

荧光光谱法检测非水体系中蒽和芘^①

陈亮 迟燕华^② 尚丽平 王晗

(西南科技大学材料科学与工程学院信息工程学院 四川省绵阳市涪城区青龙大道中段 59 号 621010)

摘要 用荧光光谱法检测建立了非水体系中蒽和芘的测试方法, 蒽和芘的检测线性范围分别为 5.6×10^{-9} — 2.8×10^{-6} mol/L 和 4.9×10^{-8} — 1.47×10^{-6} mol/L, 相关系数为 0.99959 和 0.99822, 检出限分别为 0.356 ng/mL, 5.230 ng/mL, 回收率分别为 86.61%—98.66% 和 96.60%—115.80%。考察了常见离子、时间以及温度对荧光强度的影响, 结果表明, 常见离子对分析检测干扰均不大, 可忽略, 在 2h、5—55℃ 温度范围内, 对荧光强度影响较弱, 故此分析检测方法对温度的适应范围较宽。方法可直接用于食品、饮料、酒产品等非水体系中的蒽和芘的测定。

关键词 荧光光谱法, 蒽, 芘, 非水体系。

中图分类号: O657.32

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2009)02-0447-05

1 前言

多环芳烃(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons ; PAHs) 是一类具有潜在致突变、致癌/助癌特性且在环境中较为稳定的微污染物。多环芳烃主要来源于城市生活排污、工业废水排放、石油污染和有机质自燃等, 具有高毒、持久、长距离迁移和高生物蓄积性等特点, 对环境安全和人类健康具有严重的危害^[1-6]。

PAHs 在空气、水、土壤等环境中广泛分布, 同时 PAHs 在各种溶剂中具有很高的溶解度, 由于食品产地环境受到污染以及在饮料和酒品加工制作过程中均可产生 PAHs, 致使 PAHs 在食品、饮料及酒品等非水体系中存在, 有人在烤制的面包片^[7]、牛奶^[8]、酒^[9]、茶饮料^[10]中发现了微量的 PAHs, 长期食用含有 PAHs 的食物会对人体健康将产生潜在威胁。

目前对多环芳烃的检测分析方法有很多, 如高效液相色谱法^[1-3, 5, 7, 9, 10], 气相色谱-质谱联用法^[8, 9, 11]等。由于荧光光谱分析法的灵敏度要比一般的分光光度法高 2—3 个数量级, 并且它具有操作简便, 快速, 样品不需要前处理等优势, 所以荧光光谱分析法在多环芳烃的分析和检测工作中得到了广泛的应用。本文采用荧光光谱分析法对非水体系中的蒽和芘进行了直接的检测和分析。本分析方法主要可直接应用于食品、饮料及酒产品中的蒽和芘的检测。

① 国家 863 计划(批准号: 2006AA10Z214); 国家自然科学基金(批准号: 20271042);
国家电分析化学重点实验室基金(批准号: 2005007)

② 联系人, 电话: (0816) 6088656; (028) 89379039; E-mail: chiyanhua@swust.edu.cn

作者简介: 陈亮(1983—), 男, 吉林省四平市人, 硕士研究生, 主要从事环境化学方面的研究。

收稿日期: 2008-01-19(接受日期: 2008-12-08)

2 实验部分

2.1 仪器和试剂

RF-5301PC 荧光分光光度计(日本岛津公司); Heto CBN8-30 恒温制冷加热水浴(丹麦, Jouan Nordic); 移液器(德国, Eppendorf 公司)。葱(生化试剂, LR, 成都市科龙化工试剂厂); 苊(生化试剂, LR, 成都市科龙化工试剂厂); 无水乙醇(分析纯, 成都市科龙化工试剂厂)。

葱储备液: 准确称取 25.0mg 葱, 用无水乙醇溶解, 再用无水乙醇定容至 250mL 的容量瓶中, 配成 0.1mg/mL 的储备液。苊储备液: 准确称取 100.0mg 苊, 用无水乙醇溶解, 再用无水乙醇定容至 100mL 的容量瓶中, 配成 1mg/mL 的储备液。储备液均转移至棕色试剂瓶中避光放置备用。 Na^+ , K^+ , Ba^+ , Mg^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{3+} , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Al^{3+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , 蔗糖, Vc 溶液浓度均为 1mg/mL, NO_3^- , Cl^- , SO_4^{2-} 的体积浓度分别为 0.65%, 0.38%, 0.98%, 上述试剂均为 AR。

2.2 实验方法

用无水乙醇将葱和苊储备液准确稀释至适当浓度的测试液, 倒入 1cm 厚的比色皿中, 置于仪器样品室, 设置仪器扫描参数, 用常规荧光法测定。

3 结果与讨论

3.1 葱和苊的荧光光谱

将葱和苊的储备液稀释为 0.1mg/mL 的无水乙醇溶液, 在不同的激发波长下测定其发射光谱, 从而确定最大激发和最大发射波长。从图 1、2 中可以看出: 葱和苊的最大激发及最大发射波长分别为 $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 366\text{nm}/399\text{nm}$ 、 $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 330\text{nm}/373\text{nm}$ 。

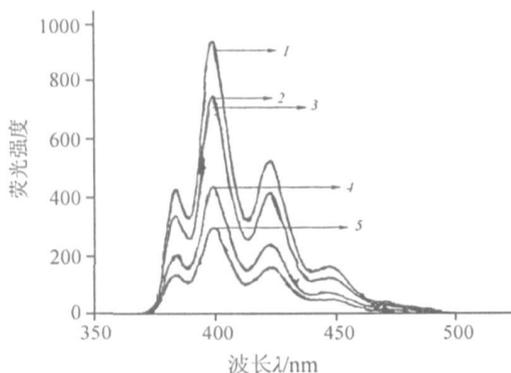


图 1 不同激发波长下葱的发射光谱

1— $\lambda_{\text{ex}} = 366\text{nm}$; 2— $\lambda_{\text{ex}} = 347\text{nm}$; 3— $\lambda_{\text{ex}} = 382\text{nm}$;
4— $\lambda_{\text{ex}} = 375\text{nm}$; 5— $\lambda_{\text{ex}} = 357\text{nm}$; $C_{\text{AmI}} = 0.1\text{mg/mL}$ 。

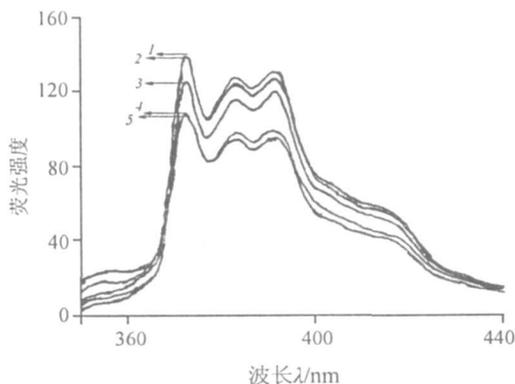


图 2 不同激发波长下苊的发射光谱

1— $\lambda_{\text{ex}} = 330\text{nm}$; 2— $\lambda_{\text{ex}} = 320\text{nm}$; 3— $\lambda_{\text{ex}} = 334\text{nm}$;
4— $\lambda_{\text{ex}} = 310\text{nm}$; 5— $\lambda_{\text{ex}} = 340\text{nm}$; $C_{\text{PyT}} = 0.1\text{mg/mL}$ 。

3.2 温度及时间对其荧光强度的影响

将葱和苊的储备液稀释为 0.0002mg/mL 的无水乙醇溶液, 在不同温度不同时间下测量其荧光强度, 以时间和荧光强度为轴作图, 以考查温度和时间对其荧光强度的影响。

通过图 3、4 可得出时间及温度因素对葱和苊的荧光强度影响状况, 在 2h、5—55℃ 温度范围内, 其对荧光强度影响较弱, 故此分析检测方法对温度和时间的适应范围较宽, 其测试条件可在此时间和温度范围内进行而不受影响。

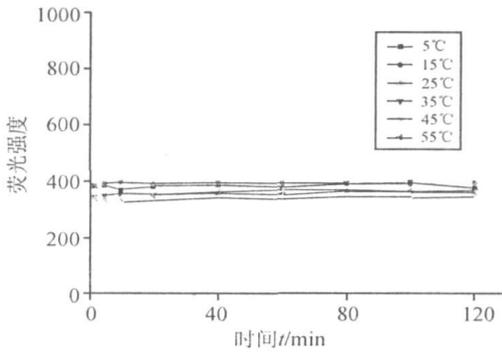


图 3 温度和时间对葱的荧光强度影响

$C_{All} = 0.0002\text{mg/mL}$

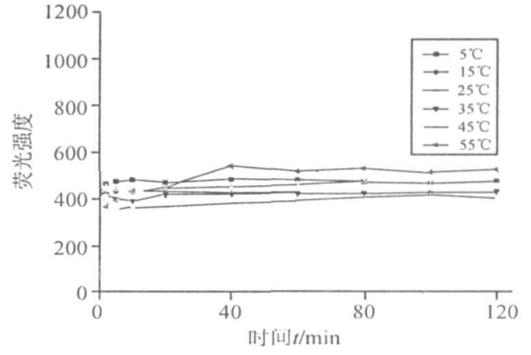


图 4 温度和时间对茺的荧光强度影响

$C_{Pyr} = 0.0002\text{mg/mL}$

3.3 共存物质干扰对荧光强度的影响

实验固定体系中待测物质的浓度(0.0002mg/mL), 加入不同的离子及其他干扰物质, 测其荧光强度, 其结果见表 1。

表 1 干扰物质的影响

加入的离子	浓度 ($\mu\text{g/L}$)	葱		相对误差 (%)	茺		相对误差 (%)
		F	ΔF		F	ΔF	
-	-	572.349	-	-	472.75	-	-
Na^+	1×10^3	570.328	- 2.021	- 0.35	402.080	- 70.495	- 14.92
K^+	1×10^3	564.227	- 8.122	- 1.42	380.361	- 92.214	- 19.51
Ba^{2+}	1×10^3	582.893	10.544	1.84	429.348	- 43.227	- 9.15
Mg^{2+}	1×10^3	623.124	50.775	8.87	433.658	- 38.917	- 8.24
Pb^{2+}	1×10^3	587.706	15.357	2.68	425.740	- 46.835	- 9.91
Fe^{3+}	1×10^3	572.534	0.185	0.03	394.221	- 78.354	- 16.58
Hg^{2+}	1×10^3	572.029	- 0.32	- 0.06	426.941	- 45.634	- 9.66
Cu^{2+}	1×10^3	565.120	- 7.229	- 1.26	433.960	- 38.615	- 8.17
Ca^{2+}	1×10^3	570.763	- 1.568	- 0.27	454.747	- 17.828	- 3.77
Al^{3+}	1×10^3	611.204	38.855	6.79	492.785	20.21	4.28
Zn^{2+}	1×10^3	573.083	0.734	0.13	426.106	- 46.469	- 9.83
Co^{2+}	1×10^3	559.152	- 15.197	- 2.66	428.594	- 43.981	- 9.31
Ni^{2+}	1×10^3	583.091	10.742	1.88	430.830	- 41.745	- 8.83
NO_3^-	0.65%	625.271	52.922	9.25	472.070	- 0.505	- 0.11
Cl	0.38%	575.197	2.848	0.50	413.798	- 58.777	- 12.44
SO_4^{2-}	0.98%	564.797	- 7.52	- 1.32	435.593	- 36.982	- 7.83
蔗糖	5×10^3	569.478	- 2.871	- 0.50	434.816	- 37.759	- 7.99
Vc	5×10^3	583.662	11.313	1.98	397.592	- 74.983	- 15.87

$C_{All} = 0.0002\text{mg/mL}; C_{Pyr} = 0.0002\text{mg/mL}$

从以上数据可以看出, 离子干扰对葱的荧光强度的影响不大, 而茺的荧光强度在加入一些离子时存在不同程度的衰减情况。但是由于在实验中加入干扰离子的浓度远远大于食品饮料中所含离子浓度, 故在实际的分析检测中这些离子干扰均不大, 可忽略, 不影响测定结果。

3.4 校准曲线、线性范围、检出限

将葱和茺的储备液配制成不同浓度梯度的待测溶液, 在最大激发波长下测定发射光谱, 绘制校准曲线(见图 5、6)。通过校准曲线可以得出葱和茺的摩尔吸光系数, 线性范围以及曲线的 r 值, 从中可以看出曲线线性关系良好(见表 2)。

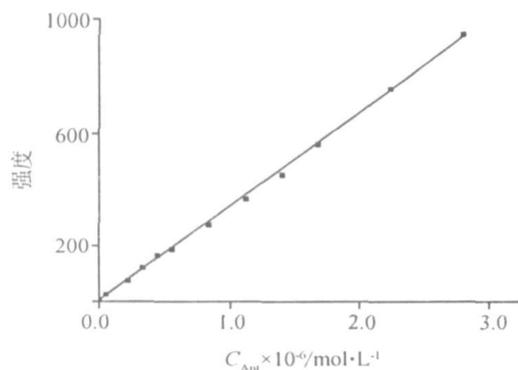


图 5 葱的校准曲线

C_{Ant} : 5.6×10^{-9} mol/L; 5.6×10^{-8} , 2.24×10^{-7} ,
 3.36×10^{-7} , 4.48×10^{-7} , 5.6×10^{-7} , 8.4×10^{-7} ,
 1.12×10^{-6} , 1.4×10^{-6} , 1.68×10^{-6} , 2.24×10^{-6} ,
 2.8×10^{-6} mol/L。

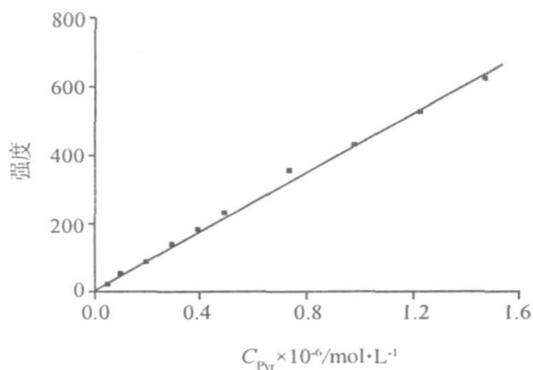


图 6 茺的校准曲线

C_{Pyr} : 4.9×10^{-8} mol/L; 9.8×10^{-8} , 1.96×10^{-7} ,
 2.94×10^{-7} , 3.92×10^{-7} , 4.9×10^{-7} , 7.35×10^{-7} ,
 9.8×10^{-7} , 1.225×10^{-6} , 1.47×10^{-6} mol/L。

表 2 摩尔吸光系数, 线性范围及相关系数

待测物	摩尔吸光系数($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)	线性范围(mol/L)	线性回归方程	相关系数 r
葱	3.36×10^8	$5.6 \times 10^{-9} - 2.8 \times 10^{-6}$	$y = 3.36 \times 10^8 x$	0.99959
茺	4.45×10^8	$4.9 \times 10^{-8} - 1.47 \times 10^{-6}$	$y = 4.45 \times 10^8 x$	0.99822

以试剂空白的 3 倍标准偏差除以校准曲线的斜率计算检出限, 得到葱和茺检出限分别为 0.356 ng/mL, 5.23 ng/mL。

3.5 加标回收试验

按照普通酒饮品的容量, 在乙醇中加入固定量的葱和茺, 对模拟试样进行标准回收试验, 结果见表 3。

表 3 加标回收试验

编号	葱			茺		
	加入量 ($mol \cdot L^{-1}$)	回收量 ($mol \cdot L^{-1}$)	回收率 (%)	加入量 ($mol \cdot L^{-1}$)	回收量 ($mol \cdot L^{-1}$)	回收率 (%)
0	0	0	0	0	0	0
1	2.24×10^{-7}	1.94×10^{-7}	86.61	1.96×10^{-7}	2.25×10^{-7}	115.80
2	1.12×10^{-6}	1.01×10^{-6}	90.18	9.80×10^{-7}	9.71×10^{-7}	99.08
3	2.24×10^{-6}	2.21×10^{-6}	98.66	1.47×10^{-6}	1.42×10^{-6}	96.60

从表 3 可以看出, 葱和茺的回收率分别为 86.61%—98.66% 和 96.60%—115.80%, 回收效果较好, 可用于直接的监测分析。

4 结论

荧光光谱分析法的灵敏度较高, 线性范围宽, 发光参数多, 所提供的信息量大, 选择性优于吸收光谱法。实验结果表明, 采用荧光光谱分析法直接测定非水体系中的葱和茺是可行的, 建立了较稳定的分析检测体系, 与现有的方法相比, 本方法不需要样品前处理, 有机试剂用量少, 实验仪器也相对简单, 灵敏, 容易掌握, 并且可以实时检测。此方法可直接用于食品, 饮料及酒产品中的葱、茺污染物的监测分析。

参考文献

- [1] Singh V K, Singh J. Comparison of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Levels in Placental Tissues of Indian Women with Full-and Preterm Deliveries[J]. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2008, **211**(5—6): 639—647.
- [2] Zougagh M, Ríos A. Direct Automatic Screening and Individual Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using Supercritical Fluid Extraction Coupled On-Line with Liquid Chromatography and Fluorimetric Detection[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004, **524**(1—2): 279—285.
- [3] Gündel J, Angerer J. High-Performance Liquid Chromatographic Method with Fluorescence Detection for the Determination of 3-Hydroxybenzo[*a*] Pyrene and 3-Hydroxybenz[*a*] Anthracene in the Urine of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Exposed Workers [J]. *Journal of Chromatography B*, 2000, **738**(1): 47—55.
- [4] Kobayashi R, Okamoto R A. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Edible Grain: A Pilot Study of Agricultural Crops as a Human Exposure Pathway for Environmental Contaminants Using Wheat as a Model Crop[J]. *Environmental Research*, 2008, **107**(2): 145—151.
- [5] Wiele T R V, Peru K M. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of Hydroxylated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Formed in a Simulator of the Human Gastrointestinal Tract[J]. *Journal of Chromatography B*, 2004, **806**(2): 245—253.
- [6] 张迪瀚, 马永亮, 贺克斌等. 北京市大气颗粒物中多环芳烃(PAHs) 污染特征[J]. *环境科学*, 2006, **27**(7): 1269—1275.
- [7] Salgueiro L R. Effects of Toasting Procedures on the Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Toasted Bread[J]. *Food Chemistry*, 2008, **108**(2): 607—615.
- [8] Aguinaga N, Campillo N. Determination of 16 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Milk and Related Products using Solid-Phase Microextraction Coupled to Gas Chromatography-Mass Spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, **596**(2): 285—290.
- [9] Tfouni S A V, Machado R M D. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Cachaca by HPLC with Fluorescence Detection[J]. *Food Chemistry*, 2007, **101**(1): 334—338.
- [10] Lin D, Tu Y. Concentrations and Health Risk of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Tea[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2005, **43**(1): 41—48.
- [11] 李庆玲, 徐晓琴, 黎先春等. 固相微萃取-气相色谱-质谱联用测定海水和沉积物间隙水中的痕量多环芳烃[J]. *中国科学(B辑) 化学*, 2006, **36**(3): 202—210.

Determination of Anthracene and Pyrene in Non-Aqueous System by Fluorescence Spectrometry

CHEN Liang CHI Yan-Hua SHANG Li-Ping WANG Han

(Department of Material Science and Engineering, Department of Information Engineering, Southwest University of Science and Technology, No. 59 Qinglongdadao, Fucheng District, Mianyang, Sichuan 621002, P. R. China)

Abstract Fluorescence method was applied to the determination of anthracene and pyrene. The calibration curve linear ranges of anthracene and pyrene were 5.6×10^{-9} — 2.8×10^{-6} mol/L and 4.9×10^{-8} — 1.47×10^{-6} mol/L, respectively. Correlative coefficient was obtained as 0.99959 and 0.99822. The effect of common ion, temperature and time on the fluorescence intensity were studied. The no interference of common ions were for determination. Under the experiments conditions of 2 hours, 5—55 °C, the intensity of fluorescence was stable. Therefore this method has a wide range for temperature. can be used to detect anthracene and pyrene straight in non water system such as food, drink and liquor.

Key words Fluorescence Spectrometry, Anthracene, Pyrene, Non-Aqueous System.