



荧光强度标准化功能介绍

~以黄曲霉毒素的荧光光谱测定为例~

荧光强度会受到灯管亮度变化、室温变化等的影响。

使用荧光强度标准化功能，荧光强度的时间变化波动和日间差变化都能够被校准。

荧光强度标准化功能，可以测定标准样品的荧光强度，并将样品的荧光强度换算为与标准样品相对应的荧光强度。

下面以霉菌毒素中的黄曲霉毒素为例，介绍荧光强度标准化功能。



F-7000 / F-7100 型荧光分光光度计

对荧光强度实行标准化后的黄曲霉毒素荧光光谱

- ✓ 标准样品为 $210 \mu\text{g/L}$ 的硫酸奎宁 (QS: Quinine Sulphate)。需要换算为相对值，因此在浓度项目栏中输入 $210 \mu\text{g/L}$ 。按下计算按钮后，显示换算系数 (1.88)。
- ✓ 在激发波长 350 nm 下，测定黄曲霉毒素溶液 $20 \mu\text{g/L}$ 的荧光光谱。
纵轴显示是换算为QS后的相对荧光数值。
→ 如图所示， $20 \mu\text{g/L}$ 黄曲霉毒素溶液的色谱峰波长的荧光强度，相当于 350 ppm 的QS。

■ 荧光强度标准化

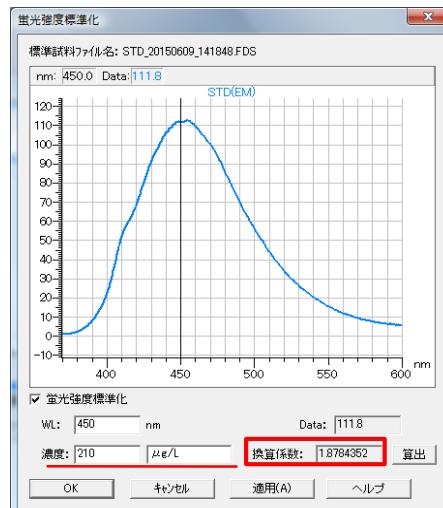


图1 荧光强度标准化

■ 测定参数

仪器： F-7100型荧光分光光度计

| | |
|---------|--------------|
| 激发波长 | 360 nm |
| 激发光侧狭缝 | 5 nm |
| 荧光侧狭缝 | 5 nm |
| 扫描速度 | 1,200 nm/min |
| 响应方式 | 自动 |
| 光电倍增管电压 | 500 V |
| 光谱校准 | ON |
| 滤光片 | CF35 |

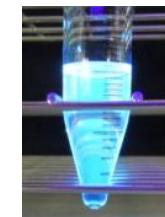


图2 硫酸奎宁
(在 34 mg/L 条件下拍摄)

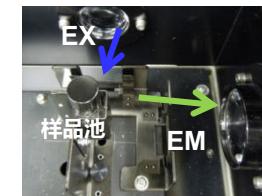


图3 样品安装状态

■ 测定结果

荧光光谱的原始数据

→如果仪器或测定日期变化，则荧光强度值不同

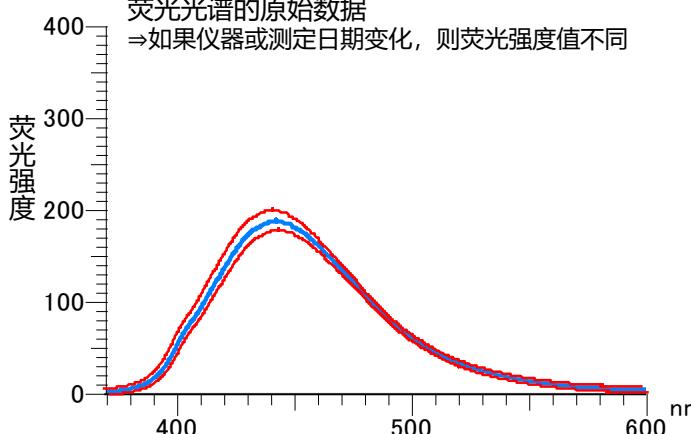


图4 $20 \mu\text{g/L}$ 黄曲霉毒素的荧光光谱
(红线为示意图)

对荧光光谱进行标准化

→利用标准样品对强度进行标准化，
因此即使仪器或测定日期不同，也可比较数值

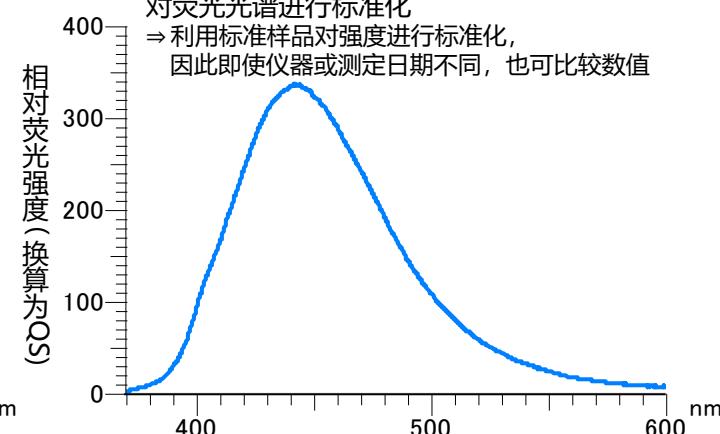


图5 $20 \mu\text{g/L}$ 黄曲霉毒素的相对荧光光谱
换算为QS

- ✓ 测定环境水中的腐殖物质 (DS No.FL100004) 或1-丁醇 (JIS K8810) 时，以QS的荧光强度为基准进行评价。另外，对于水中的叶绿素，则以荧光素的荧光强度为基准进行测定。
- 如上所述，在与标准样品进行比较时，通过使用荧光强度标准化功能进行换算，对于不同仪器或测定日期的测定结果，也能方便地进行比较。



参考1：硫酸奎宁和黄曲霉毒素的3维荧光光谱

- ✓ 介绍用于荧光强度标准化的QS和黄曲霉毒素的3维荧光光谱。
- ✓ 荧光峰在激发波长350 nm, 发射波长450 nm处被确认。
- ✓ 鉴于仪器的波长特性，在对荧光强度进行标准化时，建议选择如QS和黄曲霉毒素一样，荧光波长特性相近的标准样品进行光谱校准。

■ 样品

- ① 样品：硫酸奎宁二水物
(和光纯药株式会社)
溶剂：0.05 mol/L 硫酸溶液
浓度：210 µg/L
- ② 样品：黄曲霉毒素标准溶液(B1、BN2、G1、G2 混合溶液)
和光纯药株式会社)
溶剂：甲醇 (和光纯药株式会社)
浓度：20 µg/L

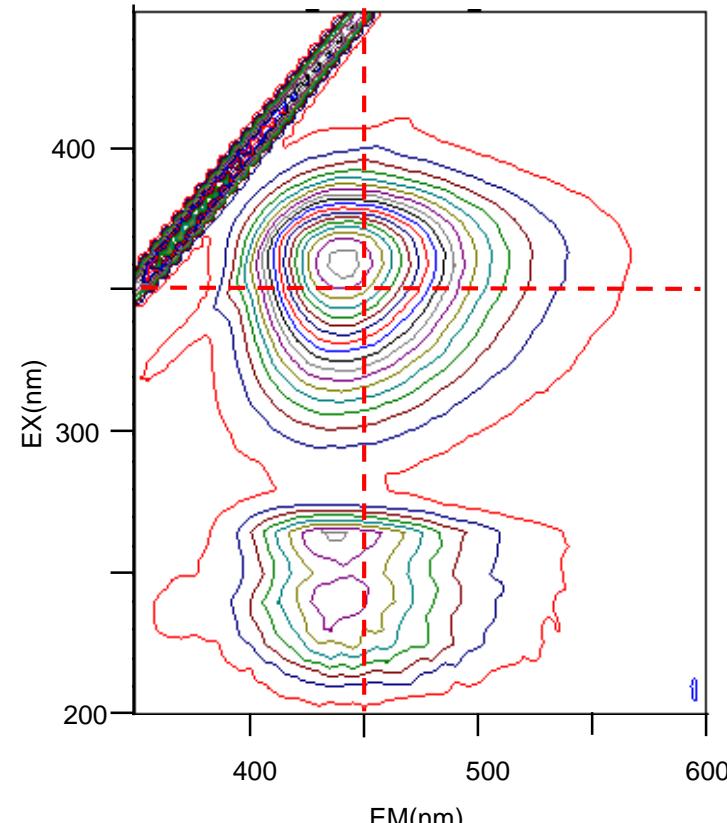
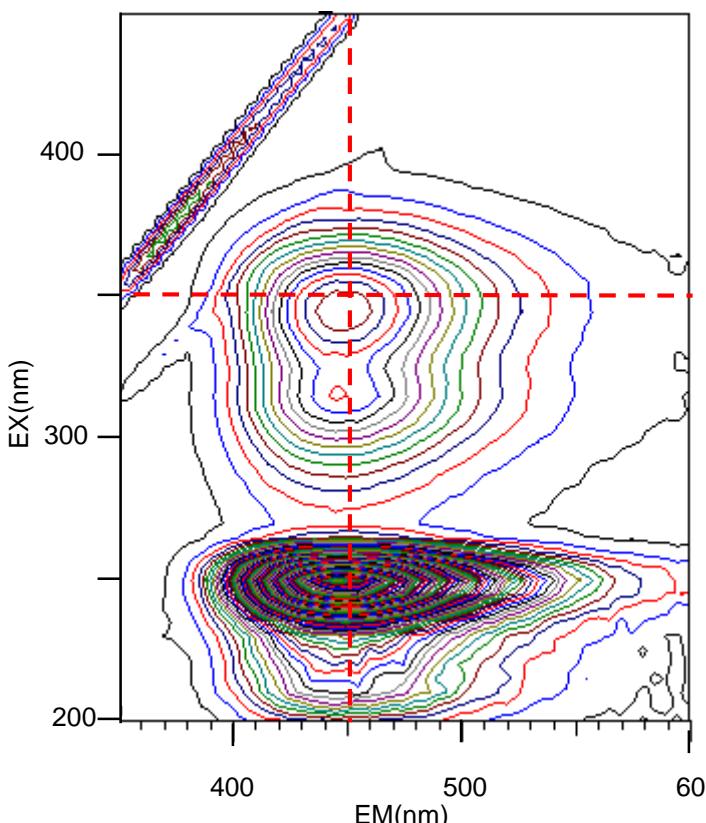
■ 测定参数

仪器：F-7100型荧光分光光度计

| | |
|----------------|---------------|
| 激发光侧狭缝 | 5 nm |
| 荧光侧狭缝 | 5 nm |
| 扫描速度 | 60,000 nm/min |
| 响应方式 | 自动 |
| 光电倍增管电压 | 500 V |
| 光谱校准 | ON |
| 滤光片 | CF35 |

■ 测定结果

QS和黄曲霉毒素均出现在荧光峰波长450 nm附近。
QS的荧光波长特性与黄曲霉毒素相近，因此适合作为标准样品使用。





参考2：荧光强度标准化的测定步骤

- ✓ 下面介绍根据标准样品的荧光强度，将实际样品的测定结果自动换算为相对荧光强度的步骤。
- ✓ 可在观察标准样品的光谱和荧光强度的同时，选择标准化所需的波长和浓度。
- ✓ 测定实际样品时，自动显示执行标准化后的光谱。
- ✓ 完成测定后，也可更改标准化前的光谱视图，以及用于标准化的波长和浓度。

■ 测定步骤

- ① 在分析参数中点击常规选项卡，勾选荧光强度标准化。



图8 分析参数

- ② 按下标准样品测定按钮 后，弹出图9所示的对话框。

点击标准样品测定后，按下 OK

本例中，将QS作为标准样品。

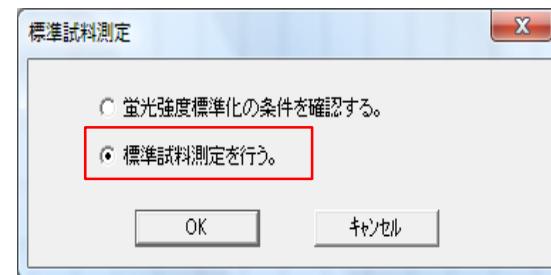


图9 标准样品测定

- ③ 测定结束后，
显示标准样品 (QS) 的光谱。

- 按下荧光强度标准化按钮。
- 输入要进行标准化的波长 (WL) 和浓度。

本例中，将基准波长设为QS的色谱峰波长450 nm、浓度设为210 µg/L。

- 输入后按下 算出，将显示换算系数。

按下测定样品 ，将根据该换算系数，

显示自动换算后的结果。

- * 按下标准化图标 后，

可以更改荧光强度标准化的设置。

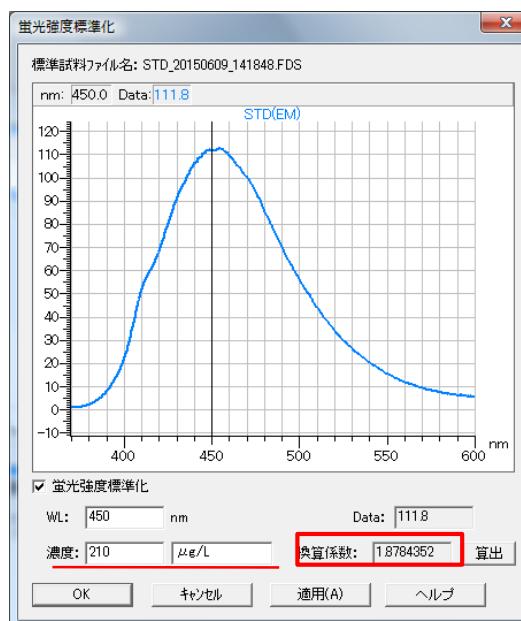


图10 标准样品测定

注意：本资料中的数据仅为测定示例数据，并不作性能保证的依据。

【KEY WORDS】

荧光光度计、F-7000、F-7100、F-2700、食品、黄曲霉毒素、硫酸奎宁、荧光强度标准化、Food、Aflatoxin、Quinine Sulfate Dihydrate、FL Intensity Standardization