

苯酚三维荧光光谱特征参数影响因素的研究

王欢博, 张玉钧*, 肖雪, 于绍慧, 殷高方, 郭立泉 (中国科学院安徽光学精密机械研究所, 环境光学与技术重点实验室, 安徽 合肥 230031)

摘要: 用三维荧光光谱法研究了不同离子浓度、pH 值对苯酚荧光光谱特征参数的影响, 并探讨了腐殖酸对苯酚的荧光猝灭效应。结果表明, 天然水中 9 种常见离子 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 K^+ 、 NH_4^+ 、 Cl^- 、 HCO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 HPO_4^{2-} 对苯酚的荧光光谱形状和荧光强度基本无影响; NO_3^- 的存在会使苯酚的荧光强度发生变化, 荧光强度随着 NO_3^- 浓度增大而减小。苯酚在酸性和碱性条件下的存在形式不同, 致使 pH 值对其荧光光谱特征参数影响较大: 在酸性条件下, 荧光强度基本保持不变; 在碱性条件下, 由于羟基的电离使荧光强度很弱。腐殖酸的存在使苯酚发生荧光猝灭, 采用 Stern-Volmer 方程修正对实验猝灭结果进行拟合, 得到的拟合结果较好, 相关系数为 0.9995。

关键词: 苯酚; 三维荧光光谱; 特征参数

中图分类号: X830 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6923(2010)08-1032-06

Influence factors on characteristic parameters of three-dimensional fluorescence spectra of phenol. WANG Huan-bo, ZHANG Yu-jun*, XIAO Xue, YU Shao-hui, YIN Gao-fang, GUO Li-quan (Key Laboratory of Environmental Optics and Technology, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China). *China Environmental Science*, 2010,30(8): 1032~1037

Abstract: Characteristic parameters of phenol were investigated at different ion concentration and pH values by three-dimensional fluorescence spectra method. In the meantime, the effect of fluorescence quenching brought by humic acid was also explored. Results showed that nine kinds of ions usually existing in natural water including Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 K^+ 、 NH_4^+ 、 Cl^- 、 HCO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 HPO_4^{2-} had no effect on the shape of spectra and fluorescence intensity of phenol. However, the presence of NO_3^- caused the changes of fluorescence intensity, which decreased with the increasing concentration of NO_3^- . The impact of pH was significant because phenol had different forms in acidic and alkali conditions. The fluorescence intensity remained unchanged in acidic condition; in contrast, only a weak fluorescence signal was found in the alkali condition. The latter phenomena can be explained by the ionization of hydroxyl. In addition, the presence of humic acid may cause the fluorescence quenching. Finally, Stern-Volmer equation was used to fit the quenching results, and good results had been obtained with relative coefficient of 0.9995.

Key words: phenol; three-dimensional fluorescence spectra; characteristic parameters

苯酚作为原材料广泛应用于合成酚醛树脂、塑料、合成纤维、农药和水杨酸等工农业生产中^[1-3]。苯酚对皮肤、粘膜有强烈刺激和腐蚀作用, 能引起肝、肾等器官损害。若长期饮用被酚污染的水, 会出现头痛、疲劳、失眠、耳鸣、贫血及神经系统病症^[4]。由于苯酚较大的毒性及其在工业中普遍应用性, 目前已被列入我国水中优先控制污染物黑名单, 并且在我国生活饮用水卫生标准中规定苯酚的含量不能超过 0.002mg/L ^[5-6]。

目前, 各种荧光光谱技术如荧光分光光度法, 荧光激发光谱法, 同步荧光光谱以及三维荧光光

谱法被广泛用于污染物的物理和化学特性研究^[7-14]。三维荧光光谱能够获得激发波长和发射波长同时变化时的荧光强度信息, 比普通的荧光光谱如激发光谱、发射光谱能提供更完整的信息, 能够更全面地分析光谱特征的变化。用荧光法检测水中酚类化合物时, 环境因素的影响不可忽视, 外界条件的改变会使荧光光谱形状和荧光强度

收稿日期: 2009-12-21

基金项目: 国家“863”项目(2007AA061502); 安徽省自然科学基金资助项目(090415215)

* 责任作者, 研究员, yjzhang@aiofm.ac.cn

发生变化^[12]。本研究运用三维荧光光谱法研究了水中常见离子 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 K^+ 、 NH_4^+ 、 Cl^- 、 HCO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 HPO_4^{2-} 、 NO_3^- 以及不同 pH 值对苯酚荧光光谱特性的影响。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Hitachi F-7000 型荧光光谱仪: 使用 150W 氙弧灯为激发光源; PMT 电压为 700V; 单色器狭缝宽度均为 5.0nm; 激发和发射波长扫描范围: 激发波长为 240~360nm, 发射波长为 260~500nm, 每间隔 2nm 取一个数据点; 扫描光谱进行自动校正。

苯酚(上海化学试剂有限公司), 腐殖酸(上海巨枫化学科技有限公司), CaCl_2 、 NaHCO_3 、 MgSO_4 、 K_2HPO_4 、 NH_4Cl 、 NaNO_3 、 H_3BO_3 、 Na_2HPO_4 、 HCl 和 NaOH 均为分析纯。

1.2 实验方法

苯酚储备液: 称取 0.250g 苯酚于 250mL 容量瓶中, 用色谱纯乙醇配制成 1000mg/L 储备液, 避光保存; 工作液用自制的超纯水稀释储备液得到。

腐殖酸储备液: 称取 0.050g 腐殖酸, 用 50mL 0.1mol/L NaOH 溶解, 然后用 HCl 调节溶液的 pH 值至 7 左右, 最终用自制的超纯水定容至 500mL, 配制浓度为 100mg/L 的储备液, 避光保存。

pH 值效应实验: 用 HCl 、 NaOH 、 H_3BO_3 、 Na_2HPO_4 和 KH_2PO_4 调节溶液的 pH 值, 测定 pH1~pH14 范围内 0.2mg/L 苯酚荧光强度的变化。

离子强度效应实验: 取 6 个 100mL 容量瓶, 分别加入 5mL 1000mg/L 的苯酚储备液, 然后向每个容量瓶中加入不同含量 CaCl_2 , 使溶液中 Ca^{2+} 最终的浓度分别为 20, 40, 60, 80, 100, 120mg/L; Na^+ 、 Mg^{2+} 、 K^+ 、 NH_4^+ 、 Cl^- 、 HCO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 HPO_4^{2-} 、 NO_3^- 9 种离子的配制方法与 Ca^{2+} 相同。

腐殖酸影响: 取 6 个 100mL 容量瓶, 分别加入 5mL 1000mg/L 的苯酚储备液, 然后向每个容量瓶中加入不同体积的腐殖酸储备液, 使腐殖酸的最最终浓度分别为 1, 2, 3, 4, 5, 8mg/L。

2 结果与讨论

2.1 常见离子对苯酚荧光特性的影响

由图 1 可知, 苯酚荧光峰位置处的激发和发射波长分别为 272nm/298nm。为了更清楚的观察不同离子对苯酚光谱特性的影响, 选择在激发波长为 272nm 处获得苯酚的发射光谱及在发射波长为 298nm 处得到激发光谱。

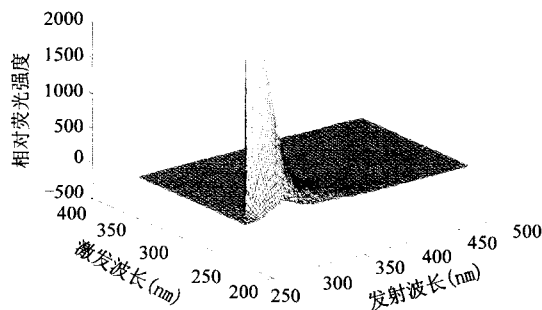


图 1 苯酚的三维荧光光谱

Fig.1 Three-dimensional fluorescence spectra of phenol

由图 2 可知, Ca^{2+} 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 K^+ 、 NH_4^+ 、 Cl^- 、 HCO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 HPO_4^{2-} 、 NO_3^- 的存在, 并未使苯酚的荧光峰位置及荧光光谱形状发生改变。

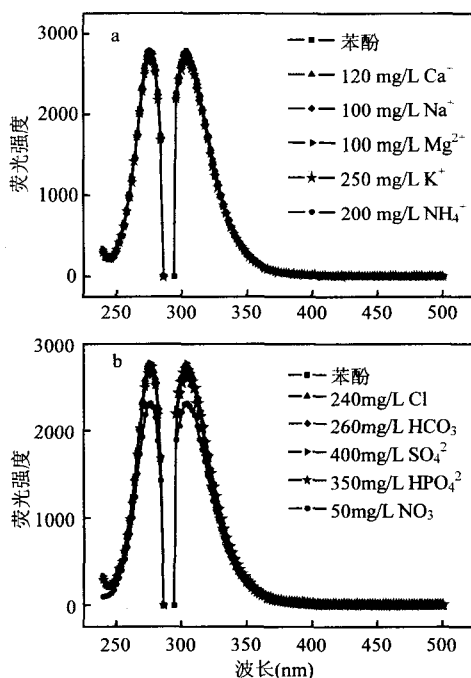


图 2 不同离子存在下苯酚的激发光谱和发射光谱
Fig.2 Excitation and emission spectra of phenol in the presence of different ions

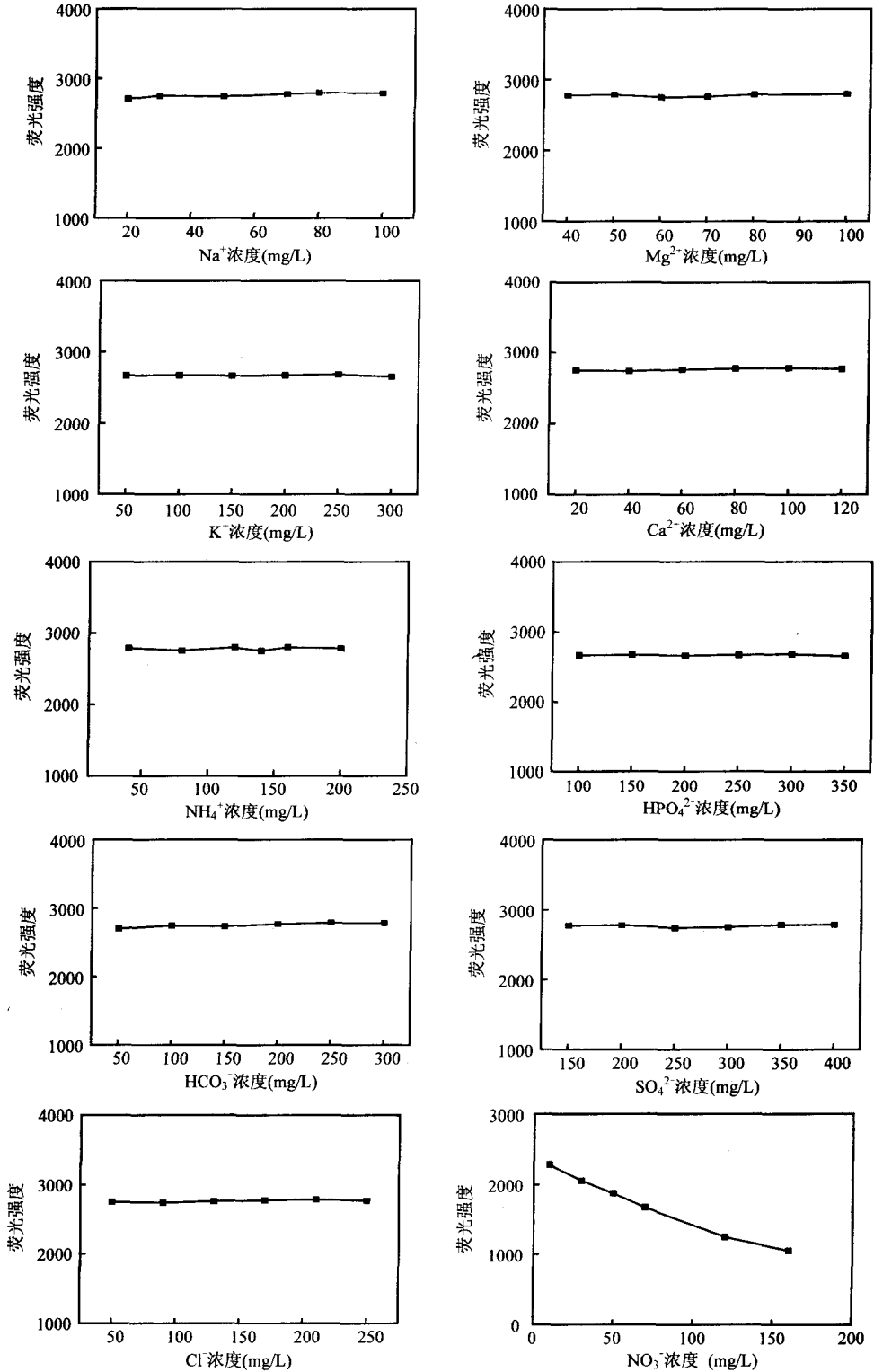


图3 不同离子对苯酚荧光强度的影响

Fig.3 Effect of different ions on relative fluorescence intensity of phenol

由图 3 可知,除 NO_3^- 以外的 9 种离子对苯酚的荧光强度基本上无影响. 苯酚的荧光强度随 NO_3^- 浓度的增大而减小, 当 NO_3^- 浓度达到 160mg/L 时, 苯酚的荧光强度下降了 54%. 加入 NO_3^- 后苯酚的荧光强度下降可能是由于 NO_3^- 具有光化学活性, 当有外界辐射时光解生成氮氧自由基($\text{NO}_2\cdot$)和羟基自由基($\text{HO}\cdot$)等活性中间体, 所产生的 $\text{HO}\cdot$ 会促进苯酚的光降解; 并且 NO_3^- 浓度越大, 产生的 $\text{HO}\cdot$ 越多, 光降解的苯酚量越大, 从而使荧光强度越小^[15].

2.2 不同 pH 值对苯酚荧光特性的影响

苯酚具有弱酸性, 因此 pH 值对其荧光强度的影响很大, 图 4 显示了苯酚在浓度为 0.2mg/L , 不同 pH 值条件下的荧光强度值变化. 由图 4 可知, 在酸性条件下, 苯酚的荧光强度很大; 在碱性条件下, 荧光逐渐减弱, 当 pH 14 时基本上无荧光. 这主要是由于该物质在酸性和碱性条件下的存在形式不同^[16], 如图 5 所示.

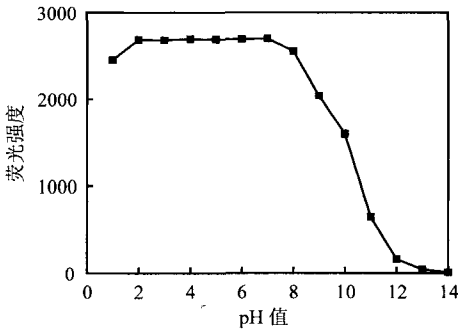


图 4 pH 值对苯酚荧光强度的影响

Fig.4 Effect of pH on fluorescence intensity of phenol

在酸性条件下, 该物质主要以 $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}_2^+$ 和 $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ 2 种形式存在; 在碱性条件下主要以 $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}^-$ 形式存在. 经量子化学计算可知, $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}_2^+$ 和 $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}^-$ 从基态到激发态的跃迁均为禁止的, 因此这 2 种形式均不产生荧光; 而 $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ 从基态到激发态的跃迁是允许的, 经激发后能产生荧光. 从图 4 中还可以看出, 当 pH 值为 2~6 时, 荧光强度基本保持不变; 在 pH 值为 1 左右时, 荧光强度有变小的趋势, 其原因可能是此时 H^+ 浓度较大, 苯酚的羟基吸附 H^+ 使之变为正

离子吸电子基团, 减小了苯环上共轭 π 电子密度, 从而使荧光强度减弱.

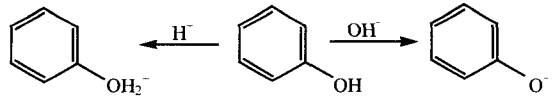


图 5 不同酸碱性条件下苯酚的存在形式

Fig.5 Existence form of phenol at acid and alkali conditions

2.3 腐殖酸对苯酚荧光特性的影响

腐殖酸是动植物经过长期的物理、化学、生物作用而形成的复杂有机物, 是一种带有羧基、羟基、酮基等活性基团的大分子聚合物, 一般水源中腐殖酸的含量在 10mg/L 左右, 占水中总有机物的 50%~90%, 这些腐殖酸自身能够发出荧光, 并且能够使苯酚发生荧光猝灭, 因而对苯酚含量的测定有影响. 于兵川等^[17]通过计算五氯苯酚和腐殖酸作用的结合常数和热力学参数, 推断出腐殖酸对五氯苯酚的猝灭机理为 2 者之间通过氢键和范德华力结合形成复合物的静态猝灭. 由图 6 可知, 随着腐殖酸浓度的变化, 苯酚的激发光谱随之变化, 由此也可以推断出腐殖酸对苯酚的荧光猝灭机理为静态猝灭. 当猝灭剂在所选择的激发光波长下没有吸收时, 荧光物质与猝灭剂之间的相互作用可用 Stern-Volmer 方程来描述:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K[Q] \quad (1)$$

式中: $[Q]$ 为猝灭剂的浓度; K 为复合物的结合常数; F_0 为无猝灭剂存在时的荧光强度; F 为猝灭剂浓度为 $[Q]$ 时的荧光强度.

图 7 为 5mg/L 腐殖酸存在下苯酚的三维荧光光谱图, 从图中可以看出在激发波长为 $260\sim 350\text{nm}$, 发射波长为 $360\sim 500\text{nm}$ 范围内, 腐殖酸出现较宽荧光峰, 因此腐殖酸对苯酚的荧光猝灭不仅是形成基态复合物的静态猝灭, 还包括腐殖酸的竞争吸收. 荧光物质的荧光猝灭既因猝灭剂的竞争吸收, 又因荧光物质与猝灭剂之间形成不发光的基态复合物而引起时, 所用的猝灭方程要对 Stern-Volmer 方程进行修正^[18]:

$$\frac{F_0}{F} - 1 = a[Q]^3 + b[Q]^2 + c[Q] \quad (2)$$

式中: F_0, F 分别为加入猝灭剂前和加入猝灭剂后的荧光强度; $[Q]$ 为猝灭剂浓度; a, b, c 为多项式系数。

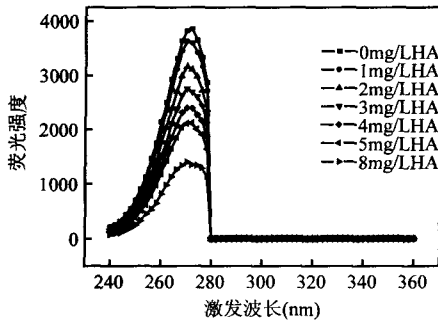


图6 不同腐殖酸浓度下苯酚的激发光谱

Fig.6 Excitation spectra of phenol at different concentration of humic acid

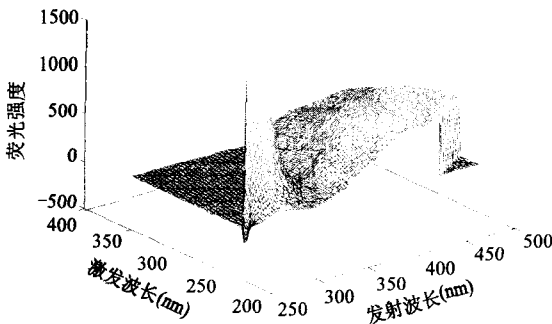


图7 苯酚和腐殖酸混合物的三维荧光光谱

Fig.7 Three-dimensional spectra of phenol and humic acid mixture

根据不同腐殖酸浓度下的荧光猝灭光谱,用式(2)进行拟合,得到的结果如图8所示。得到的拟合方程如下:

$$\frac{F_0}{F} - 1 = 0.0005673[HA]^3 + 0.02372[HA]^2 + 0.06379[HA] \quad (3)$$

拟合相关系数为 0.9995。当已知腐殖酸浓度时,就可用该方程求解出苯酚的原始荧光强度 F_0 ,从而可求出腐殖酸存在下苯酚的真实浓度。

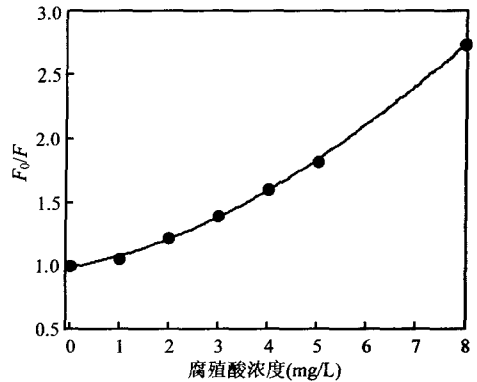


图8 荧光猝灭曲线

Fig.8 Curve of fluorescence quenching

3 结论

3.1 天然水中9种常见离子 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 K^+ 、 NH_4^+ 、 Cl^- 、 HCO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 HPO_4^{2-} 对苯酚的三维荧光光谱特征参数无影响; NO_3^- 具有光化学活性,受到外界辐照会使苯酚发生光降解,苯酚荧光强度随着 NO_3^- 浓度的增大而减小。

3.2 由于苯酚具有弱酸性, pH 值对苯酚荧光强度影响较大,在碱性条件下由于苯酚的电离使荧光强度很弱。

3.3 腐殖酸的存在会使苯酚发生荧光猝灭效应,用 Stern-Volmer 方程修正式对荧光猝灭结果进行拟合,得到的结果较好。

参考文献:

- [1] Tsai S Y, Juang R S. Biodegradation of phenol and sodium salicylate mixtures by suspended pseudomonas putida CCRC 14365 [J]. J. Hazard. Mater., 2006, 138(1): 125-132.
- [2] Juang R S, Tsai S Y. Growth kinetics of Pseudomonas putida in the biodegradation of single and mixed phenol and sodium salicylate [J]. Biochem. Eng. J., 2006, 3(1): 133-140.
- [3] Fan Yi, Feng Yu-Qi. On-line selective solid-phase extraction of 4-nitrophenol [J]. Anal. Chim. Acta, 2003, 484(2): 145-153.
- [4] 斯琴高娃, 乌云, 田艳飞. 浅谈苯酚对环境的污染 [J]. 内蒙古石油化工, 2006, (12): 50-51.
- [5] 周文敏, 傅德黔, 孙宗光. 中国水中优先控制污染物黑名单的确定 [J]. 环境科学研究, 1991, 4(6): 9-12.
- [6] GB5749-85 生活饮用水常规指标. (生活饮用水卫生标准).
- [7] 冯立娟, 辛长波. 荧光法直接测定环境水中痕量苯酚 [J]. 光谱实验室, 2002, 19: 267-269.

- [8] 唐波,李文华,何锡文.多波长数据线性双组合同步荧光法测定苯酚与间苯二酚 [J]. 药学学报, 1996,31(9):700-705.
- [9] del Olmo M, Diez C. Resolution of phenol, o-cresol, m-cresol and p-cresol mixtures by excitation fluorescence using partial least-squares (PLS) multivariate calibration [J]. Anal. Chim. Acta, 1996,335(1): 23-33.
- [10] 赵庆良,贾婷,魏亮亮.污水厂二级出水中 THMs 前体物卤代活性荧光光谱分析 [J]. 中国环境科学, 2009,29(11):1164-1170.
- [11] 唐书娟,王志伟,吴志超.膜-生物反应器中溶解性有机物的三维荧光分析 [J]. 中国环境科学, 2009,29(3):290-295.
- [12] 吴刚珂,刘晶,张青.麝香草酚的荧光光谱研究 [J]. 分析测试学报, 2008,27(1):21-25.
- [13] 张婕,彭黔荣,杨敏.偏最小二乘—带荧光检测器的高效液相色谱法测定间-甲酚和对-甲酚异构体及其他酚的研究 [J]. 河北化工, 2008,31(5):13-15.
- [14] 欧阳二明,王伟.污泥热水解过程中有机物分子量和荧光特征变化规律 [J]. 中国环境科学, 2008,28(12):1062-1067.
- [15] 康春莉,唐晓剑,郭平.硝酸根存在下冰相中苯酚的光转化 [J]. 高等学校化学学报, 2009,30(4):757-761.
- [16] Wang Hanlu, Wang Xueye. Theoretical studies on fluorescence of phenol and 1-naphthol in both acid and alkali solutions [J]. Journal of Molecular, 2006,770:107-110.
- [17] 于兵川,吴洪特,周培疆.五氯苯酚与腐殖酸作用的荧光猝灭效应研究 [J]. 环境化学, 2006,25(2):164-167.
- [18] 樊平.竞争吸收体系中荧光淬灭机制的理论分析 [J]. 广西师院学报(自然科学版), 1995,(1):54-59.
- 作者简介:** 王欢博(1984-),女,河北唐山人,中国科学院安徽光学精密机械研究所博士研究生,主要从事水污染监测研究.发表论文 1 篇.

《中国环境科学》荣获第六届中国科协期刊优秀学术论文奖

《中国环境科学》2007年第5期发表的程书波等人的文章“上海市地表灰尘中PAHs的来源辨析”荣获2008年中国科协颁发的“第六届中国科协期刊优秀学术论文二等奖”;2007年第1期发表的邵立明等人的文章“生物反应器填埋场初期的重金属释放行为”及2007年第2期发表的罗专溪等人的文章“三峡水库支流回水河段氮磷负荷与干流的逆向影响”荣获“第六届中国科协期刊优秀学术论文三等奖”。

《中国环境科学》编辑部

关于《中国环境科学》网上投稿的通知

《中国环境科学》编辑部为提高稿件处理的网络化水平和采编工作的效率,及时让作者了解稿件的处理情况,自2008年3月1日起已开通网上投稿查稿系统,请登陆网址: <http://www.zghjcx.com.cn> 点击“作者在线投稿”进行注册后再按要求投稿,点击“作者在线查稿”进行查询.本刊不再接受纸件投稿和电子版稿件的E-mail投稿.特此通知.

《中国环境科学》编辑部