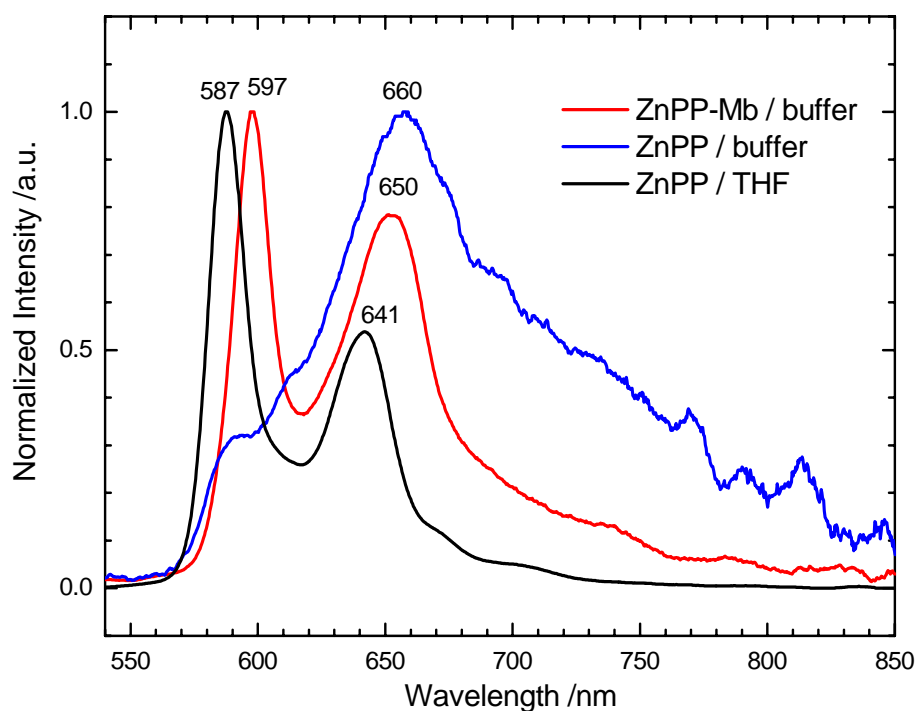


圖 4-10 ZnPP 在三種不同環境下之螢光光譜，這些環境分別為：ZnPP / THF 溶液(黑色線)、ZnPP-Mb / buffer 溶液(紅色線)以及 ZnPP / buffer (藍色線)。激發波長為 435 nm。

ZnPP-Mb / buffer 的螢光光譜如圖 4-10 所示，由圖我們得知其放光的位置在 597 nm 以及 650 nm，和文獻報告上的螢光光譜比較其值幾乎一致。文獻上指出其螢光光譜放光的位置在 595 nm 及 648 nm，其中的差異來自於儀器的誤差，且此差值在誤差範圍內。^[4,5] ZnPP / buffer 在螢光光譜上呈現出聚集的放光特徵，而 ZnPP-Mb / buffer 在螢光光譜上的放光形狀則是接近 ZnPP / THF 在螢光光譜上的放光形狀，亦即可以清楚的看到紫質之特徵放光峰。由 ZnPP-Mb / buffer 和 ZnPP / buffer 在靜態光譜上的變化推測 ZnPP 和蛋白質結合後會降低 ZnPP 的分子聚集。我們將 ZnPP-Mb / buffer 和 ZnPP / buffer 之螢光光譜以高斯函數擬合，如圖 4-11 所示，並摘要於表 4-4，在 ZnPP / buffer 環境下，可解析出四個頻帶，其峰質的位置分別在 587 nm (藍色線)、608 nm (桃紅色線)、653 nm (綠色線)及 697 nm (紫色線)，比較 ZnPP / THF 溶液的結果，我們指派頻帶位置在 587 nm

為單體的貢獻，653 nm 及 697 nm 為多體聚集的貢獻，609 nm 則可能為雙體的貢獻。而 ZnPP-Mb / buffer 環境下，可以解析出四個頻帶，其峰質的位置分別在 597 nm (藍色線)、652 nm (藍色線)、632 nm (綠色線)及 687 nm (紫色線)，根據文獻報導^[5]可指派 597 nm 及 652 nm 為單體的貢獻，632 nm 及 687 nm 則有可能是聚集體的貢獻。

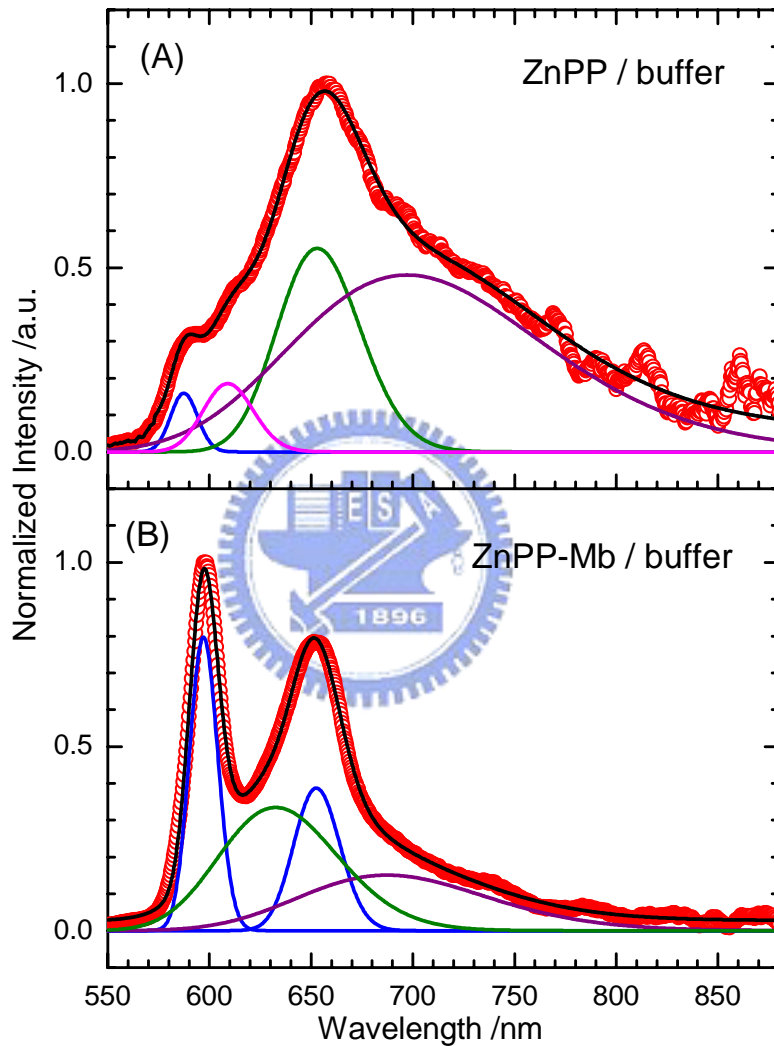


圖 4-11 ZnPP 在緩衝溶液下的螢光光譜以高斯函數擬合的結果。(A)圖為 ZnPP / buffer 溶液，(B)圖為 ZnPP-Mb / buffer 溶液，紅色線為實驗值，黑色線為擬合的結果，藍色線為單體，桃紅色線為雙體，綠色線及紫色線為聚集體。

表 4-4 ZnPP 在緩衝溶液下之螢光光譜以高斯函數擬合的結果^{a,b}

	Monomer / nm (FWHM / cm ⁻¹)	Dimer / nm (FWHM / cm ⁻¹)	Aggregates / nm (FWHM / cm ⁻¹)
ZnPP	587 (191)	609 (332)	653 (480) 697 (1271)
ZnPP-Mb	597 (195) 652 (266)	—	632 (727) 687 (970)

^a 激發波長為 435nm。

^b 括號內表示頻帶之半高寬。

4-5 ZnPP-Mb 錯合物之瞬態螢光光譜

我們以 435nm 的雷射激發 ZnPP-Mb / buffer，利用 TCSPC 來測量其 S₁ 激發態生命期。圖 4-12 所示為我們所得到的瞬態螢光光譜，其中黑線為利用 FluoFit 軟體來進行動力學擬合的結果，所使用之動力學模型為平行模型 ($A \xrightarrow{\tau_1} B; A' \xrightarrow{\tau_2} B'$)。

表 4-5 ZnPP-Mb 在緩衝溶液下螢光瞬態光譜之動力學擬合結果^{a,b,c}

Wavelength / nm	τ_1 / ns	τ_2 / ns
580	0.44 (14%)	2.2 (86%)
590	0.44 (14%)	2.2 (86%)
610	0.53 (24%)	2.2 (76%)
630	0.52 (35%)	2.2 (65%)
650	0.49 (33%)	2.2 (67%)
670	0.51 (50%)	2.2 (50%)
690	0.50 (64%)	2.2 (36%)
710	0.47 (67%)	2.2 (33%)
730	0.44 (71%)	2.1 (29%)
750	0.32 (75%)	1.7 (25%)
770	0.25 (77%)	1.5 (23%)

^a 擬合所使用之動力學模型為平行模型。

^b 激發波長為 435 nm。

^c 括號內表示各個時間常數所佔的相對比例。

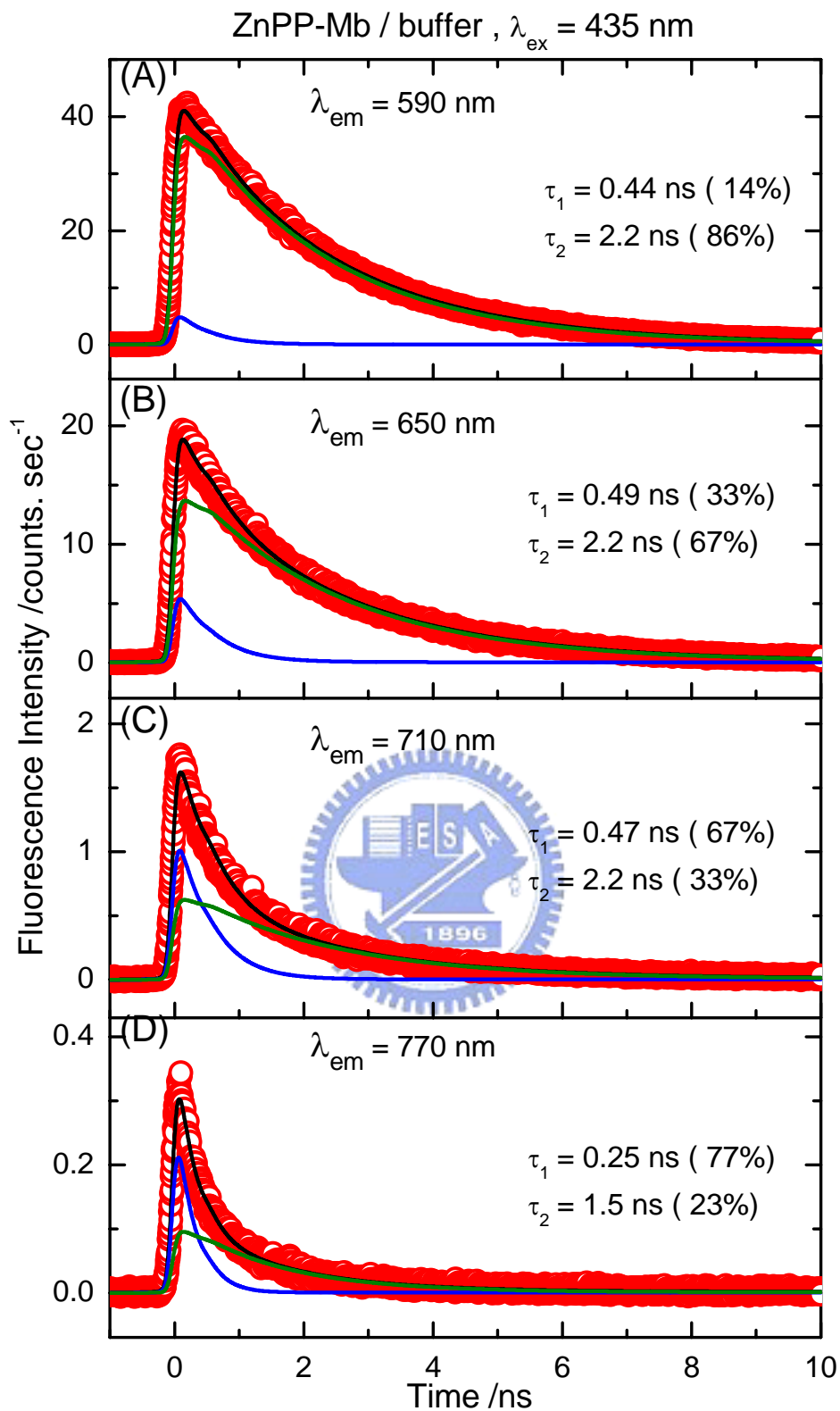


圖 4-12 ZnPP-Mb 在緩衝液下的螢光瞬態光譜，偵測波長分別為：
 (A) 590 nm (B) 630 nm (C) 670 nm (D) 710 nm。圈圈為實驗值，黑線
 為擬合結果，藍色線為 τ_1 的模擬結果，綠色線為 τ_2 的模擬結果。激發
 波長為 435 nm。

如圖所示最佳的擬合結果需要兩個時間緩解常數來解析，其值分別是 $\tau_1 \sim 0.5$ ns 及 $\tau_2 \sim 2.2$ ns，其中 τ_1 成分所佔的相對比例隨著偵測波長愈長愈高 (表 4-5)。圖 4-13 為我們模擬 τ_1 及 τ_2 成分所重建 (reconstruct) 之螢光光譜，發現 τ_2 之重建光譜類似 ZnPP 單體的放光，而 τ_1 之重建光譜則比較類似聚集的放光。我們比較 ZnPP 在水溶液環境下之螢光生命期的擬合結果，因 ZnPP-Mb 錯合物之衰減速率不及 ZnPP 單獨存在於緩衝液內的速率，且由 τ_1 所重建的螢光光譜較類似聚集的放光，故我們推測在 ZnPP-Mb/ buffer 內，ZnPP 可能以不同的形式和蛋白質結合，故 τ_1 成分可能為 ZnPP 雙體或多體與 Apo-Mb 結合進行分子間能量轉移過程之時間常數； τ_2 成分則可能為 ZnPP 單體和 Apo-Mb 結合後進行系統間轉換過程之時間常數。除了聚集的因素外，另一個可能的因素為 ZnPP 在蛋白質之環境下，其和蛋白質連接後可能產生不同結構之錯合物，因而產生兩種螢光衰減生命期。

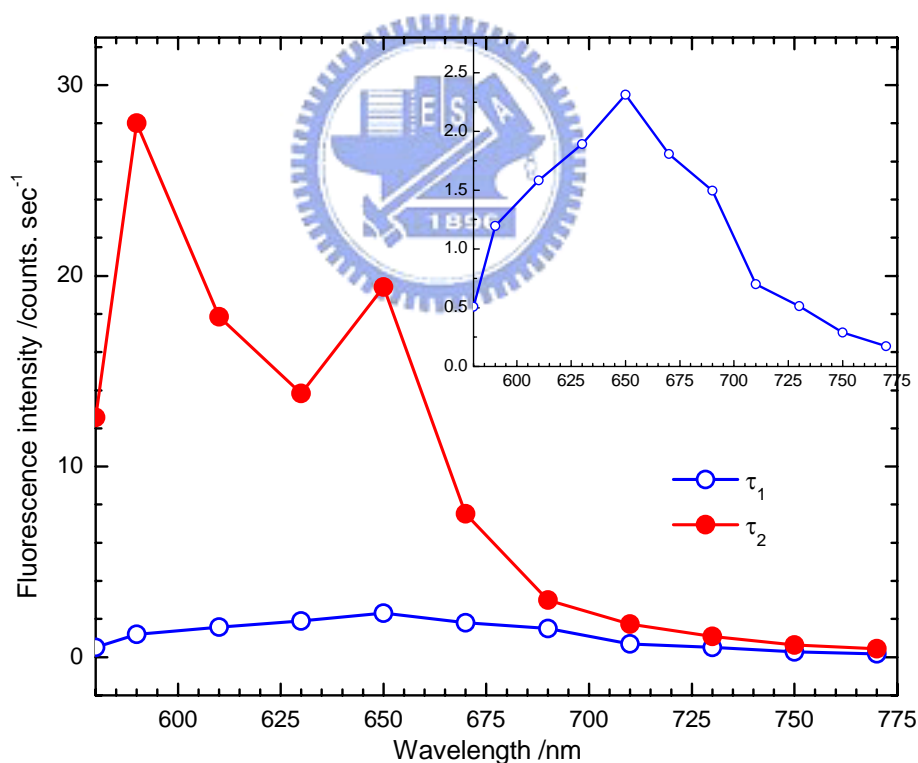


圖 4-13 ZnPP-Mb 在緩衝液下之重建螢光光譜，藍線為模擬 τ_1 所得，紅線為模擬 τ_2 所得。插圖為模擬 τ_1 所得之重建光譜。

4-6 ZnPP-Mb 錯合物的時間—解析螢光非等向性動力學

為了瞭解 ZnPP 分子是否和蛋白質結合，我們進行了時間—解析螢光非等向性動力學的量測。

圖 4-14 A 及 B 為 ZnPP-Mb/ buffer 不同偏極方向的螢光瞬態光譜，而單光儀的校正經由公式 2-5 計算得 G 值為 3 (圖 4-14 B 插圖)，帶入公式 2-6 計算可得 ZnPP-Mb / buffer 之時間—解析螢光非等向性光譜 (圖 4-14 A 插圖)。我們利用一個指數函數來進行動力學擬合，可得到時間常數為 $\tau \sim 8$ ns。ZnPP / THF 之不同偏極方向的螢光瞬態光譜如圖 4-15 A 及 B 所示，經過公式 2-5 計算後得其 G 值為 2.9 (圖 4-15 B 插圖)，比較此兩種樣品所得到的 G 值，因實驗條件固定，故 G 值的差異在誤差範圍內。以相同的計算方式，得到如圖 4-15 A 插圖所示的 ZnPP / THF 之時間—解析螢光非等向性光譜，其動力學的擬合結果得到小於儀器相關函數之時間常數。我們比較此兩樣品之螢光非等向性的擬合結果，可知 ZnPP / THF 之螢光去偏極化速率遠快於 ZnPP-Mb / buffer 之螢光去偏極化速率。而影響分子去偏極化速率的其中一個原因為分子的體積，如果此分子的體積小，則其在溶液中較容易轉動，使得其去偏極化的速率很快；反之，若分子的體積較大，在溶液中不易轉動，則其去偏極化的速率則變慢，^[6]因此推測 ZnPP 和 Apo-Mb 結合後，因為體積變大使得其去偏極化速率變慢。我們的實驗結果因此證明在 ZnPP-Mb 溶液中，ZnPP 確實和 Mb 結合。

[6] Valeur, B., *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*; Weinheim; Wiley-VCH, New York, 2002; pp153-154.

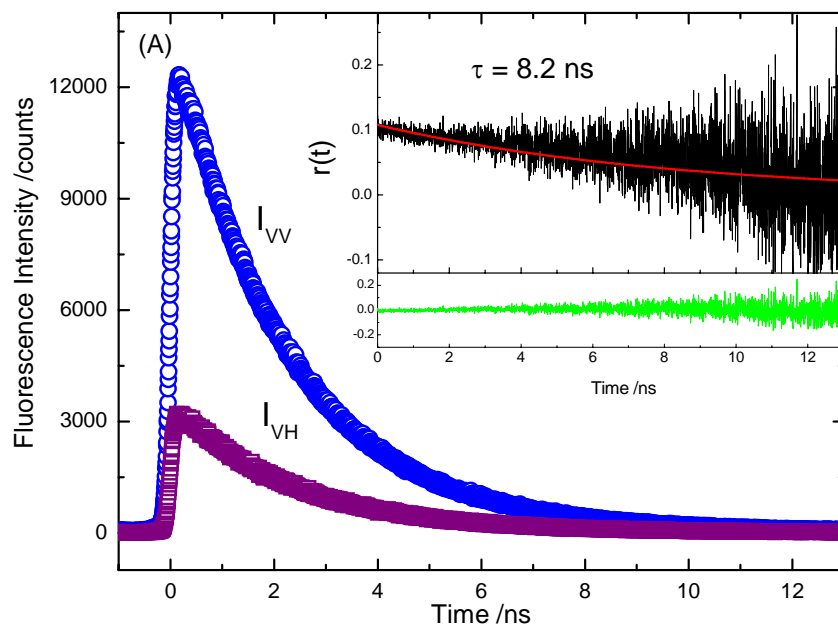


圖 4-14 (A) ZnPP-Mb / buffer 之不同偏極方向的螢光瞬態光譜，右上角插圖為其時間一解析螢光非等向性光譜。黑線為實驗值，紅線為擬合的結果，綠線為實驗值與擬合值的差。激發波長為 435 nm，偵測波長為 590 nm。

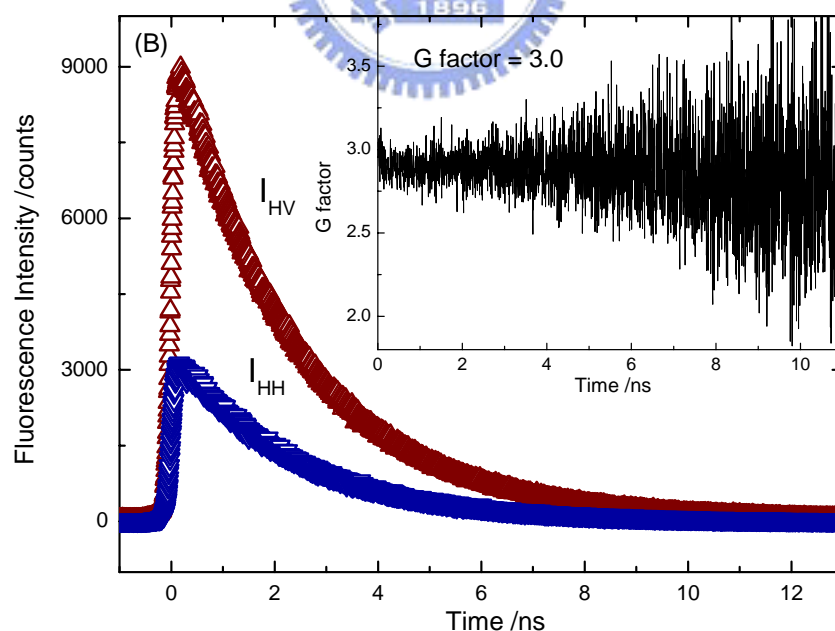


圖 4-14 (B) ZnPP-Mb / buffer 之不同偏極方向的螢光瞬態光譜，右上角插圖為 G 值。激發波長為 435 nm，偵測波長為 590 nm。

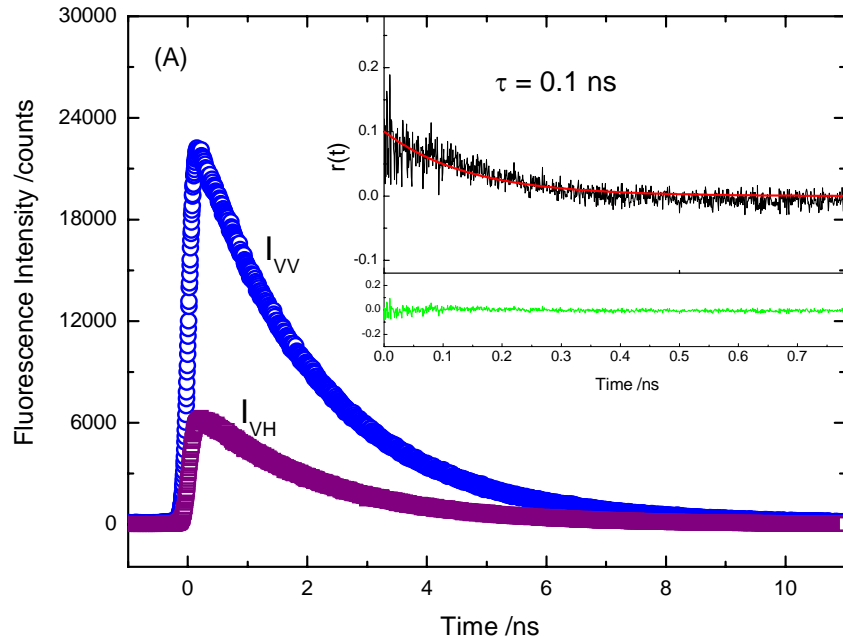


圖 4-15 (A) ZnPP / THF 之不同偏極方向的螢光瞬態光譜，右上角插圖為其時間—解析螢光非等向性光譜。黑線為實驗值，紅線為擬合的結果，綠線為實驗值與擬合值的差。激發波長為 435 nm，偵測波長為 590 nm。

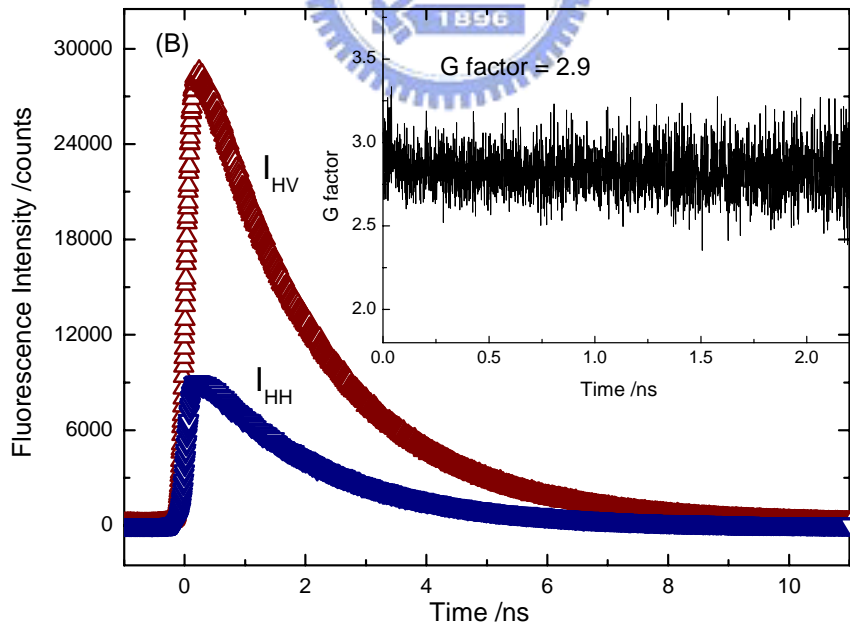


圖 4-15 (B) ZnPP / THF 之不同偏極方向的螢光瞬態光譜，右上角插圖為 G 值。激發波長為 435 nm，偵測波長為 590 nm。