

三种酚类化合物的三维荧光光谱特性研究

王欢博, 张玉钧*, 肖雪, 金丹, 赵南京, 殷高方, 郭立泉, 刘文清

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

摘要 三维荧光光谱技术通过在不同激发波长下扫描发射光谱获得荧光强度变化信息, 由于其灵敏度高, 选择性好, 被广泛用于环境中污染物的监测。利用该方法研究3种酚类化合物的荧光光谱特性, 在激发波长为240~360 nm, 发射波长为260~500 nm范围内, 确定了苯酚、间甲酚和麝香草酚的荧光峰位置分别为272/300, 274/300和276/304 nm。由于3种酚类物质为同系物, 结构相似, 因此得到的激发光谱和发射光谱在形状上极为相似。工作液浓度在0.02~1.0 mg·L⁻¹范围内, 3种酚类物质的浓度与荧光强度之间均呈现较好的线性关系, 且检出限达到1 μg·L⁻¹。实验结果表明, 用三维荧光光谱法可对3种酚类化合物进行定性和定量分析。

关键词 苯酚; 间甲酚; 麝香草酚; 三维荧光光谱; 荧光特性

中图分类号: X830.2 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2010)05-1271-04

引言

苯酚、间甲酚为有毒化合物, 并且作为原材料广泛应用于工农业生产中^[1-5]。苯酚主要用来合成酚醛树脂, 间甲酚是形成芳香物质、消毒剂、防腐剂和炸药的主要成分。麝香草酚是一种毒性较小的强抗菌消毒药物, 广泛用于牙髓慢失活剂和牙髓快失活剂等口腔科常用制剂中^[6]。由于大多数酚类化合物具有毒性, 且在环境中难降解, 11种酚类化合物被美国EPA列入了优先污染物黑名单。我国生活饮用水卫生标准中规定苯酚的含量不能超过0.002 mg·L⁻¹^[7], 这些酚类化合物在水环境中浓度低, 因此需要一种灵敏度高, 选择性好, 能直接定量分析这些酚类化合物的方法。

目前检测这些酚类化合物的方法包括荧光光度法^[8], 气相色谱法(GC)^[9-11], 气相色谱-质谱联用法^[12,13], 高效液相色谱法(HPLC)等^[14-17]。由于荧光法具有灵敏度高, 选择性好, 且不破坏样品结构的优点, 非常适合用来研究酚类化合物的物理和化学性质。在普通的荧光光谱法中, 或者固定激发波长来测定发射光谱, 或者固定发射波长来测定激发光谱, 得到的是一条线谱数据, 提供的信息量有限。而三维荧光光谱的荧光强度则是激发波长和发射波长的二元函数, 这种技术的优点在于它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, 可以得到比普通光谱更进一步的信息。

对于每一种荧光物质, 都有其特有的三维荧光光谱特征信息。本文采用具有更高选择性的三维荧光光谱法对苯酚、间甲酚和麝香草酚3种酚类化合物进行了荧光光谱特征分析。

1 实验原理

1.1 定量分析依据

荧光是由物质吸收光能后发射而出, 因此, 溶液的荧光强度 F 和溶液吸收光能的程度以及物质的荧光量子产率有关

$$F = \varphi_f (I_0 - I_t) \quad (1)$$

根据朗伯-比尔定律

$$A = -\lg T = \epsilon bc \quad (2)$$

得到荧光强度与浓度的关系如下

$$F = \varphi_f I_0 (1 - e^{-2.303\epsilon bc}) \quad (3)$$

将式(3)中 $e^{-2.303\epsilon bc}$ 展开得

$$F = \varphi_f I_0 \left(2.303\epsilon bc - \frac{(2.303\epsilon bc)^2}{2!} + \frac{(2.303\epsilon bc)^3}{3!} + \dots \right) \quad (4)$$

当 $2.303\epsilon bc < 0.05$ (溶液很稀, 浓度很小) 时, (4) 式括号中第一项以后的各项均可忽略不计

$$F = \varphi_f I_0 2.303\epsilon bc \quad (5)$$

式中, F 为荧光强度, φ_f 为荧光量子产率, I_0 为入射光强度,

收稿日期: 2009-06-02, 修订日期: 2009-09-06

基金项目: 国家(863计划)项目(2007AA061502)资助

作者简介: 王欢博, 女, 1984年生, 中国科学院安徽光学精密机械研究所硕士生 e-mail: hbwang@aiofm.ac.cn

* 通讯联系人 e-mail: yjzhang@aiofm.ac.cn

I_t 为透射光强度, T 为透射率, ϵ 为摩尔吸收系数, b 为溶液厚度, c 为溶液的浓度。

由公式(5)可知, 对于一荧光物质的稀溶液, 荧光强度与浓度成线性关系, 因此可用于荧光物质的定量分析。

1.2 检出限

根据 1998 年发表的《分析术语纲要》中规定检出限的定义为

$$c_{l.} = \frac{K \cdot S_b}{m} \quad (6)$$

其中 m 为低浓度范围内浓度与荧光强度关系式的斜率; S_b 为 20 次测量空白样的标准偏差, 置信因子 K 取 3, 对应的置信度约为 90%。

2 实验部分

2.1 主要仪器与试剂

实验中使用带有 150 W 氙灯的日立 F-7000 型荧光分光光度计和 1 cm 石英比色皿扫描样品的三维荧光光谱; 苯酚和间甲酚(上海化学试剂有限公司); 麝香草酚(天津市光复化工精细研究所); 乙醇为色谱纯; 实验用水为 Molecular 自制的超纯水。

2.2 实验方法

储备液的配制: 分别称取苯酚、间甲酚和麝香草酚 0.250 g 于 250 mL 容量瓶中, 用色谱纯乙醇配制成 $1\ 000\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 一级储备液, 避光保存; 取出一定体积的一级储备液, 用超纯水均配制成 $10\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的苯酚、间甲酚和麝香草酚的二级储备液。

工作液的配制: 分别取出适量 3 种酚类化合物二级储备液于 100 mL 容量瓶中, 用超纯水稀释至 0.02, 0.05, 0.08,

0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.8, 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.3 仪器参数设置

激发波长 EX: 240~360 nm, 每间隔 2.0 nm 取一个数据; 发射波长 EM: 260~500 nm, 每间隔 2.0 nm 取一个数据; 狭缝宽度均为 5.0 nm; 扫描速度为 $12\ 000\ \text{nm} \cdot \text{min}^{-1}$; PMT 电压 700 V; 响应时间: 自动; 扫描光谱进行仪器自动校正。

3 实验结果与讨论

3.1 三维荧光光谱数据预处理

在所选取的激发发射波长范围内, 三维荧光光谱包含瑞利散射和拉曼散射, 如图 1(a) 所示。瑞利散射为弹性散射, 没有能量损失, 发射波长与激发波长相等; 而拉曼散射为非弹性散射, 由于存在能量损失, 因此发射波长要长于激发波长。由于散射与分析物质组成无关, 为了清晰地反映出酚类化合物的三维荧光光谱特征, 在本文中对原始数据进行了预处理以消除瑞利和拉曼散射的影响。

在三维荧光光谱等强度线图中, 横坐标表示发射波长 λ_{em} , 纵坐标表示激发波长 λ_{ex} , 等高线表示荧光强度。在图 1(b) 中, 线 1 和线 3 分别为水的一级和二级瑞利散射, 线 2 为水的拉曼散射。本文通过将瑞利散射线的上方置零的方法消除瑞利散射的影响, 其结果如图 1(a) 所示。由于水的拉曼散射很弱, 通过扣除空白样数据就能消除其影响, 扣除背景后的结果如图 1(c) 所示。

3.2 苯酚、间甲酚及麝香草酚的三维荧光光谱

通过数据预处理后得到浓度均为 $0.3\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 3 种酚类化合物的等强度线图如图 2 所示。

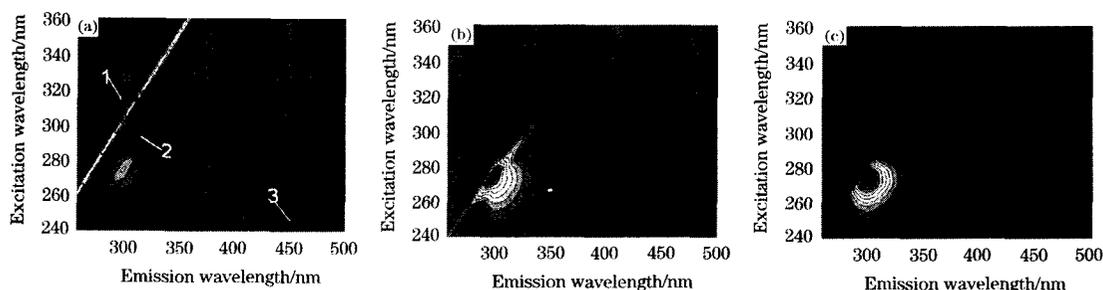


Fig. 1 Excitation-emission fluorescence

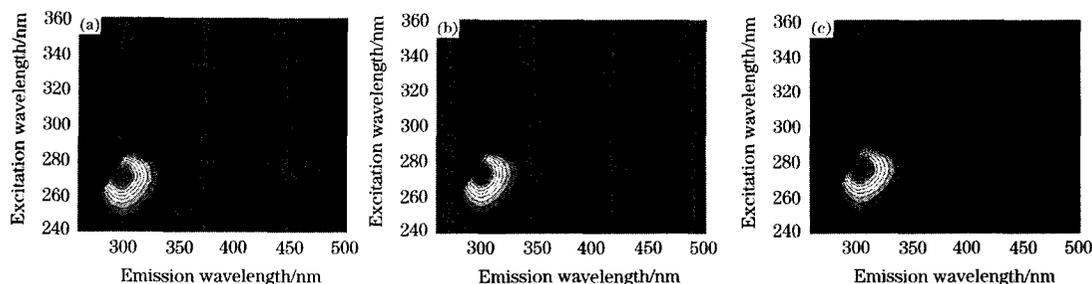


Fig. 2 Three-dimensional fluorescence spectra of phenol (a), *m*-cresol (b) and thymol (c)

从图2中可以看出,在相同外界条件下,浓度均为 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 三种酚类化合物的三维荧光光谱形状极为相似,这主要与苯酚、间甲酚及麝香草酚本身的结构有关,3种酚类化合物的分子结构如图3所示。物质之所以具有荧光是由于其结构中具有低能量 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁的芳香结构或共轭生色团,

并且体系中 π 电子共轭度越大,荧光强度越大,同时伴随着荧光峰红移。在3种酚类化合物中所含有的共轭 π 电子结构均为苯环,C原子骨架相同,因此苯酚、间甲酚和麝香草酚的三维荧光光谱形状极为相似。

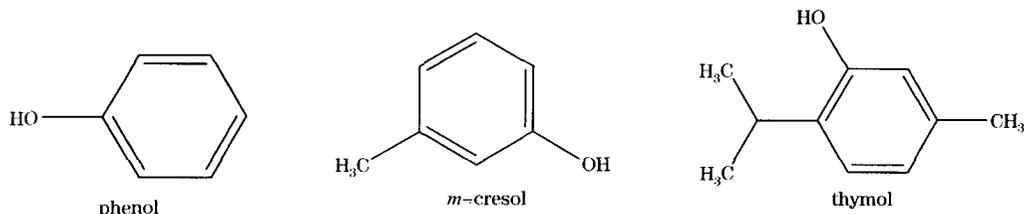


Fig. 3 Molecular structure of phenol, m-cresol and thymol

3.3 苯酚、间甲酚及麝香草酚的激发-发射光谱光谱图

图4为3种酚类物质的激发和发射二维光谱图,从图可以看出,苯酚、间甲酚和麝香草酚的激发和发射荧光峰位置分别位于 $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 272/300, 274/300$ 和 $276/304 \text{ nm}$ 。产生这种荧光峰位置红移现象,主要是由于苯环上取代基的影响^[18]。在间甲酚和麝香草酚分子结构中,含有供电子基团甲基和异丙基,两种供电子基团能够使苯环上的共轭 π 电子密度增加,从而使非定域 π 电子易激发,所需能量减小,致使荧光光谱发生红移。从图4中还可以看出,3种物质的发射

波长均大于激发波长,这是在溶液荧光光谱中存在的一个普遍现象——斯托克斯位移。产生斯托克斯位移主要是由于荧光光谱是分子从第一电子激发态的最低振动能级回到基态的各个不同振动能级所发出的光,而激发光谱则是分子从基态跃迁至第一电子激发态或更高电子激发态的各个不同振动能级所吸收的光能量,这样从较高电子激发态的不同能级回到第一电子激发态的最低振动能级过程中就存在着能量损失,这种能量损失都是以热能的形式释放出来,包括振动弛豫和内转换等,从而导致物质的发射波长大于激发波长。

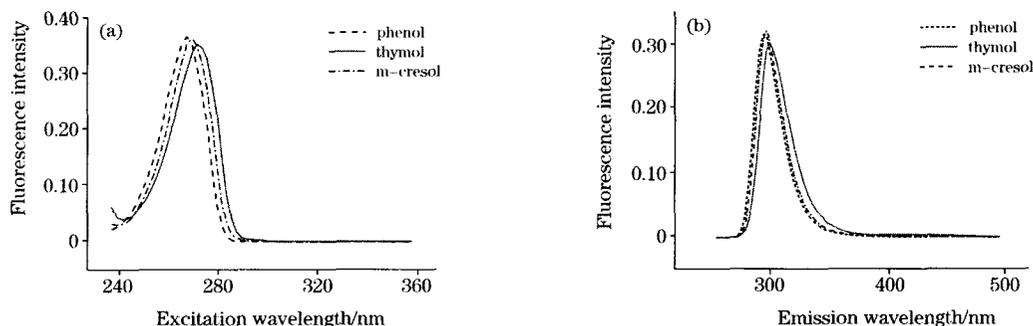


Fig. 4 The excitation spectra (a) and emission spectra (b) of phenol, m-cresol, and thymol

3.4 标准曲线及检出限

3种酚类化合物工作液的最高浓度均为 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,满足稀溶液的要求,选取各物质荧光峰位置处的荧光强度对9个工作液浓度进行最小二乘拟合得到的拟合图如图5所示,

得到的线性回归方程及相关系数如表1所示。

实验中测量的空白样为超纯水,由公式(6)得到的苯酚、间甲酚和麝香草酚的检出限如表1所示。

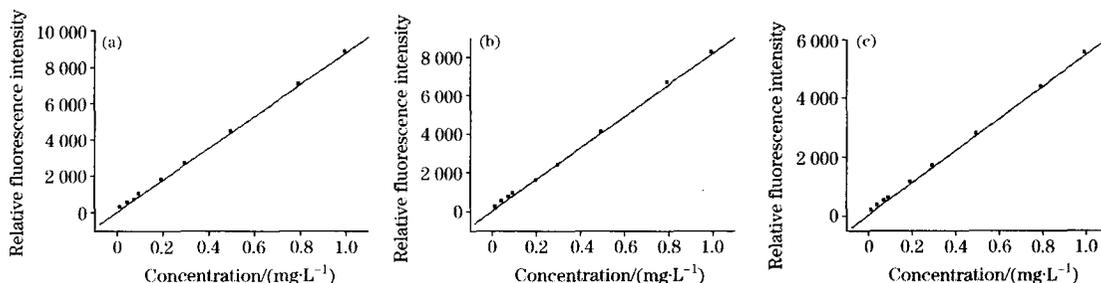


Fig. 5 Standard curve of phenol (a), m-cresol (b) and thymol (c)

Table 1 Regression equation and correlation coefficient

酚类物质	荧光峰位 $\lambda_{ex}/\lambda_{em}/nm$	线性回归方程	相关系数	检出限/($mg \cdot L^{-1}$)
苯酚	272/300	$y=8\ 740.778\ 13x+37.191\ 86$	0.999 96	0.000 6
间甲酚	274/300	$y=8\ 158.903\ 79x+18.927\ 05$	0.999 87	0.000 7
麝香草酚	276/304	$y=5\ 447.177\ 28x+24.578\ 81$	0.999 95	0.001

4 结 论

通过对 3 种酚类化合物的三维荧光光谱分析, 确定了苯酚、间甲酚和麝香草酚的荧光峰位置, 工作液浓度在 $0.02 \sim$

$1.0\ mg \cdot L^{-1}$ 范围内与荧光强度之间有良好的线性关系。用三维荧光光谱法测定苯酚、间甲酚和麝香草酚得到的检出限都很低, 达到 $1\ \mu g \cdot L^{-1}$, 因此可用三维荧光光谱法对痕量酚类化合物进行分析。

参 考 文 献

- [1] Fan Yi, Feng Yu-Qi. *Anal. Chim. Acta*, 2003, 484: 145.
- [2] Oscar Ballesteros, Rosario Blanc. *Talanta*, 2000, 52: 845.
- [3] Gatti R, Gioia M G. *Anal. Chim. Acta*, 2001, 447: 89.
- [4] Pavel Kuban, Hugh Flowers. *Anal. Chim. Acta*, 2001, 437: 115.
- [5] Saitoh T, Nakayama Y. *J. Chromatogr. A*, 2002, 972: 205.
- [6] LIAO Fang, YANG Zhen-de, HUANG Qing-hua(廖芳, 杨振德, 黄庆华). *Herald of Medicine(医药导报)*, 2005, 24: 868.
- [7] Drinking Water Regular Indices(生活饮用水常规指标). GB5749—85, Health Standards of the Drinking Water(生活饮用水卫生标准).
- [8] FENG Li-juan, XIN Chang-bo(冯立娟, 辛长波). *Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory(光谱实验室)*, 2002, 19: 267.
- [9] Chen Xin-miao, Zhang Tao-zhi. *Microchim. Acta*, 2006, 155: 415.
- [10] Lee Xiao-Pen, Kumazawa Takeshi. *Anal. Lett.*, 2002, 35: 2093.
- [11] Llompart M, Plorenzo R A. *Analyst*, 1997, 122: 133.
- [12] Kovacs A, Kende A. *J. Chromatogr. A*, 2008, 1194: 139.
- [13] Fustinoni S, Mercadante R. *Journal of Chromatography B*, 2005, 817: 309.
- [14] Asan A, Isildak I. *J. Chromatogr. A*, 2003, 988: 145.
- [15] King R A, May B L. *Analytical Biochemistry*, 2009, 384: 27.
- [16] Rogers K, R Becker J Y. *Field Analytical Chemistry and Technology*, 1999, 3: 161.
- [17] Tsuruta Y, Watanabe S. *Analytical Biochemistry*, 1996, 243: 86.
- [18] ZHAO De-feng, GAO Xin-qin(赵德丰, 高欣钦). *Dyestuff Industry(染料工业)*, 1995, 32: 1.

Excitation-Emission Fluorescence Characterization Study of the Three Phenolic Compounds

WANG Huan-bo, ZHANG Yu-jun*, XIAO Xue, JIN Dan, ZHAO Nan-jing, YIN Gao-fang, GUO Li-quan, LIU Wen-qing
Key Laboratory of Environmental Optics & Technology, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China

Abstract The fluorescence intensity information was collected by scanning its fluorescence spectra at different excitation wavelengths. Based on its high sensitivity and selectivity, excitation-emission fluorescence can be widely used for detection of pollutants in the environment. The characterizations of the three phenolic compounds were investigated by this method, and the fluorescence peaks of phenol, m-cresol and thymol were confirmed at 272/300 nm, 274/300 nm and 276/304 nm when the excitation and emission wavelength were set in the range of 240-360 nm and 260-500 nm respectively. The excitation and emission spectra of the three phenolic compounds are very similar because of their analogical structure. The intensity of the spectrum has a good linear relationship with the concentration when the solution concentration is between 0.02 and $1.0\ mg \cdot L^{-1}$, and the limits of detection can reach at $1\ \mu g \cdot L^{-1}$. Results show that the three compounds can be analyzed qualitatively and quantitatively by excitation-emission fluorescence.

Keywords Phenol; m-cresol; Thymol; Excitation-emission fluorescence; Fluorescence characterization

* Corresponding author

(Received Jun. 2, 2009; accepted Sep. 6, 2009)