

三维导数荧光光谱总体积分法同时测定多环芳烃

鄢 远* * 王乐天 许金钩* 林竹光 陈国珍

(厦门大学化学系 厦门 361005)

摘要 本文提出了一种运用 Monte - Carlo 积分求算总荧光强度的三维导数荧光光谱法总体积分法,并应用于多环芳烃萘、苊、芘的同时测定.结果表明,三维导数荧光光谱总体积分法的选择性较三维荧光光谱有进一步的提高,总体积分法的灵敏度比常规单点法提高 10~20 倍.

关键词 三维导数荧光光谱, Monte - Carlo 积分, 多环芳烃

三维荧光光谱是近十几年来发展起来的荧光分析新技术^[1],由于它反映了发光强度随激发波长和发射波长变化的情况,因而能较完整地反映出光谱信息^[2~4].三维荧光光谱不仅可用于进行光谱指纹定性分析^[5],而且可用于多组分混合物的定量分析.本文首次提出三维导数荧光光谱总体积分法,三维导数荧光光谱是将三维荧光光谱求导,求导后谱图的特征不仅进一步增强,而且可以克服一些基体效应,结合总体积分法(简称总积分法)用来同时测定多环芳烃萘、苊、芘.结果表明,三维导数荧光光谱总体积分法的灵敏度较常规单点法都有较大的提高,成功地应用于萘、苊、芘的同时测定,虽然灵敏度较三维荧光光谱总体积分法^[6]略低,但选择性有明显的提高.

1 原理

一般荧光分析法是利用荧光峰的强度进行定量分析,称之为单点法.三维导数荧光光谱总体积分法是将三维荧光光谱求导,根据谱图的特征,选择荧光物质特有的区域进行积分得到总体积分值,然后进行定量分析.采用 Monte - Carlo 积分方法原理如图 1 所示.随机点分布于空间某一区域,在该区域任意位置上出现的几率是相同的.在选定的某一激发 - 发射区域,将出现在荧光峰内的随机点所对应的荧光相对强度值累加起来,得到荧光总体积分值. Monte - Carlo 方法的种子数和采样点数分别选择为 256 和 5000.三维导数荧光光谱总体积分法灵敏度不仅较单点法有较大的提高,相比于三维荧光光谱总体积分法^[6],方法的选择性明显增强.

2 实验

2.1 主要试剂与仪器

配制萘、苊、芘标准溶液,浓度依次为 $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (乙醇助溶), $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

1994 - 10 - 24 收到.修改稿 1995 - 03 - 10 收到.本文系国家自然科学基金资助项目.

* * 现在南昌大学应用化学研究所工作.

(乙醇溶液), $6\mu\text{g}/\text{mL}$ (乙醇溶液), 用时进一步用水稀释. 试剂均为分析纯, 水为二次重蒸水, 乙醇为重蒸乙醇. IBM PC/XT 微机联用 Hitachi-650 10S 荧光分光光度计及自编数据采集程序(12bit A/D).

2.2 实验方法

于 25mL 容量瓶中加入 2.0mL Tris 缓冲液, 一定量的萘、苊、菲标准溶液或混合液, 在 Hitachi-650 10S 荧光分光光度计上进行三维荧光光谱扫描(激发波长和发射波长间隔分别为 5 和 1nm), 三维导数荧光光谱由改进 Savitzky-Golay 法求得, 激发和发射狭缝均为 5nm.

3 结果与讨论

3.1 萘、苊、菲及其混合物的三维导数荧光光谱

萘、苊、菲及其混合物的三维导数荧光光谱的等高图(加偏振片)如图 2 所示. 可以看出, 三维导数荧光光谱的等高图比一般的三维荧光光谱的等高图复杂, 它更能表现出谱图的精细结构. 萘由一般三维荧光光谱中的单峰变成两个峰, 苊、菲由一般三维荧光光谱中的两个峰变成了四个峰. 混合物的加和性很好.

各个组分都有自己的位置和形状. 将混合物的谱图与单组分标准谱图进行比较, 据等高图中荧光峰的位置、形状可进行定性分析, 然后利用每个组分特有的区域, 进行荧光值的总积分, 同时测定各组分含量.

3.2 积分区域的选择和工作曲线的绘制

选择积分区域时, 应注意以下几点:

1. 在荧光峰的峰值变化最明显的区域. 2. 避开拉曼光和瑞利光的影响. 3. 避开与其它组分光谱重叠的部分.

按上述原则选择积分区域, 得到单组分的总积分法标准工作曲线, 如图 3~5 所示. 萘的积分区域选择为 $\lambda_{\text{ex}} = 280 \sim 296\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 305 \sim 333\text{nm}$, 拟合方程为 $F = 679C^{1.16}$ ($\gamma = 0.9990$). 苊的积分区域选择为 $\lambda_{\text{ex}} = 255 \sim 275\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 365 \sim 375\text{nm}$, 拟合方程为 $F = 77628C^{1.46}$ ($\gamma = 0.9993$). 菲的积分区域选择为 $\lambda_{\text{ex}} = 257 \sim 270\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 427 \sim 435\text{nm}$, 拟合方程为 $F = 2305C^{2.00}$ ($\gamma = 0.9992$).

与普通的荧光分析法标准工作曲线的方程不同, 总积分法的拟合方程不是线性形式, 而是呈指数形式, 其指数的相对大小与荧光峰的峰形有关. 这主要是由于采用 Monte-Carlo 积分法(峰值叠加)以及不同荧光物质的三维谱图随浓度的变化有差异. 求导后, 荧光相对强度有所下降, 但分辨率和选择性有所提高, 拟合方程的相关系数比一般荧光法及三维荧光光谱总体积分法有明显改善.

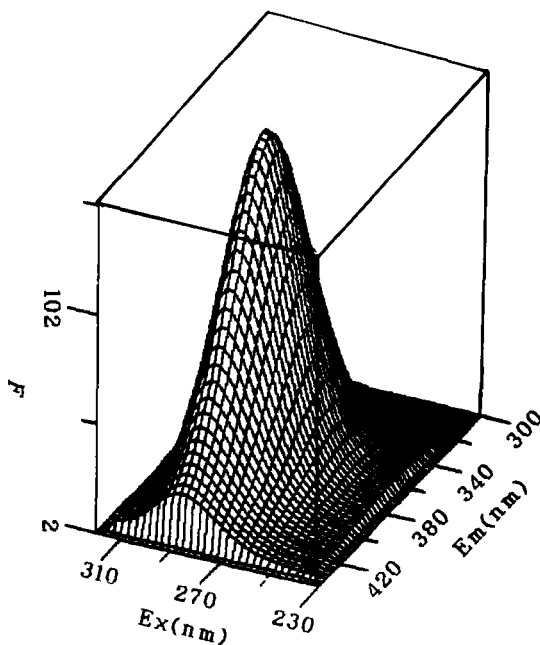


图 1 Monte-Carlo 积分示意图

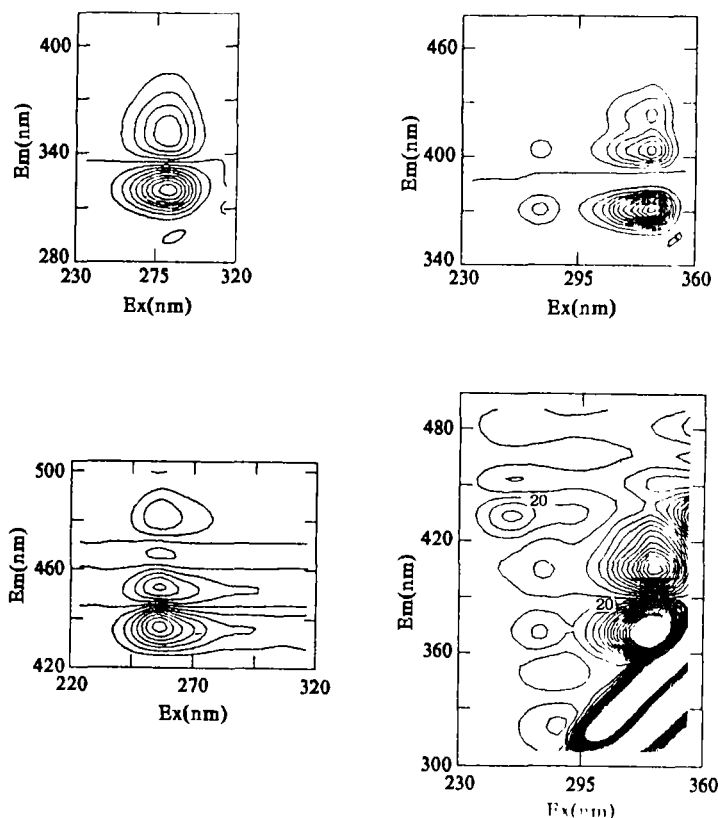


图2 萘、苈、苈及其混合物的三维导数荧光光谱

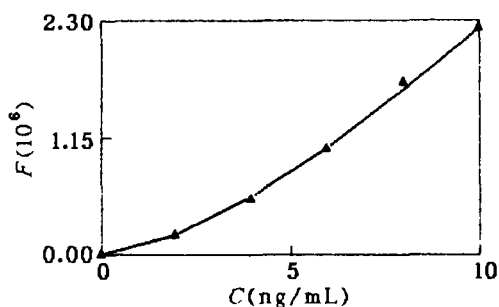


图3 总体积分法测定萘的工作曲线

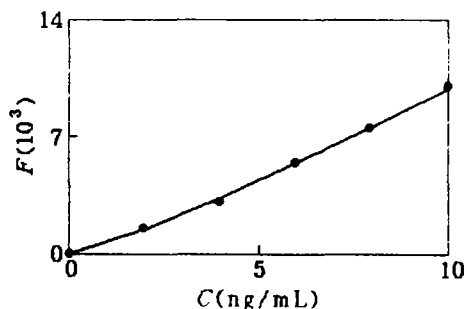


图4 总体积分法测定苈的工作曲线

运用总体积分法使得测定萘、苈、苈的信噪比(S/N)分别从峰值法的 2.5×10^2 , 2.9×10^2 和 2.6×10^2 提高到 3.1×10^3 , 4.1×10^3 和 4.4×10^3 , 可以看出, 总积分法的信噪比比单点法的提高 10~20 倍。

3.3 混合物的测定结果

对混合物中各物质不同的积分区域进行荧光值的总体积分, 根据工作曲线求出各组分的含量, 如表 1 所示。回收率在 95~105% 之间, 结果较为满意。

表 1 三维导数荧光光谱总体积分法测定萘、苊、芘混合物的结果

编号	加入量(ng/mL)			检出量(ng/mL)*		
	萘	苊	芘	萘	苊	芘
1	10.0	2.0	2.0	9.6 (96.0%)	1.9 (95.0%)	2.1 (105.0%)
2	8.0	8.0	4.0	7.9 (98.7%)	7.8 (97.5%)	3.9 (97.5%)
3	6.0	6.0	6.0	6.1 (101.7%)	6.1 (101.7%)	5.8 (96.6%)
4	4.0	4.0	8.0	3.8 (95.0%)	3.9 (97.5%)	7.9 (98.7%)
5	2.0	10.0	10.0	2.1 (105.0%)	9.7 (97.0%)	9.8 (98.0%)

* 括号中数值为回收率。

总之,三维导数荧光光谱总体积分法的灵敏度大大优于一般荧光分析法(单点法),其灵敏度虽低于三维荧光光谱总体积分法,但其工作曲线的相关系数和混合物的测量精度明显好于三维荧光光谱总体积分法,比三维荧光光谱总体积分法具有较好的选择性与分辨率。该方法能够用于多环芳烃萘、苊、芘的指纹分析和同时测定

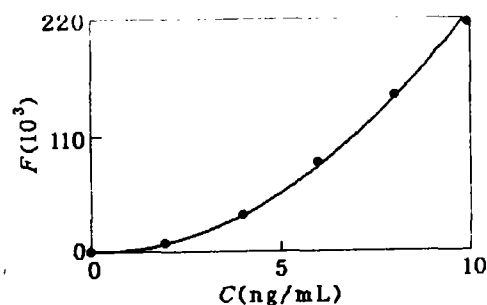


图 5 总体积分法测定芘的工作曲线

参考文献

- 1 陈国珍,黄贤智,许金钩,郑朱梓,王尊本,“荧光分析法”,科学出版社,北京,1990.
- 2 E. R. Weiner, *Anal. Chem.*, **1978**, *50*, 1583.
- 3 T. Vo-dinh, *Appl. Spectrosc.*, **1982**, *36*, 576.
- 4 J. N. Miller, *Analyst*, **1984**, *109*, 191.
- 5 D. C. Shelly, I. M. Warner, J. M. Quarles, *Clin. Chem.*, **1983**, *29*, 290.
- 6 鄢 远,王乐天,许金钩,林竹光,陈国珍,高等学校化学学报, **1995**, *16*, 1519.

Three - Dimensional Derivative - Fluorescence Spectrometry and Its Application to Simultaneous Determination of Polyaromatic Hydrocarbons by Detecting Total Fluorescence Intensity

YAN Yuan WANG Le - Tian XU Jin - Gou* LIN Zhu - Guang CHEN Guo - Zhen

(Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen, 361005)

Abstract Three - dimensional derivative - fluorescence spectrometry is first developed and applied to the simultaneous determination of polyaromatic hydrocarbons, naphthalene, pyrene and perylene, by measuring total fluorescence intensity. The results show that three - dimensional derivative - fluorescence spectrometry is superior in respect of selectivity to three - dimensional fluorescence spectrometry and the sensitivity, the signal to noise, of three - dimensional derivative - fluorescence spectrometry is improved by 10~20 folds. The analytical results of naphthalene, pyrene and perylene are satisfactory.