

核黄素与碘离子相互作用的光谱分析

张怀斌 李怀祥^a 郑白玉 黄玉玲 荣先国

(滨州医学院烟台校区化学教研室 山东省烟台市莱山区观海路 346 号 264003)

^a(山东师范大学化学化工与材料科学学院 济南市文化东路 250014)

摘 要 研究了核黄素与 I⁻ 相互作用的荧光光谱和吸收光谱变化, 得出 I⁻ 可以使核黄素的荧光发生有规律的猝灭, 它们之间的相互作用属于动态猝灭机制。根据 Stern-Volmer 方程, 求出了动态猝灭常数 $K_{sv} = 44.72 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 荧光猝灭速率常数 $K_q = 6.4 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。I⁻ 对核黄素荧光的这种动态猝灭引起了吸收光谱的变化, 吸收峰从 373nm 蓝移到了 369nm, 而 443nm 处吸收峰却红移到了 447nm; 并且核黄素的吸收强度随 I⁻ 浓度的增大不断增强, 是由于 I⁻ 重原子效应的影响, 使核黄素分子的自旋角动量与轨道角动量强烈的相互作用, $S_0 \rightarrow S_1$ 的吸收跃迁概率增大而造成的。

关键词 核黄素; 碘离子; 荧光猝灭; 光谱分析

中图分类号: O 433.4; O 657.32

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2010)01-0206-04

1 引言

核黄素(Riboflavin)又称维生素B₂(VB₂), 是异咯嗪与糖醇组成的水溶性维生素, 是重要的生物化学活性分子。核黄素及其辅酶对酸、碱敏感, 在生物体内起辅酶作用。核黄素与腺嘌呤核苷三磷酸(Adenosine triphosphate, ATP)作用产生腺嘌呤二核苷酸参与人体和动物体内的重要代谢活动。现代研究表明^[1], 核黄素与机体繁殖、免疫、抗氧化、神经传导、铁代谢及防癌、降血脂等密切相关, 现在广泛应用于食品、医药和生化领域。

核黄素的测定多采用荧光法、分光光度法、色谱法等^[2]。近年来基于它的电化学活性, 电化学分析法应用到核黄素的分析中, 但这些研究主要集中在核黄素含量的测定以及它在电极上的伏安行为^[3-7]。近年来, 有文献报道了核黄素与DNA 相互作用的光谱分析^[8-10]。梁二军研究了核黄素与银溶胶体系的吸收光谱和表面增强共振拉曼光谱^[11], 吕小云研究了核黄素的光降解作用^[12], 对于核黄素的其他光谱特性研究近年来国内很少见。本文研究了在 1% 醋酸溶液环境中, I⁻ 对核黄素光谱的影响, 并研究了其相互作用的机制。本研究为核黄素在医学和光电性质的开发与应用方面提供一定的参考。

2 实验方法

2.1 仪器与试剂

LS55 荧光光谱仪(美国 Perkin Elmer 公司); SP-2102-756UV 型紫外-可见分光光度计(上海光

国家自然科学基金(60671010)

联系人, 手机: (0)13863877072; Email: zhanghuaibinhua@163.com

作者简介: 张怀斌(1978—), 男, 山东省青州市人, 讲师, 主要从事材料光电特性分析工作。

收稿日期: 2009-06-18; 接受日期: 2009-07-31



谱仪器厂)。

核黄素购于北京化工厂(纯度> 98%); KI 醋酸为分析纯; 所有溶液用去离子水配制; 所有测量均在室温下进行。

2 2 试样的配制

2 2 1 核黄素贮备液的配制

用电子分析天平称取核黄素 6.5mg, 溶于 1% 的醋酸溶液中, 置于 100mL 容量瓶中, 用 1% 醋酸溶液稀释至刻度。低温避光保存备用。

2 2 2 试样的配制与测量

取上述贮备液, 用 1% 醋酸溶液配制浓度为 0.65 μ g/mL 的核黄素溶液, 加入不同剂量的 KI 溶液, 分别测量其荧光光谱; 用 1% 醋酸溶液配制浓度为 6.5 μ g/mL 的核黄素溶液, 加入不同剂量的 KI 溶液, 分别测量其吸收光谱。

3 结果与讨论

3 1 荧光光谱分析

固定核黄素醋酸溶液的浓度 0.65 μ g/mL 不变, 逐滴加入 KI 溶液, KI 浓度分别为 0、1、2、3、4、5、6、8、10、12、14mmol/L, 以 $\lambda_{ex} = 435\text{nm}$ 为激发波长, 测量核黄素溶液的荧光光谱, 如图 1 所示。

核黄素发光主峰的位置在 533nm, 这与文献[12]相一致。加入 KI 后, 核黄素的光谱位置没有发生变化, 但峰的强度逐渐减弱, 即 KI 的加入使核黄素的荧光发生了规律性的猝灭。在配制溶液的过程中, K^+ 分散在溶液中, 为了观察它们是否对核黄素的荧光产生影响, 我们做了核黄素 K^+ 溶液的荧光光谱与其对比, 并未观察到其荧光光谱的猝灭, 排除了 K^+ 对核黄素荧光的影响。所以核黄素的荧光猝灭是 I^- 作用的结果。

发生荧光猝灭的原因是由于 I^- 的加入, 使核黄素分子的自旋角动量与轨道角动量强烈的相互作用, 使得 $S_1 \rightarrow T_1$ 的系间窜越概率增大, 减小了 S_1 激发态分子的布居, 从而导致核黄素荧光强度的减弱^[13], 如图 2。

3 2 荧光猝灭机制

荧光猝灭过程通常可以分为动态猝灭和静态猝灭。静态猝灭是猝灭剂和荧光物质基态分子之间相互作用引起的, 其吸收光谱也会因为基态分子的改变而发生变化; 动态猝灭是猝灭剂和荧光物质的激发态分子之间的相互作用引起的, 其基态分子没有发生变化,

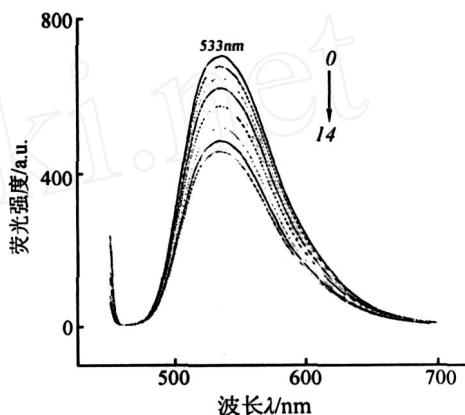


图 1 不同 I^- 浓度溶液中核黄素的荧光光谱
曲线从上到下表示 I^- 浓度依次 0、1、2、3、4、5、6、8、10、12、14mmol/L。

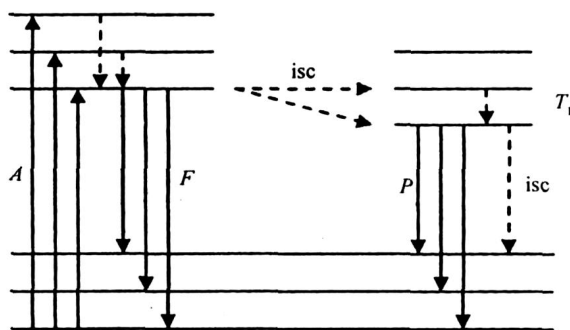


图 2 分子内吸收和荧光发射示意图

A——吸收; F——荧光; P——磷光; isc——系间窜跃。

所以吸收光谱不会发生改变。动态猝灭过程遵循 Stern-Volmer 方程^[13]:

$$F_0/F = 1 + K_{sv}[C_q] = 1 + K_q\tau_0[C_q] \quad (1)$$

式中: F_0 和 F ——分别表示猝灭剂不存在和存在时体系的相对荧光强度; K_{sv} ——动态猝灭常数(即 Stern-Volmer 猝灭常数); C_q ——猝灭剂的浓度; K_q ——荧光猝灭速率常数。各类猝灭剂对核黄素分子的 K_q 值一般为 10^9 — $10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$; τ_0 ——猝灭剂不存在时荧光物质的平均寿命。核黄素分子的荧光平均寿命一般约为 0.7 ns ^[14]。假设 I 对核黄素的荧光猝灭过程为动态猝灭, 则由式(1)作出 I 对核黄素荧光猝灭的 Stern-Volmer 曲线见图 3。

由图中直线的斜率可求出 $K_{sv} = 44.72 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 进一步可求出 $K_q = 6.4 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, 这恰好在 10^9 — $10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 的范围之内。因此动态猝灭在整个猝灭过程中起主导作用。

3.3 吸收光谱分析

固定核黄素浓度为 $6.5 \mu\text{g/mL}$ 不变, 改变 KI 的浓度分别为 0.01 、 0.02 、 0.03 、 0.04 、 0.05 mol/L , 测量相应溶液的吸收光谱见图 4。在 373 和 443 nm 处有两个吸收峰, 这与文献[12]相一致。 373 nm 吸收峰是电子 $n \rightarrow \pi^*$ 和第二 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁的结果, 而 443 nm 处的吸收峰是电子第一 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁的结果^[11]。核黄素随着 I 浓度的增大, 吸收强度均增大, 吸收峰从 373 nm 蓝移到了 369 nm , 443 nm 红移到了 447 nm 。

I 对核黄素的荧光猝灭属于动态猝灭, 是激发态分子和猝灭剂相互作用的结果, 动态猝灭并不改变吸收峰的位置。但是碘具有较高的核电荷, I 的加入使核黄素分子的自旋角动量与轨道角动量强烈的相互作用, 使得 $S_0 \rightarrow S_1$ 的吸收跃迁概率增大, 吸收峰的强度会增大。在 373 nm 处吸收峰变化较大的原因可能是这种自旋-轨道耦合对 $n \rightarrow \pi^*$ 和第二 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁作用较大造成的。

4 结论

通过对荧光光谱的研究, 得出 I 对核黄素产生有规律的猝灭, 其猝灭机制为动态猝灭, 动态猝灭常数和荧光猝灭速率常分别为 $K_{sv} = 44.72 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, $K_q = 6.4 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。随着 I 的加入, 动态猝灭荧光物质吸收光谱的峰位没有发生变化, 但是核黄素在 I 的作用下, 自旋-轨道发生耦合, 结果使得核黄素的吸收峰逐渐增强, 同时光谱峰的位置也从 373 nm 处蓝移到了 369 nm , 443 nm 处红移到了 447 nm 。鉴于核黄素和 I 相互

作用的光谱变化, 同时食入较高含量的核黄素和碘对人体健康就有可能产生负面影响, 对此进行深入研究是有必要的。

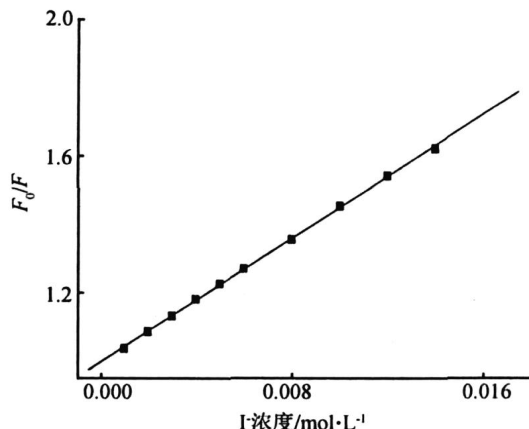


图 3 F_0/F 与 I 浓度关系图

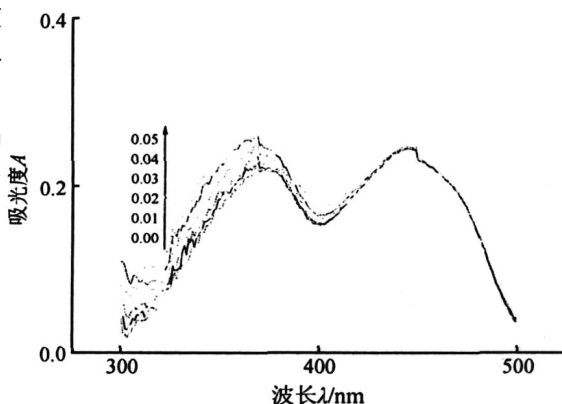


图 4 不同 I 浓度溶液中核黄素的紫外-可见吸收光谱

曲线从下到上 I 浓度分别为

$0.00, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 \text{ mol/L}$ 。

参考文献

- [1] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学(上册)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002. 445—446
- [2] 谢志鹏, 陈早明, 汪敬武. 维生素的分析方法研究进展[J]. 江西化工, 2006, (4): 22—24
- [3] Amaldo C, Pereira A S, Lantro S T *et al*. Electrochemical Behavior of Riboflavin Immobilized on Different Matrices[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2003, **265**(2): 351—358
- [4] Berchmans S, Vijayavalli R. Surface Modification of Glassy Carbon by Riboflavin[J]. *Langmuir*, 1996, **11**(1): 286—290
- [5] Mielech K, Liu S. Simultaneous Voltammetric Determination of Riboflavin and Ascorbic Acid in Multivitamin Pharmaceutical Preparations[J]. *Journal of Trace and Microprobe Techniques*, 2003, **21**(1): 111—121
- [6] 张菲菲, 闫永臣, 王宗花等. 核黄素在碳纳米管修饰电极上的电化学行为[J]. 化学传感器, 2006, **26**(1): 41—43
- [7] 唐平, 王娟, 曾百肇. 核黄素的微分脉冲溶出伏安分析[J]. 分析科学学报, 2003, **19**(4): 309—312
- [8] 倪永年, 杜姗. 核黄素与脱氧核糖核酸相互作用的电化学和光谱法研究[J]. 分析化学, 2006, **34**(5): 659—662
- [9] 包晓玉, 党元林, 曹书杰等. DNA 与 Rb⁺/VB₂ 相互作用的电化学性质[J]. 化学研究与应用, 2004, **16**(4): 522—524
- [10] 包晓玉, 陈欣, 陈建国. DNA 与维生素 B₂ 相互作用的电化学研究[J]. 分析科学学报, 2002, **18**(3): 214—217
- [11] 梁二军, 张鹏翔. 核黄素/银溶胶体系的吸收光谱和表面增强共振喇曼光谱[J]. 物理学报, 1991, **40**(2): 198—204
- [12] 吕小云. 核黄素的光降解及维生素 C 对核黄素的保护效应[J]. 青海医学院学报, 2007, **28**(3): 145—153
- [13] 许金钩, 王尊本. 荧光分析法[M]. 北京: 科学出版社, 2006. 64—81
- [14] 立群, 王文耀, 高福源等. 血卟啉和核黄素荧光寿命的测量[J]. 光学学报, 1991, **11**(4): 381—384

Spectral Analysis of the Interaction Between Riboflavin and Iodine Ions

ZHANG Huai-Bin^a LI Huai-Xiang^a ZHENG Bai-Yu HUANG Yu-Ling RONG Xian-Guo

(Binzhou Medical College, Yantai, Shandong 264003, P. R. China)

^a(School of Chemical Engineering and Materials Science, Shandong Normal University, Jinan 250014, P. R. China)

Abstract The influence of iodide on the optical property of riboflavin was studied by absorption and fluorescence spectra. The fluorescent emission intensity of riboflavin solution was quenched by iodide. The dominant process for this quenching might be attributed to dynamic quenching. The dynamic quenching constant K_{sv} and quenching rate constant K_q were $44.72 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ and $6.4 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, respectively, according to the Stern-Volmer equation. The absorption peak position of the riboflavin solution was influenced by iodide and the absorption intensity increased with the iodide concentration, which might be attributed to the increase of transition probability from S_0 to S_1 due to spin-orbit coupling of the riboflavin molecules.

Key words Riboflavin; Iodide; Fluorescence Quenching; Spectral Analysis

过期《光谱实验室》期刊免费赠送启事

本部尚有一些过期(2007 及以前)的期刊, 凡同行中有需要者均可免费赠送, 但邮费(含包扎费和人工费)自付, 每 6 本(不同期)为 1 个单元, 约重 2.0-2.5kg, 收费(可用邮票支付)15 元。

有意者来信告知收件人姓名及详细地址, 同时将邮票放在信封中挂号寄来。

联系地址: 北京市延庆石河营东街 10 号楼 201 室《光谱实验室》编辑部秦丽娟 何霜, 邮政编码: 102100, 电话: (010)52513126。

《光谱实验室》编辑部