

• 专 论 与 综 述 •

荧光光谱法在环境监测中的应用

孙媛媛

(南京师范大学化学系, 江苏 南京 210097)

摘 要: 简要综述了荧光光谱在环境监测中近几年的应用。内容包括方法原理、方法的建立, 有关荧光体系的研究, 以及与其他技术的联用等一些最新进展。指出: 荧光光谱法具有灵敏度高、选择性强、试样量少和测定简单等优点, 为复杂环境样品中微量元素及痕量物质的分析提供了新手段, 与其他手段结合使用, 环境分析将具有更加广阔的前景。

关键词: 荧光光谱法; 环境监测; 综述

中图分类号: X 830. 2 O 657. 31 文献标识码: A 文章编号: 1006- 2009(2000) 03- 0012- 05

Application of Fluorescence Spectrophotometry in Environmental Monitoring

SUN Yuan-yuan

(Department of Chemistry, Nanjing Normal University, Nanjing, Jiangsu 210097, China)

Abstract: The paper reviewed the application these years of fluorescence spectrophotometry in environmental monitoring. The content includes the principle, the establishment of methods, the study of fluorescence system and the development of the combination with other techniques. It indicated that fluorescence method is sensitive, selective, less sample using and simple. It is an effective way for the analysis of trace elements and substances in complicated environmental samples. It will have a broad prospect in environmental analysis with the combination with other techniques.

Key word: Fluorescence spectrophotometry; Environmental monitoring; Summarize

早在 16 世纪人们就观察到了荧光现象。20 世纪以来, 特别是近几十年, 荧光现象在理论和实际应用方面都取得了很大进展, 并建立了荧光分析方法。荧光分析法是通过测量样品的荧光强度, 用于定量测定许多无机物和有机物, 而又具有灵敏度高、选择性强、试样量少和方法简单等特点的一种很有用的分析手段。正因为如此, 近年来催化荧光法、荧光淬灭法、同步荧光技术以及荧光技术与其他技术联用得以不断涌现和完善, 引起了分析界广泛地兴趣和瞩目。现侧重于这些分析技术在环境监测中的应用, 并以直接测定法和间接测定法为分类进行简要而全面的综述。

1 直接测定法

直接测定法是利用物质自身发射的荧光进行定量测定。分子自身产生荧光必须具备两个条件: 一是该物质必须具有与所照射光线相同频率的吸收结构, 二是吸收了与其本身特征频率相同的能量之后, 必须具有一定的荧光量子产率。直接测定法

是荧光分析中最简便易行的方法, 但由于自身发射荧光的化合物为数不多, 因而该方法在环境分析中应用较少, 仅用来测定一些芳香类化合物。如环境水中苯酚和十二烷基苯磺酸钠含量及环境水中微量甲基对硫磷^[1,2]。

2 间接测定法

2.1 络合荧光法

间接测定法中最常见的是有机试剂直接与荧光较弱或不显荧光的物质共价或非共价结合形成发荧光的络合物再进行测定, 而不需其他辅助手段。间接测定法中被测物质与荧光试剂直接形成发荧光的配合物的络合荧光法在环境分析中应用较为广泛, 兹将国内外文献^[3- 11]对此方面的报道列于表 1。

收稿日期: 2000- 01- 13; 修订日期: 2000- 02- 22

作者简介: 孙媛媛 (1974-), 女, 安徽人, 硕士, 曾发表论文 3 篇。

表 1 络和荧光法可测定的环境中的物质

被测物	荧光试剂	激发光谱与发射光谱 波长 λ/nm	检出限	线性范围
三苯基锡 ^[3]	Triton X- 100 桑色素	415 与 525	1. 2 pmol/L	(0. 05~ 1. 4) μmol/L
铈, 铈, 铈 ^[4]	蔡啶酮酸体系	342 与 612, 546, 576	(1. 3, 1. 0, 4. 4) μg/L	(0. 001~ 6. 0) mg/L (0. 001~ 10. 0) mg/L (0. 001~ 60. 0) mg/L
铜(Ⅱ) ^[5]	3- 对甲基苯- 5- (4'- 硝基- 2'- 羧基苯偶氮)- 2- 硫代- 4- 噻唑啉酮	308 与 403	0. 399 9 μg/L	(6. 28~ 944) nmol/L
铝 ^[6]	2, 4- 二羟基甲醛异烟酰胺	394 与 484	0. 96 μg/L	(0~ 240) μg/L
镓 ^[7]	水杨醛水杨酰胺	370 与 455	1. 4 μg/L	(0~ 140) μg/L
敌敌畏 ^[8]	间苯二酚	491. 6 与 521. 1	0. 022 1 mg/L	(0~ 1. 0) mg/L
亚硝酸盐 ^[9]	Triton X- 100 胶束体系	332 与 457	40 ng/L	(1~ 120 0) ng/ 25mL
苯并[a] 芘 ^[10]	环糊精增敏 4- 羟基香豆素	389 与 413	0. 003 μg/L	(0. 005~ 10) μg/L
铅(Ⅱ), 铋(Ⅲ) ^[11]	氯化钾	262. 5 与 485. 0, 506	(0. 20, 0. 015) μmol/L	(0. 02~ 2. 0) μmol/L (0. 4~ 10) μmol/L

2. 2 催化荧光法

随着荧光分析技术的发展, 催化荧光法在环境分析中也得到了进一步应用^[12- 16]。张桂恩等^[12]提出了催化荧光法测量痕量钼的新方法。在磷酸介质中, 以钼(Ⅵ)催化过氧化氢氧化碘化钾的反应, 其反应产物使罗丹明荧光淬灭, 继在 547. 8 nm (347. 7 nm 激发) 测定钼, 其检出限为 1. 2 μg/L, 线性范围为 2. 0 μg/L~ 16 μg/L。俞英等^[13- 15]也先后提出了水杨醛缩 7- 氨基- 8- 羟基喹啉- 5- 磺酸催化荧光法测定钒(Ⅴ)、茜素红催化荧光测定痕量钒(Ⅴ)、茛三酮缩 7- 氨基羟基喹啉- 5- 磺酸催化荧光法测定痕量钒(Ⅴ), 其激发光谱与发射光谱波长分别为 342 nm 与 499 nm、381 nm 与 445 nm、325 nm 与 448 nm, 检出限分别为 2. 7 μg/L、7. 0×10⁻¹⁰ g/mL、1. 7 μg/L, 线性范围分别为 12. 0 μg/L~ 40. 0 μg/L、0. 0 μg/ 25mL~ 2. 0 μg/ 25mL、40. 0 μg/L~ 160 μg/L。

2. 3 荧光淬灭法

荧光淬灭广义地说是可使荧光强度的作用降低。某些元素虽不与有机试剂组成发生荧光的络合物, 但这些元素的离子可从发生荧光的其他金属有机络合物中夺取有机试剂或金属离子以组成更为稳定的配合物或难溶化合物, 而导致荧光强度降低, 由荧光降低的程度来测定该元素的含量。

在环境分析中, 利用荧光淬灭法, 可以测定水中痕量铜、钴、铬(Ⅵ)、银、钛和废水中痕量砷、水

中氯气、氟及大气中微量 NO_x^[17- 25]。氟离子是环境水分析中的一项重要指标, 它的测定以前主要利用离子电极法和光度比色法, 新近利用荧光淬灭法建立测定水中氟的新方法^[25]。Al³⁺ 与 7- [(4- 甲基- 2- 肿酸基苯) 偶氮]- 8- 羟基喹啉- 5- 磺酸(4- MASA- 8Q5S) 在 pH 4. 4 的 HAc- NaAc 中形成稳定的荧光络合物, 当激发光谱/ 发射光谱为 280 nm/ 500 nm 时, 氟对 4- MASA- 8Q5S 荧光性能无影响, 但使 Al³⁺- 4- MASA- 8Q5S 体系的荧光强度降低, 并且氟的量与荧光强度之间呈定量关系。其检出限为 10. 5 μg/L, 线性范围为 0 μg/L~ 600 μg/L, 应用于水样中氟的测定, 效果良好。

2. 4 同步荧光法

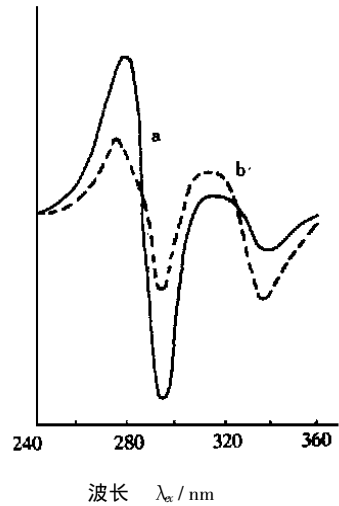
同步荧光法是在常用的荧光光谱的基础上发展的一种荧光分析技术。它是用同时扫描激发单色器和发射单色器波长的一种光谱图。同步荧光法可分为固定波长同步扫描荧光测定法、固定能量同步扫描荧光法和可变波长同步荧光法。同步荧光和激发光谱、发射光谱都有关系, 同时利用被测物质的吸收性能和发射性能, 使选择性得到改善。对于某一被测化合物, 与激发光谱或发射光谱相比, 同步荧光可使谱图简化, 峰宽变窄。

多环芳烃是一种重要污染物, 很多都具有致癌作用。国外的许多学者利用同步荧光测定多环芳烃的文献报道很多^[26- 28]。与国外相比, 近几年来国内利用同步荧光测定多环芳烃的工作也取得了

很大进展^[29-34]。

2.4.1 固定波长同步扫描法

固定波长同步扫描是使发射波长和激发波长之间保持一固定的波长间隔,同时以一定的速度扫描,所获得的荧光强度信号与相应的波长所构成的光谱图就是固定波长同步荧光光谱。国内目前固定波长同步荧光法大多数与导数技术相结合,既可提高选择性,又可提高灵敏度^[29-31]。当硒与 2,3-二氨基萘络合物进行同步荧光研究^[29], $\Delta\lambda=100\text{ nm}$ 时,可获得一锐形单峰光谱,用一阶导数同步荧光定量测定硒,可提高方法的灵敏度和精密度,检测限为 1.5 ng ,在范围 $0\text{ ng}\sim 25\text{ ng}$ 内,回归方程为 $y=0.44x-0.18$, $r=0.9985$ 。苯甲酸和水杨酸因其结构非常相似,两者的激发光谱和发射光谱的峰位置几乎相同,难以同时测定,利用导数—同步荧光法可同时测定苯甲酸和水杨酸。在 $\Delta\lambda=80\text{ nm}$,用导数同步荧光可以很好地改善两者同时测定的灵敏度与选择性^[30],不同浓度的苯甲酸和水杨酸混合物导数—同步荧光光谱示于图 1,由图可知两者的波峰和波谷分别位于 275 nm 、 295 nm 和 310 nm 、 330 nm 得到了很好的分辨。



a. $10\text{ }\mu\text{g/mL}$, $5.0\text{ }\mu\text{g/mL}$; b. $5.0\text{ }\mu\text{g/mL}$, $10\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。 $\Delta\lambda=80\text{ nm}$
图 1 苯甲酸(a)、水杨酸(b)混合液的
导数—同步荧光光谱

2.4.2 等能量同步荧光法

恒定能量差同步荧光光谱是在保持激发光与发射光的能量差恒定条件下,同时进行激发光和发射光的扫描所获得的同步荧光光谱,比常规荧光具有更高的选择性。新近有人提出了以此测定多环芳烃的新方法^[32]。以恒定能量差的同步荧光光谱

对 Bep、Bap、AN、PE、和 PY 5 种组分的多环芳烃混合物进行研究分析,在 $\Delta\nu=1400\text{ cm}^{-1}$ 时,呈现 AN、Bap、PE 特征峰, $\Delta\nu=4800\text{ cm}^{-1}$ 时,出现 Bep 特征峰。结果表明,选择适合的能量差,能同时定量分析其中的 4 种物质。

2.4.3 可变角同步荧光法

可变角同步荧光是同步荧光的重要分支,较之于通常所见的恒波长同步荧光有其显著特色,提出了更为灵活的扫描方法,在环境分析中已得到应用。新近提出的建立 2,2'-二羟基联苯(DHP)和 4-羟基联苯(HP)的胶束增敏导数—可变角同步荧光同时分析方法^[33],可变角同步扫描所得的 DHP 和 HP 谱峰均对应于常规光谱的最佳激发—发射位置,经二阶求导后消除分析谱带干扰,所得的二阶导数—可变角同步光谱可用于两物质同时测定。图 2 为两物质的可变角同步荧光光谱。DHP 和 HP 荧光激发最大波长为 320 nm 和 288 nm ,荧光发射波长为 400 nm 和 337 nm 。经二阶求导后的导数—可变角同步荧光光谱(图 3)特征谱带变窄,分辨率提高。DHP 测定范围为 $0.05\text{ mg/L}\sim 0.50\text{ mg/L}$,HP 的测定范围为 $0.07\text{ mg/L}\sim 2.0\text{ mg/L}$ 。

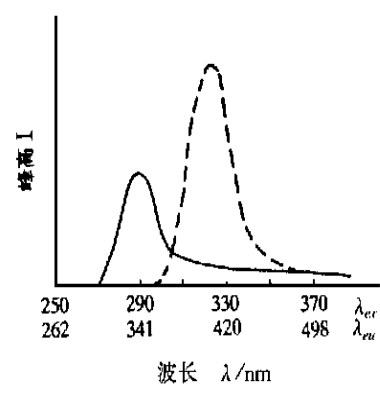


图 2 DHP(---)和 HP(—)的可变角同步荧光光谱
2.4.4 荧光同步扫描与双波长标准加入法并用

1988 年, F. B. Reing 和 P. C. Falco 等人基于等吸收波长法原理和标准加入法的特点,提出了双波长标准加入法。该法能消除反应基体带来的系统误差,并用于混合样品中双组分同时测定。但对于光谱对称而又严重重叠的二元混合物单独利用双波长标准加入法或荧光同步扫描难以得到准确测定,将两者结合起来具有更好的灵敏度。用此方法可同时测定环境中的 α -萘酚和 β -萘酚^[34],其同步荧光光谱如图 4,检出限为 $1.0\text{ }\mu\text{g/L}$,线性范围分别为 $0.0025\text{ mg/L}\sim 16.0\text{ mg/L}$, 0.0025 mg/L

~ 20.0 mg/L。

同步荧光和常用荧光分析技术一样,存在着发光分析技术所固有的某些局限,也并非所有的荧光物质都使用于同步荧光测定,但它对于消除测定中干扰物质,提高选择性和灵敏度有独特的优点。可以预测,同步荧光法在环境分析中的应用前景会更广阔。

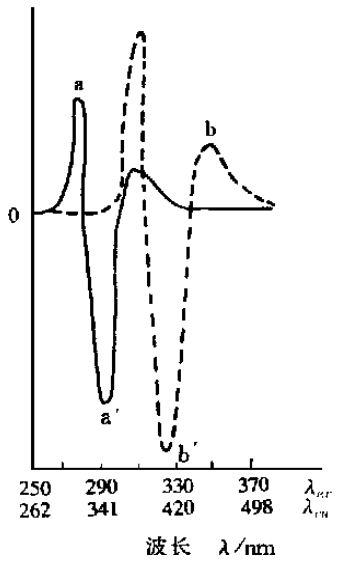
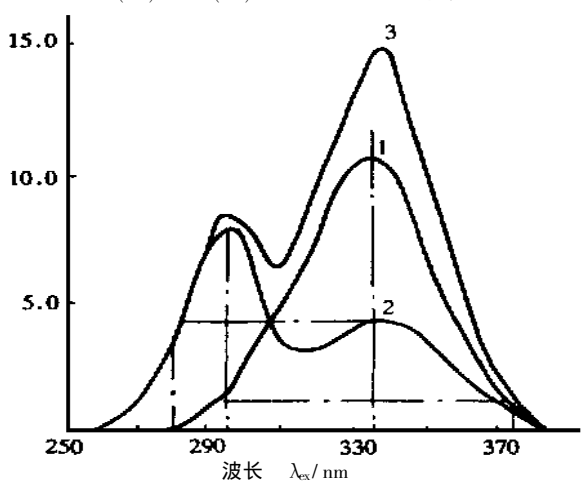


图 3 DHP(---)和HP(—)的二阶导数可变角同步荧光光谱



1. α-萘酚, 2. β-萘酚, 3. 混合物
图 4 α-萘酚和β-萘酚的荧光光谱

2.5 荧光光谱与其他技术联用

随着荧光光谱的发展以及分析技术的发展,荧光技术与高效液相色谱(HPLC)联用技术得到广泛应用。这种方法的优点可使荧光测定中难于消除的同分异构体干扰问题得到很好的解决。国外许多学者用这种技术对环境中的许多物质,尤

其是多环芳烃进行测定^[35-38]。目前国内这方面应用还不是很广泛,但也开始用于测定多环芳烃^[39]的研究。利用多环芳烃经向柱,90%乙腈等梯度淋洗荧光检测,对水中7种多环芳烃:荧蒽、苯并[a]蒽、苯并[k]荧蒽、苯并[b]荧蒽、苯并[a]芘、二苯并[a,h]蒽、苯并[ghi]芘进行快速分析^[39],可以克服国家标准方法的分析时间长、梯度淋洗基线漂移的缺点。可以肯定,这种荧光检测与HPLC联用将会为分析环境中荧光类化合物提供一个新的途径。

此外,荧光光谱与电化学相结合,利用电解荧光废水可测定废水中的苯^[40];随着动力学荧光法的发展,国内外一些学者已成功运用流动注射荧光检测法定量测定环境中铁、铀、钙、铝、亚硝酸根和硝酸根以及大气光化学反应形成的氧化剂等物质^[41-46]。

3 结论

荧光光谱法具有灵敏度高、选择性强、试样量少和方法简单等优点,为复杂的环境样品中微量及痕量物质的分析提供了新手段。荧光光谱分析法将会成为环境分析中一项重要方法。将该法与其他手段结合使用,可为环境分析提供更加广阔的前景。

[参考文献]

[1] 王化南,梅建庭. 荧光光度法直接测定环境水中苯酚和十二烷基苯磺酸钠的含量[J]. 分析化学, 1995, 23(7): 787- 789.

[2] 梅建庭,王化南. 荧光光度法测定环境水中微量甲基对硫磷[J]. 分析化学, 1997, 25(1): 82- 84.

[3] 黄玉明. Triton X- 100 增敏桑色素荧光法测定痕量三苯基锡[J]. 分析化学, 1996, 24(7): 1071- 1081.

[4] 贾祥琪,李兰英,黄汉国. 萘啶酮酸体系荧光法测定钨、铋、镉[J]. 分析化学, 1996, 24(10): 1216- 1218.

[5] 史海建,王忠义,史好新. 3- 对甲苯基- 5- (4'- 硝基- 2'- 羧基苯偶氮)- 2- 硫代- 4- 噻唑啉酮的合成及用于铜的荧光光度测定[J]. 分析化学, 1996, 24(3): 321- 324.

[6] 王慧琴,杨志斌. 2, 4- 二羟苯甲醛异烟酰胺的合成及其与铝的荧光反应[J]. 分析化学, 1996, 24(5): 587- 590.

[7] 唐 波. 水杨醛水杨酰胺与镆的荧光反应及其应用[J]. 分析化学, 1996, 24(4): 467- 470.

[8] 于彦彬,谭培功. 间苯二酚荧光法测定空气中的敌敌畏[J]. 分析化学, 1995, 23(12): 1470.

[9] 林德娟,李隆弟. 环糊精增敏 4- 羟基香豆素荧光法测定痕量亚硝酸盐[J]. 分析化学, 1995, 23(5): 512- 516.

[10] 赵 法. 胶束体系中测定苯并(a)芘的荧光分光光度法研究

(I) 苯并(α) 蒽在 Triton X- 100 胶束体系中的荧光分光光度测定法[J]. 分析化学, 1995, 23(1): 67- 69.

[11] 黄承志, 迟锡增. 水系沉积物中痕量铈、铅快速同时测定的荧光分析法研究[J]. 环境科学研究, 1994, 7(2): 18- 23.

[12] 张桂恩, 陈 红. 催化荧光法测定痕量钼[J]. 分析化学, 1996, 24(5): 539- 542.

[13] 俞 英. 水杨醛缩 7- 氨基- 8- 羟基喹啉- 5- 磺酸催化荧光法测定痕量钒(V) [J]. 分析化学, 1996, 24(4): 479- 482.

[14] 俞 英. 多目标单纯形法在茜素红催化荧光测定痕量钒(V) 中的应用[J]. 分析化学, 1995, 23(8): 903- 906.

[15] 俞 英. 茚三酮缩 7- 氨基- 8- 羟基喹啉- 5- 磺酸催化荧光法测定痕量钒(V) 及其催化反应机理[J]. 分析化学, 1996, 24(10): 1147- 1151.

[16] 陈兰化, 陈德权. 溴酸钾氧化藏红 T 催化荧光法测定痕量亚硝酸根[J]. 分析化学, 1996, 24(7): 790- 793.

[17] 宋桂兰. 铈- 7- (1- 苯偶氮) - 8- 羟基喹啉- 5- 磺酸- Triton X- 100 荧光熄灭法测定铈[J]. 分析化学. 1996, 24(7): 806- 808.

[18] 张宗贵. 荧光试剂 1- (4- 羟基水杨醛缩氨基) - 8- 羟基- 3, 6- 苯二磺酸钠荧光猝灭法测定痕量铬(VI) [J]. 分析化学. 1996, 24(9): 1109.

[19] 沈含熙, 汤园平. 双- [4- (α- 苯偶氮) - 水杨醛] 缩邻苯二胺的合成及其与铜的荧光熄灭反应[J]. 分析化学, 1995, 23(8): 894- 898.

[20] 高甲友, 赵 岚. 砷钼杂多酸- 罗丹明 6G 荧光熄灭法测定[硫酸厂废水中] 痕量砷[J]. 冶金分析, 1996, 16(3): 45- 46.

[21] 王宗花. 邻菲罗啉- 水杨醛荧光酮荧光熄灭新体系测定银的研究[J]. 分析试验室, 1996, 15(5): 54- 56.

[22] 王宗花, 王犇鹏. 钛(IV) - 过氧化氢- 溴化十六烷基三甲铵- 2, 4- 二甲氧基苯基荧光酮荧光熄灭体系及应用[J]. 分析化学, 1996, 24(6): 685- 688.

[23] 龚国权, 贾 丽. 二溴苯基荧光酮荧光淬灭法测定水中氯气[J]. 兰州大学学报(自然科学版), 1993, 29(3): 158- 160.

[24] 张家祥, 宋桂兰. 用荧光素荧光淬灭法测定环境大气中微量 NO_x [J]. 山东建材学院学报, 1994, 8(2): 94- 96.

[25] 嵇志琴. 7- [(4- 甲基- 2- 肼酸基苯) 偶氮] - 8- 羟基喹啉- 5- 磺酸荧光光度法测定氟[J]. 分析化学, 1996, 24(5): 555- 558.

[26] Pharr D Y, Mackenzie J K. 用同步扫描荧光光谱指纹识别石油污染[J]. Ground Water, 1992, 30(4): 484- 489.

[27] Vilchez Quero J L. 水中荧蒽残留量的同步固相分光光谱法测定[J]. Quim Anal(Barcelona), 1994, 13(1): 22- 25.

[28] Stevenson C L. 用激光激发同步荧光法分析多环芳烃化合物[J]. Anal Chim Acta, 1995, 303(2/ 3): 247- 253.

[29] 赵振华, 田德海. 导数同步荧光法测定硒[J]. 环境科学, 1995, 16(4): 54- 56.

[30] 朱亚先. 导数同步荧光法同时测定苯甲酸和水杨酸[J]. 分析化学, 1995, 23(11): 1313- 1315.

[31] 李静红, 于连生. 二阶导数同步荧光光谱法测定大气飘尘中苯并[a] 蒽[J]. 东北电力学院学报, 1995, 15(3): 91- 94.

[32] 何文琪, 姚渭溪. 等能量同步荧光法测定多环芳烃[J]. 光谱学与光谱分析, 1996, 16(4): 100- 105.

[33] 李耀群, 石 磊. 胶束增敏导数- 可变角同步荧光法同时测定两种羟基联苯[J]. 分析化学, 1996, 24(1): 41- 44.

[34] 胡敬田. 同步荧光扫描- 双波长标准加入法同时测定 α- 萘酚和 β- 萘酚[J]. 分析化学, 1996, 24(9): 1059- 1061.

[35] Kanaya M, Fukushima K. 荧光检测 HPLC 测定痕量硫化物[J]. 分析化学, 1993, 42(9): 519- 523.

[36] Lopez Garcia A, Blanco Gonzalez E. 荧光检测 HPLC 测定环境试样中数种选择性多环芳烃[J]. Chromatographia, 1992, 33(5/ 6): 225- 230.

[37] Zerbiniati O. 天然水中 23 种芳香簇磺酸盐的 HPLC 和分光荧光光谱法测定与鉴定[J]. J Chromatogr, 1993, 640(1/ 2): 231- 240.

[38] Weisweiler W. 大气中颗粒和气态多环芳烃的可测性[J]. Staub- Reinhalt Luft, 1993, 53(5): 183- 186.

[39] 郁建桂, 朱晨红. 高效液相色谱荧光检测快速分析水中多环芳烃化合物[J]. 中国环境监测, 1997, 13(1): 20- 22.

[40] 王 伦, 朱昌表. 电解荧光光度法测定废水中的苯[J]. 分析化学, 1996, 24(11): 1258- 1262.

[41] Havel J, Vrchlaby M. 硅胶微柱预富集荧光检测流动注射分析法测定水中铀(VI) [J]. Talanta, 1992, 39(7): 795- 799.

[42] Chimpalee N. 钙黄绿素分光荧光流动注射法测定钙[J]. Anal Chim Acta, 1993, 271(2): 247- 251.

[43] 章竹君, 王军峰. 流动注射光纤探针动力学法测定铁的研究[J]. 高等学校化学学报, 1996, 17(4): 535- 538.

[44] Carrillo F, Perez C. 水中铝的灵敏流动注射分光法测定[J]. Anal Chim Acta, 1992, 262(1): 91- 96.

[45] Perez-Ruiz T. 用手动和流动注射动力学- 分光荧光测定 ng/mL 浓度的亚硝酸盐和硝酸盐[J]. Anal Chem Acta, 1992, 265(1): 103- 110.

[46] Sakai T. 流动注射分光荧光光谱法测定大气光化学反应形成的氧化剂[J]. Analyst (London), 1992, 117(8): 1339- 1341.

• 动态 • 环境激素简易检出方法

日本熊本抗体研究所等共同开发了用土壤中线虫检测扰乱人体内分泌化学物质(环境激素) 的简易方法。现今的老鼠检测法需用 1 周~ 2 周时间, 而用线虫法只要 3 日~ 4 日即可对 7 万种~ 10 万种化学物质环境激素的影响进行检测。该法是将出生两日左右的线虫幼虫浸在含有化学物质的溶液中, 如有环境激素影响, 则能检出起着女性激素同样作用的 RNA (核糖核酸)。线虫体长约 1 mm, 出生后 3 日~ 4 日变成成虫, 产卵约 300 个, 可用较小设备进行大量培养。

洪 蔚编译自《环境与测定技术》1999, Vol 26 No 5