

荧光分光光度法测定 面粉中的核黄素 (VB₂)

复旦大学

化学教学实验中心

雷杰

一、实验目的

二、实验原理和内容讲解

三、F-4500 型仪器简介

四、F-4500 型仪器的使用方法

五、思考题

下一页



一、实验目的

学习荧光分析法的基本原理。掌握面粉样品的消化方法，了解分子荧光分光光度计的主要结构及工作原理，掌握其正确使用方法。学习测绘核黄素的激发光谱和荧光光谱，了解溶液的pH值等对核黄素荧光强度的影响。

二、实验原理和内容讲解

- 授课对象：化学系三年级本科生，每次四人。
- 教学手段：讨论、提问。
- 同学生一起回顾本学期做过的其他仪分实验，类比、过渡到本次实验；
- 重点类比紫外-可见分光光度法(普化实验涉及、本学期会再做到)，以实验名称中的关键词“分子”、“荧光”、“面粉”、“核黄素”等为主线，**提问**实验原理、步骤等。

原理讲解方案一、类比、讨论

- 试比较分子荧光和紫外-可见分光光度法。

1. 从结构化学角度

激发、去活化；吸收、发射；分子、原子。

2. 从仪器构造的角度

光源、单色器、监测器、样品池等。

3. 比较两种方法的优缺点

灵敏度、选择性、使用范围等

4. 专业术语（基本概念）方面

入射光、透射光；激发光（谱）、荧光（光谱）、三维等。

原理讲解方案二、提问、讨论

1. 分子光谱和原子光谱的最主要区别及成因？

吸收光谱、发射光谱；带状、线状；分子荧光、原子荧光。

2. 荧光产生的机制？

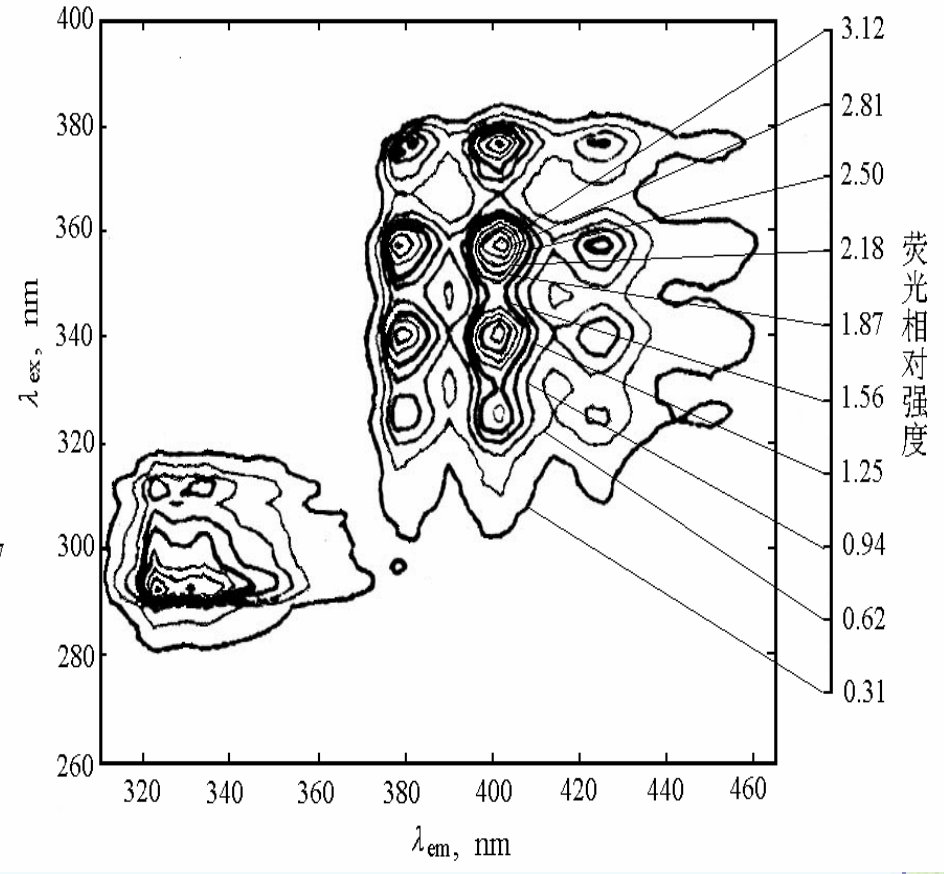
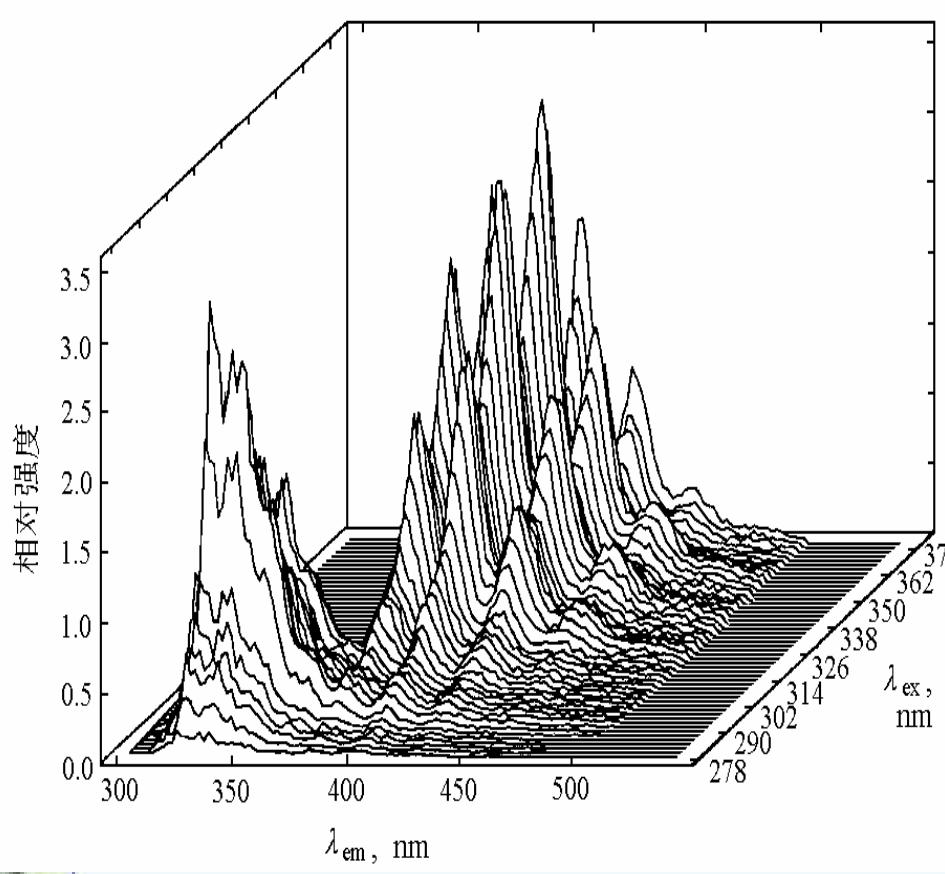
吸收辐射、再发射；振动弛豫、荧光发射、内部转换、体系间跨越、磷光发射等

4. 荧光有无方向性？

固体样品如何测量？样品池如何设计？

3. 关于分子荧光光度法的一些基本概念

激发光谱、荧光光谱、三维荧光光谱



● 三维荧光光谱示意图：
用途？

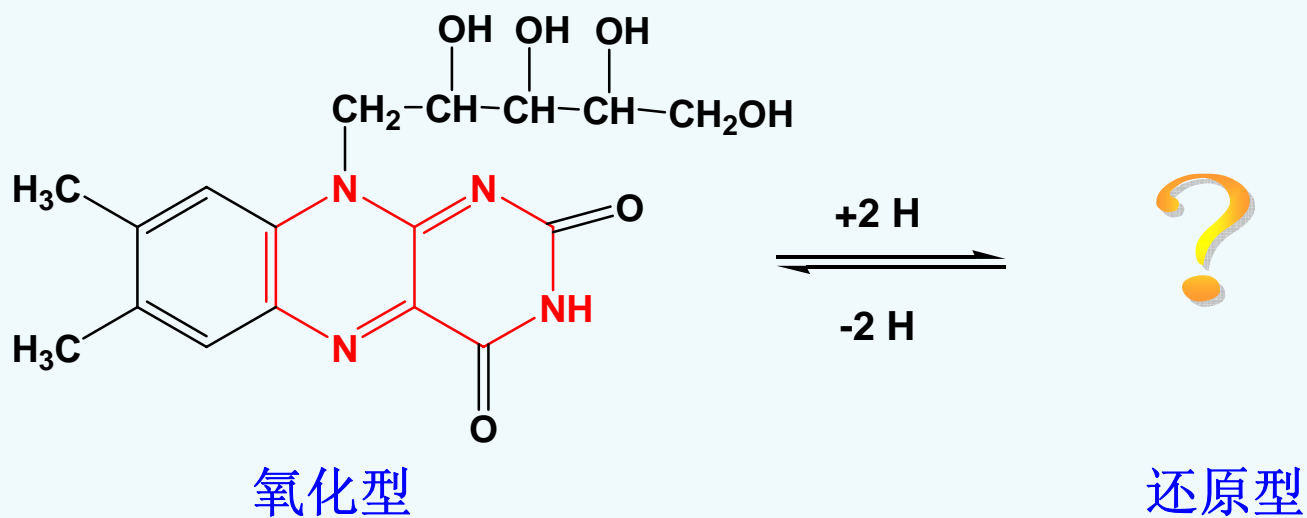
关于待测样品面粉及核黄素

- 面粉的主要成分？

淀粉、蛋白质、脂肪、矿物质、维生素等

- 核黄素

结构、发荧光机制、稳定性、生理作用等



具体实验注意事项:

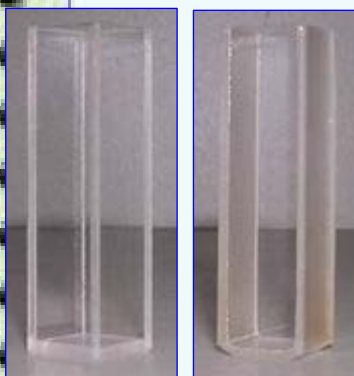
- 溶液配制: 防止浪费or不够
- 浓盐酸的浓度
- 用NaOH调节pH值, 理论计算?
- 配制好的核黄素样品的保存

三、仪器简介

F-4500型荧光分光光度计:



样品槽:

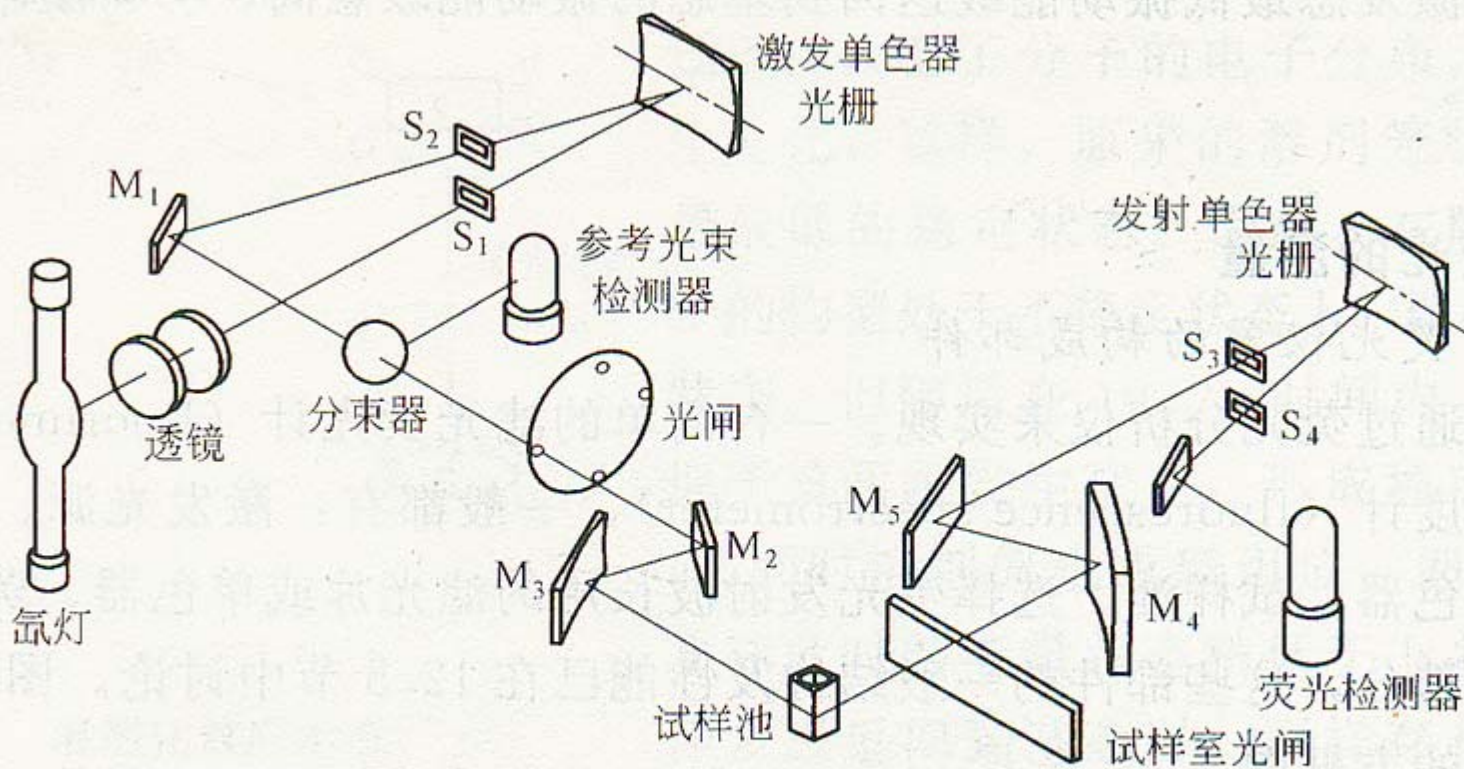


比色皿:
?



19:09:42

F-4500型荧光分光光度计光路图：



F-4500 型荧光分光光度计光路图（日立公司）

图中 M 为反射镜，S 为狭缝

四、F-4500 型仪器的使用方法

- 开机

Power

Xe lamp

Main



启动FL Solutions Program

The screenshot shows a Windows XP desktop environment. The desktop background is a blue-tinted image of an iceberg. On the desktop, there are several icons including '我的文档' (My Documents), '126', '1&x', '我的电脑' (My Computer), 'check', 'luoxiaofan', '网上邻居' (Network Places), 'DaTe01', 'Measurement & Automation', and 'Iwings'. The Start menu is open, showing the 'Hitachi' folder expanded to reveal 'FL Solutions'. The taskbar at the bottom shows the Start button, system tray icons, and the current time '19:09:42'. The 'FL Solutions' application window is open, displaying the program's splash screen. The splash screen features the text 'HITACHI Fluorescence Spectrophotometer' and 'FL Solutions' in green. Below this, it lists 'Program No. : 2514070-03', 'Copyright(C) Hitachi,Ltd.1998-2002.', and 'All rights reserved.'. The window title bar reads 'FL Solutions' and the menu bar includes 'File View Tools Help'. The taskbar also shows the 'FL Solutions' window and the system tray with the time '14:14'.

19:09:42

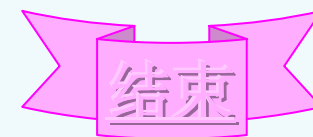
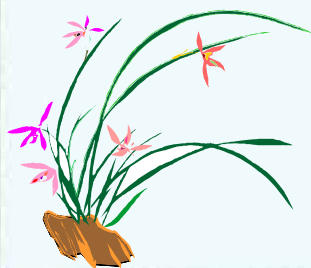


五、思考题

1. 在荧光测量中，为什么激发光的入射与荧光的接收不在一直线上，而呈一定角度？
2. 试述荧光分光光度计与紫外-可见分光光度计在结构上的有哪些不同点？
3. 定量测定维生素B₂可用的方法有哪些？试比较各种方法的优缺点。

结束

谢谢大家！



19:09:42

