

Application News

No. A491

光吸收分析
Spectrophotometric Analysis

在宽波长范围内测定吲哚菁绿的荧光光谱

Fluorescence Spectrum Measurement of Fluorescence Dye Indocyanine Green in Long Wavelength Region

在医学、生物化学领域通常使用荧光素标记特定分子，以对病变部位进行观察。吲哚菁绿的荧光峰出现在 810 nm 附近，属于近红外区域。因为近红外光容易穿透生物体，所以经常被用于观察生物体内部。

荧光分光光度计的传统机型难以在大于 750 nm 的波长范围进行测定，而新开发的岛津荧光分光光度计 RF-6000 则可在 200 nm~900 nm 的宽波长范围进行测定。并且本仪器还配置自动光谱校正功能，可以自动获得用于比较的数据。本文向您介绍使用 RF-6000 对吲哚菁绿进行测定的示例。

■ 仪器和三维光谱测定

Instrument and Three-Dimensional Spectrum Measurement

图 1 为 RF-6000 的外观。RF-6000 带有自动光谱校正功能，能够自动获得荧光和激发校正光谱，去除仪器固有特性（仪器函数）的影响。使用传统机型进行测定时，需要从已测光谱中扣减仪器函数后进行数据处理，而 RF-6000 则不需要进行该操作。校正光谱可以用于对不同仪器得到的数据进行比较。

将吲哚菁绿粉末溶解到纯水中，制备成 1.3 mg/L 浓度的水溶液。为了检测最佳激发波长，使用 LabSolutions RF 软件的三维光谱功能测定了三维光谱。测定三维光谱时，依次改变激发波长，并测定荧光光谱，这样就得到了三维光谱。图 2 为测定结果；表 1 为测定条件。得到的数据中横轴对应荧光波长 Em，纵轴对应激发波长 Ex。本测定只需 5 分钟。三维光谱由校正光谱组成。

如图 2 箭头所示，在坐标 Em 808 nm，Ex 780 nm 处出现荧光峰。由图可知，在 780 nm 处的激发波长下检测到样品的最强荧光峰。

以三维光谱图的任意坐标自由截取荧光光谱和激发光谱。图 3 为峰位置下的光谱图。此时，A 线截取图对应荧光光谱；B 线截取图对应激发光谱。由此可知，荧光波长为 808 nm，最佳激发波长为 780 nm。



图 1 荧光分光光度计 RF-6000
RF-6000 Spectrofluorophotometer

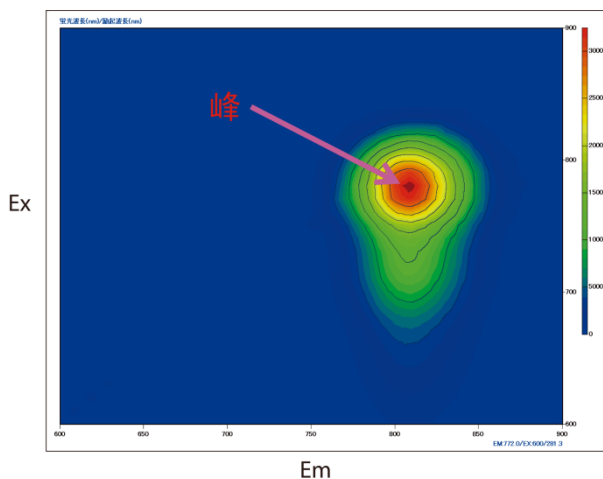


图 2 吲哚菁绿的三维光谱
Three-Dimensional Spectrum for Indocyanine Green

表 1 三维光谱的测定条件
Analytical Conditions Used for Three-Dimensional Spectrum

仪器	: 荧光分光光度计 RF-6000
光谱类型	: 3D 光谱
测定波长范围	: Em: 600 ~ 900 nm, Ex: 600 ~ 900 nm
扫描速度	: 2000 nm/min
波长间隔	: Ex 10 nm, Em 2 nm
带宽	: Ex 5 nm, Em 5 nm
灵敏度	: 高

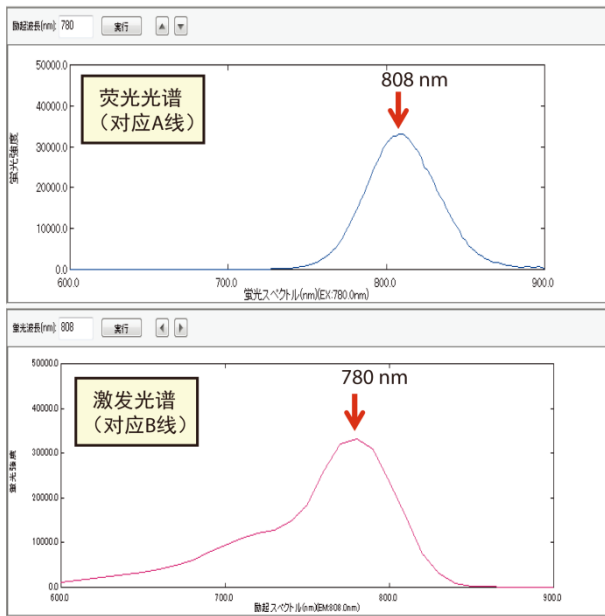
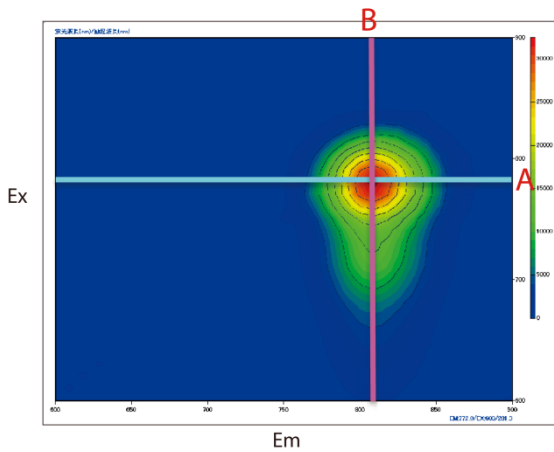


图3 从三维光谱中获得的荧光光谱和激发光谱
Fluorescence Spectrum and Excitation Spectrum Extracted from Three-Dimensional Spectrum

■ 荧光光谱测定

Fluorescence Spectrum Measurement

图4为使用 LabSolutions RF 软件的光谱功能,在 200 nm/min 的扫描速度下测定荧光光谱得到的结果以及峰检测结果;表2为测定条件。由此可知,在宽波长范围也可进行高灵敏度测定。淡蓝色区域是新增加的波长范围(750 nm~900 nm)。

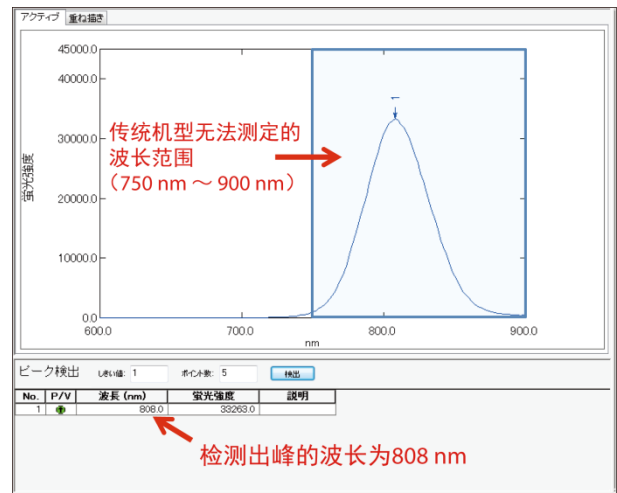


图4 荧光峰检测
Fluorescence Peak Detection

表2 荧光光谱的测定条件

Analytical Conditions for Fluorescence Spectrum Measurement

仪器	: 荧光分光光度计 RF-6000
光谱类型	: 发射光谱
激发波长	: 780 nm
测定波长范围	: 600 nm ~ 900 nm
波长间隔	: 2.0 nm
扫描速度	: 200 nm/min
带宽	: Ex 5 nm, Em 5 nm
灵敏度	: 高

■ 总结

Conclusion

综上所述,使用 RF-6000 可在 200 nm~900 nm 的宽波长范围内进行测定。并对传统机型难以测定的 810 nm 附近的叫噪菁绿进行了高灵敏测定。另外,还可以通过自动光谱校正功能,实时获得高精度光谱。今后可期望使用 RF-6000 开拓新的应用领域。