

DOI: 10.3969/j.issn.1673-6141.2010.04.005

环境光学监测技术

基于 PARAFAC 算法的三维荧光光谱法测定四 种混合芳香烃

金 丹^{1,2}, 李国刚³, 张玉钧², 肖 雪², 殷高方², 赵南京², 刘文清²

(1 上海市环境监测中心, 上海 200030 ;

2 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 ;

3 中国环境监测总站, 北京 100029)

摘 要: 三维荧光光谱法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, 能提供更完整的荧光光谱信息。PARAFAC 算法是对不同荧光物质的光谱进行分离, 可以从复杂混合成分的三维荧光光谱数据矩阵中将其各自的特征荧光光谱分解出来。将 PARAFAC 算法与三维荧光光谱法结合, 探究了两组分和四组分荧光光谱严重重叠的非、蒽、芘和荧蒽混合芳香烃溶液的分离检测方法, 得到了良好的测试效果。

关键词: 三维荧光光谱法; 非; 蒽; 芘; 荧蒽

中图分类号: X830.2

文献标识码: A

文献编号: 1673-6141(2010)04-0276-07

Simultaneous Determination of Four Components of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Based on PARAFAC Model of Three-Dimensional Fluorescence Spectroscopy

JIN Dan^{1,2}, LI Guo-gang³, ZHANG Yu-jun², XIAO Xue²,
YIN Gao-fang², ZHAO Nan-jing², LIU Wen-qing²

(1 Shanghai Environmental Monitoring Center, Shanghai 200030, China ;

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

3 China National Environmental Monitoring Center, Beijing 100029, China)

Abstract: Three-dimensional fluorescence spectrometry described the relationship between fluorescence intensity and the wavelength of emission and excitation. More information of fluorescence spectrum can be provided.

收稿日期: 2010-02-02; 修改日期: 2010-03-17

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

E-mail: jindan@semc.gov.cn

Characteristic fluorescence spectrum can be obtained by dividing data matrix of three-dimensional fluorescence spectra from complex mixture by the parallel factor analysis (PARAFAC) model, which can separate the spectrum from different kinds of fluorescence matters. By means of PARAFAC model and three-dimensional fluorescence spectroscopy, the determination of four components with overlapping spectra is described. It has been tested satisfactorily for the analysis of two binary and a quadruplex mixtures consisting of phenanthrene, anthracene, pyrene and fluoranthrene.

Key words: three-dimensional fluorescence spectrometry; phenanthrene; anthracene; pyrene; fluoranthrene

1 引言

根据在水体中存在的有机物绝大部分能发生荧光的特点, 可通过荧光光谱的分析来测定水中的多环芳烃。目前, 荧光分析技术发展迅速^[1-3], 而三维荧光光谱测量分析技术, 不仅具有荧光分析法可以避免费时而繁琐的分离程序、快速精确、适于现场操作等显著优点, 而且由于三维荧光光谱表征了更多的荧光信息而具有高灵敏度和组分选择性的特点, 已经成为一种重要的多组份物质分析手段^[4-5]。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^[6-8]。本文研究的菲 (phenanthrene, PHE)、蒽 (anthracene, ANT)、芘 (pyrene, PY) 和荧蒽 (fluoranthrene, FLA) 就是美国 EPA 规定的水环境中 16 种多环芳烃类优先控制污染物中的四种, 利用 PARAFAC(parallel factor analysis) 算法与三维荧光光谱技术结合, 探究了菲、蒽、芘、荧蒽四种多环芳烃的两组份和四组份混合物的分离检测方法, 取得了令人满意的结果。

2 实验部分

2.1 仪器和试剂

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, 该仪器可根据扫描的荧光光谱数据生成以发射波长为 X 轴、激发波长为 Y 轴、发射荧光强度为 Z 轴的三维荧光光谱图。

实验样品为菲、蒽、芘及荧蒽四种组分不同浓度配比的混合溶液, 菲、芘不同浓度配比的混

合液, 蒽、芘不同浓度的混合液。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。

2.2 实验条件

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, 准确称取一定量的菲、蒽、芘、荧蒽, 分别溶解于无水乙醇中配制成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, 同时按实验要求, 配制两组分和四组分芳烃混合物溶液。

荧光光度计的分析条件: 激发波长 220~400 nm; 发射波长为 300~500 nm; 激发和发射狭缝分别为 5 nm; 扫描速度为 1200 nm/min; 扫描的步长为 2 nm, 计算机采集数据, 得到三维荧光光谱。

3 结果与讨论

3.1 方法原理

复杂体系的总荧光需由激发波长、发射波长和荧光强度等三个参数加以表征。用激发-发射矩阵方式 (excitation-emission matrix, EEM) 表示时, 矩阵的行序表示发射波长, 矩阵的列序表示激发波长, 而矩阵元则表示荧光强度。

单一组分体系的 EEM 表示形式为

$$M = \alpha xy. \quad (1)$$

这里假定 EEM(M) 是三种因子的乘积, 其中 α 为与波长无关而与浓度有关的系数, x 和 y 分别代表荧光发射光谱和激发光谱。单一组份的 EEM 之所以能用这种形式表示, 是基于发射光谱的相对

形状与激发波长无关以及激发光谱的相对形状与发射(即测定)波长无关的事实。

对于含 n 种组份的荧光体系, 其 EEM 形式可表示如下

$$M = \sum_{k=1}^n \alpha^k x^k y^k. \quad (2)$$

这种表示形式意味着, 只要吸光度足够低且组份间不发生能量转移, 所观测到的体系的荧光, 是单个组份的荧光的线性和。

PARAFAC 算法是一种多维分析方法, 同时也是一种分解方法, 是对主成份分析 (PCA) 向更高阶阵列的一种扩展; 在分析时, 可将一个由多个 EEM 数据构成的三维阵列 (样品 \times 激发 \times 发射) 分解为三个载荷矩阵: A 、 B 和 C 。PARAFAC 模型可由 A 、 B 和 C 给出, 包括的元素分别为 a_{if} 、 b_{jf} 和 c_{kf} 。求解三个载荷矩阵 A 、 B 和 C , 使得拟合残差的平方和最小。PARAFAC 模型可表示为

$$\chi_{ijk} = \sum_{f=1}^F a_{if} b_{jf} c_{kf} + \varepsilon_{ijk}, \quad (3)$$

对于 EEM 数据来说, (3) 式中 χ_{ijk} 为第 i 个样品的荧光强度, 此时激发和发射波长分别为矩阵中第 k 行对应的激发波长、第 j 列对应的发射波长; a_{if} 为第 i 个样品第 f 个荧光团的浓度比例分数; b_{jf} 及 c_{kf} 分别为第 f 个荧光团的发射及

激发光谱; F 为独立的荧光团组分数; ε_{ijk} 为模型的余项^[9]。得到的三个载荷矩阵 A 、 B 和 C , 分别为与浓度值相对应的得分、激发光谱和发射光谱。

PARAFAC 模型可以通过交替最小二乘法 (alternating least squares, ALS) 来求解, 先合理的假设其中的两个载荷矩阵, 然后估计出其余的未知参数。

3.2 荧光光谱

3.2.1 单一组分的荧光光谱

由文献 [10] 可知, 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。不难看出, 荧蒽与其他三种多环芳烃的重叠区域不大, 对于两组份分析可先忽略荧蒽与其他组分的分离。

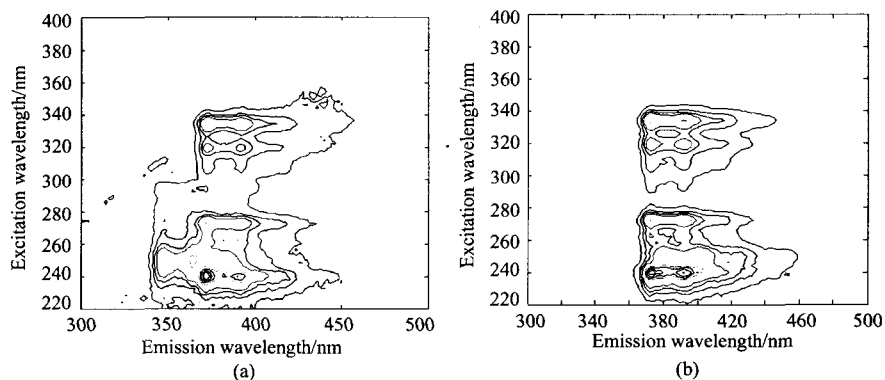


图 1 菲、芘 (a) 和蒽、芘 (b) 二元混合物的三维荧光光谱等值线图

Fig.1 Contour graph of three dimension fluorescence spectra of phenanthrene, pyrene (a); anthracene, pyrene (b)

3.2.2 两组分的荧光光谱

图 1、图 2 分别为实验得到的菲、芘以及蒽、芘两组分的混合体系的三维荧光等高线图 and 激发波长为 250 nm 的荧光发射光谱图, 在图中可以看

到菲、芘以及蒽、芘的荧光峰在激发波长区域和发射波长区域有大面积的重叠, 难以用一般的荧光分析方法将混合液中的各个组分检出。

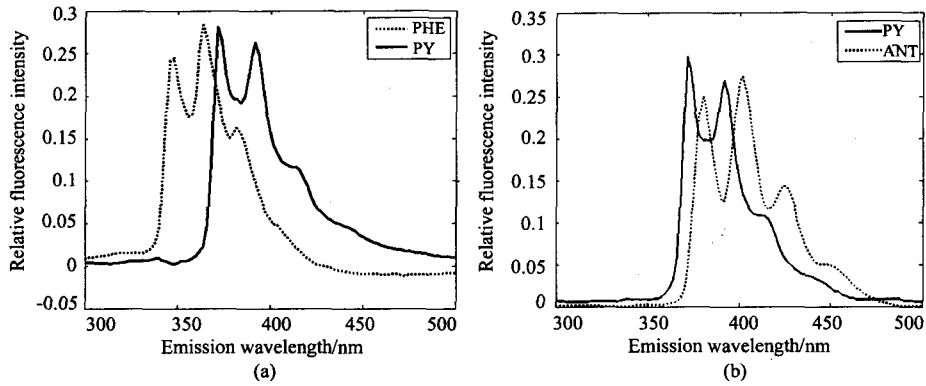


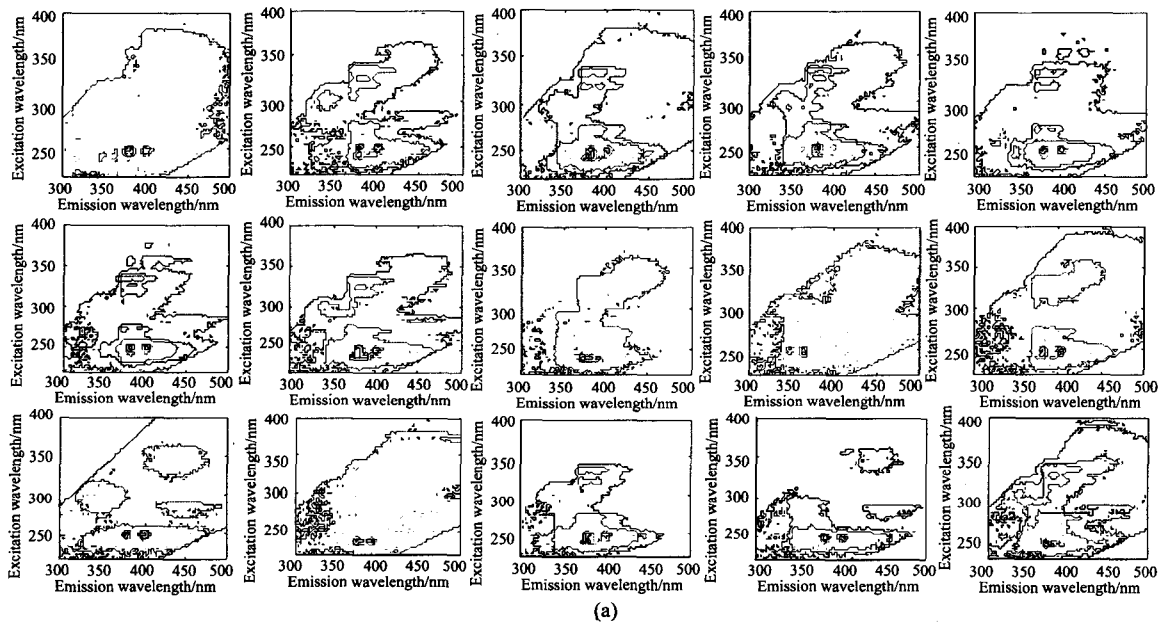
图 2 菲、芘 (a) 和蒽、芘 (b) 二元混合物的荧光光谱图

Fig.2 Fluorescence spectra of phenanthrene, pyrene (a); anthracene, pyrene (b)

3.2.3 四组分的荧光光谱

对于菲、蒽、芘、荧蒽的四组分多环芳烃混合荧光光谱图如图 3(a) 所示, 光谱的重叠现象明显, 运用 PARAFAC 模型, 将四种组分进行了分

离, 分离后的结果见图 3(b)。实验结果表明, 分离后的四组分多环芳烃的三维荧光光谱图与单一组分的三维荧光光谱图具有很好的一致性, 从而实现了组分多环芳烃的分类识别。



(a)

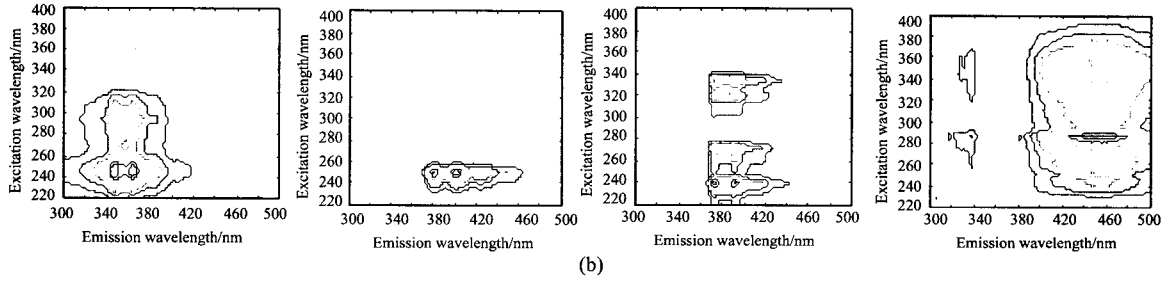


图 3 菲、蒽、芘、荧蒽四元混合物 (a) 及分离后 (b) 的三维荧光光谱等高线图

Fig.3 Contour graph of three dimension fluorescence spectra of mixture solution (a) and separation (b)

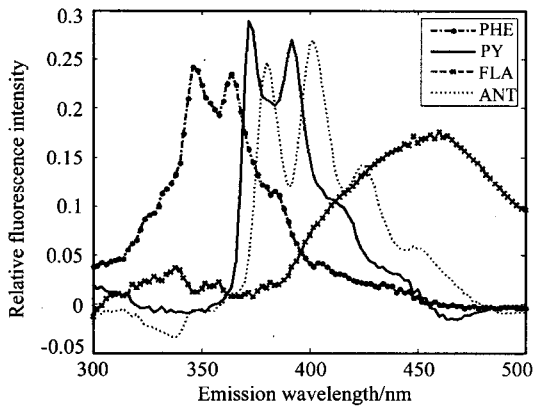


图 4 菲、蒽、芘、荧蒽四元混合物的荧光光谱图

Fig.4 Fluorescence spectra of phenanthrene, anthracene, pyrene and fluoranthrene

图 4 是利用 PARAFAC 算法分离四组分混合液得到的菲、蒽、芘和荧蒽的荧光光谱图, 将其分离后的菲、蒽、芘、荧蒽的荧光光谱与单组份的荧光

光谱进行比较, 分离后的菲荧光谱只有两个强度相当的荧光峰, 而单组份的菲荧光光谱中有三个荧光峰, 并存在一个荧光主峰, 250/380 nm 处的荧光峰没有分离出来, 由此可知分离后的菲荧光光谱受到的干扰较大, 这主要是因为蒽在 250/380 nm 处也存在荧光峰, 从而很可能在分离过程中将该处的荧光峰分辨到蒽的荧光光谱中。

3.3 二组分混合溶液的测定

对配制的一系列不同浓度配比的菲芘二元混合液、蒽芘二元混合液进行分离检测, 其结果见表 1 和表 2, 蒽芘混合液的分离效果优于菲芘混合液, 实验证明菲的荧光区域与芘的重叠较严重。另外, 我们可以看到相同组分芘在不同组分混合的溶液中, 回归方程并不相同, 这可能是分离两种物质时的分离检测波长不同引起的。

表 1 菲芘混合液中菲、芘的测定 ($c/\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

Table 1 Determination of binary mixtures of phenanthrene and pyrene

Component	Item	Sample No.				Regression equation
		1	2	3	4	
PHE(菲)	added	1	2	0.5	1	$c = -0.3919 + 2.0858 \times 10^{-4} F$
	detected	0.687	1.7347	0.2928	0.8611	
	recovery $R/\%$	68.7	86.735	58.56	86.11	
PY(芘)	added	1	1	1	0.5	$c = -0.4394 + 4.3271 \times 10^{-4} F$
	detected	0.9307	0.8698	0.7446	0.4138	
	Recovery $R/\%$	93.07	86.98	74.46	82.76	

表 2 蒽芘混合液中蒽、芘的测定 ($c/\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

Table 2 Determination of binary mixtures of anthracene and pyrene

Component	Item	Sample No.				Regression equation
		1	2	3	4	
ANT(蒽)	added	1	1	1	0.5	
	detected	0.8348	1.2174	0.791	0.383	$c = -0.3502 + 2.3432 \times 10^{-4}F$
	recovery $R/\%$	83.48	121.74	79.1	76.6	
PY(芘)	added	1	0.5	2	1	
	detected	1.0242	0.4608	2.0793	1.0731	$c = -0.1566 + 1.9313 \times 10^{-4}F$
	recovery $R/\%$	102.42	92.16	103.965	107.31	

3.4 四组分混合溶液的测定

用超纯水配制一系列不同浓度配比的菲、蒽、芘和荧蒽的混合溶液 15 份, 其中 1# 到 8# 为处理中的校正样品, 利用校正样品得到的回归方程, 可计算出 9# 至 15# 的检出浓度, 再根据加入浓度值, 可计算出每种组分的回收率, 回收率可直观地反映出分离的效果, 菲、蒽、芘和荧蒽的分离结

果见表 3, 芘和蒽在四种混合物中的分离效果较其他两种的要好些, 回收率在 96%~117% 范围内, 荧蒽的回收率最差, 在 62%~98% 之间, 因为荧蒽的荧光效率较其他三种要低很多, 而且由图 4 可看出荧光峰是一宽峰, 在混合体系中芘和蒽的荧光区域以及背景值都会对其分离检测产生影响。

表 3 菲、蒽、芘、荧蒽的四元混合液中各组分的测定 ($c/\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

Table.3 Determination of binary mixtures of phenanthrene, fluoranthrene anthracene and pyrene

Component	Item	Sample No.							
		9	10	11	12	13	14	15	
PHE(菲)	added	1	1	1	2	1	1	1	
	detected	0.73	0.916	0.9269	1.3969	0.961	0.925	0.8502	
	recovery $R/\%$	73	92	93	70	96	93	85	
FLA(荧蒽)	added	1	1	1	1	1	1	2	
	detected	0.6582	0.9525	0.9768	0.7111	0.6524	0.6147	1.3322	
	recovery $R/\%$	66	95	98	71	65	62	67	
PY(芘)	added	0	1	1	1	1	2	1	
	detected	-0.0096	1.0883	1.0332	1.062	1.1682	2.0003	1.1346	
	recovery $R/\%$		108	103	106	116	100	113	
ANT(蒽)	added	1	0	1	1	2	3	1	
	detected	1.1121	0.0037	0.9569	1.1702	2.0582	3.0081	1.0893	
	recovery $R/\%$	111		96	117	103	100	109	

4 总 结

我们运用三维荧光光谱技术结合 PARAFAC

算法分别检测了水溶液中菲芘二元混合液、蒽芘二元混合液和菲、蒽、芘、荧蒽四组分混合溶液,

达到了消除背景、分离严重重叠光谱的效果, 分析结果良好。根据 Lambert-Beer 定律, 该方法只适用于稀溶液, 因为浓度过高, 会使荧光产生猝灭。因此, 该技术特别适用于荧光量子效率高的微量和痕量分析, 多环芳烃结构中的共轭效应使其具有较高的荧光量子效率^[11], 可以预料三维荧光光谱技术在快速检测多种微量或痕量多环芳烃中具有很大的应用前景。

参考文献:

- [1] Zhao Nanjing, Liu Wenqing, Zhang Yujun, et al. Characteristic and measurement of dissolved organic matter in water [J]. *Advances in Water Science*, 2007, 18(4): 621-631(in Chinese).
赵南京, 刘文清, 张玉钧, 等. 水体中溶解有机物的特性与测量 [J]. *水科学进展*, 2007, 18(4): 621-631.
- [2] Tang Jinwei, Zhuang Meiqi, Xing Xuilian. Analysis of variation of algae and organic matter in raw water transformation using 3-D fluorescence spectroscopy [J]. *Advances in Water Science*, 2007, 18(4): 609-613(in Chinese).
汤金伟, 庄美琪, 邢学联, 等. 用三维荧光光谱图分析原水输送过程中藻类和有机物的变化 [J]. *水科学进展*, 2007, 18(4): 609-613.
- [3] Jin Dan, Li Guogang, Zhang Yujun. Quantitative analysis of phenanthrene and humic acid in solution based on fluorescence method [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2009, 29(8): 2213-2216(in Chinese).
金丹, 李国刚, 张玉钧. 菲及腐殖酸混合液荧光法定量分析研究 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2009, 29(8): 2213-2216.
- [4] Weiner E R. Equivalence of simultaneous scanning and three-dimensional plotting of fluorescence spectra [J]. *Anal. Chem.*, 1978, 50(11): 1583-1584.
- [5] Michelle L N, Karl S B. Excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy in conjunction with multiway analysis for PAH detection in complex matrices [J]. *Analyst*, 2006, 131(12): 1308-1315.
- [6] 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(6): 1211-1218.
- [7] 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]. *Environ. Int.*, 2006, 32(1): 28-33.
- [8] 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).
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.
- [9] Stedmon C A, Markager S, Bro R. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy [J]. *Mar. Chem.*, 2003, 82(3-4): 239-254.
- [10] Jin Dan, Zhang Yujun, Li Guogang, et al. Three-dimensional fluorescence spectral analysis of four kinds of polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. *Journal of Atmospheric and Environmental Optics*, 2008, 3(6): 448-453(in Chinese).
金丹, 张玉钧, 李国刚, 等. 四种多环芳烃的三维荧光光谱解析 [J]. *大气与环境光学学报*, 2008, 3(6): 448-453.
- [11] Chen Guozhen, Huang Xianzhi, Zheng Zhuzi, et al. *Methods of Fluorescence Analysis* [M]. 2nd edition, Beijing: Science Press, 1990: 36-38(in Chinese).
陈国珍, 黄贤智, 郑朱梓, 等. *荧光分析法* [M]. 第二版. 北京: 科学出版社, 1990: 36-38.

作者简介: 金丹 (1983 -), 女, 辽宁辽阳人, 助工, 硕士, 主要从事水环境监测研究。