

矿物油-乙醇溶液三维荧光光谱的实验研究

肖雪, 张玉钧, 王志刚, 金丹, 殷高方, 赵南京, 刘文清

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

摘要 研究了矿物油-乙醇溶液的三维荧光光谱特性。通过空白扣除法消除了乙醇的拉曼散射对矿物油三维荧光光谱的影响, 而采用将瑞利散射及其附近区域置零的方法去除了瑞利散射对矿物油三维荧光光谱的影响。经校准, 矿物油的三维荧光光谱特征荧光峰表现为: 煤油主要为一个宽峰, 最大激发/发射荧光峰的位置在 270/290 nm 附近; 0# 柴油有两个峰, 最大激发/发射峰分别位于 240/344 nm 和 270/362 nm 附近; 润滑油存在多个荧光峰, 其中两个比较强的最大激发/发射峰分别位于 240/348 nm 和 258/358 nm 附近。此外, 还研究了矿物油的荧光光谱强度与浓度的关系, 并对测量的灵敏度和检测限进行了分析。研究表明, 利用三维荧光光谱特征测量可以实现低浓度矿物油的测定。

关键词 矿物油; 三维荧光光谱; 散射

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2010)06-1549-06

引言

荧光光谱法因其具有较高的灵敏度和较好的选择性, 在医学、生物学、环境科学、农业学、化工等领域中得到了广泛的应用。然而, 随着分析对象的不断发展、分析任务的日益复杂, 常规的荧光分析法已很难满足要求。因为常规的荧光分析所测得的光谱是二维谱图, 包括固定激发波长而扫描发射(即荧光测定)波长所获得的发射波长, 和固定发射波长而扫描激发波长所获得的激发光谱。但是, 实际上荧光强度应是激发和发射这两个波长变量的函数, 所以常规的荧光光谱不能完整地描述荧光物质的光谱特征^[1]。另外, 常规的荧光分析法也很难解决复杂的多组分混合物的荧光光谱重叠问题。三维荧光光谱技术是 20 世纪 80 年代发展起来的一种新的荧光分析技术。三维荧光光谱(three-dimensional fluorescence spectrum)又被称作总发光光谱(total luminescence spectra)、激发-发射矩阵(excitation-emission matrix, 简称 EEM)或等高线光谱(contour spectra), 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, 因而能提供比常规荧光光谱更完整的光谱信息, 可作为一种很有价值的光谱指纹技术^[2]。

近年来, 随着石油的大量开采和广泛使用, 油对水体和土壤的污染已成为一个越来越严重的问题, 对环境和人类生活造成极大的影响, 因此对油“指纹”的监测具有十分重要的

意义。目前油类监测的方法主要有重量法、浊度法、色谱法、电阻法、热解法、紫外吸收法、荧光“指纹”法、非分散红外吸收法、红外分光光度法等^[3]。其中荧光“指纹”法最为简单、灵敏、快速^[4-7]。本文研究了不同种矿物油的三维荧光光谱特性, 通过荧光光谱分析得到荧光强度与浓度之间的定量关系, 以为研制多组分复杂矿物油的快速、在线测量设备提供基础。

1 实验部分

1.1 样品和试剂

实验中的矿物油(包括 0# 柴油、煤油、润滑油)均为市售商品油, 使用的乙醇为色谱纯的无水乙醇(纯度 99.9%, 天津市大茂化学试剂厂), 未做进一步提纯。

1.2 实验仪器

三维荧光光谱测定在 Hitachi F-7000 型荧光光谱分析仪上进行。激发光源为 150 W 氙灯; PMT 电压 700 V, 带通(Bandpass)Ex=5 nm, Em=5 nm, 响应时间为自动, 扫描速度 12 000 nm·min⁻¹, 扫描光谱进行仪器自动校正。 $\lambda_{ex}=240\sim 360\text{ nm}$, $\lambda_{em}=260\sim 600\text{ nm}$ 。

1.3 测量原理^[8, 9]

矿物油中包含很多荧光物质, 其中占主导地位的是芳香族化合物和含共轭双键化合物, 它们均具有 π 电子的不饱和和结构, 离域 π 电子吸收激发能而跃迁到较高激发态, 从激

收稿日期: 2009-07-08, 修订日期: 2009-10-12

基金项目: 国家(863 计划)项目(2007AA061502)和安徽省自然科学基金项目(090415215)资助

作者简介: 肖雪, 1981 年生, 中国科学院安徽光学精密机械研究所助理研究员 e-mail: xiaoxue@aiofm.ac.cn

发态回到基态时发射荧光, 因此矿物油具有较强的荧光特性。不同矿物油所含荧光物质种类以及各类荧光物质的比例不同, 因此相同激发条件下不同矿物油具有特征的荧光光谱“指纹”, 可用于对矿物油进行鉴定分析。

1.4 实验方法

实验中各种矿物油-乙醇溶液的配制按照化学标准程序进行。首先制备矿物油、乙醇混合的储备液(0#柴油为 $2\ 500\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 润滑油为 $2\ 500\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 煤油为 $1\ 000\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 然后分别移取一定量的储备液, 将不同的矿物油样品

配制成 $0.1 \sim 10\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 一系列不同种类和浓度的溶液。

2 实验结果

2.1 3种油的三维荧光光谱及其校准

图1为仪器测量得到的 $1\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的煤油、0#柴油和润滑油的乙醇溶液的三维荧光光谱。图1左侧的是立体图, 图中每条曲线表示在特定激发波长 λ_{ex} 下, 荧光强度随发射波长 λ_{em} 的变化。图1右侧的是等高线图, 图中横坐标为荧光

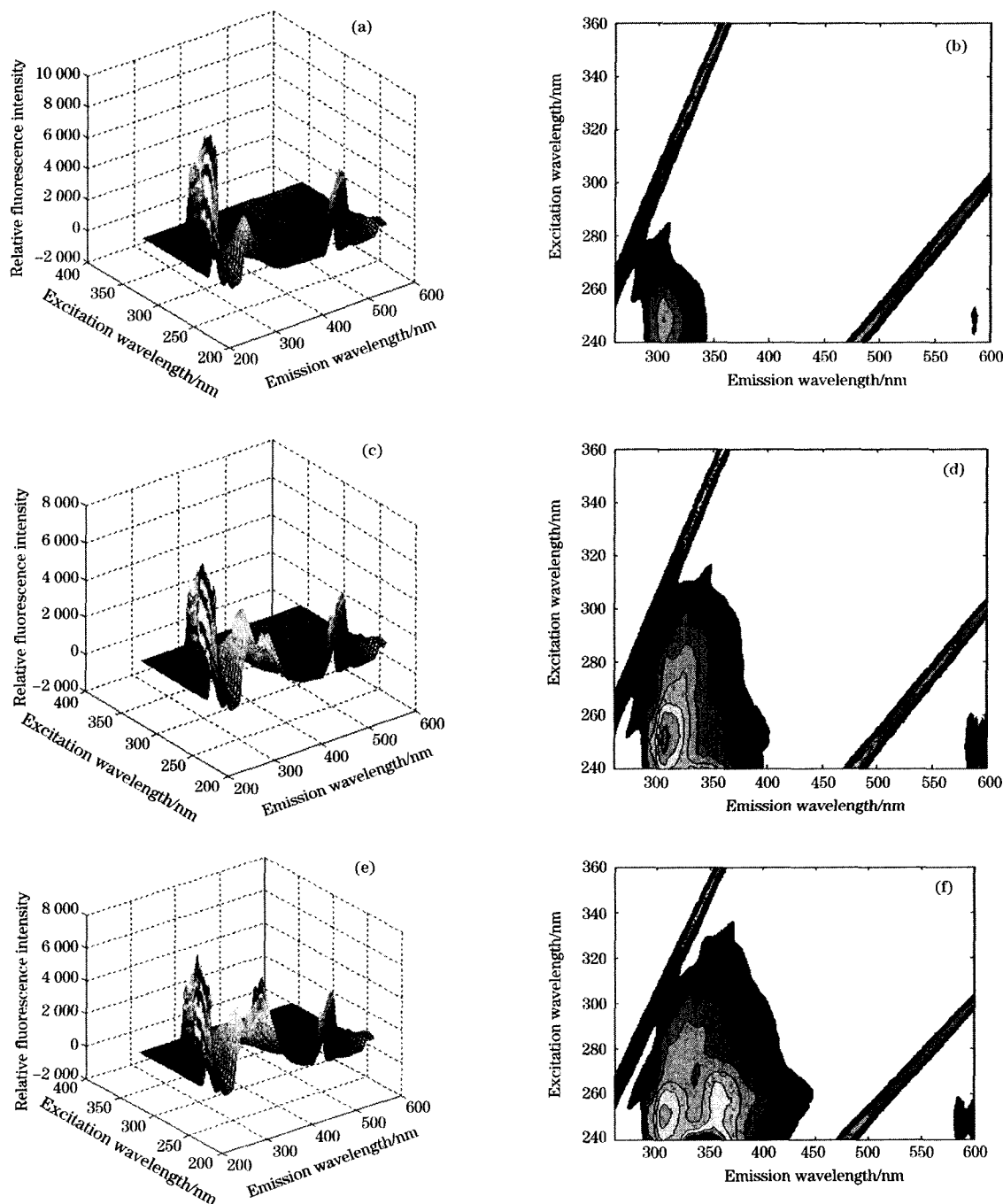


Fig. 1 Three-dimensional fluorescence spectra and contour plots of kerosene(top), 0# diesel oil(middle) and lubricating oil(bottom) in ethanol

发射波长 λ_{em} ，纵坐标为激发波长 λ_{ex} ，平面上的点表示由两个波长所决定的荧光强度，将荧光强度相等的各点连接起来，便构成了由一系列等强度线组成的等高线光谱图，等高线自外向内表示荧光强度逐步增强。

图 1 中除了荧光峰外，还存在着乙醇溶剂的散射峰。由于散射峰的存在会影响三维荧光光谱的特征分析，特别是对于低含量样品的分析干扰尤为严重，因此必须予以消除。散射是由于介质中存在的微小粒子(异质体)或者分子对光的作

用，使光束偏离原来的传播方向而向四周传播的现象。散射主要有瑞利散射和拉曼散射 2 种类型，其中瑞利散射强度较大，会掩蔽荧光物质的荧光信息。瑞利散射公式^[10]为

$$I = \frac{24\pi^2 A^2 \nu V^2}{\lambda^4} \left(\frac{n_1^2 - n_2^2}{n_1^2 + 2n_2^2} \right)^2$$

式中： I 为散射光强， A 为入射光的振幅， λ 为入射光的波长， ν 为单位体积中的粒子数， V 为每个粒子的体积， n_1 和 n_2 分别为分散相和分散介质的折射率。瑞利散射强度与入射

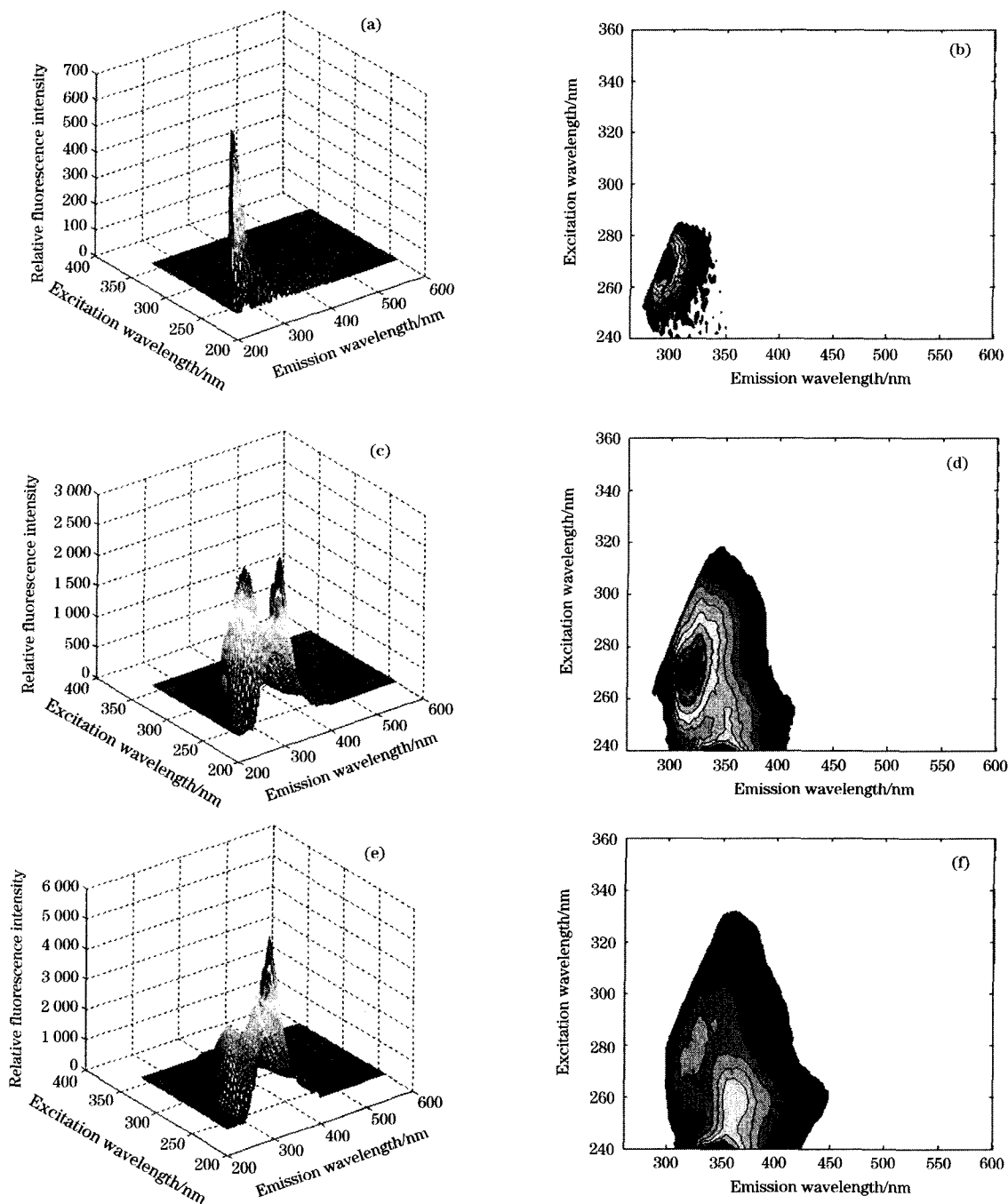


Fig. 2 Corrected three-dimensional fluorescence spectra and contour plots of kerosene(top), 0# diesel oil(middle) and lubricating oil(bottom)

光波长的 4 次方 (λ^4) 成反比, 在瑞利散射线各点的 $\lambda_{ex} = \lambda_{em}$ 。另外, 在激发波长的二倍处出现的二级瑞利散射(second order Rayleigh scattering)也会影响着三维荧光光谱的定性和定量分析。

除了瑞利散射, 大多数溶液还有因溶剂引起的较弱的拉曼散射。拉曼散射通常要比激发波长稍长一些, 且随激发波长的改变而改变, 但与激发波长维持一定的频率差。当激发光的光子与作为散射中心的分子相互作用时, 大部分光子只是发生改变方向的散射, 而光的频率并没有改变, 大约有占总散射光的 $10^{-10} \sim 10^{-6}$ 的散射不仅改变了传播方向, 也改变了频率, 这种频率变化了的散射就称为拉曼散射。拉曼散射峰可能会重叠在三维荧光光谱上使后者变形。

由于所有溶剂均存在拉曼散射^[11], 本文采用空白扣除法^[12]来消除拉曼散射的影响, 即将样品三维荧光光谱与空白三维荧光光谱进行差减。然而, 这种方法无法将瑞利散射完全去除, 从而会影响低浓度样品的三维荧光光谱的分析。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, 可以在发射波长等于 1 倍和 2 倍激发波长处及其邻近区域(± 20 nm)的区域结果置零, 以去除瑞利散射的影响。另外, 在三维荧光光谱中还有两个需要特别注意的部分, 在溶液的荧光光谱中, 所观察到的荧光的波长总是大于激发光的波长, 所以可以将发射波长小于激发波长的区域置零; 对于发射波长大于二倍激发波长的区域, 在不影响荧光分析的情况下, 本文也将此区域置零。图 2 为校正之后的浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的煤油、0# 柴油和润滑油的三维荧光光谱图。矿物油一般为混合物, 它的荧光峰一般为一个或几个, 反映一种或几种主要成分。由煤油的三维荧光光谱图[图 2(a), (b)]可以看出, 煤油的三维荧光光谱主要为一个宽峰, 最大激发/发射荧光峰的位置在 270/290 nm 附近。而 0# 柴油的三维荧光光谱图[图 2(c), (d)]中有两个峰, 表明柴油是一种混合物, 它的 2 种主要成分的最大激发/发射峰分别位于 240/344 nm 和 270/362 nm 附近。润滑油的三维荧光光谱图[图 2(e), (f)]中也存在多个荧光峰, 其中两个比较强的最大激发/发射峰分别位于 240/348 nm 和 258/358 nm 附近。

2.2 荧光光谱与溶液浓度之间的关系

在 $0.1 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度范围内, 分别测定一系列浓度梯度下的 3 种矿物油-乙醇溶液的三维荧光光谱。取不同浓度下的矿物油的三维荧光的峰值强度, 如: 270/290 nm 下的煤油的荧光峰强度, 270/362 nm 下的 0# 柴油的荧光峰强度, 258/358 nm 下的润滑油的荧光峰强度, 以浓度为横坐标, 相对荧光强度为纵坐标作图, 图 3~图 5 分别给出了煤油、0# 柴油和润滑油的浓度与其相对应的相对荧光强度的关系曲线。煤油的浓度与其相对荧光强度之间的关系曲线为: $y_1 = 646.70882x_1 - 6.8741$, $R_1^2 = 0.99938$; 0# 柴油的浓度与其相对荧光强度之间的关系曲线为: $y_2 = 2230.78435x_2 + 87.00019$, $R_2^2 = 0.99945$; 润滑油的浓度与其相对荧光强度之间的关系曲线为: $y_3 = 3589.84807x_3 + 32.53315$, $R_3^2 = 0.99974$ 。实验结果表明, 矿物油的浓度与其相对荧光强度之间具有良好的线性关系, 即随着矿物油浓度的增加, 其相对荧光强度也呈线性增加。

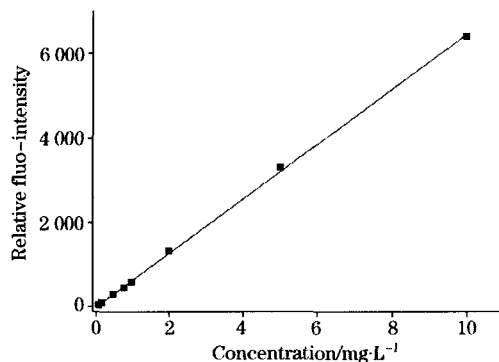


Fig. 3 Relationship between kerosene concentrations and relative fluorescence intensity

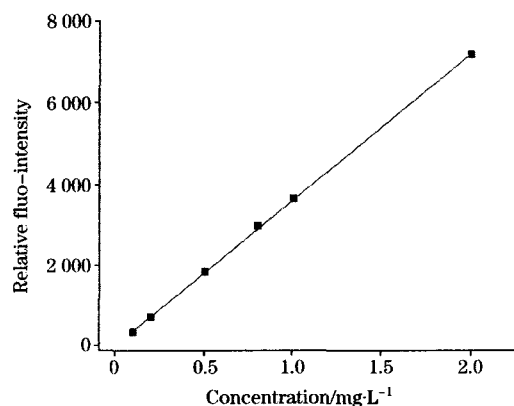


Fig. 4 Relationship between 0# diesel oil concentrations and relative fluorescence intensity

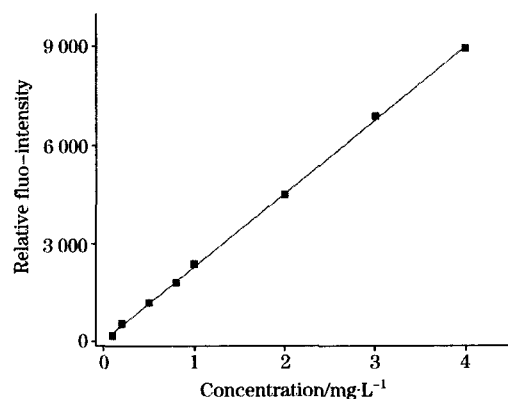


Fig. 5 Relationship between lubricating oil concentrations and relative fluorescence intensity

2.3 测量灵敏度与检出限

根据国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)的规定, 灵敏度的定量定义是校正灵敏度, 它是指在测定浓度范围中校正曲线的斜率^[13]。通过煤油、0# 柴油和润滑油的浓度与相对荧光强度之间的关系曲线可知, 煤油、0# 柴油和润滑油的测量灵敏度(即工作曲线的斜率)分别为: 646.70882, 2230.78435, 3589.84807。

IUPAC1997年通过,1998年发表的《分析术语纲要》(IUPAC Compendium of Analytical Nomenclature)中规定:“检出限以浓度(或质量)表示,是指由特定的分析步骤能够合理地检测出的最小分析信号求得的最低浓度(或质量)”。表达式为

$$c_L(\text{或 } q_L) = \frac{x_L - \bar{x}_M}{S} = \frac{k s_M}{S}$$

式中 \bar{x}_M 为空白平均值,空白指与待测样品组成完全一致但不含待测组分的样品; S (灵敏度 sensitivity)为分析校准曲线在低浓度范围内的斜率。 k 为根据所需的置信度选定的常数,IUPAC建议取 $k=3$ 作为检出限计算标准,对于严格的单侧高斯分布 $k=3$ 对应的置信度为99.6%。由于 \bar{x}_M 与 s_M 均基于有限次的测定,因此实际上 $3s_b$ 通常对应的置信度约为90%。经8次空白实验得到标准偏差,并用3倍的标准偏差除以工作曲线的斜率,得到煤油、0#柴油和润滑油的检出限分别为0.46,0.13,0.08 mg·L⁻¹。

油)-乙醇溶液的荧光光谱特性。采用空白扣除法及部分区域置零的方法对荧光谱中的散射峰进行了校准,校准后,矿物油的三维荧光光谱特征荧光峰表现为:煤油主要为一个宽峰,最大激发/发射荧光峰的位置在270/290 nm附近;0#柴油有两个峰,最大激发/发射峰分别位于240/344 nm和270/362 nm附近;润滑油存在多个荧光峰,其中两个比较强的最大激发/发射峰分别位于240/348 nm和258/358 nm附近。通过曲线拟合的方法分析了矿物油的相对荧光强度与浓度之间关系,得到了在0.1~10 mg·L⁻¹的浓度范围内,矿物油的相对荧光强度与浓度之间存在着良好的线性关系,由此可为矿物油的定量分析提供参考依据。3种矿物油的检测限的分析结果表明,利用三维荧光光谱测量矿物油的方法可以达到较低的检测限,足以满足环境监测中对污染油的监测要求。该研究结果也为进行实际水环境中的油种类的识别以及矿物油特征荧光谱图的建立提供了参考。

3 结 论

利用三维荧光光谱研究了矿物油(煤油、0#柴油和润滑

参 考 文 献

- [1] LIU Zhi-hong, CAI Ru-xiu (刘志宏, 蔡汝秀). Journal of Analytical Science(分析科学学报), 2000, 16(6): 516.
- [2] XU Jin-gou, WANG Zun-ben(许金钩, 王尊本). Fluorescence Analysis Method(Third Edition)(荧光分析法, 第3版). Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 2006.
- [3] ZHENG Jian, ZHOU Jian-guang, CHEN Huan-wen, et al(郑 健, 周建光, 陈焕文, 等). Analytical Instrumentation(分析仪器), 2002, (3): 1.
- [4] Moh'd Alostaz, Kevin Biggar, Robert Donhue, et al. Sea to Sky Geotechnique, 2006. 778.
- [5] Sarma A K, Ryder A G. Energy & Fuels, 2006, 20: 783.
- [6] Jan H Christensen, Giorgio Tomasi. Journal of Chromatography A, 2007, 1169: 1.
- [7] TIAN Guang-jun(田广军). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2008, 28(4): 895.
- [8] SHANG Li-ping, LIU Xian-yong, SHI Jin-shan, et al(尚丽平, 刘先勇, 史锦珊, 等). Chinese Journal of Sensors and Actuators(传感技术学报), 2004, 17(2): 325.
- [9] CAO Zhi-kui, DONG Xian-dui(曹志奎, 董献堆). Journal of Northeast Normal University(东北师大学报·自然科学版), 2005, 37(3): 64.
- [10] FU Xian-cai, SHEN Wen-xia, YAO Tian-yang(傅献彩, 沈文霞, 姚天扬). Physical Chemistry (Fourth Edition)(物理化学, 第4版). Beijing: Higher Education Press(北京: 高等教育出版社), 1990. 1009.
- [11] Joseph R Lakowicz. Principles of Fluorescence Spectroscopy. 3rd ed., Springer US publisher, 2006.
- [12] Peter D Wentzell, Sreeja S Nair, Robert D Guy. Anal. Chem., 2001, 73: 1408.
- [13] Wuhan University, Dept. of Chemistry(武汉大学化学系编). Instrumental Analysis(仪器分析). Beijing: Higher Education Press(北京: 高等教育出版社), 2001. 5.

Experimental Studies on Three-Dimensional Fluorescence Spectral of Mineral Oil in Ethanol

XIAO Xue, ZHANG Yu-jun, WANG Zhi-gang, JIN Dan, YIN Gao-fang, ZHAO Nan-jing, LIU Wen-qing

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

Abstract Three-dimensional excitation-emission matrix (EEM) fluorescence spectroscopy was applied to characterize the mineral oil in ethanol. In the paper, a simple way of treating the first-order Rayleigh, Raman and second-order Rayleigh scatter is used involving subtracting an EEM of a solvent blank, and removing and replacing the values with zeros. The corrected results showed that the characteristic three-dimensional fluorescence spectra of mineral oil were as follows: there was one mainly peak in the fluorescence spectrum of the kerosene, and the peak was identified at excitation/emission wavelengths (E_x/E_m) of 270/290 nm; there were two intense fluorescence peaks in the fluorescence spectrum of 0# diesel, located at (E_x/E_m) of 240/344 nm and 270/362 nm respectively; there were several fluorescence peaks in the fluorescence spectrum of lubricating oil, with the two intense peaks located at (E_x/E_m) of 240/348 nm and 258/358 nm respectively. Furthermore, the relation between the relative fluorescence intensity and the concentration of mineral oil was studied, and the sensitivity and the limitation of detection of the method were also analyzed. The results of this study show that the method of three-dimensional fluorescence can be used to detect the low concentration of oil.

Keywords Mineral oil; Three-dimensional fluorescence; Scattering

(Received Jul. 8, 2009; accepted Oct. 12, 2009)