

四种多环芳烃的三维荧光光谱解析

金丹¹, 张玉钧¹, 李国刚², 肖雪¹, 王志刚³, 殷高方¹, 赵南京¹, 刘文清¹

(中国科学院安徽光学精密机械研究所, 中国科学院环境光学与技术重点实验室, 安徽 合肥 230031;

2 中国环境监测总站, 北京 100029;

3 扬州大学环境科学与工程学院, 江苏 扬州 225009)

摘要: 多环芳烃 (PAHs) 是普遍关注的优先监测污染物, 在水环境中其含量很低, 但由于其具有高荧光量子产率, 可利用荧光法对其进行检测。运用三维荧光光谱法对四种多环芳烃的荧光光谱进行了解析, 较二维荧光光谱能更详细地描述 PAHs 的性质。实验表明: 菲与蒽均有三个较强的荧光区域; 芘有多个荧光区域; 荧蒽有两个荧光区域。菲、蒽、芘和荧蒽的最大荧光峰分别位于 250/364 nm、250/402 nm、240/372 nm 及 286/462 nm。选择最大荧光峰位置对四种多环芳烃做工作曲线, 呈现较好的线性关系。该方法为同时检测水源中多组分痕量 PAHs 提供了方法基础。

关键词: 三维荧光光谱; 多环芳烃; 菲; 蒽; 芘; 荧蒽

中图分类号: X83

文献标识码: A

文献编号: 1673-6141(2008)06-0448-06

Three-dimensional Fluorescence Spectral Analysis of Four Kinds of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

JIN Dan¹, ZHANG Yu-jun¹, LI Guo-gang², XIAO Xue¹, WANG Zhi-gang³,
YIN Gao-fang¹, ZHAO Nan-jing¹, LIU Wen-qing¹

(1 Key Laboratory of Environmental Optics and Technology, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics,
Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China;

2 China National Environmental Monitoring Center, Beijing 100029, China;

3 School of Environmental Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: As a universal concern about the monitoring of priority pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) have low content in the water environment. Because of its high fluorescence quantum yields, the fluorescence spectra of PAHs can be used to investigate PAHs concentration. Fluorescence spectra of four kinds of PAHs were analyzed with the method of three-dimensional fluorescence spectra, which can describe the characteristics of PAHs more detailedly than two-dimensional fluorescence spectra. Results show that

收稿日期: 2008-07-28; 修改日期: 2008-09-26

基金项目: 国家“863”计划资助项目 (2007AA061502)

E-mail: djin@aiofm.ac.cn

phenanthrene, anthracene have three stronger fluorescence regions, and pyrene, fluoranthene have several and two fluorescence regions, respectively. The biggest fluorescence peaks of phenanthrene, anthracene, pyrene and fluoranthene are 250/364 nm, 250/402 nm, 240/372 nm and 286/462 nm, respectively. Under the optimum conditions, good linear work curve was obtained by this method to determine four kinds of PAHs. This method serves to the simultaneous analysis of multi-component PAHs in the source water on a method basis.

Key words: three-dimensional fluorescence spectra; polycyclic aromatic hydrocarbons; phenanthrene; anthracene; pyrene; fluoranthene

1 引言

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是指两个或两个以上的苯环按线形、角状或簇状方式稠合在一起的一类中性或非极性有机化合物。由于多环芳烃在环境中难降解、持久性强和具有强的“三致”效应, 因此对 PAHs 的检测备受关注, 许多国家都将其列入优先污染物的黑名单或灰名单中^[1-3]。由于经济的发展, 能源消耗日益增多, 进入环境中的 PAHs 极易通过食物链积累、传递, 对人类健康和生态环境造成很大的危害。而水体中的 PAHs 主要来源于大气沉降、城市污水和工业废水的排放、石油的溢漏等, 这些污染物会进入地表水和地下水, 导致饮用水水源受到污染。同时, PAHs 的疏水性和抗降解能力较强, 水环境中存在的 PAHs 浓度很低, 因此, 对 PAHs 的检测是一项复杂而重要的痕量分析课

题。

多环芳烃具有高的荧光量子效率, 根据这一特性, 可利用荧光方法对其进行检测。而三维荧光光谱是描述荧光强度同时随激发波长和发射波长变化的关系谱图, 因此, 可提供比常规荧光光谱更完整的光谱信息^[4-7]。本文对菲、蒽、芘及荧蒽三维荧光光谱进行了解析, 分别绘制了各个单一组分的工作曲线, 为多组分多环芳烃的同时定量检测提供了探究的基础。

2 实验部分

2.1 实验仪器及材料

本实验所用的仪器为日本日立公司生产的 F-7000 型荧光分光光度计, 其主要性能如表 1 所列。该仪器可在激发波长 (λ_{ex})-发射波长 (λ_{em}) 框架中给出荧光相对强度 (I_f) 的等高线图。

表 1 日立 F-7000 型荧光分光光度计主要性能

Table 1 Major performance of HITACHI F-7000

灵敏度	光源	波长范围 (nm)	狭缝宽度 (nm)	分辨率 (nm)	波长扫描速度 (nm·min ⁻¹)	光度显示范围
在激发波长 350nm, 狭缝宽 5nm 条件下, 对水拉曼谱信噪比为 200 或更多	150 W Xe 灯	200~750	激发: 1, 2.5, 5, 10, 20 发射: 1, 2.5, 5, 10, 20	1.0	30, 60, 240, 1200, 2400, 12000, 30000	0~9999

实验样品为菲、蒽、芘、荧蒽及无水乙醇溶液, 菲、蒽、芘和荧蒽均属于多环芳烃化合物, 其分子结构如图 1 所示。

因四种多环芳烃在水中的溶解度非常低, 为

了适当增加其溶解量, 在配制水溶液时, 采用先配制高浓度的无水乙醇储备液, 再通过中间工作溶液逐级稀释至标准系列溶液。

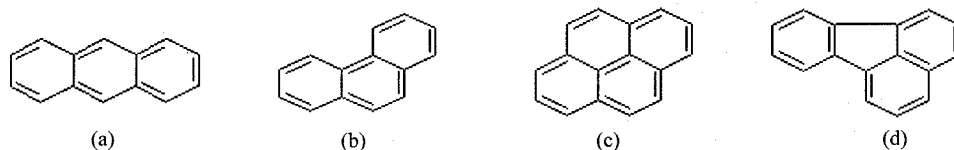


图1 菲(a)、蒽(b)、芘(c)和荧蒽(d)的分子结构

Fig.1 Molecular structure of phenanthrene(a), anthracene(b), pyrene(c) and fluoranthrene(d)

2.2 检测限计算方法

本文通过测量四种多环芳烃在各浓度下的荧光强度值,利用溶液浓度与荧光强度值的线性关系做各物质的工作曲线,根据最小二乘法得到的拟合曲线计算四种多环芳烃的灵敏度及检测限。

按照国际理论化学与应用化学联合会(IUPAC)1976年制定的文件^[8],灵敏度定义为分析物浓度或量的微小变化所产生的分析信号的变化,即 $\Delta s/\Delta c$ 比值,它实质是校准曲线(也称为工作曲线、标准曲线、分析曲线等)的斜率。

IUPAC对检出限的规定:给定置信水平为99.7%时被检出的待测物的最小浓度。信号为空白测量值(至少20次)的标准偏差的3倍所对应的浓度(或质量),即样品测定值与零浓度样品的测定值有显著性差异即为检出限(D.L)。这里的零浓度样品是不含待测物质的样品。

$$D.L = K S_b / a \quad (1)$$

式中: S_b 为空白多次测得信号的标准偏差; a 为方法的灵敏度(即校准曲线的斜率);取 $K=3$,计算检出限D.L。

3 实验步骤与结果讨论

3.1 四种多环芳烃的三维荧光光谱

将配置好的菲、蒽、芘及荧蒽标准系列溶液依次放在荧光分光光度计的样品架上,菲、蒽、芘的 λ_{ex} 和 λ_{em} 范围分别设定在240~400 nm和300~600 nm,荧蒽的 λ_{ex} 和 λ_{em} 范围分别设定在220~400 nm和300~600 nm,采样间隔2.0 nm,扫描速度12000 nm/min,狭缝宽度为5.0 nm。得到四种多环芳烃的等高线图如图2所示,图中横坐

标为发射波长 λ_{em} ,纵坐标为激发波长 λ_{ex} ,等高线表示荧光强度,图中左上方线型带为水的Rayleigh散射区,右下方线型带为水的二级Rayleigh散射区。鉴于Rayleigh散射效应在原始三维荧光光谱中出现的位置相对固定,本文采取在出现散射的位置将信号置零的方法,去除Rayleigh散射的影响。图3为扣除溶剂水后四种多环芳烃的三维荧光光谱图。由图可以看出,菲有三个比较强的荧光发光区域,分别位于 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=250/346$ nm、250/364 nm、250/380 nm,荧光强度的主峰出现在 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=255/346$ nm附近;蒽有三个比较强的荧光发光区域,分别位于 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=250/380$ nm、250/402 nm、250/424 nm,荧光强度的主峰出现在 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=250/402$ nm附近;芘有多个荧光发光区域,其中有两个较强的荧光发光区域,位于 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=240/372$ nm、240/392 nm,荧光强度的主峰出现在 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=240/372$ nm附近;荧蒽有两个较强的荧光发光区域,其中一个发光区域与Rayleigh散射有部分重叠,选择完整的荧光强度的主峰为 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=286/462$ nm。

3.2 四种多环芳烃的斯托克斯位移

图4为菲溶液的激发-发射二维荧光光谱,该图反映了溶液荧光光谱的一个特征:斯托克斯位移,即溶液荧光光谱中的荧光波长总是大于激发光的波长,因为荧光物质的激发态分子由于内转化和振动松弛过程迅速衰变到 s_1 电子态的最低振动能级。斯托克斯位移现象的存在说明了在激发态与发射态之间存在着一定的能量损失。由图4可知,菲、蒽、芘和荧蒽溶液的斯托克斯位移 $\Delta\lambda$ 分别为114 nm、152 nm、132 nm、176 nm。

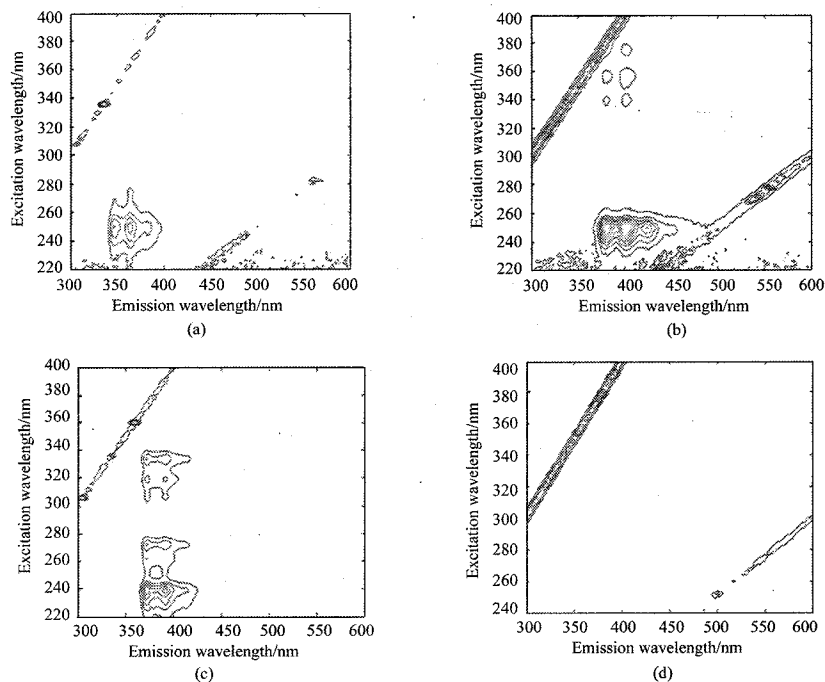


图 2 菲 (a)、蒽 (b)、芘 (c) 和荧蒽 (d) 的原始三维荧光光谱图

Fig.2 Original three-dimension fluorescence spectra of phenanthrene(a), anthracene(b), pyrene(c) and fluoranthrene(d)

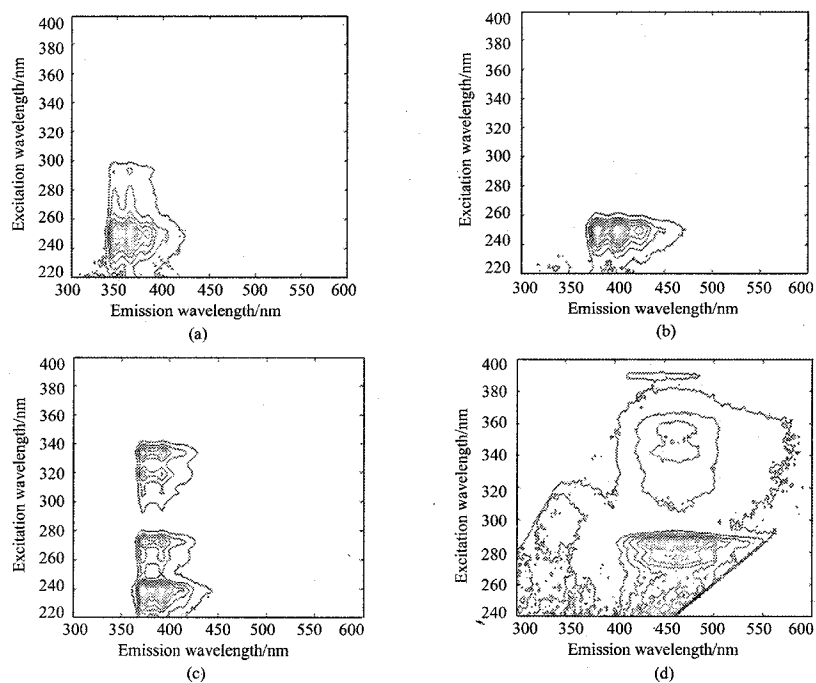


图 3 菲 (a)、蒽 (b)、芘 (c) 和荧蒽 (d) 的三维荧光光谱图

Fig.3 Three-dimension fluorescence spectra of phenanthrene(a), anthracene(b), pyrene(c) and fluoranthrene(d)

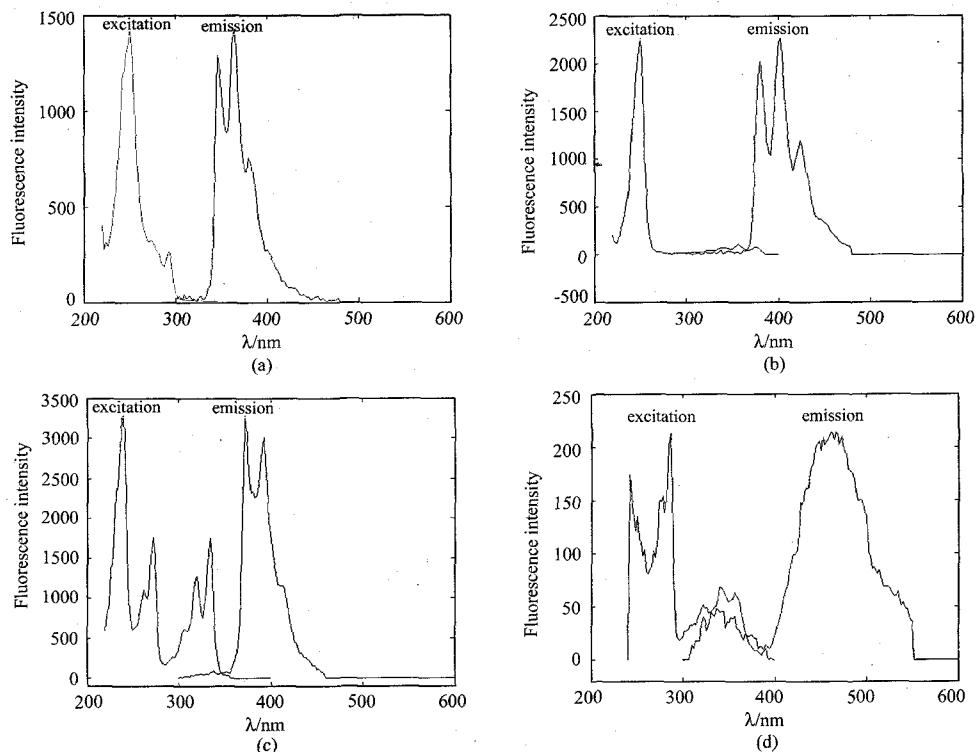


图 4 菲 (a)、蒽 (b)、芘 (c) 和荧蒽 (d) 的荧光激发-发射谱图

Fig.4 Fluorescence spectra of phenanthrene(a), anthracene(b), pyrene(c) and fluoranthrene(d)

3.3 四种多环芳烃的线性范围

准确量取一定量的储备液,用超纯水定容,配制成 $100 \mu\text{g}/\text{l}$ 的工作溶液。取 10 只 100 ml 容量瓶,分别移取一定量工作溶液,定容后得到 $0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 5.0, 6.0, 8.0, 10.0, 20.0 \mu\text{g}/\text{l}$ 的四种多环芳烃标准系列溶液。根据 1 cm 的石英池中扫描的各个溶液三维荧光光谱图,选择荧光强

度最大峰值处的激发波长和发射波长进行定量分析,通过最小二乘拟合得到溶液浓度与荧光强度的线性回归方程。表 2 列出了四种多环芳烃定量分析选取的激发/发射波长、回归方程、回归系数及线性范围。实验结果表明,荧光强度与其各自的浓度有良好的线性关系。

表 2 线性范围分析结果

Table 2 Results of linear range analysis

多环芳烃	荧光峰值点 ex/em(nm)	线性范围 c(ppb)	线性回归方程	相关系数
菲	250/364	0.2~20	$y=177.20259x+26.92957$	0.99995
蒽	250/402	0.2~20	$y=290.91903x-42.74$	0.99973
芘	240/372	0.2~20	$y=406.1942x-16.86669$	0.99971
荧蒽	286/462	0.5~20	$y=34.50663x-21.89568$	0.99941

3.4 四种多环芳烃的检测限计算

按照 IUPAC 的规定,菲、蒽、芘、荧蒽的测量

灵敏度(即工作曲线的斜率)分别为 177.20, 290.91, 406.19, 34.51。

平行测定 20 份空白试剂超纯水的三维荧光光谱, 选取激发波长为 354 nm、发射波长为 402 nm 处的荧光强度值, 计算空白试剂的标准偏差为 2.41。将相关量值带入式 (1), 可得到菲、蒽、芘、荧蒽的检出限分别为 0.04 ppb, 0.02 ppb, 0.02 ppb, 0.2 ppb。

4 结 论

通过对四种多环芳烃的三维荧光光谱测量, 确定了定量分析的激发 - 发射波长, 在荧光强度最大处的定量分析结果具有良好的线性关系。对检测限的计算结果表明, 分光光度计对菲、蒽、芘的测量灵敏度较高、检测限较低, 而对荧蒽的灵敏度不高、检测限较高, 这与被测物质的荧光量子效率有关。同时, 单组分的三维荧光光谱图也为进一步研究多组分多环芳烃的快速定性定量检测奠定了方法基础。

参考文献:

- [1] Malik A, Singh K P, Mohan D, *et al.* Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in Gomti River system, India [J]. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2004, **72**: 1211-1218.
- [2] Qiao M, Wang C X, Huang S B, *et al.* Composition, sources, and potential toxicological significance of PAHs in the surface sediments of the Meiliang Bay, Taihu Lake, China [J]. *Environment International*, 2006, **32**(1): 28-33.
- [3] Luo Xuemei, Liu Changming, He Mengchang. Distribution and origin of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediment from the Yellow river [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2005, **18**(2): 48-50 (in Chinese).
- [4] Coble P G, Green S A, Blough N V, *et al.* Characterization of dissolved organic matter in the Black Sea by fluorescence spectroscopy [J]. *Nature*, 1990, **348**(6300): 432-435.
- [5] Baker A, Spencer R G M. Characterization of dissolved organic matter from source to sea using fluorescence and absorbance spectroscopy [J]. *Science of the Total Environment*, 2004, **333**(123): 217-232.
- [6] Wu Zhihao, Tang Yaoji, Li Guimin, *et al.* Applications of fluorescence analysis methods in the analysis of environmental organic pollutants [J]. *Analytical Instrumentation*, 2005, 3: 13-19 (in Chinese).
- [7] Liu Zhihong, Cai Ruxiu. Progresses and applications of three-dimensional fluorescent spectroscopy [J]. *Journal of Analytical Science*, 2000, **16**(6): 516-523 (in Chinese).
- [8] IUPAC. Analytical chemistry division, commission on spectrochemical and optical procedures for analysis, nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis: data interpretation [J]. *Pure Appl. Chem.*, 1976, 30: 99, 105.

罗雪梅, 刘昌明, 何孟常. 黄河沉积物中多环芳烃的分布特征及来源分析 [J]. 环境科学研究, 2005, **18**(2): 48-50.

[4] Coble P G, Green S A, Blough N V, *et al.* Characterization of dissolved organic matter in the Black Sea by fluorescence spectroscopy [J]. *Nature*, 1990, **348**(6300): 432-435.

[5] Baker A, Spencer R G M. Characterization of dissolved organic matter from source to sea using fluorescence and absorbance spectroscopy [J]. *Science of the Total Environment*, 2004, **333**(123): 217-232.

[6] Wu Zhihao, Tang Yaoji, Li Guimin, *et al.* Applications of fluorescence analysis methods in the analysis of environmental organic pollutants [J]. *Analytical Instrumentation*, 2005, 3: 13-19 (in Chinese).

吴志皓, 唐尧基, 李桂敏, 等. 荧光分析法在环境有机污染物分析中的应用 [J]. 分析仪器, 2005, 3: 13-19.

[7] Liu Zhihong, Cai Ruxiu. Progresses and applications of three-dimensional fluorescent spectroscopy [J]. *Journal of Analytical Science*, 2000, **16**(6): 516-523 (in Chinese).

刘志宏, 蔡汝秀. 三维荧光光谱技术分析应用进展 [J]. 分析科学学报, 2000, **16**(6): 516-523.

[8] IUPAC. Analytical chemistry division, commission on spectrochemical and optical procedures for analysis, nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis: data interpretation [J]. *Pure Appl. Chem.*, 1976, 30: 99, 105.

作者简介: 金丹 (1983-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事三维荧光光谱在水质监测中的应用研究。