

# Application News

## No. A566

光吸收分析

### 叶绿素 a 的微量测定 – TrayCell 的单滴测定和 辅助微型室的利用 –

吸光度测定用于许多领域的物质定量。但是，当测定浓度很低的样品时，需要具备高的灵敏度，有时会利用荧光测定。特别地，在化学 / 生命科学领域测定时有时无法采集足够量的样品，要求进行更加微量的测定。

本次使用即使样品量为几  $\mu\text{L}$  时也能测定的荧光测定用 TrayCell™ (Hellma Analytics 公司制造) 和辅助微型室，用荧光分光光度计 RF-6000 进行叶绿素 a 的微量测定。

K. Sobue

#### TrayCell 和辅助微型室

TrayCell 和辅助微型室的外观如图 1 所示。TrayCell 由包括光学系统的池体和池盖构成。在 TrayCell 中，将盖取下，将样品滴在池上部(最小样品容量  $2 \mu\text{L}$ )，盖上盖并放在池保持架上即可测定。辅助微型室的外观与通常的 10mm 比色皿相同，最小样品容量根据样品室内的形状和内部尺寸差异而有所不同。

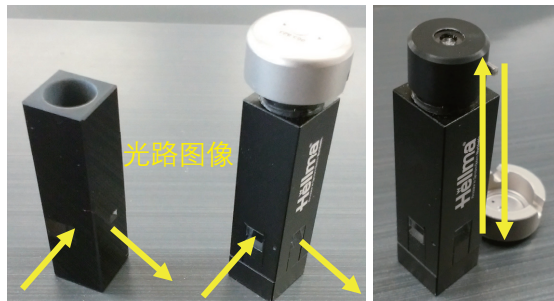


图 1 室的外观  
左: 辅助微型室, 右: TrayCell

#### 叶绿素 a 的吸光度测定

在河流和湖泊中，我们可以根据叶绿素含量来检查水质。但是，由于河流等中叶绿素浓度低，因此要求测定的灵敏度高。制备 1000~50ng/mL 的不同浓度的叶绿素 a 溶液(溶剂: 乙醇)4 份，在表 1 所示条件下进行吸光度测定，结果如图 2 所示。50ng/mL 的样品中得到的吸光度值为 0.004Abs 左右，非常微弱，已靠近检测下限。

表 1 测定条件

装置	: UV-1800
波长范围	: 350 ~ 800 nm
采样间隔	: 1.0 nm
扫描速度	: 低速
带宽	: 1.0 nm

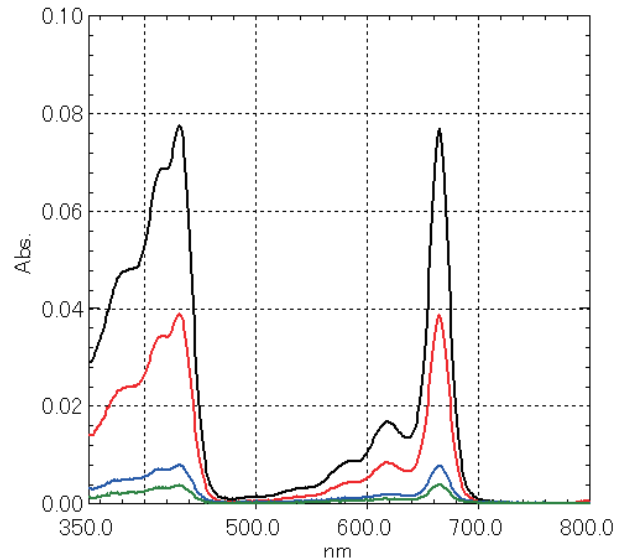


图 2 叶绿素 a 溶液的吸光度光谱  
黑色: 1000 ng/mL, 红色: 500 ng/mL, 蓝色: 100 ng/mL, 绿色: 50 ng/mL

## ■ 叶绿素 a 的微量荧光测定

使用荧光分光光度计 RF-6000 和微量测定室, 制备 6 份 1000~5 ng/mL 不同浓度的叶绿素 a 溶液, 绘制标准曲线。在表 2 的条件下使用 TrayCell 测定的光谱结果如图 3 所示, 标准曲线的结果如图 4 所示, 使用辅助微型室 (100 $\mu$ L) 测定的光谱如图 5 所示, 标准曲线的结果如图 6 所示。

表 2 测定条件

装置	: RF-6000
激发波长	: 618 nm
荧光波长 / 荧光波长范围	: 675 nm/650 ~ 760 nm
数据间隔	: 1.0 nm
扫描速度	: 60 nm/min
积分时间	: 1 sec
带宽	: Ex/Em 10.0/10.0 nm (TrayCell) Ex/Em 5.0/5.0 nm (辅助微型室)
灵敏度	: High (TrayCell) Low (辅助微型室)
重复次数	: 3 次

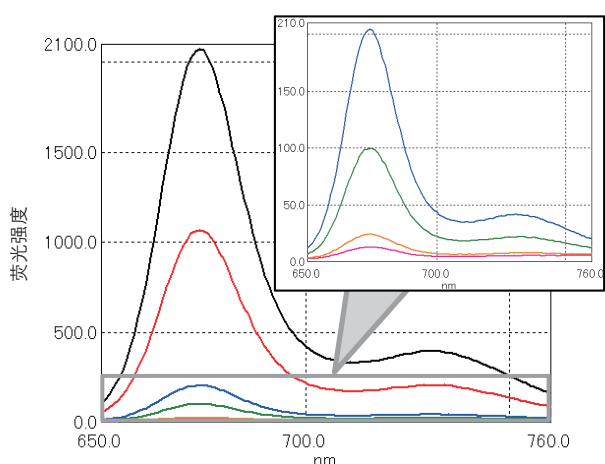


图 3 使用 TrayCell 的叶绿素 a 溶液的荧光光谱  
黑色: 1000 ng/mL, 红色: 500 ng/mL, 蓝色: 100 ng/mL,  
绿色: 50 ng/mL, 橙色: 10 ng/mL, 粉色: 5 ng/mL

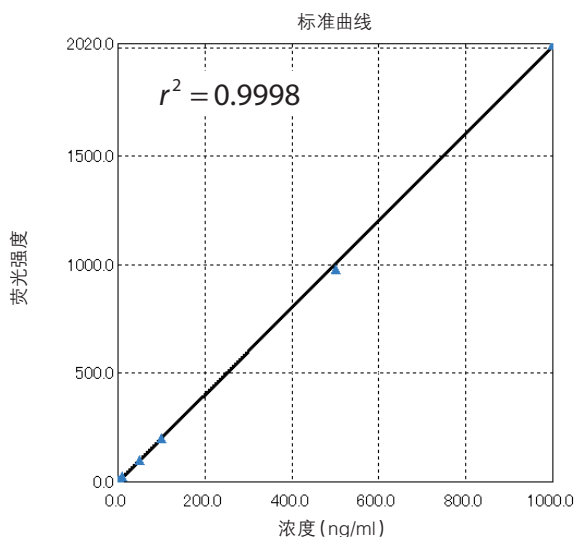


图 4 使用 TrayCell 的叶绿素 a 溶液的标准曲线

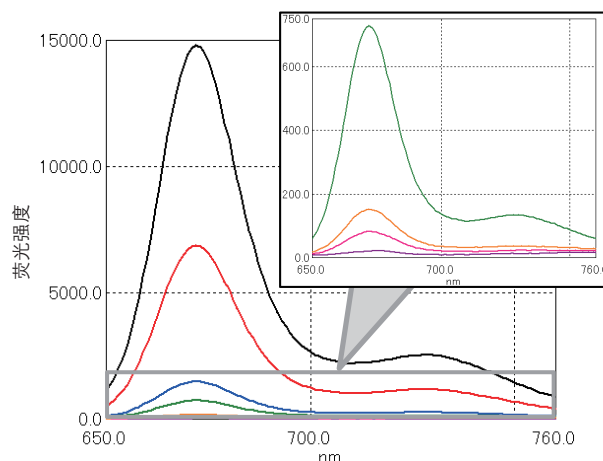


图 5 使用辅助微型室测定叶绿素 a 溶液的荧光光谱  
黑色: 1000 ng/mL, 红色: 500 ng/mL, 蓝色: 100 ng/mL,  
绿色: 50 ng/mL, 橙色: 10 ng/mL, 粉色: 5 ng/mL, 紫色: 1 ng/mL

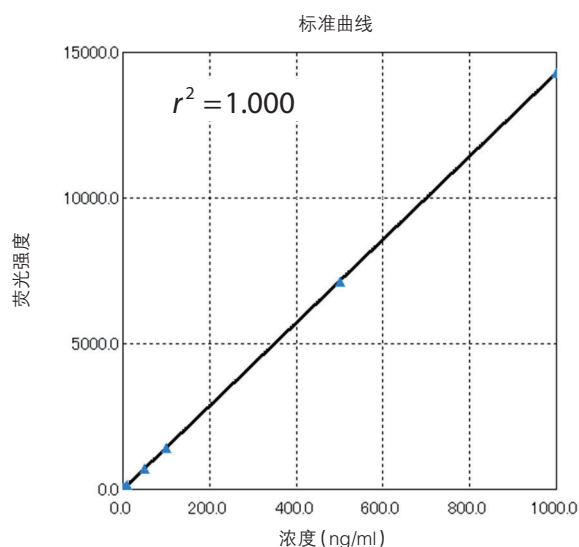


图 6 使用辅助微型室的叶绿素 a 溶液的标准曲线

可以看出, 使用吸光度法难以检测低浓度样品, 而使用这两种微量测定装置进行荧光测定能得到噪声小的光谱。

关于定量精度, 尽管样品量非常小, 使用 TrayCell 测定获得的标准曲线, 其线性最低浓度可达到 5ng/mL。此外, 使用辅助微型室, 溶液用量大于 TrayCell, 但信号也增大, 其标准曲线的最低线性浓度可达到 1ng/mL。

## ■ 总结

通过使用荧光分光光度计 RF-6000 和 TrayCell 或辅助微型室, 不仅可以测定几  $\mu$ L~几百  $\mu$ L 的微量样品, 还可以对低浓度样品进行高精度测定。

TrayCell 是 Hellma GmbH 的商标。



岛津企业管理(中国)有限公司  
岛津(香港)有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439  
400-650-0439

免责声明:

\* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;  
\* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。  
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2018 年 3 月