

## 三维荧光光谱技术分析应用进展

516-523

刘志宏 蔡汝秀

0657.3

(武汉大学化学系, 武汉, 430072)

摘要: 本文对三维荧光技术的发展及其分析应用作了回顾、评述与展望, 引用文献 75 篇。

①

关键词: 三维荧光光谱; 分析应用; 综述

中图分类号: O657.139

文献标识码: A

光谱指纹技术

荧光分析方法已成为例行分析的重要手段。然而, 随着分析对象的不断发展、分析任务的日益复杂, 传统的荧光分析法已很难满足要求。因为传统的荧光发射(激发)光谱只是在某一个激发(发射)波长下扫描, 而事实上, 荧光是激发波长和发射波长两者的函数, 所以这种传统的荧光发射(或激发)光谱并不能完整地描述物质的荧光特征。一个化合物荧光信息完整的描述需要三维光谱才能实现<sup>[1]</sup>。这是进行光谱识别、表征的必要条件。另外, 对一个含多种组分的荧光光谱(发射/激发)重叠的对象, 传统的峰值定量法很难解决组分之间的干扰问题, 需要从对象更完全的信息中寻找选择性的区域, 或结合其它的优化手段才可能准确地实现多个组分的同时分析。三维荧光法是近 20 多年发展起来的一门新的荧光分析技术, 这种技术能够获得激发波长与发射波长或其它变量同时变化时的荧光强度信息, 将荧光强度表示为激发波长-发射波长或波长-时间、波长-相角等两个变量的函数。三维荧光光谱分别被称作三维荧光光谱(Three-Dimensional Fluorescence Spectrum)、激发-发射矩阵(Emission-Excitation Matrix)、总发光光谱(Total Luminescence Spectrum)、等高线谱(Contour Spectrum)等<sup>[2]</sup>。图 1 所示是典型的等角三维投影图及其等高线谱图。

通常, 三维荧光的三个维度是指荧光激发、发射波长和荧光强度, 它表现的是荧光强度随激发和发射波长同时变化的信息。一般获取三维荧光数据的方法, 是在不同激发波长位置上连续扫描发射光谱, 并可利用各种绘图软件将其以等角三维荧光投影图(Ex-Em-If)或等高线光谱(Ex-Em)等形式图象化表现。此外, 电视荧光仪(Video Fluorometer)<sup>[3,4]</sup>和 CCD 照相技术<sup>[5,6]</sup>等也是获取三维荧光的方法。

除此之外, 一些其它的荧光技术及联用技术也能获得三维数据。三维同步荧光<sup>[1]</sup>的三个维度分别是波长差、发射波长和荧光强度, 它可以通过在不同的激发-发射波长差下记录发射光谱获得。相分辨荧光是另一种获得三维荧光的技术<sup>[7]</sup>, 其相分辨荧光强度(PRFI)作为检测相角和发射波长的函数, 可在不同的调制频率  $\omega$  下作发射扫描而获得。相分辨三维荧光<sup>[8]</sup>则综合了相分辨荧光与三维荧光的优点。时间分辨-三维荧光<sup>[9]</sup>则是研

收稿日期: 2000-07-07

通讯联系人: 蔡汝秀

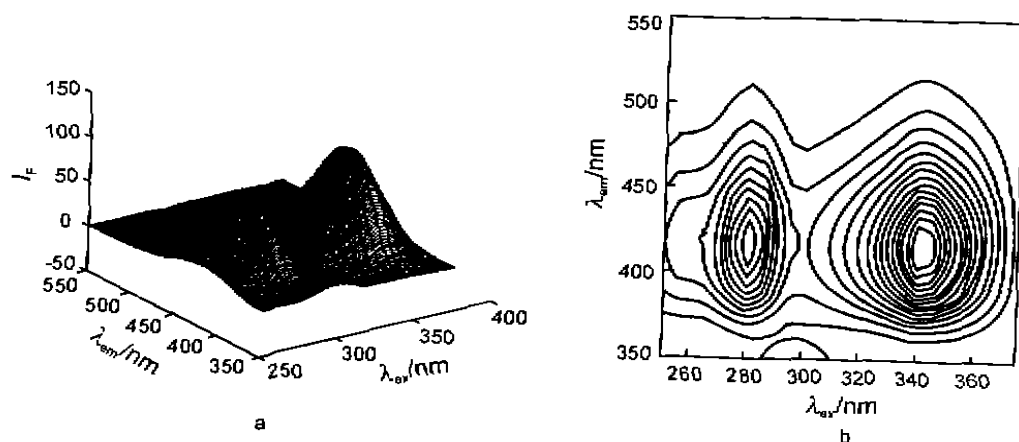


Fig. 1 Typical isometric three-dimensional projection (a) and its contour plot (b)

究时间相关的荧光过程的有力工具,在不同的时间对发光谱进行快速扫描,可获得这种类型的三维数据,其荧光强度是时间和波长的函数。激光激发的运用加快了这项技术的发展和运用<sup>[10]</sup>。将荧光作为色谱的检测器,则可获得荧光强度与色谱保留时间和发射波长同时相关的三维光谱信息,包括快速扫描荧光仪<sup>[11,12]</sup>、CCD 荧光仪<sup>[13,14]</sup>和二极管阵列荧光仪<sup>[15,16]</sup>都有与色谱联用的报道。

## 1 光谱指纹技术

生物大分子如蛋白质、DNA 的荧光光谱对微环境和构象变化很敏感。这样就可能透过荧光光谱指纹的细微变化来揭示生物大分子环境的变化,帮助理解其结构及生理功能。<sup>[17]</sup>Chen 等<sup>[18]</sup>研究了 hemorrhagin III 在不同的介质(SDS、CTAB、Gu-HCl)中的三维荧光光谱,它能直接揭示蛋白质的构象变化以及色氨酸残基的微环境变化情况,借助等高线谱可清晰地看到发射波长迁移与色氨酸残基微环境变化之间的关系。鄢远等<sup>[19]</sup>运用三维荧光偏振光谱研究了牛血清蛋白(BSA)和鸡蛋白蛋白(EA)在不同条件下的构象变化,表明三维荧光是研究溶液状态下蛋白质分子构象的一种直观、有效的方法。王菊等<sup>[20]</sup>将三维全内反射荧光光谱用于细胞色素 C 在银电极表面吸附过程的研究,解释了细胞色素 C 吸附在不同电极表面上的不同构象,以及其电化学行为。

鄢远等<sup>[21,22]</sup>研究了溴化乙锭、芘在不同环境介质中的三维荧光指纹特征,并且将溴化乙锭作为一种荧光探针研究 DNA 的构象以及两者之间的相互作用机理<sup>[23]</sup>。三维荧光光谱的谱图特征以及丰富的信息含量,为有机小分子作为介质荧光探针的研究,以及它们与生物大分子蛋白质相互作用机理的研究提供了有力的手段。胶束和反相胶束可作为生物体内有序介质的一种模拟<sup>[24]</sup>,作者<sup>[25,26]</sup>研究了氟喹诺酮药物分子在水溶液和胶束及反相胶束中的三维荧光光谱性质及其分析应用,对于揭示药物在生物体内的分布、停留有一定参考价值。

石油中多环芳烃(PAH)成分及含量的表征,对于溢油的污染监控、石油勘探等都具

有现实意义。在这一领域,三维荧光光谱法发挥了分析快速、信息丰富、适于现场操作等优点。赵云英等<sup>[27]</sup>论述了三维荧光光谱在鉴别海面溢油源中的研究进展。引用国内外众多海洋环境保护单位大量的研究成果,表明利用荧光光谱的三维特征进行油源的鉴别是有特色的。侯镜德等<sup>[28]</sup>采用三维全扫描荧光法,以三维空间荧光图和等高线图描述样品中的芳烃含量,并以总荧光强度、特征荧光强度等参数描述芳烃含量随井深的变化情况,用于油田单井的评价。吴清洲等<sup>[29]</sup>在此基础上发展了一种反射式三维全扫描荧光技术,不仅保持了原来三维荧光法的优点,同时可对固体样品直接扫描。

此外,三维荧光光谱还被用来研究烟草的“吃味”。雍克岚等<sup>[30]</sup>研究了不同品种烟草石油醚冷萃取物的三维荧光光谱,包括烟草所共有的荧光性质和各自的荧光特征,寻找它们与烟草“吃味”之间的关系,从总体特征方面对烟草的品质评价给予描述和表征。

对于一些需要原位、快速和非破坏性分析的样品,光纤传感与三维荧光结合是一种很有用的技术。Zung<sup>[31]</sup>等论述了光纤传感-三维荧光的优点。Noda等<sup>[32-34]</sup>利用光纤传感-三维荧光技术系列研究了中日古代印染布料所用染料来源及成分等特征。

也有作者采用所谓的三维同步荧光谱<sup>[1]</sup>作为指纹技术,其实质是多个波长差( $\Delta\lambda$ )同步谱合成的三维图 $\Delta\lambda$ -Em-If。何家俊等<sup>[35]</sup>研究了三维同步荧光谱随生物喜树碱4种结构变化的规律,用三维同步荧光谱能明显地表现出4种结构的荧光光谱的异同之处,其变化过程也一目了然。

值得指出的是,作为光谱指纹技术进行荧光物质的判定和识别,或研究荧光探针及其作用机理,等高线光谱比总体积光谱更有意义和价值。荧光强度以等高线的方式表现在一个平面上,能很直观地提供任何激发-发射波长所对应的荧光强度信息,而且容易体现与普通的激发光谱、发射光谱以及同步荧光谱的关系。尤为重要的是,等高线谱克服了等角三维投影图中许多小荧光峰被大峰遮蔽的问题,能够清晰地揭示谱图微细结构,因而可表达更为丰富的荧光信息。

## 2 复杂体系多组分同时分析

对复杂的多组分体系,避免费时而繁琐的分离手段直接对各组分进行选择性的定量是一个很现实的课题。传统的荧光分析利用荧光物质的荧光强度峰值进行定量,在处理多组分体系或者组分荧光光谱重叠的体系时,其选择性、灵敏度将受到挑战。三维荧光技术为这一难题的解决提供了一种可能的途径。

### 2.1 激发-发射矩阵三维荧光

激发-发射矩阵是最为普遍的一种三维荧光。它包含了荧光物质完整的稳态荧光信息。应用这种三维荧光矩阵数据,不经分离直接测定混合物中的各种组分,已成为一种十分重要的分析手段<sup>[36,37]</sup>。这种数据的解析往往需要借助一些数学、统计学的算法,通常在计算机上完成,也即与化学计量学结合,将在后文详述。

### 2.2 其它类型三维荧光

其它类型三维荧光是指由X-Em-If构成的数据阵列,它可同时利用光谱和另外一个方向的信息。这里的X可以是时间分辨中的衰减时间、相分辨中的检测相角以及色谱分离中的保留时间等等。李建军等人<sup>[10]</sup>曾利用时间分辨-三维荧光技术,对稀土混合物同时

测定,获得满意的结果。三维同步荧光不仅可用作光谱指纹进行定性分析,也可对结构相近的多种组分同时选择性测定<sup>[35]</sup>。Yan等<sup>[36]</sup>的工作证实了三维同步荧光同时测定多组分的良好选择性,特别是对斯托克斯位移较小的荧光物质,此法具有独特的优势。McGown和同伴将相分辨-三维荧光<sup>[39]</sup>用于混合物体系分析,证实此技术具有出色的直接抑制散射光的能力,因而特别适合于一些含有高散射样品(如含蛋白质的生化样品、胶束体系以及环境微生物样品)的分析。从高效液相色谱与快速扫描荧光联用<sup>[12,40]</sup>中获得的三维谱图数据也成功地用于水样中多环芳烃混合物的测定。

### 2.3 三维-变角同步荧光

三维-变角同步荧光是值得注意的一项高选择性分析手段。对一个荧光光谱严重重叠的多组分混合物样品,最佳的同步荧光扫描轨迹需要同时经过各组分的最大荧光强度值,尽量少的光谱重叠,以及尽可能地避开拉曼散射的干扰<sup>[41,42]</sup>。而传统的同步荧光( $\Delta\lambda$ 恒定)往往并不能满足这样的要求。对此,一个重大的改进就是三维-变角同步荧光技术<sup>[43]</sup>的应用。

所谓可变角同步荧光(Variable-Angle Synchronous Fluorimetry),就是在同步扫描过程中,激发和发射波长之间的差值不断地变化。它与三维荧光结合,利用三维荧光光谱,特别是等高线谱,配以合适的软件,并通过微机控制来确定最优的扫描轨迹<sup>[44]</sup>。Pulgarin等<sup>[45]</sup>开发的一个名为Ftotal的软件专门用以从三维荧光等高线谱中获取最优的变角同步荧光扫描路径。将满足最佳条件的等值线上的点进行函数拟合。他们将三维-变角同步荧光法成功地用于化学结构非常相似、荧光光谱严重重叠的吡哆醛等三组分<sup>[41]</sup>,血清中的水杨酰氨等三组分<sup>[42]</sup>以及药物多组分<sup>[46]</sup>的同时测定。Garcia等<sup>[47-49]</sup>开发的一种商业化的数字仪器,装置并非十分复杂,但大大缩短了获取全部数据所需的时间,用于药物等多组分的同时测定,获得很令人满意的选择性和灵敏度。同时,三维变角同步荧光法也与导数光谱技术相结合,构成三维-导数变角同步荧光,进一步增加了对重叠荧光光谱的解析能力,提高分析的选择性<sup>[50-52]</sup>。

### 2.4 三维荧光光谱总体积分法

三维荧光法在提高定量分析灵敏度方面的一个重要特征,就是三维荧光光谱总体积分法的应用。三维荧光光谱总体积分进行定量使检测灵敏度成百倍的提高。许金钧等详细论述了三维荧光光谱总体积分进行定量分析的优点以及Monte Carlo积分的原理,指出总体积分值与待测物浓度之间呈指数相关而并非线性相关即 $F = Kc^n$ ,系数 $K$ 因积分而增大,同时随机误差被抑制,大大增加了信噪比,这也正是灵敏度提高的原因<sup>[53,54]</sup>。鄢远等<sup>[55]</sup>用三维荧光光谱总体积分法同时测定萘、芘、花,灵敏度较单点法分别提高30倍左右。而三维导数荧光光谱总体积分法<sup>[56]</sup>用于同一体系的测定,灵敏度较三维荧光光谱总体积分法略低,但选择性有明显的提高。Monte Carlo积分法还被用在三维同步荧光光谱中<sup>[38]</sup>,其两个积分变量分别为发射波长( $E_m$ )和波长差( $\Delta\lambda$ ),用总体积分值对萘等三组分同时测定,灵敏度较单点法提高近百倍。

## 3 化学计量学与三维荧光技术结合

与化学计量学方法结合,是三维荧光技术又一重要发展方向。对于复杂的多组分体系

(灰色或黑色体系)的解析,只有利用二阶甚至三阶数据才能获得具物理意义的唯一解,也即准确的定量信息<sup>[57]</sup>。因而,作为一种重要的二阶数据,与化学计量学方法的结合已成为三维荧光提高对复杂多组分体系的解析能力的主要手段。

各种形式的多变量校正方法在多组分混合物,尤其是结构、性质相近的多组分同时定量分析中广泛应用。常用的多变量校正方法如基于迭代算法的并行因子分析法(PARAFAC)<sup>[5,58]</sup>和基于因子分解的主成分回归(PCR)<sup>[59,60]</sup>,以及对光谱非线性有较强克服能力的(非线性)偏最小二乘回归(PLSR)<sup>[60,61]</sup>等,均有文献报道与三维荧光结合用于多组分同时测定。Beltran等<sup>[62]</sup>考察了PARAFAC和PLSR处理多环芳烃的混合物实际样品的能力,发现PARAFAC用于实际样品分析存在一些缺点,计算过程比较冗长,更重要的是,非线性的瑞利散射对其有较严重的干扰,而PLSR比PARAFAC效果要好。作者将PLS法用于苯酚、对甲基酚和邻苯二酚这三种内源荧光光谱严重重叠的混合物同时测定<sup>[63]</sup>,对实际样品分析获得了满意的结果。但是一些非线性严重的混合物体系(如存在荧光熄灭现象),将给利用三维荧光进行多元校正的工作带来困难,PLS并不是总能很好地解决这个问题。人工神经网络因其所具有的很强的非线性映照能力使其在非线性的多元校正中起到重要作用,刘平<sup>[64]</sup>等将人工神经网络用于三维荧光光谱,成功地预测了罗丹明三组分混合体系的浓度。秩消失因子分析法(RAFA)是由Ho等人专门针对三维荧光光谱的定量分析而提出的<sup>[65]</sup>,其基本原理就是利用纯组分的三维荧光光谱是双线性矩阵,其秩为1来进行特征值分解。Lorber<sup>[66]</sup>将其发展为第一种非迭代的用于从三维荧光数据中估计组分浓度并获得单组分光谱的方法,T.Roch<sup>[67]</sup>将RAFA用于15种多环芳烃的三维荧光数据解析,结果表明这种方法有很强的克服实际样品中腐质酸干扰以及消除杂散光干扰的能力。Ferreira等<sup>[68]</sup>将多个样品的三维荧光光谱(二阶数据)合为一个三阶的数据张量,采用三线性分解法(TLD)处理,同时获得了各组分的纯物质光谱(定性)以及各样品中每种组分的含量(定量)。这种高阶数据解析的方法还有投影旋转因子分析法,它是由Burdick等<sup>[69]</sup>专门针对相分辨三维荧光所产生的三阶数据而提出的。

除了这些校正算法,模式识别<sup>[70]</sup>技术(其中最经典的是人工神经网络<sup>[71,72]</sup>),专家系统<sup>[73]</sup>等智能化的化学计量学手段也被应用于三维荧光光谱的数据处理中。

## 4 结语及展望

三维荧光在分析化学的诸多应用领域受到了普遍重视,这说明三维荧光在分析化学里的应用有很大的发展潜力。从目前的研究应用进展情况来看,三维荧光技术的发展主要将体现在以下一些方面:

(1) 新型三维荧光仪器及相应软件的研究和商品化,快速而高灵敏地获取完整的荧光信息将成为三维荧光技术向更广、更精的分析应用领域拓展和深入的关键。

(2) 与其它分析技术联用。曾有文献<sup>[74]</sup>将电视荧光仪作为高效液相色谱的检测器,进行流出液的实时检测,获取时间-激发-发射-荧光强度四维的信息,同时利用色谱与三维荧光光谱的优势,对色谱分离十分困难的苯并<sup>[a]</sup>芘和苯并<sup>[e]</sup>芘进行了选择性定量。最近有报道将三维CCD荧光仪<sup>[75]</sup>与色谱联用,但是类似联用方法用于复杂混合物分析的工作还不是很多见。可以预见,类似这种色谱-三维荧光光谱的联用,提高的绝不仅仅是数据的

一个维度,更重要的是分析的信息量以及由此带来的解决复杂分析问题的能力。

(3) 化学计量学已经在复杂体系分析中显示了其优越性并得到越来越多的应用。多维数据的分辨和校正都离不开这些数学和统计学的手段。而化学计量学本身到今天也只有二十多年的发展历史,因此随着它自身不断的成熟和进步,计量学手段将会与三维荧光光谱更多地结合。

### 参考文献:

- [1] Ndou T T, Warner I M. Chem. Rev[J], 1991, 91: 493.
- [2] 陈国珍等编著,荧光分析法[M]. 北京:科学出版社,1990.
- [3] Warner I M, Christian G D, Davidson E R. Anal. Chem[J], 1977, 49: 564.
- [4] Ho C N, Christian G D, Davidson E R. Anal. Chem[J], 1980, 52: 1071.
- [5] Muroski A R, Booksh K S, Myrick M L. Anal. Chem[J], 1996, 68: 3534.
- [6] Booksh K S, Muroski A R, Myrick M L. Anal. Chem[J], 1996, 68: 3539.
- [7] Millican D W, Nithipathikom K, McGown L B. Spectrochimica Acta[J], 1988, 43B: 629.
- [8] Millican D W, McGown L B. Appl. Spectrosc[J], 1988, 42: 1084.
- [9] Lackowicz J R, Balter A. Biophys. Chem[J], 1982, 15: 353.
- [10] 李建军,陈观铨,刘 涛,曾云鹤. 分析化学[J], 1990, 18: 726.
- [11] Ferrer R, Guiteras J, Beltran J L. J. Chromatogr. A[J], 1997, 779: 123.
- [12] Beltran J L, Guiteras J, Ferrer R. J. Chromatogr. A[J], 1998, 802: 263.
- [13] Johanson J, Witte D T, Larsson M, Nilson S. Anal. Chem[J], 1996, 68: 2766.
- [14] Zhang L, Chen H, Hu S, Cheng J K, Li Z W, Shao M. J. Chromatogr. B[J], 1998, 707: 59.
- [15] Poe R B, Rutan S C. Anal. Chim. Acta[J], 1993, 283: 845.
- [16] Kok S J, Posthumus R, Bakker I et al. Anal. Chim. Acta[J], 1995, 303: 3.
- [17] Huang C Z, Li Y F, Hu X L, Li N B. Anal. Chim. Acta[J], 1999, 395: 187.
- [18] Chen Z L, Li Q Lu, Wang S Y, Xu X L, Yu H M. Spectrochimica Acta[J], 1999, 55A: 1909.
- [19] 鄢 远,许金钩,陈国珍. 中国科学B辑[J], 1997, 27: 16.
- [20] 王 菊,王玉江,陆天虹,杨 辉. 复旦学报自然科学版[J], 1999, 38: 84.
- [21] 鄢 远,许金钩,陈国珍. 科学通报[J], 1995, 40: 1383.
- [22] 鄢 远,许金钩,陈国珍. 化学学报[J], 1996, 54: 917.
- [23] 鄢 远,许金钩,陈国珍. 科学通报[J], 1995, 40: 1664.
- [24] Yoshiakiyo M Micelles. Theoretical and Applied Aspects[M]. (John Wiley & Sons), 1992.
- [25] Liu Z H, Huang Z Y, Cai R X. Spectrochimica Acta Part A[J], 2000, in press.
- [26] Liu Z H, Huang Z Y, Cai R X. Analyst[J], 2000, in press.
- [27] 赵云英,马永安. 海洋环境科学[J], 1997, 16: 30.
- [28] 侯镜德,路文初. 分析测试学报[J], 1995, 14: 33.
- [29] 吴清洲,侯镜德. 分析化学[J], 1996, 24: 436.
- [30] 雍克岚,吕敬慈. 化学研究与应用[J], 1998, 10: 494.
- [31] Zung J B, Woodlee R L, Fuh M R S et al. Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng[J], 1989, 1054: 69.
- [32] Shimoyama S, Noda Y. Bunseki Kagaku[J], 1997, 46: 571.
- [33] Shimoyama S, Noda Y. Bunseki Kagaku[J], 1997, 46: 791.

- [34] Shimoyama S, Noda Y, Katushara S. *Bunseki Kagaku*[J], 1998, **47**: 93.
- [35] 何家俊, 任英, 张文毅. *分析化学*[J], 1993, **12**: 900.
- [36] Saurina J, Leal C, Compañó R et al. *Anal. Chim. Acta*[J], 2000, **409**: 237.
- [37] Blanco C C, Carretero A S, Boyle E M, Gutiérrez A F. *Talanta*[J], 1999, **50**: 1099.
- [38] Yan Y, Xu J G, Lin Z G, Zhao Y B, Wang L T, Chen G Z. *Anal. Chim. Acta*[J], 1995, **306**: 307.
- [39] Hemmingsen S L, McGown L B. *Appl. Spectrosc*[J], 1997, **51**: 921.
- [40] Beltran J L, Guiteras J, Ferrer R. *Anal. Chem*[J], 1998, **70**: 1949.
- [41] Nevado J J B, Pulgarin J A M, Hernandez J A, Gomez M A. *Analyst*[J], 1998, **123**: 483.
- [42] Pulgarin J A M, Bermejo L F G. *Anal. Chim. Acta*[J], 1998, **373**: 119.
- [43] Kubic T A, Kanabrocki T, Dwyer J. Communication presented at the 32nd Annual Congress of American Academy of Forensic Sciences[C], 1980.
- [44] Clark B J, Fell A F, Aitchison I E, G. Pathe D M, Williams M H, Miller J N. *Spectrochim. Acta*[J], 1983, **38B**: 61.
- [45] Murillo Pulgarin J A, Alanon Molina A. *Comput. Chem*[J], 1993, **17**: 341.
- [46] Murillo Pulgarin J A, Molina A A, Fernández López P. *Anal. Chim. Acta*[J], 1998, **370**: 9.
- [47] Carcia Sanchez F, Ramos Rubio A L, Cerda V, Oms M T. *Talanta*[J], 1988, **35**: 335.
- [48] Carcia Sanchez F, Ramos Rubio A L, Cerda V, Oms M T. *Anal. Chim. Acta*[J], 1990, **228**: 293.
- [49] Carcia Sanchez F, Gutierrez A F, Cruces Blanco C. *Anal. Chim. Acta*[J], 1995, **306**: 313.
- [50] Li Y, Huang X, Xu J, Chen G. *Anal. Chim. Acta*[J], 1992, **256**: 285.
- [51] Murillo J A, Alanon A. *Anal. Chim. Acta*[J], 1996, **319**: 361.
- [52] Berzes Nevado J J, Murillo Pulgarin J A, Gomez Laguna M A. *Talanta*[J], 1995, **42**: 129.
- [53] 郇远, 许金钩, 陈国珍. *科学通报*[J], 1997, **42**: 714.
- [54] Yan Y, Xu J G, Lin Z G, Zhao Y B, Chen G Z. *Applied Spectroscopy*[J], 1995, **49**: 1239.
- [55] 郇远, 王乐天, 林竹光, 许金钩, 陈国珍. *高等学校化学学报*[J], 1995, **16**: 1519.
- [56] 郇远, 王乐天, 许金钩, 林竹光, 陈国珍. *化学学报*[J], 1996, **54**: 772.
- [57] 梁逸曾著. 白灰黑复杂多组分分析体系及其化学计量学算法[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1996.
- [58] Bro R. *Chemom. Intell. Lab. Syst*[J], 1997, **38**: 149.
- [59] Kenneth S. D, Michael J P, Karlene A. K. *Chemom. Intell. Lab. Syst*[J], 1999, **46**: 161.
- [60] Saurina J, Leal C, Compañó R, Granados M, Tauler R, Prat M D. *Anal. Chim. Acta*[J], 2000, **409**: 237.
- [61] Martinez Galera M, Garrido Frenich A, Martínez Vidal J L. *Analyst*[J], 2000, **125**: 1167.
- [62] Beltran J L, Ferrer R, Guiteras J. *Anal. Chim. Acta*[J], 1998, **373**: 311.
- [63] 王俊, 蔡汝秀. 武汉大学学士学位论文, 2000, 待发表.
- [64] 刘平, 梁逸曾, 王素国, 宋新华, 俞汝勤. *化学学报*[J], 1997, **54**: 386.
- [65] Ho C N, Christian G D, Davidson E R. *Anal. Chem*[J], 1978, **50**: 1108.
- [66] Lorber A. *Anal. Chim. Acta*[J], 1984, **164**: 293.
- [67] Roch Th. *Anal. Chim. Acta*[J], 1997, **356**: 61.
- [68] Ferreira M M C, Brandes M L, Ferreira I M C et al. *Applied Spectrosc*[J], 1995, **49**: 1317.
- [69] Burdick D S, Tu X M, McGown L B, Millican D W. *J. Chemometrics*[J], 1990, **4**: 15.

- [70] Rossi T M, Warner I M. *Appl. Spectrosc*[J]. , 1985, **39**: 949.
- [71] Allanic A L, Jezequel J Y, Andre J C. *Anal. Chem*[J]. , 1992, **64**: 2618.
- [72] Defernez M, Kemsley E K. *Analyst*[J], 1999, **124**: 1675.
- [73] Clark B J, Fell A F, Milne K T, Willian M H. *J. Pharm. Pharmacol*[J]. , 1985, **37**(Suppl. ): 129.
- [74] Hershberger L W, Callis J B, Christian G D. *Anal. Chem*[J]. , 1981, **53**: 971.
- [75] Setford S J, Saini S. *J. Chromatogr. A*[J], 2000, **867**: 93

## Progresses and Applications of Three-Dimensional Fluorescent Spectroscopy

LIU Zhi-hong, CAI Ru-xiu\*

(*Department of Chemistry, Wuhan University, Wuhan, 430072*)

**Abstract:** Advance in three-dimensional fluorescent spectroscopy and applications of this analytical technology are reviewed in the present work. The researches in the field of fingerprint, the enhancement of sensitivity and selectivity, and the combination with chemometrics are discussed, respectively. 75 literatures are cited.

**Keywords:** Three-dimesional fluorescent spectroscopy; Review; Analytical application