

文章编号 1004-924X(2016)11-2665-07

土壤粒径大小对蒽荧光特性的影响及校正

杨仁杰¹,董桂梅¹,杨延荣¹,周长宏¹,刘海学²,张伟玉^{1*}

(1. 天津农学院 工程技术学院,天津 300384;
2. 天津农学院 农业分析测试中心,天津 300384)

摘要:为了准确检测土壤中的多环芳烃,以土壤中典型多环芳烃污染物蒽为检测对象,研究了土壤粒径大小对其荧光特性的影响,并提出了一种校正土壤粒径大小对多环芳烃标准曲线影响的方法。研究了蒽在土壤中的荧光特性,指出蒽在 421 nm、442 nm 和 470 nm 处出现较强的荧光峰。接着,制备 7 种不同粒径大小的蒽土壤样品,并以土壤粒径大小为外扰,构建了同步和异步二维相关荧光光谱,研究了蒽荧光强度和 304 nm 处瑞利散射光强随土壤粒径大小的变化。结果显示,随着土壤粒径增大,蒽荧光强度和 304 nm 处瑞利散射光强度都有增强。最后,分别建立了 80 目和 160 目土壤粒径下定量分析土壤蒽浓度的标准曲线,并通过 304 nm 处瑞利散射光对蒽荧光进行校正。结果表明:该方法有效降低了土壤粒径大小对蒽标准曲线的影响。

关键词:多环芳烃;土壤;粒径大小;蒽;二维相关荧光光谱;校正方法

中图分类号:O657.33 **文献标识码:**A **doi:**10.3788/OPE.20162411.2665

Effect of soil particle size on fluorescence characteristics of anthracene and its correction

YANG Ren-jie¹, DONG Gui-mei¹, YANG Yan-rong¹, ZHOU Chang-hong¹,
LIU Hai-xue², ZHANG Wei-yu^{1*}

(1. College of Engineering and Technology, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China;
2. Laboratory of Agricultural Analysis, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China)

* Corresponding author, E-mail: zhangweiyu@tjau.edu.cn

Abstract: To detect the polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs) in soils accurately, the typical PAH pollutants of anthracene in soils was used as research targets, and the effect of soil particle size on the fluorescence characteristics was researched. Then, a correction method was established to reduce the influence of soil particle size on the standard curve of PAH. The fluorescence characteristics of anthracene in soils were studied and three fluorescence peaks were shown at 421 nm, 442 nm and 470 nm. Seven soil samples with different particle sizes contaminated with anthracene were prepared. On the basis of the perturbation of soil particle sizes, the synchronous and asynchronous two-dimensional(2D) correlation fluorescence spectra were calculated and the variations of the fluorescence intensity of anthracene and Rayleigh scattering intensity at 304 nm with soil particle sizes were

收稿日期:2016-07-25;修订日期:2016-09-04.

基金项目:天津市自然科学基金资助项目(No. 14JCYBJC30400, No. 14JCYBJC43700);国家自然科学基金资助项目(No. 312901359, No. 81471698);天津市教委科技发展基金资助项目(No. 20140621)

studied. It was found that the fluorescence intensity of anthracene and Rayleigh scattering intensity enhance with the increase of soil particle sizes. Finally, the standard curves were established to determine the concentration of anthracene in 80 mesh and 160 mesh soils, respectively, and the fluorescence of anthracene was corrected by the Rayleigh scattering at 304 nm. The results show that the proposed corrected method effectively reduces the effect of soil particle size on the standard curve of anthracene.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbons; soil; particle size; anthracene; two-dimensional (2D) correlation fluorescence spectroscopy; correction method

1 引言

多环芳烃(PAHs)在环境中无处不在,许多 PAHs 具有致癌性、致畸性、致突变性、并且具有生物累积性,能长期留存在环境中,因此许多国家已将多环芳烃作为空气和土壤污染检测的对象。土壤作为一种重要的环境介质,承担着 90% 以上的 PAHs 环境负荷,所以 PAHs 对土壤的污染问题尤为突出。近年来,国内学者对土壤中的 PAHs 污染进行了大量的现场调查研究,结果表明,美国环保局规定的 16 种优先控制的 PAHs 在我国土壤中都有不同程度的检出,且检出率非常高^[1]。土壤中的多数多环芳烃(双环和三环)可通过生物降解的方法进行修复,但修复之前需要明确土壤中多环芳烃污染物的种类和含量。因此,寻求一种便捷、快速、可现场分析土壤中 PAHs 污染物的检测方法已成为环保和农业部门亟需解决的重大问题之一。

目前,土壤中多环芳烃的检测方法有很多,如气相色谱法、高效液相色谱法、气质联用技术等,但这些方法都需要复杂的预处理,无法实现快速、现场检测。荧光光谱技术由于具有选择性高、快速、可实现现场检测等优点,已经被广泛应用于土壤中多环芳烃的检测^[2-5]。Boas^[3]和 Lee^[4]等采用激光诱导荧光技术研究了 PAHs 在土壤中的荧光特性,指出土壤属性会对 PAHs 的荧光产生影响^[6-8]。Schultze^[5]等研究了土壤属性对激光诱导荧光的影响,并建立三维数据库对 PAHs 污染物进行分类和定量。Eun 等^[6-7]基于激光诱导荧光技术对土壤中的石油污染物进行了检测,取得了很好的效果。Reuben 等^[8]对土壤中多环芳烃的检测方法进行了综述,并从经济性、便携性、操

作时间、准确性等角度进行比较,指出相对于其它检测方法,荧光光谱更有优势。我国对于土壤中 PAHs 的直接检测还处于起步阶段。尚丽平课题组^[9-11]采用激光诱导荧光直接测量土壤中的 PAHs,指出该方法对直接检测土壤中的 PAHs 是可行的,并搭建了相应的检测系统。本课题组在研究过程中发现:土壤粒径严重影响着 PAHs 的荧光特性,这一问题严重制约了荧光光谱技术在土壤 PAHs 检测中的应用。因此,本论文以土壤中典型的萘污染物为对象,研究了土壤粒径对萘荧光特性和标准曲线的影响,并提出了一种减小土壤粒径对 PAHs 荧光影响的校正方法。

2 材料与方 法

2.1 仪器与分析条件

实验所用仪器为美国 PE 公司生产的 LS-55 荧光分光光度计。光源为脉冲氙灯,样品池使用仪器自带的固体附件(弹簧压片底座)。激发波长为 304 nm,发射波长为 220~700 nm,激发和发射单色仪的狭缝宽度分别为 5 nm 和 3 nm,扫描速率为 1 000 nm/min。

2.2 试剂和样品处理

实验所用的土壤采自天津农学院校园,高温烘烤后用于实验。实验所用的萘为分析纯,由天津希恩思生化科技有限公司提供。首先将实验土壤置于玛瑙研钵进行研磨,并分别过 40 目、60 目、80 目、100 目、120 目、140 目和 160 目的标准筛,得到 7 种粒径的土壤。接着,对分析纯萘进行研磨,并准确称取 7 份研磨均匀的 0.005 g 萘粉末。最后,准确称取 7 份不同粒度土壤 1 g,并分别与上述制备的 7 份 0.005 g 萘粉末混合均匀,得到 7 个不同粒径萘浓度均为 0.005 g/g 的土壤

样品。采用同样的方法,分别配置了 80 目和 160 目土壤粒径下,10 个不同浓度的蒽土壤样品(浓度为 0.001~0.01 g/g)。

2.3 二维相关荧光谱

对采集的随土壤粒径变化的动态荧光谱矩阵 \mathbf{A} 进行式相关计算^[12-14],即:

$$\Phi(\lambda_1, \lambda_2) = \frac{1}{m-1} \mathbf{A}^T \mathbf{A}, \quad (1)$$

$$\Psi(\lambda_1, \lambda_2) = \frac{1}{m-1} \mathbf{A}^T \mathbf{N} \mathbf{A}, \quad (2)$$

其中 \mathbf{N} 为 Hilbert-Noda 矩阵。通过式(1)和式(2)的相关计算,得到土壤粒径外扰下的同步和异步二维相关荧光谱。

3 结果与分析

3.1 蒽在土壤中的荧光特性

为了排除实验所采用的土壤本底对蒽荧光分析的影响,所以首先采集了实验所用的土壤的三维荧光谱(激发波长为 220~350 nm,发射波长为 220~700 nm)。研究发现,实验所用的土壤本底未见明显的荧光。

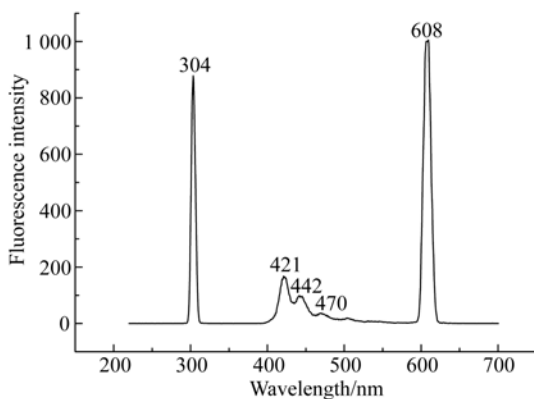


图 1 0.005 g/g 蒽土壤的荧光光谱

Fig. 1 Fluorescent spectrum of anthracene-contaminated soil (0.005 g/g)

根据浓度为 0.005 g/g 的蒽土壤激发谱,选择最佳激发波长 304 nm 来进行激发。图 1 是 0.005 g/g 蒽土壤在 304 nm 波长光激发下的常规一维荧光谱。从图上可以看出,蒽在土壤中存在 3 个明显的特征荧光峰,其位置分别在 421, 442 和 470 nm 处。文献^[15]指出,蒽在无水乙醇溶液中 379, 400 和 424 nm 处存在 3 个荧光峰。

与蒽在无水乙醇中相比,蒽在土壤中的荧光峰位置均发生了红移,这可能是蒽荧光分子团所处的微环境不同所引起的(当处于土壤中时,蒽固体粉末之间是空气填充,而且还存在 π - π 堆积;而当处于无水乙醇中时,蒽荧光分子间的空隙被溶剂填充)。值得注意的是,在图 1 中 304 nm 和 608 nm 出现较强的峰,分别来自光源激发光的一级和二级瑞利散射光。

3.2 土壤粒径对蒽荧光特性的影响

为了研究土壤粒径对蒽荧光特性的影响,对于浓度为 0.005 g/g 的蒽土壤,设计并配置了 7 种粒径的土壤,并在 304 nm 波长光激发下,分别采集了 7 种不同粒径的蒽土壤在 220~700 nm 的荧光谱。为了便于观察土壤中蒽荧光强度随土壤粒径的变化,图 2 仅给出了在 350~550 nm 内,蒽荧光强度随土壤粒径的变化。在图 2 中,沿着箭头的方向(从下往上)土壤粒径从小到大变化,可以观察到,随着土壤粒径的不断增大,蒽在土壤中荧光峰的强度也在不断增大。需要说明的是,蒽在土壤中 3 个荧光峰所处的波长位置并未随土壤粒径的变化而改变。

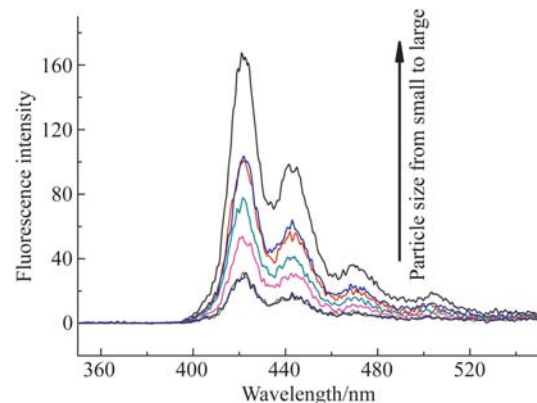


图 2 不同粒径蒽土壤的荧光谱

Fig. 2 Fluorescent spectra of anthracene-contaminated soil with different soil particle sizes (0.005 g/g)

二维相关荧光谱呈现的是随特定外部扰动变化的信息,因此二维相关荧光谱特别适合研究某一因素对体系光谱特征的影响^[13-18]。本文以土壤粒径为外扰,根据式(1)对图 2 的动态一维荧光谱进行同步二维相关荧光谱计算。在理想情况下,二维相关荧光谱仅呈现的是随土壤粒径变化的特征信息,不呈现不变的信息。由于土壤中蒽的浓度保持不变,所以若蒽的荧光强度不随外扰

(土壤粒径)变化的话,在同步相关谱图中不会出现蒽的 3 个特征荧光峰。

图 3(a)和 3(b)分别是浓度为 0.005 g/g 蒽土壤在土壤粒径外扰下的同步二维相关荧光谱和自相关谱。由图 3 可知,在主对角线上出现较强的自相关峰,其位置分别在 421, 442 和 470 nm 处,表明随着土壤粒径的变化,这些波长处荧光强度变化较为敏感。同时,在同步谱主对角线外侧, (421, 442) nm、(421, 442) nm 和 (442, 470) nm 处存在正的交叉峰,这表明 421, 442 和 470 nm 处荧光强度与外扰(土壤粒径)变化的方向相同,这与图 2 的分析结果一致,即随着土壤粒径的增加,这 3 个波长处的荧光强度都在增加。同时还研究了在土壤粒径外扰下蒽土壤的异步二维相关荧光谱特性,在 (421, 442) nm、(442, 421) nm 和 (421, 470) nm 处并未出现交叉峰,这表明 421, 442 和 470 nm 处荧光强度随土壤粒径变化的速率相同,差异性较小。

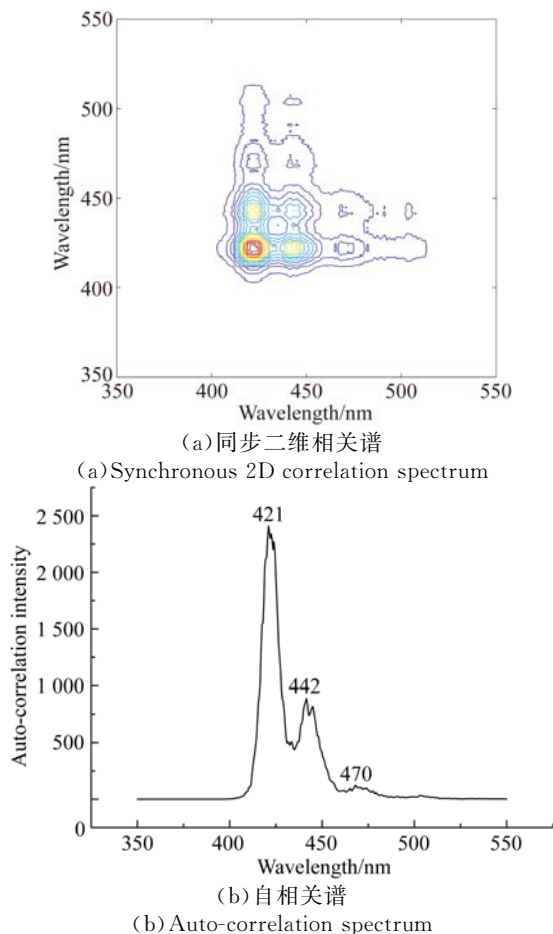
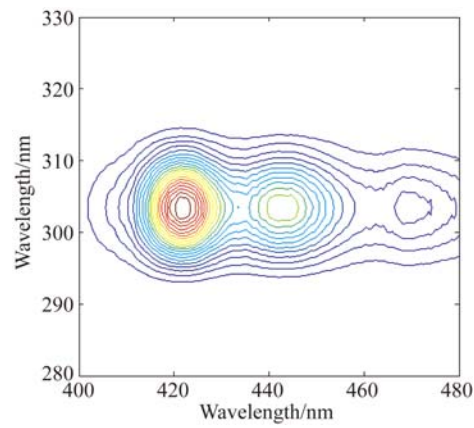
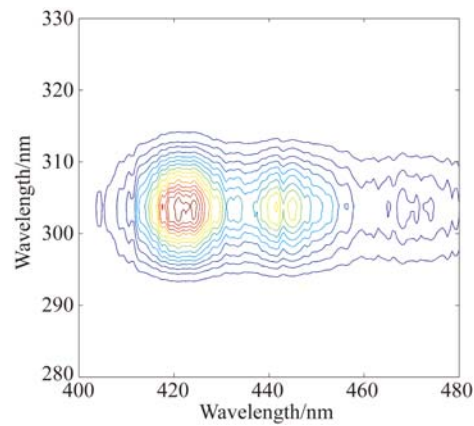


图 3 蒽土壤在 350~550 nm 的光谱
Fig. 3 Spectra of anthracene-contaminated soil in 350~550 nm



(a)同步二维相关谱

(a) Synchronous 2D correlation spectrum



(b)异步二维相关谱

(b) Asynchronous 2D correlation spectrum

图 4 蒽土壤在 280~340 nm 与 400~480 nm 的相关光谱

Fig. 4 Correlation spectra of anthracene-contaminated soil in 280~340 nm vs. 400~480 nm

为了研究光源的瑞利散射光强度、蒽荧光强度以及土壤粒径之间的关系,在 280~340 nm 与 400~480 nm 区间进行同步和异步二维相关荧光谱计算,结果如图 4 所示。在同步谱中, (421, 304) nm、(442, 304) nm 和 (470, 304) nm 处都存在正的交叉峰,这表明 304 nm 处瑞利散射光强度与 421, 442 和 470 nm 处蒽荧光强度都与外扰(土壤粒径)的变化方向相同,即随着土壤粒径的增大而增大。在异步谱中, (421, 304) nm、(442, 304) nm 和 (470, 304) nm 处都存在负的交叉峰,这表明 304 nm 处瑞利散射光强度与蒽荧光强度随外扰(土壤粒径)变化的速率不同。依据 Noda

所提的二维相关谱理论^[14],即 $\Phi(\lambda_1, \lambda_2) * \Psi(\lambda_1, \lambda_2) < 0$,说明高波长 λ_1 处峰强度的变化速率慢于波长 λ_2 处峰强度的变化速率。根据上述分析结果可知:土壤中蒽在 421,442 和 470 nm 处荧光强度随土壤粒径变化的速率要慢于 304 nm 处瑞利散射光强度的变化速率。上述研究结果表明,以 304 nm 处瑞利散射光为桥梁,有可能实现土壤粒径对蒽荧光特性影响的校正。

3.3 土壤粒径对蒽标准曲线的影响及校正

在研究 7 个粒径下蒽土壤荧光特性的基础上,选择 80 目和 160 目两个土壤粒径,分别配置了蒽浓度为 0.001~0.01 g/g 的 10 种土壤样品,并分别采集了这些样品在 304 nm 波长激发下的荧光光谱。

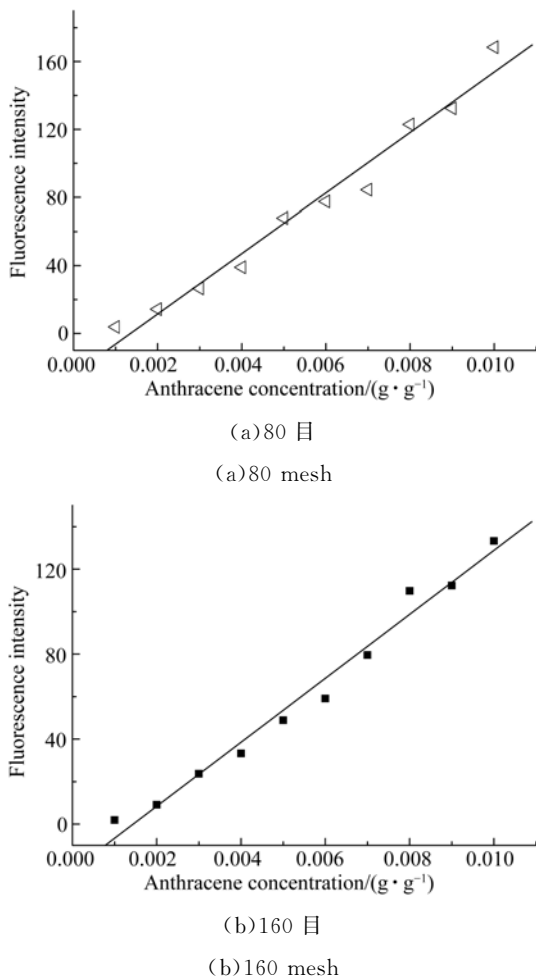


图 5 蒽荧光强度与其浓度的线性拟合

Fig. 5 Linear fitting of fluorescence intensity and concentration of anthracene

为了研究土壤粒径对定量分析蒽浓度的影响,分别在土壤粒径为 80 目和 160 目下,建立了定量分析土壤中蒽浓度的标准曲线。图 5(a)和 5(b)分别是在 80 和 160 目下,10 个浓度蒽土壤在 421 nm 处荧光强度 F 与蒽浓度 C 之间的线性拟合,拟合关系分别为:

$$F_1 = -24 + 17\ 792C, \quad (3)$$

$$F_2 = -21 + 15\ 047C, \quad (4)$$

其中:相关系数 R 分别为 0.986 和 0.990。

对比拟合关系式(3)和式(4),发现对于同样 10 个浓度的蒽土壤,所建立的定量分析土壤中蒽浓度的标准曲线斜率差别很大,这说明土壤粒径对定量分析土壤中蒽浓度产生了较大的影响。

为了减小土壤粒径的影响,基于 304 nm 处散射光强对 421 nm 处荧光强度进行校正。校正后 421 nm 处的荧光强度为:

$$F_s = \frac{F_{421}}{I_{304}},$$

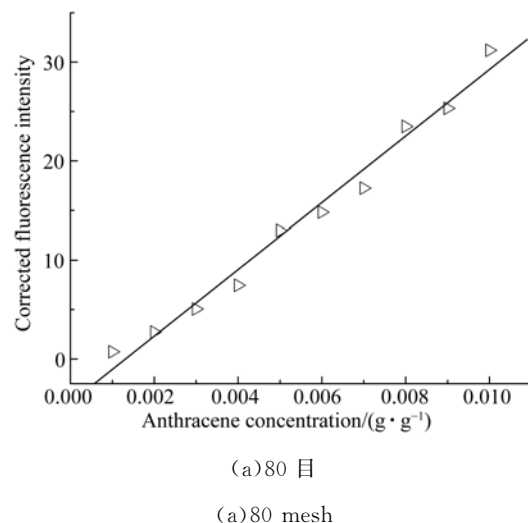
其中: F_{421} 和 I_{304} 分别为样品在 421 nm 处的荧光强度和 304 nm 处的瑞利散射光强度。

图 6(a)和 6(b)分别是 80 目和 160 目下,校正后 421 nm 处荧光强度 F_s 与土壤蒽浓度 C 的线性拟合,其拟合关系分别为:

$$F_{s1} = -4.41 + 3\ 367C, \quad (5)$$

$$F_{s2} = -4.74 + 3\ 304C, \quad (6)$$

其中相关系数分别为 0.991 和 0.992。



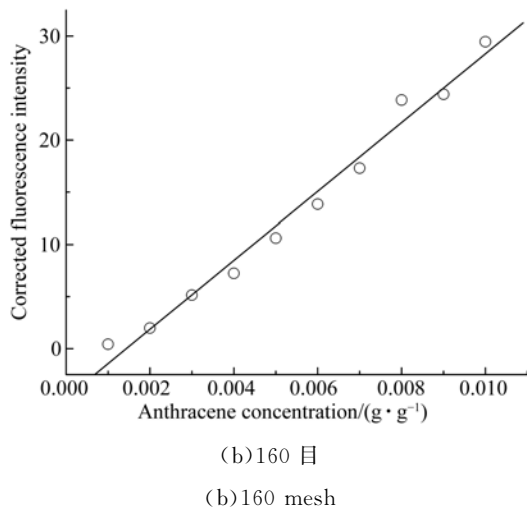


图 6 蒽校正荧光强度与其浓度的线性拟合

Fig. 6 Linear fitting of corrected fluorescence intensity and concentration of anthracene

参考文献:

- [1] 姜永海, 韦尚正, 席北斗, 等. PAHs 在我国土壤中的污染现状及其研究进展[J]. 生态环境学报, 2009, 18(3): 1176-1181.
JIANG Y H, WEI SH ZH, XI B D, *et al.*. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) pollution in soils in China: recent advances and future prospects [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2009, 18(3): 1176-1181. (in Chinese)
- [2] KO E J, KIM Y W, WACHSMUTH U. Remediation process monitoring of PAH-contaminated soils using laser induced fluorescence [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2004, 92(2): 179-191.
- [3] BOAS G. Laser-induced fluorescence checks soil clean up [J]. *Biophotonics International*, 2004, 11(5): 16-17.
- [4] LEE C K, KO E J, KIM K W, *et al.*. Partial least square regression method for the detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in the soil environment using laser-induced fluorescence spectroscopy [J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2004, 158(1): 261-275.
- [5] SCHULTZE R H, LEWITZKA F. On-site and in-situ analysis of contaminated solid using laser induced fluorescence spectroscopy [J]. *SPIE*, 2005, 5983(1): 202-211.
- [6] KO E J, KWAK J, KIM J Y, *et al.*. Application of laser based spectroscopic monitoring into soil remediation process of PAH-contaminated soil [J]. *Geosystem Engineering*, 2011, 14(1): 15-22.
- [7] KO E J, KIM Y W, PARK K, *et al.*. Spectroscopic interpretation of PAH-spectra in minerals and its possible application to soil monitoring [J]. *Sensors*, 2010, 10(4): 3868-3881.
- [8] REUBEN N O, ABDUL M M. Determination of total petroleum hydrocarbon (TPH) and polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) in soils: a review of spectroscopic and nonspectroscopic techniques [J]. *Applied Spectroscopy Reviews*, 2013, 48(6): 458-486.
- [9] 张丽新, 尚丽平, 何俊, 等. 基于激光诱导荧光技术的蒽检测系统[J]. 分析仪器, 2011(1): 20-23.
ZHANG L X, SHANG L P, HE J, *et al.*. Anthracene detection system based on laser induced fluorescence technique [J]. *Analytical Instrumentation*, 2011(1): 20-23. (in Chinese)
- [10] 杨仁杰, 尚丽平, 鲍振博, 等. 激光诱导荧光快速直接检测土壤中多环芳烃污染外物的可行性研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 8(31): 2148-2150.
YANG R J, SHANG L P, BAO ZH B, *et al.*. Feasibility of using laser-induced fluorescence to detect polycyclic aromatic hydrocarbons in soil [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2011, 8(31): 2148-2150. (in Chinese)
- [11] 何俊, 邓璇, 武志翔, 等. 土壤中蒽的激光诱导荧光实验研究[J]. 光电工程, 2011, 38(6): 105-109.

与校正前的拟合关系式(3)和式(4)相比,校正后的拟合关系式(5)和式(6)的斜率比较接近,相关性更好,由此说明所提的校正方法可有效降低土壤粒径对蒽标准曲线的影响。

4 结 论

本文在研究土壤中蒽荧光特性的基础上,以土壤粒径为外扰,构建了含蒽土壤的同步二维相关荧光光谱。结果表明:随着土壤粒径的增大,蒽的荧光强度和瑞利散射光强度都在增大。然后分别建立了 80 目和 160 目土壤粒径下定量分析蒽浓度的标准曲线,分析了土壤粒径对蒽浓度标准曲线的影响,并采用瑞利散射光对蒽荧光曲线进行了校正,得到了很好的校正效果。该研究为基于二维相关荧光光谱直接检测土壤中的多环芳烃提供了理论和实验基础。

- HE J, DENG H, WU ZH X, *et al.*. Experimental study of laser induced fluorescence of anthracene in soil [J]. *Opt-Electronic Engineering*, 2011, 38 (6): 105-109. (in Chinese)
- [12] NODA I. Frontiers of two-dimensional correlation spectroscopy. Part 1. New concepts and noteworthy developments [J]. *J. Mol. Struct.*, 2014, 1069: 3-22.
- [13] NODA I. Frontiers of two-dimensional correlation spectroscopy. Part 2. Perturbation methods, fields of applications, and types of analytical probes [J]. *J. Mol. Struct.*, 2014, 1069: 23-49.
- [14] NODA I. Advances in two-dimensional correlation spectroscopy [J]. *Vib. Spectrosc.*, 2004, 36(2): 143-165.
- [15] 关娜和,杨仁杰,董桂梅,等. 蒽芘混合溶液二维荧光相关谱解析[J]. *光散射学报*, 2015, 27(3): 305-310.
GUAN N H, YANG R J, DONG G M, *et al.*. Two-dimensional fluorescence correlation spectral analysis of anthracene and pyrene [J]. *The Journal of Light Scattering*, 2015, 27(3): 305-310. (in Chinese)
- [16] 杨仁杰,刘蓉,杨延荣,等. 用二维相关近红外谱和多维主成分分析判别掺杂牛奶[J]. *光学精密工程*, 2014, 22(9):2352-2358.
YANG R J, LIU R, YANG Y R, *et al.*. Classification of adulterated milk by two-dimensional correlation near-infrared spectroscopy and multi-way principal component analysis [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2014, 22(9): 2352-2358. (in Chinese)
- [17] YANG R J, LIU R, DONG G M, *et al.*. Two-dimensional hetero-spectral mid-infrared and near-infrared correlation spectroscopy for discrimination adulterated milk [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2016, 157: 50-54.
- [18] YANG R J, DONG G M, SUN X S, *et al.*. Synchronous-asynchronous two-dimensional correlation spectroscopy for the discrimination of adulterated milk [J]. *Analytical Methods*, 2015, 7(10): 4302-4307.

作者简介:



杨仁杰(1978—),男,山西运城人,副教授,硕士生导师,2005年于南开大学获得硕士学位,2013年于天津大学获得博士学位,主要从事农业环境和食品安全检测方面的研究工作。E-mail: rjyang1978@163.com

通讯作者:



张伟玉(1963—),男,甘肃秦安人,教授,硕士生导师,1982年于甘肃农业大学获得学士学位,1987年于西南农业大学获得硕士学位,2013年于天津大学获得博士学位,主要研究方向为测试与控制技术。E-mail: zhangweiyu@tjau.edu.cn

(版权所有 未经许可 不得转载)