

光纤荧光法对吸附于红树叶片表面上荧蒽的测定

陈 丽, 王 萍, 刘贝贝, 张 勇

(厦门大学 近海海洋环境科学国家重点实验室 环境科学研究中心, 福建 厦门 361005)

摘 要: 利用光纤荧光法实现了吸附于白骨壤 (*Am*)、海漆 (*Ea*)、秋茄 (*Kc*)、桐花树 (*Ac*) 和老鼠簕 (*Ai*) 叶片表面上荧蒽 (*Fla*) 的定量测定。所建方法测定吸附于 *Am*、*Ea*、*Kc*、*Ac* 和 *Ai* 叶片表面上 *Fla* 的线性范围分别为 2.5~500、2.0~600、4.5~1100、15~600 和 3.5~450 ng/spot, 相应的检出限分别为 0.91、0.63、1.12、3.52 和 1.40 ng/spot, 方法的相对标准偏差小于 7.8% ($n=15$), 加标回收率分别为 97%~108%、78%~95%、77%~90%、84%~108% 和 78%~102%。利用所建方法考察了 5 种红树叶片正反面吸附不同量 *Fla* 的信号强度随时间的变化情况。结果表明: 在 200 min 内, 叶片正反面上 *Fla* 的信号均发生不同程度的衰减, 且反面的信号衰减率大于正面; 5 种红树叶片正反面 *Fla* 的吸附特性均不同; 吸附于叶片正面的 *Fla* 多残留在叶片表面, 而吸附于叶片反面的 *Fla* 易向叶片内部迁移。

关键词: 荧光; 光纤; 荧蒽; 吸附; 红树叶片

中图分类号: O625.154 TH744.16 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2009)11-1299-05

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2009.11.016

Determination of Fluoranthene Adsorbed on the Surfaces of Mangrove Leaves by Fiber Optical Fluorimetry

CHEN Li, WANG Ping, LIU Beibe, ZHANG Yong

(State Key Laboratory of Marine Environmental Science of China, Environmental Science Research Center, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: A fiber optical fluorimetry for determination of fluoranthene (*Fla*) adsorbed on the surface of five kinds of mangrove leaves was established. Experimental results showed that the linear dynamic ranges for determination of *Fla* adsorbed onto *Avicennia marina* (*Am*), *Excoecaria agallocha* (*Ea*), *Kandelia candel* (*Kc*), *Aegiceras corniculatum* (*Ac*) and *Acanthus ilicifolius* (*Ai*) leaves were 2.5—500, 2.0—600, 4.5—1100, 15—600 and 3.5—450 ng/spot, with detection limits of 0.91, 0.63, 1.12, 3.52 and 1.40 ng/spot, respectively. The relative standard deviations were less than 7.8% ($n=15$). The experimental recoveries for *Fla* adsorbed onto *Am*, *Ea*, *Kc*, *Ac* and *Ai* leaves were 97%—108%, 78%—95%, 77%—90%, 84%—108% and 78%—102%, respectively. The variation of fluorescence signals of different amounts of *Fla* adsorbed onto upper and lower surface of five kinds of mangrove leaves with time were also investigated. The results showed that fluorescence intensities of *Fla* adsorbed onto two surfaces of mangrove leaves were decreased differently in 200 min, and the fluorescence decrements of *Fla* adsorbed on the lower surface were all bigger than those from the corresponding upper surface. Both of upper and lower surfaces of the five mangrove species showed different capacities to adsorb *Fla*. Most of *Fla* adsorbed on the upper surface of mangrove leaves were remained, while some of the *Fla* adsorbed on the lower surface of leaves could be penetrated easily into the inner sides of mangrove leaves.

Key words: fluorescence; fiber optic; fluoranthene; adsorption; mangrove leaves

多环芳烃 (PAHs) 是一类生物累积性强的持久性有机污染物, 广泛存在于空气、水、沉积物和土壤中^[1-2], 因其“致癌、致畸、致突变”作用和内分泌干扰作用备受国内外环境科学家的关注^[3-4]。地球上 80% 的陆地表面被植物覆盖, 而植物叶表面积是所覆盖陆地面积的 6~14 倍, 加之叶片表面亲脂

收稿日期: 2009-07-13 修回日期: 2009-09-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (2077062); 教育部博士点基金资助项目 (200803840015)

第一作者: 陈 丽 (1986-), 女, 福建仙游人, 硕士研究生

通讯作者: 张 勇, Tel: 0592-2188685, E-mail: yzhang@xmu.edu.cn

性结构的角质层可吸附大气中的疏水性有机污染物, 因此, 叶片吸收被认为是空气中 PAHs 进入植物的最主要途径^[5-7]。红树林生态系统具有特殊生态功能, 对其分布的海岸带区域、特别是河口地区污染物的去除作用显著。近年来, 红树林污染生态学的研究备受关注^[8-9]。然而, 直接研究吸附于红树叶片上 PAH 的相关工作却少见报道^[10-11]。

目前, 测定植物样品中 PAH 的方法主要有液相色谱^[12-13]、气相色谱^[14]、气相色谱-质谱^[15-17]等。这些方法虽然选择性好、灵敏度高, 但样品往往需要萃取分离, 不仅费时、费力, 造成二次污染, 而且无法实现原位检测。另外, 传统的破坏性提取方式, 破坏了植物中 PAH 的原始赋存形态, 所得结果无法指示 PAH 在样品中的时空分布。文献 [10-11] 虽有所改进, 但活体原位测定仍是亟待解决的问题。因此, 为更好地开展原位研究红树叶片与大气中 PAH 的相互作用, 建立一种适用的原位分析方法十分必要。

基于已有的工作^[10-11], 本文以 Fl_a 为 PAH 的代表物质, 以新鲜的红树叶片为基质, 利用光纤荧光法易实现原位、在线、实时、远程检测目标物的优点^[18-21], 建立了原位定量测定吸附于 5 种红树叶片表面 Fl_a 的新方法, 并借此开展其有关过程的研究。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Cary Eclipse 荧光分光光度计, 150 W 脉冲式氙灯, 配光纤附件 (美国 Varian 公司); 荧光模式, 激发和发射狭缝分别为 20、10 nm, 扫描速率为 600 nm/min, 光电倍增管电压 600 V, 10 μL 平口微量进样器 (上海医疗激光仪器厂), 5 mL 移液管 (上海申立玻璃仪器有限公司)。红树叶片样品: 白骨壤 (Am)、海漆 (Ea)、秋茄 (Kq)、桐花树 (Aq)、老鼠簕 (Ai)。

Fl_a 储备液: 称取 0.010 0 g Fl_a (纯度大于 99%, 美国 Aldrich 公司) 用丙酮定容于 100 mL 棕色容量瓶中, 配成 100 mg/L 储备液, 储于 4 °C 冰箱中备用。实验时采用逐级稀释法配制 Fl_a 工作液。

样品准备: 5 种红树叶片采自云霄漳江口红树林自然保护区, 选取较平整和成熟度相近的叶片于密封塑料袋中, 存于 4 °C 冰箱中备用。

1.2 实验方法

先后用自来水、Milli-Q 水各冲洗叶片 3 次, 自然晾干后用平口微量进样器在标定位置点加适量系列浓度的 Fl_a 丙酮溶液。待叶片上的丙酮挥发后, 保持光纤探头与叶片所在平面倾斜度为 45°, 光纤荧光法测定。每次实验时, 分别选取 5 片外观相近的叶片, 测定叶片前、中、后 3 个位置上吸附 Fl_a 的荧光强度, 取平均值, 并计算其相对标准偏差。

2 结果与讨论

2.1 吸附于红树叶片表面上 Fl_a 的荧光激发、发射光谱

按实验方法, 光纤荧光法扫描得到 Fl_a 在每种红树叶片上的最佳激发/发射波长分别为: Kc 286/466 nm, Ea 280/465 nm, Am 285/465 nm, Ac 285/466 nm, Ai 283/464 nm。为考察 5 种红树叶片背景荧光是否干扰 Fl_a 的测定, 分别扫描其空白、叶片上滴加适量丙酮挥发后及叶片上滴加不同浓度 Fl_a 丙酮溶液后的荧光光谱, 并将其与 Fl_a 标准水溶液的荧光光谱比较。图 1 为 Kc 叶片上 Fl_a 的荧光激发/发射光谱。由图 1 可知, Kc 叶片的自发荧光很弱, 微量体积的丙酮对叶片背景荧光的影响很小, 说明二者均不影响叶片上 Fl_a 的原位测定; 与 Fl_a 水溶液谱图对照, 发射峰位

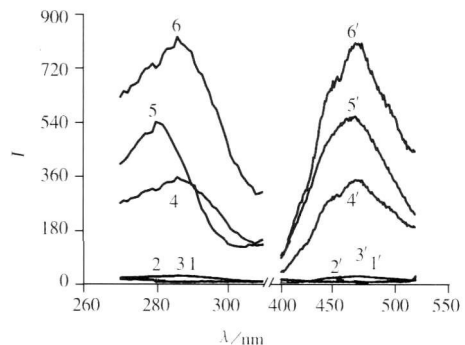


图 1 吸附于 Kc 叶片正面上和水溶液中 Fl_a 的荧光激发/发射光谱

Fig 1 Excitation and emission spectra of Fl_a adsorbed on Kc leaf ($\lambda_{em}/\lambda_{ex}=466\text{ nm}/286\text{ nm}$) and standard aqueous solution ($\lambda_{em}/\lambda_{ex}=466\text{ nm}/280\text{ nm}$)

1, 1': blank; 2, 2': blank+acetone; 3, 3': 15 ng spot Fl_a; 4, 4': 400 ng spot Fl_a; 5, 5': 0.1 mg/L Fl_a in water; 6, 6': 1 000 ng spot Fl_a

置没有发生明显的位移, 而激发峰位置红移 6 nm。其它 4 种红树叶片上所得的实验结果与之相似。因此, 可采用光纤荧光法分析测定吸附在红树叶片上的 F_{la}。

2.2 吸附于红树叶片正、反面 F_{la} 的荧光信号强度随时间的变化

因叶片正反面的生理结构不同^[22-23], 为综合研究 5 种红树叶片对 F_{la} 的吸附行为, 实验考察了 200 min 内叶片正、反面吸附不同量 F_{la} 的信号强度随时间的变化, 并测定了 200 min 后叶片上 F_{la} 信号的衰减率 (结果见图 2 和表 1)。图 2 列出了 Kc 和 Am 的实验结果。由图 2 可知, 在一定的时间内, 吸附于叶片正面上的 F_{la} 荧光强度随时间没有发生明显的变化; 而吸附于叶片反面上 F_{la} 的荧光信号强度的下降趋势普遍大于正面 (除了 Kc 反面吸附 400 ng/spot F_{la} 的信号衰减率为正面大于反面, 其他 3 种红树叶片均是反面的荧光信号衰减率明显大于正面, 数据未给出)。同时, 对于相同吸附量的 F_{la} 经相同时间, 其在 5 种叶片上的信号强度为 Ea > Kc > Am > Ai > Ac 可见, 在相同时刻, 残留在不同红树叶片表面上的 F_{la} 量不同, 这表明, 在相同的实验条件下, 不同的红树叶片对 F_{la} 的吸附能力不同。由表 1 可知, 吸附于叶片正面上的 F_{la} 在 200 min 内, 大部分 F_{la} 残留在叶片的表面; 而对于吸附在叶片反面上的 F_{la} 其可能更易向叶片内部迁移。

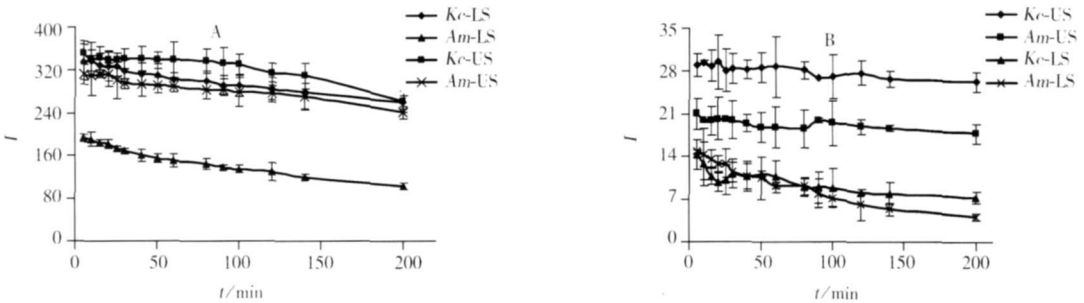


图 2 400 ng/spot (A)、15 ng/spot (B) F_{la} 在 Kc 和 Am 叶片正反面荧光信号强度随时间的变化 (n=15)
Fig 2 Variation of fluorescence signals of 400 ng/spot (A) and 15 ng/spot (B) F_{la} on the upper and lower surface of Kc and Am leaves (n=15)

表 1 200 min 后 Kc 和 Am 叶片正反面相对荧光信号的衰减百分数

Table 1 Percentages of relative fluorescence intensities decreased after 200 min for upper surface (US) and lower surface (LS) of Kc and Am leaves (n=15)

Mangrove	400 ng/spot		15 ng/spot	
	US (mean [*] ± SD)	LS (mean [*] ± SD)	US (mean [*] ± SD)	LS (mean [*] ± SD)
Kc	25.68 ± 5.61%	22.40 ± 5.87%	9.23 ± 3.17%	49.14 ± 4.08%
Am	22.84 ± 9.44%	51.03 ± 6.00%	15.14 ± 5.69%	72.01 ± 4.63%

* stands for the average value of 15 measurements; SD: standard deviation

2.3 工作曲线、线性范围、检出限

为实现吸附于 5 种红树叶片正面上 F_{la} 的定量测定, 配制了系列浓度的 F_{la} 丙酮溶液, 按 “1.2” 方法测其吸附于叶片后的相对荧光信号强度, 结果见表 2。由表 2 可知, 吸附于不同红树叶片上的 F_{la} 在一定浓度范围内与其相对荧光信号强度呈良好的线性关系。对吸附于 5 种红树叶片表面上 200 ng/spot F_{la} 每个平行测定 15 次, 相对标准偏差均小于 7.8%, 表明方法具有较好的精密度。这为现场原位分析吸附于红树或其他植物叶片上的 F_{la} 提供了可能。

表 2 方法的分析特性

Table 2 Analytical characteristics of the method

Mangrove	Regression equation	Linear range (ng/spot)	Correlation coefficient	Detection limit (ng/spot)
Kc	Y=0.790X+17.6	4.5~1100	0.9920	1.12
Am	Y=0.731X+8.19	2.5~500	0.9965	0.91
Ea	Y=1.120X+23.0	2.0~600	0.9826	0.63
Ac	Y=0.536X+14.9	15~600	0.9861	3.52
Ai	Y=0.669X+1.89	3.5~450	0.9984	1.40

Y stands for fluorescence intensity of F_{la} adsorbed on the surfaces of mangrove leaves; X stands for concentration of F_{la} added to the surface of mangrove leaves

2.4 回收率实验

在测定各种红树叶片表面上 F_{la} 的线性范围内选择高、中、低 3 个浓度, 分别点加在叶片正面上, 测其相对荧光信号强度; 然后在原点样处添加一定浓度的 F_{la} 测其荧光信号强度, 按文献[10—11]方法, 求其回收率, 结果见表 3。由表 3 可知, 5 种红树叶片上吸附 F_{la} 的回收率为 77%~108%。表明所建方法的准确度可以满足实验要求。

表 3 5 种红树叶片上 F_{la} 的加标回收率 ($n=15$)
Table 3 Results of recovery experiments for F_{la} adsorbed on five kinds of mangrove leaves ($n=15$)

Mangrove	Original $C_0/(ng \cdot spot^{-1})$	Added $C_A/(ng \cdot spot^{-1})$	Total $C_T/(ng \cdot spot^{-1})$	Found $C_F/(ng \cdot spot^{-1})$	Recovery R/%
Kc	10.0	20.0	38.1	18.1	90
	100.0	200.0	254.2	154.2	77
	400.0	300.0	644.2	244.2	81
Ea	10.0	10.0	18.8	8.8	88
	100.0	200.0	255.0	155.0	78
	250.0	300.0	535.5	285.5	95
Ai	5.0	5.0	8.9	3.9	78
	100.0	50.0	151.1	51.1	102
	200.0	150.0	342.8	142.8	95
Ac	30.0	20.0	47.8	17.8	89
	100.0	50.0	142.0	42.0	84
	200.0	300.0	523.9	323.9	108
Am	10.0	20.0	31.7	21.7	108
	100.0	50.0	148.7	48.7	97
	200.0	200.0	401.0	201.0	100

3 结 论

上述实验结果表明, 所建的方法具有简单、快速、准确、重复性好、灵敏度高、环境友好等特点。经过对叶片前处理和实验方法的改进, 所建方法可在更接近实际环境的条件下考察植物叶片对 PAHs 的吸附行为, 可更加简便、快速定量吸附在叶片上的 PAHs 在活体原位测定 F_{la} 或其它 PAH 的环境行为方面更有应用潜力。由于植物样品 (尤其是在一些偏远地区) 比大气样品更容易收集, 该技术在确定 PAH 的污染状况、测定较大尺度范围内 PAH 的迁移、转化过程, 进而估算污染物的全球浓度水平、通量变化等方面具有潜在的应用价值。然而, 本方法仅可以检测吸附在红树叶片表面的 PAHs, 无法检测进入叶片内部的 PAHs。另外, 实际环境中 PAHs 大多是以混合物或多组分的形式存在, 因此, 建立测定吸附于叶片上多组分 PAH 的新方法将成为今后的工作方向之一。

参考文献:

- [1] MENZIE C A, FOTOCKI B, SANTODONATO J. Exposure to carcinogenic PAHs in the environment [J]. *Environ Sci Technol* 1992, 26(7): 1278—1284.
- [2] MCLACHLAN M S. New instrument brings PAH analysis to the field [J]. *Environ Sci Technol* 1996, 30(1): 252—259.
- [3] BUEHLER S S, BASU J, HINES R A. A comparison of PAH, PCB, and pesticide concentrations in air at two rural sites on Lake Superior [J]. *Environ Sci Technol* 2001, 35(12): 2417—2422.
- [4] GHOSH U, ZIMMERMAN JR, LUTHY R G. PCB and PAH speciation among particle types in contaminated harbor sediments and effects on PAH bioavailability [J]. *Environ Sci Technol* 2003, 37(10): 2209—2217.
- [5] PATERSON S, MACKAY D, MCFARIANE C. A model of organic chemical uptake by plants from soil and the atmosphere [J]. *Environ Sci Technol* 1994, 28(13): 2259—2266.
- [6] BARBER J L, THOMAS G Q, KERSTENS et al. Current issues and uncertainties in the measurement and modeling of air-vegetation exchange and within-plant processing of POPs [J]. *Environ Pollut* 2004, 128(1/2): 99—138.
- [7] LEAD W A, SETNERS E, JONES K C. Atmospheric deposition of PCBs to moss (*Hypnum splendens*) in Norway between 1977 and 1990 [J]. *Environ Sci Technol* 1996, 30(2): 524—530.
- [8] KELLY WANG W, WONG T W Y et al. Removal of pyrene from contaminated sediments by mangrove microcosms [J]. *Chemosphere* 2003, 51(1): 25—34.
- [9] KELLY WONG T W Y, WONG A H Y et al. Negative effects of humic acid addition on phyto remediation of pyrene-contaminated sediments by mangrove seedlings [J]. *Chemosphere* 2003, 52(9): 1581—1591.

- [10] WANG Ping DU Kezhao ZHU Yaxian et al. A novel analytical approach for investigation of anthracene adsorption on mangrove leaves [J]. *Talanta* 2008 76(5): 1177—1182
- [11] 杜克钊, 朱亚先, 王萍, 等. 固体表面荧光法测定吸附于白骨壤和木榄叶片上的蒽 [J]. *分析试验室*, 2009 28(4): 81—83
- [12] KAYALI—SAYADIM N RUBIO—BARROSO S CUESTA—JIMENEZ M P et al. A new method for the determination of selected PAHs in coffee brew samples by HPLC with fluorimetric detection and solid phase extraction [J]. *L J Chromatogr Relat Technol* 1999 22(4): 615—627
- [13] HWANG H M WADE T L SERICANO J L Concentrations and source characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons in pine needles from Korea Mexico and United States [J]. *Atmos Environ* 2003 37(16): 2259—2267
- [14] DAI Jiayin XU Muqi CHEN Jiping et al. PCDD/F PAH and heavy metals in the sewage sludge from six wastewater treatment plants in Beijing China [J]. *Chemosphere* 2007 66(2): 353—361
- [15] ORECCHIO S CIOITIV P CULOTTA L Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coffee brew samples: Analytical method by GC—MS profile levels and sources [J]. *Food Chem Toxicol* 2009 47(4): 819—826
- [16] WAGROWSKI DIANE M HILES R A Polycyclic aromatic hydrocarbon accumulation in urban suburban and rural vegetation [J]. *Environ Sci Technol* 1997 31(1): 279—282
- [17] 毕鸿亮, 张浩原, 孙翠香, 等. 蔬菜中多环芳烃的 GC—MS 分析 [J]. *分析测试学报*, 2007 26(4): 530—532
- [18] NIESSNER R PANNE U SCHROEDER H Fiber optic sensor for the determination of polynuclear aromatic hydrocarbons with time resolved laser induced fluorescence [J]. *Anal Chim Acta* 1991 255(2): 231—243
- [19] ROGERS K R POZOMEK E J Fiber optic sensors for environmental monitoring [J]. *Chemosphere* 1996 33(6): 1151—1174
- [20] PANNE U NIESSNER R A fiber optical sensor for polynuclear aromatic hydrocarbons based on multidimensional fluorescence [J]. *Sens Actuator B* 1993 13(1/3): 288—292
- [21] 何俊, 李勇, 但德忠, 等. 测定人血清白蛋白的荧光光纤流动免疫分析系统 [J]. *分析测试学报*, 2001 20(5): 31—33
- [22] PRICE C E A review of the factors influencing the penetration of pesticides through plant leaves [M] // CUTLER D F ALVN K L PRICE C E et al. *The plant cuticle* London: Academic Press, 1982: 237—252
- [23] GIESE B N Effects of light and temperature on the composition of epicuticular wax of barley leaves [J]. *Phytochemistry* 1975 14(4): 921—929

(上接第 1298 页)

- [14] TATE A R FOXALL P J HOLMSEY et al. Distinction between normal and renal cell carcinoma kidney cortical biopsy samples using pattern recognition of H magic angle spinning (MAS) NMR spectra [J]. *NMR Biomed* 2000 13(2): 64—71
- [15] YANG Yongxia LI Chenglong NIE Xipu et al. Metabonomic studies of human hepatocellular carcinoma using high-resolution magic angle spinning ¹H NMR spectroscopy in conjunction with multivariate data analysis [J]. *J Proteome Res* 2007 6(7): 2605—2614