

三维荧光光谱总体积分法同时测定维生素 B2 和 B6*

鄢 远 许金钧 林 江 陈国珍

(厦门大学化学系, 国家教育委员会材料和生命科学分析科学开放研究实验室, 厦门, 361005)

摘要 运用三维荧光光谱总体积分法建立了一种测定维生素 B2 和 B6 的荧光分析新方法, 该方法的灵敏度(信背比)较常规峰值法分别提高 130 和 310 倍, 同时成功地应用于两者的同时测定.

关键词 三维荧光光谱法, 维生素 B2, 维生素 B6

维生素 B2 和 B6 的测定在生化及临床上具有一定的意义, 荧光分析法是测定低含量维生素的有效方法之一, 已有应用常规荧光分析法^[1]、同步荧光分析法^[2]同时测定维生素 B2 和 B6 的报道. 本文提出三维荧光光谱总体积分法^[3,4]应用于维生素 B2 和 B6 的同时测定, 该法运用 Monte-Carlo 积分原理, 对荧光物质三维荧光光谱的某一特征区域的荧光相对强度进行积分叠加, 利用得到的总体积分值代替常规峰值法的峰值强度进行定量分析, 建立了一种维生素 B2 和 B6 的高灵敏度、高选择性的荧光分析新方法.

1 实验部分

1.1 主要试剂与仪器

IBM PC/XT 386 微机联用的 Hitachi-650 10S 荧光分光光度计及自编数据采集系统(12bit A/D). 维生素 B2 和 B6 为生化试剂, 其它均为分析纯试剂, 二次去离子-重蒸水.

1.2 实验方法

于 10 mL 容量瓶中加入 2.0 mL Tris 缓冲液, 一定量的维生素 B2、B6 标准溶液或混合液, 稀至刻度, 摇匀, 进行三维荧光光谱扫描(激发波长间隔 5 nm, 发射波长间隔 1 nm, 加双向垂直偏振片消除散射光的干扰), 激发和发射狭缝均为 5 nm. 三维荧光光谱由 SURF 软件绘出, Monte Carlo 方法及其它数据均由 Quick Basic 软件自编程序处理.

2 结果与讨论

2.1 维生素 B2 和 B6 的三维荧光光谱

维生素 B2、B6 及混合物的三维荧光光谱如图 1 所示, 维生素 B2 有 2 个荧光峰, $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ 分别为 380/526、470/526 nm; 维生素 B6 的荧光峰($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$)为 330/400 nm. 结果表明, 维生素 B2 和 B6 的三维荧光光谱表现出较强的指纹特征, 据此可对其进行指纹分析. 从三维荧光光谱还可很容易地看出如何运用光谱的特征性以大大提高测定的选择性. 从其混合物谱图可以看出维生素 B2 和 B6 具有良好的光谱加和性, 由此可进行维生素 B2、B6 的同时测定.

收稿日期: 1996-06-19. 联系人: 许金钧. 第一作者: 鄢 远, 男, 29 岁, 博士, 副教授, 现在南昌大学应用化学研究所, 南昌, 330047.

* 国家自然科学基金资助课题.

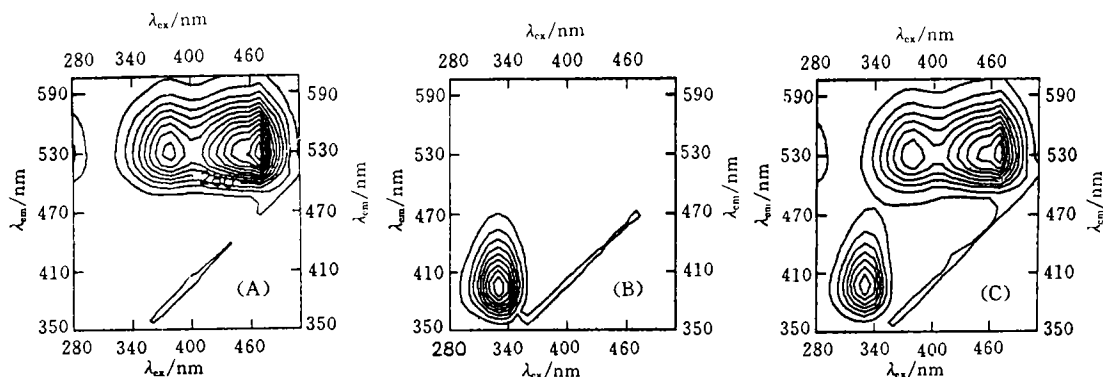


Fig. 1 Three-dimensional fluorescence spectra of 2.0 $\mu\text{g/mL}$ vitamin B2(A), 2.0 $\mu\text{g/mL}$ vitamin B6(B) and their mixture(C) Tris buffer solution(pH 7.0).

2.2 工作曲线及灵敏度的测定

积分区域的选择一般遵循的原则是：(1)避开散射光的干扰；(2)荧光峰区域；(3)区域大小适中，据此，选择维生素 B2 的积分区域为 $\lambda_{\text{ex}} = 370 \sim 390 \text{ nm}$ ， $\lambda_{\text{em}} = 520 \sim 540 \text{ nm}$ ，在 $0 \sim 1.0 \mu\text{g/mL}$ 浓度范围内的工作曲线，拟合方程为 $F = 2.25 \times 10^6 \times c^{1.94}$ (相关系数 = 0.999 97)。运用 Monte-Carlo 积分法使得信背比(S/N)从常规荧光分析的 3.0×10^3 提高到 3.9×10^5 。维生素 B6 的积分区域选择为 $\lambda_{\text{ex}} = 320 \sim 340 \text{ nm}$ ， $\lambda_{\text{em}} = 390 \sim 410 \text{ nm}$ ，工作曲线浓度范围在 $0 \sim 1.0 \mu\text{g/mL}$ ，拟合方程为 $F = 4.59 \times 10^6 \times c^{1.87}$ (相关系数：0.999 96)。积分法的信背比值从常规荧光分析的 2.4×10^3 提高到 6.7×10^5 。实验表明运用积分法可以使得测定维生素 B2 和 B6 的灵敏度大大提高，信背比分别提高 130 和 310 倍。

2.3 维生素 B2、B6 的同时测定

运用三维荧光光谱总体积分法同时测定维生素 B2 和 B6，结果见表 1。

Table 1 Analytical results of mixtures of vitamin B2 and B6 by the total fluorescence intensity of three-dimensional fluorescence spectra*

| Number | Added/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ | | Method 1/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ | | Method 2/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ | |
|--------|---|------|--|-----------|--|------------|
| | VB2 | VB6 | VB6 | VB12 | VB2 | VB6 |
| 1 | 0.20 | 1.00 | 0.21(105%) | 0.94(94%) | 0.20(100%) | 1.04(104%) |
| 2 | 0.40 | 0.80 | 0.41(102%) | 0.74(93%) | 0.42(105%) | 0.81(101%) |
| 3 | 0.60 | 0.60 | 0.59(99%) | 0.54(90%) | 0.61(102%) | 0.58(97%) |
| 4 | 0.80 | 0.40 | 0.76(96%) | 0.35(87%) | 0.82(102%) | 0.37(94%) |
| 5 | 1.00 | 0.20 | 0.95(95%) | 0.17(85%) | 1.04(104%) | 0.18(90%) |

* Data in the brackets are recoveries. Method 1 and Method 2 mean three-dimensional fluorescence spectrometry and by detecting the total intensity, respectively.

上述结果表明，不必采用同步光谱技术或其它处理方法^[1,2]，运用三维荧光光谱法可以直接同时测定维生素 B2 和 B6，三维荧光光谱总体积分法测定效果得到进一步改善。

综上所述，三维荧光光谱总体积分法可以大大提高测定维生素 B2 和 B6 的灵敏度，选择性进一步增强，实现了维生素 B2 和 B6 混合物的快速、简便分析，体现了三维荧光光谱总体积分法在多组分测定中的优越性。

参 考 文 献

- XU Jin-Gou(许金钩), HUANG Xian-Zhi(黄贤智), HUANG Xin-Jian(黄新建) *et al.*. Medical Industry(医药工业),

1985, 16: 487

- 2 LI Yao-Qun(李耀群), HUANG Xian-Zhi(黄贤智). *Chin. J. Anal. Chem.* (分析化学), 1989, 17: 1 154
- 3 Yan Y., Xu J.G., Lin Z.G. *et al.*. *Anal. Chim. Acta*, 1995, 306: 307
- 4 Yan Y., Xu J.G., Lin Z.G. *et al.*. *Appl. Spectrosc.*, 1995, 49: 1 239

Simultaneous Determination of Vitamin B2 and B6 Using Three-dimensional Fluorescence Spectrometry by Detecting Total Fluorescence Intensity

YAN Yuan, XU Jin-Gou*, LIN Jiang, CHEN Guo-Zhen

(Department of Chemistry, The State Laboratory of Analytical Science,
Xiamen University, Xiamen, 361005)

Abstract In this paper, a novel fluorescence method for the determination of vitamin B2 and vitamin B6 has been established using three-dimensional fluorescence spectrometry by detecting the total fluorescence intensity. The sensitivity of the method, the ratio of signal to blank noise, is nearly 130 and 310 times better than that of the conventional peak intensity method for the determination of vitamin B2 and vitamin B6, respectively. This method has been successfully used to determine vitamin B2 and vitamin B6 simultaneously.

Keywords Three-dimensional fluorescence spectrometry, Vitamin B2, Vitamin B6

(Ed.: H, G)

中国化学会第十届全国金属有机化学学术讨论会会议通知(第一轮)

中国化学会第十届全国金属有机化学学术讨论会定于 1998 年 10 月在长沙湖南大学举行, 现就征集论文的有关问题通知如下:

1. 征文范围: (1) 金属有机化合物的合成、结构和反应; (2) 金属有机化合物的活性和催化反应; (3) 金属有机化合物在有机合成中的作用; (4) 金属有机化合物在工业、农药、医药、环境保护等方面的应用; (5) 其它方面的有关论文。

2. 论文须经本单位推荐, 加盖公章(港澳台和外籍华人的论文不受此限), 来信时请注明“金属有机会议征文”, 并将作者姓名、单位、地址、邮编写清楚。凡两个以上作者的论文请标明主要作者。

3. 每篇论文寄摘要一式两份(一份必须为原件)。摘要篇幅限定 16K(260 mm×185 mm), 内容限定打印在 210 mm×140 mm 范围内, 内容包括文题、作者、单位、论文摘要等。凡属国家自然科学基金资助的项目, 请标注“国家自然科学基金资助”。论文请用激光打印。对不符合要求者, 一律退回作者重新打印。

4. 论文经评审后, 发出录用通知。被录用的论文直接制版胶印, 其间不再返回修改。作者在寄送论文摘要时要作好一次性定稿的准备。论文一经录用, 文责自负。论文录用与否, 一概不退, 请作者自留底稿。

5. 论文截止日期为 1998 年 4 月 30 日(以寄出邮戳为准)。

6. 论文摘要请挂号寄至湖南省长沙市湖南大学化学化工学院张伟强收。邮政编码: 410082

中国化学会第十届全国金属有机化学学术讨论会筹备组