

激发光诱导奶牛血液的荧光光谱特性研究

王 畅¹, 王乐新^{1,2}, 赵志敏²

(1. 黑龙江八一农垦大学 理学院, 黑龙江 大庆 163319; 2. 南京航空航天大学 理学院, 江苏 南京 210016)

摘要: 为研究 300~500 nm 激发光诱导奶牛血液的荧光光谱特性, 以正常奶牛和异常奶牛(患乳腺炎)的血液样品为研究对象, 利用荧光分光光度计对样品进行了荧光光谱试验。结果显示, 当激发光波长为 340~380 nm 时, 血液样品产生了较强的荧光且具有较强的规律性。荧光强度较强的位置为 469、605、642 nm, 并且样品的荧光光谱呈现出宽谱带特征, 在 468~491 nm 范围内, 正常奶牛样品的荧光强度明显大于异常奶牛的荧光强度。分析表明, 患乳腺病的奶牛其血液中的黄素腺嘌呤二核苷酸浓度发生变化, 导致 468~520 nm 范围内荧光发生变化; 血液中的卟啉分子发生变化, 导致 676~800 nm 范围内荧光发生变化。

关键词: 奶牛血液; 激发光; 荧光; 光谱特性; 乳腺炎

中图分类号: O433.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2013)08-0128-04

Fluorescence Spectrum Characteristics of Cow Blood Induced by Exciting Light

WANG Chang¹, WANG Le-xin^{1,2}, ZHAO Zhi-min²

(1. College of Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;

2. College of Science, Nanjing University of Aeronautics and Astronautics, Nanjing 210016, China)

Abstract: In this paper, the fluorescence characteristics of healthy cow's blood and suffering (mammitis) cow's blood samples were studied by the fluorescence spectrophotometer. The results showed that when the wavelength range of excitation light was 340 nm to 380 nm, there were strong fluorescence intensity peaks in blood sample with regularity. The strong fluorescence peaks located at the 469, 605, 642 nm. The fluorescence peak of healthy cow's blood sample was stronger than that of the abnormal cow's blood sample, especially in the wavelength range of 468 nm to 491 nm. By the analysis of the test results, when the cow suffers mammitis disease, the flavin concentration of adenine dinucleotide in the blood changes, which leads to the changes of fluorescence in the wavelength range of 468 nm to 520 nm. Meanwhile, the porphyrin molecules in the blood have also changed that leads to the changes of fluorescence in the wavelength range of 676 nm to 800 nm.

Key words: cow blood; exciting light; fluorescence; spectrum characteristic; mammitis

光学生物成像能够用来研究很大范围的生物样品, 探测到生物系统的相互作用和动态过程的细节, 因此, 在人类健康诊断和疾病治疗方面, 生物医学成像已经成为最可靠的方法之一^[1]。荧光分析技术能够通过研究生物体系统的荧光光谱获得生物体细胞

的组成和代谢信息, 探测到分子的化学组成结构及分子与分子、分子与周围环境相互作用的信息, 是分析物质成分和分子结构的有力工具^[2]。自 20 世纪 80 年代, 生物组织荧光分析技术发展迅猛, 一直是生物医学研究领域的热点^[3]。

收稿日期: 2013-03-28

基金项目: 黑龙江省大庆市科技局项目(SGG2008-041); 黑龙江省教育厅资助项目(12521376); 黑龙江省农垦总局科技项目(HNK11A-06-09)

作者简介: 王 畅(1980-), 女, 黑龙江大庆人, 讲师, 硕士, 主要从事物理教学与研究。E-mail: changwang81@163.com

血液由血浆和血细胞组成。血浆内含有丰富的血浆蛋白、脂蛋白等各种营养成分以及无机盐、代谢产物、激素、氧、酶和抗体等成分^[4]。如果生物机体的某个器官发生了生理性或病理性的变化,一般会引引起血液中各类组成成分发生变化,血液在可见光与近红外波段中的光谱特性主要受到红细胞以及血红蛋白的影响^[5]。血液中的很多成分具有发射荧光的基团^[6-7],利用激光激发可以使得血液中的这些基团处于激发态,发射出荧光。由于血液的组成成分非常复杂,并且国内对奶牛血液的荧光光谱研究较少,因此对奶牛血液的荧光光谱分析有一定的困难^[8-10]。

本研究选择波长范围为300~500 nm的激发光诱导激发正常奶牛和异常奶牛(患乳腺炎)的血液样品,并对比正常奶牛和异常奶牛血液样品的荧光光谱,为光谱技术应用于奶牛疾病诊断提供参考。

1 材料和方法

1.1 血液样品

试验中的奶牛血液样品取自黑龙江省大庆市和嫩江县奶牛养殖场的健康奶牛和患乳腺炎的患病奶牛。在晨起给奶牛喂养饲料之前,对其进行空腹采集尾静脉血样,并用枸橼酸钠抗凝。

2.2 试验原理及方法

生物体的分子吸收能量后,从基态最低振动能级跃迁到第一电子激发态或更高电子激发态的不同振动能级,成为激发单重态分子。较高激发态分子经无辐射跃迁降至第一电子激发单重态的最低振动能级后,仍不稳定,停留较短时间后,以光辐射形式放出能量,回到基态各个振动能级,所发射的光称为荧光^[11]。本试验中采用的仪器为RF-5301PC荧光分光光度计,选择波长范围为300~500 nm的激发光激发样品,缝宽EX:5 nm,EM:5 nm,测试受激发的正常奶牛和异常奶牛的血液样品,得到相应的荧光光谱。

2 结果与分析

试验时用波长范围为300~500 nm的激发光激发样品,发现波长范围为340~380 nm的激发光激发血液样品时获得的荧光光谱荧光强度较强,且具有较强的规律性,如图1~5所示。

2.1 奶牛血液样品的特征荧光峰特性

所有样品在469 nm处产生了较强的荧光峰,当激发光波长为340 nm时,此波长处的正常和异常奶牛血液样品的荧光强度最大,分别为288.0和

195.6,其强度差值为92.4,如图1所示。随着激发光波长的增加,该处的荧光强度以及荧光强度差值都在逐渐减小,如图2~4所示。当激发光波长为380 nm时,正常和异常奶牛血液样品的荧光强度最小,分别为231.4和180.7,其强度差值为50.7,如图5所示。

所有样品在605 nm处产生了较强的荧光峰,当激发光波长为340 nm时,此波长处的正常和异常奶牛血液样品的荧光强度最大,分别为192.6和121.8,其强度差值为70.8,如图1所示。随着激发光波长的增加,该处的荧光强度在逐渐减小,但荧光强度差值变化不大,如图2~4所示。当激发光波长为380 nm时,正常和异常奶牛血液样品的荧光强度最小,分别为135.9和88.2,其强度差值为47.7,如图5所示。

所有样品在642 nm处产生了较强的荧光峰,当激发光波长为340 nm时,此波长处的正常和异常奶牛血液样品的荧光强度最大,分别为213.5和153.7,其强度差值为59.8,如图1所示。随着激发光波长的增加,该处的荧光强度和荧光强度差值均在逐渐减小,如图2~4所示。当激发光波长为380 nm时,正常和异常奶牛血液样品的荧光强度最小,分别为150.9和109.0,其强度差值为41.9,如图5所示。

所有样品在762 nm处产生了较弱的荧光峰,当激发光波长为340 nm时,此波长处的正常和异常奶牛血液样品的荧光强度最大,分别为85.2和73.3,其强度差值为11.9,如图1所示。随着激发光波长的增加,该处的荧光强度和荧光强度差值均在逐渐减小,如图2~4所示。当激发光波长为380 nm时,此波长处的正常和异常奶牛血液样品的荧光强度最小,分别为46.5和37.6,其强度差值为8.9,如图5所示。

2.2 奶牛血液样品宽谱带特性

从光谱图1~5可看出,不论是正常还是异常奶牛血液样品均呈现出了宽谱带的荧光特性。对比正常和异常奶牛的血液样品,在385~450 nm范围内,正常奶牛比异常奶牛血液样品的荧光强度弱,强度差值不大。在451~800 nm范围内,正常奶牛始终比异常奶牛血液样品的荧光强度强,其中在468~491 nm范围内,正常奶牛与异常奶牛血液样品的荧光强度差值较大,区分较为明显;在492~675 nm范围内,正常奶牛与异常奶牛血液样品的荧光强度差值变化较小;在676~800 nm范围内,正常与异常奶牛血液荧光强度的差值较小,且随着波

长的增加不断减小。随着激发光波长的增加,奶牛血液样品的荧光光谱的强度总体上在不断变小。

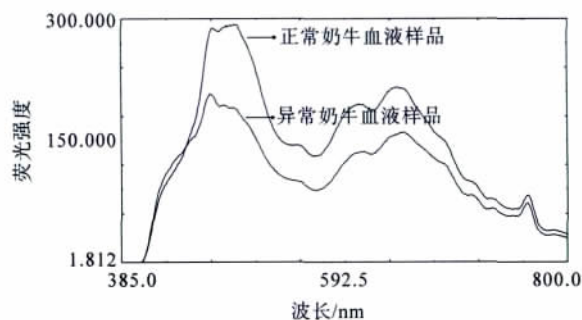


图 1 340 nm 激发光激发的正常与异常奶牛血液样品荧光光谱

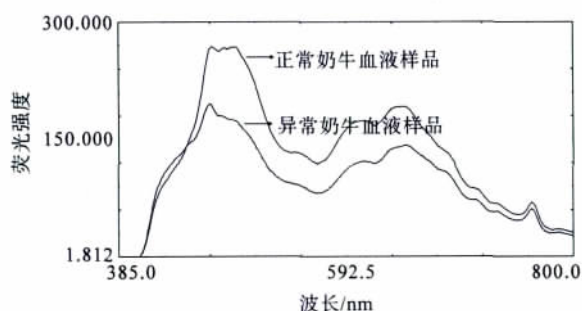


图 2 350 nm 激发光激发的正常与异常奶牛血液样品荧光光谱

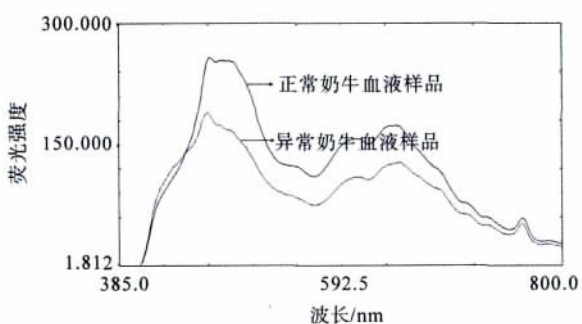


图 3 360 nm 激发光激发的正常与异常奶牛血液样品荧光光谱

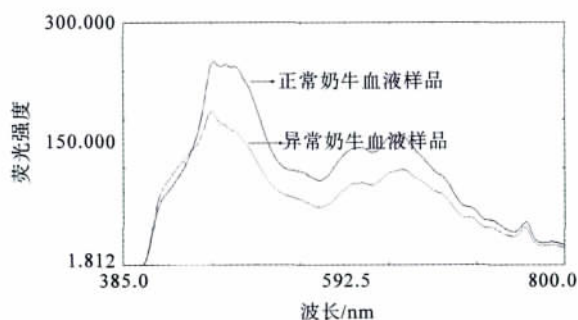


图 4 370 nm 激发光激发的正常与异常奶牛血液样品荧光光谱

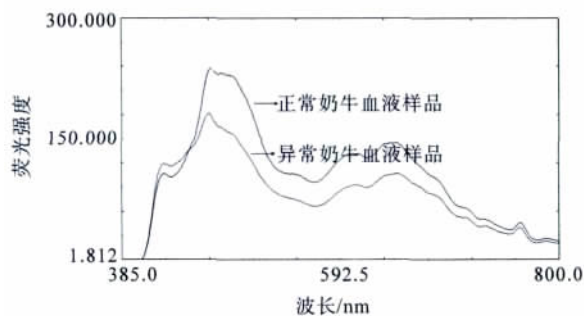


图 5 380 nm 激发光激发的正常与异常奶牛血液样品荧光光谱

3 结论与讨论

1) 当激发光波长为 340~380 nm 时,不论是正常奶牛还是异常奶牛的血液样品都产生了荧光现象,其中在 469、605、642 nm 处产生的荧光峰强度较强。当激发光波长为 340 nm 时,正常和异常奶牛血液样品的荧光强度最强处位于 469 nm,分别为 288.0 和 195.6。随着波长的增加,同一位置处的强度不断减小。说明 340~380 nm 范围的激发光对奶牛血液样品能够产生比较强的生物效应,因此,用上述波长的激发光激发奶牛血液样品可以有效地诱导其产生荧光。

2) 用波长为 340~380 nm 的激发光激发奶牛血液样品时,在 451~800 nm 范围内,正常奶牛血液样品的荧光峰值强度始终强于异常奶牛,并且在 468~491 nm 范围内,正常奶牛与异常奶牛血液样品的荧光强度差值较大,可根据此位置的荧光光谱有效辨别奶牛的血液是否发生了异常。

3) 用波长为 340~380 nm 的激发光激发奶牛血液样品时,正常奶牛与异常奶牛血液样品的荧光光谱都呈现出了宽谱带的荧光特性。385~450 nm、468~491 nm、492~675 nm、676~800 nm 4 段范围呈现出不同的特性,说明奶牛血液中的荧光基团存在较宽的基态振动能级带,如卟啉分子和黄素腺嘌呤二核苷酸等;并且正常和异常奶牛样品呈现出相似的规律性,仅荧光强度有变化,说明当奶牛患乳腺病后,这些基团振动能级带的基态能量未发生大的变化。黄素腺嘌呤二核苷酸的荧光激发波长在 450~520 nm 范围内^[12],由此判断,当奶牛患乳腺病时,血液中的黄素腺嘌呤二核苷酸发生了变化,但此时其基态能量并未发生变化,因此导致了荧光强度的降低。在 658~800 nm 范围内,患病奶牛血液样品荧光强度的降低是源于血液中大量的卟啉

分子发生变化。但随着波长的增加,正常奶牛样品和异常奶牛样品荧光强度的差值不断减小。因此,是由于卟啉分子的结构发生变化,还是浓度变化导致的荧光强度变化仍难以判断,需要进一步研究。

通过对 340~380 nm 激发光诱导奶牛血液的荧光光谱特性进行研究,验证了利用荧光技术能够有效判断奶牛血液样品是否异常,并通过分析确认奶牛患乳腺病时血液中的某些物质发生了变化,如黄素腺嘌呤二核苷酸和卟啉分子,由于血液中的成分较为复杂,其他分子是否发生变化还需要进一步的研究。由于国内对奶牛血液的荧光光谱研究较少,本研究为快速检测奶牛血液提供了方法,并为利用荧光进行奶牛疾病诊断提供了参考。

参考文献:

- [1] 王畅,王乐新,赵志敏,等. 血液的微弱发光图像采集与应用分析[J]. 应用激光,2013,33(1):81-84.
- [2] 王乐新,赵志敏,辛玉军. 正常和异常奶牛血液激发荧光强度的实验研究[J]. 应用激光,2006,26(5):339-340.
- [3] 马玉琴,张月敬,李心愿,等. 肺癌患者血液超微弱发光光谱特性的研究[J]. 中华肿瘤杂志,1992,14(1):52-54.
- [4] 赵志敏,陈玉明,俞晓磊. 血液的荧光光谱特征分析及应用研究[J]. 光谱学与光谱分析,2003,23(5):922-925.
- [5] Rochkind S, Nissan M, Shamir M, *et al.* Effect of laser irradiation on the spinal cord for there generation of crushed peripheral nerve in rats[J]. Lasers Surg Med, 2001,28(3):216-219.
- [6] Sinichkin Y P, Utz S R, Mavliutov A H, *et al.* *In vivo* fluorescence spectroscopy of the human skin: Experiments and models[J]. Journal of Biomedical Optics, 1998,3(2): 201-211.
- [7] 赵志敏,郭林峰,俞晓磊. 血液激发荧光强度的分析及应用研究[J]. 光谱学与光谱分析,2005,25(12):2056-2060.
- [8] 辛玉军. 生物组织血液光谱特性的实验研究与分析[D]. 南京:南京航空航天大学,2007.
- [9] 王乐新,赵志敏,郭林峰,等. 血清微弱发光的实验研究与应用[J]. 中国激光,2008,35(5):797-800.
- [10] 王畅,蒋礼林,王乐新,等. 奶牛血清微弱发光的分析与应用研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(2):187-189.
- [11] 王彦吉,宋福增. 光谱分析与色谱分析[M]. 北京:北京大学出版社,1995:107-110.
- [12] 李步洪,张镇西,谢树森,等. 人血液荧光的光谱特性及其物质来源[J]. 光谱学与光谱分析,2006,26(7):1310-1313.