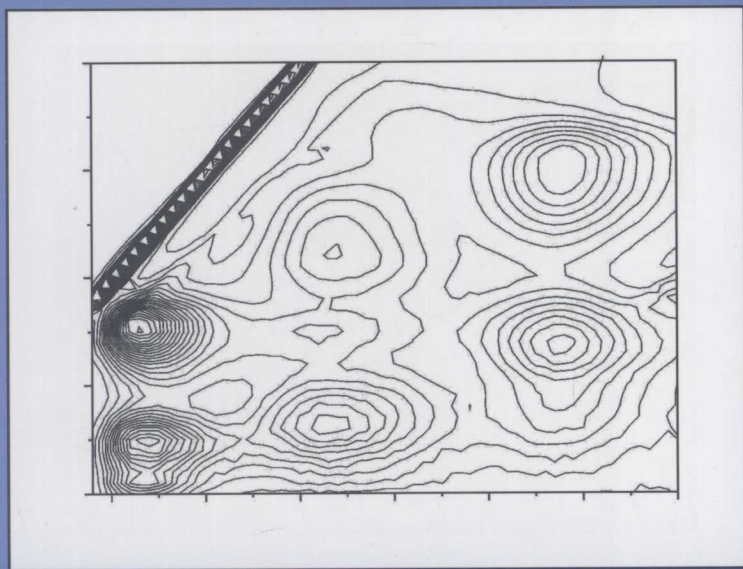


中药三维荧光检验法

魏永巨 著

CH



科学出版社

R282.5
20131

中药三维荧光检验法

魏永巨 著



科学出版社

北 京

内 容 简 介

中药三维荧光图谱是一种新出现的中药指纹图谱,具有灵敏度高、专属性好、实验简便、环境友好等优点,适合在中药材的鉴别中应用。本书阐述了中药三维荧光图谱的基本原理与实验方法,以中药对照药材为样品,绘制了470多种常用中药材的三维荧光检验方法,绘制了三维荧光对照图谱,供实际样品检验时参考。

本书内容丰富、文字简明、注重操作、方法新颖,可供中药研究开发、质量检验、生产经营和市场监管等方面的科技人员参考使用,也可供高等院校相关专业的教师、研究生和本科生参考。

图书在版编目(CIP)数据

中药三维荧光检验法/魏永巨著. —北京:科学出版社,2012
ISBN 978-7-03-035812-7

I. ①中… II. ①魏… III. ①中药材-荧光光谱-检验方法-研究
IV. ①R282.5

中国版本图书馆CIP数据核字(2012)第248845号

责任编辑:杨震 刘冉 贺密青 / 责任校对:刘小梅
责任印制:钱玉芬 / 封面设计:陈敬

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号
邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

骏杰印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2012年12月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2012年12月第一次印刷 印张:26 1/4

字数:510 000

定价:98.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

中药质量控制是中药现代化和国际化的重要内容，也是中药产业发展的瓶颈。中药质量控制的源头在于中药材的鉴别与质量评价。目前，中药质量控制的实验方法主要是各种色谱分析法，包括液相色谱、气相色谱和薄层色谱等；光谱分析方法，如紫外光谱、红外光谱和荧光光谱等也有一定应用。一些现代仪器分析方法，如毛细管电泳、色谱-质谱联用和色谱-核磁共振联用等新技术在中药分析中的应用也越来越多。化学计量学与中药分析学的结合，使各种中药指纹图谱特别是色谱指纹图谱的研究与应用日益成为中药质量控制的有效手段。

中药材中的某些成分能够在紫外光或日光照射下产生不同颜色的荧光，因此，中药荧光检验法是中药理化鉴别的一种传统方法。早期的荧光检验法利用人的肉眼观察药材或其提取液在紫外光或日光照射下所产生的颜色，据此进行中药材的鉴别。后来采用荧光分光光度计测量中药材的荧光光谱，依据特征峰的波长对中药材进行鉴别，或依据荧光强度对活性成分进行定量分析。但是，总体来看，中药荧光分析的研究一直没有显著进展，实际应用有限。

荧光分析法具有灵敏度高、选择性好、实验简便、耗时少、成本低等优点，中药中的许多活性成分具有荧光，因此，将荧光分析应用于中药分析是分析方法与分析对象的恰当结合。自 2003 年以来，在前人工作的基础上，我们开展了中药荧光分析方面的研究，先后得到了河北师范大学自然科学基金（L2004Z04）、河北省自然科学基金（B2005000149）和国家自然科学基金（20675025，20975029，81173496）的支持。通过对数百种中药材的广泛实验，认识到中药荧光具有普遍性；通过对中药活性成分（如酚酸类、苯丙酸类、香豆素类、木质素类、黄酮类、醌类和生物碱类化合物）荧光性质的考察，认识到许多中药活性成分具有内源荧光或者可以产生敏化荧光；将三维荧光技术应用于复杂中药样品的分析，获得了中药三维荧光图谱；为了解决中药三维荧光图谱的重现性问题，探索建立了以纯水在 350 nm 激发波长下的拉曼散射为参比对三维荧光图谱进行校正的方法；为了改善中药材三维荧光图谱的专属性，研究制订了多种敏化荧光的实验方法；以中药对照药材为实验样品，绘制了 470 多种植物药材的三维荧光对照图谱。这些工作逐步构成了中药三维荧光检验法的基础，为中药化学物质基础研究开启了一个新的观察视角。我们预期中药荧光分析法将成为中药分析学的一个重要分支，在中药质量控制中发挥作用。

参与本项研究的有刘翠格教授、杨莉丽教授和申金山教授；贺全林、薛玉

珍、高文玲三位高级实验师以及张慧姣讲师参加了部分实验工作；刘德龙教授、敦惠娟研究员参加了多次学术讨论；博士研究生支欢欢和硕士研究生温亚男、孔月萍、秦晓燕、宋金凤、姚飞飞、王静、张晴、贺翠翠、张宁参与了本书的实验工作和文档整理；历届硕士研究生赵晶、史训立、张英华、李云、乔赛男、孟晓彩、杨菲、郑彦慧、田丽平、王淑静、李申丽、李晓霞、赵文武、石志哲、孟伟、范婷婷、张珺、徐玉春、谷丽华、李丽然、杨春飞、陈娜、刘博、辛义川、姚杰、陈素英、王立屏、周晓霞、王凤伟等参与了本书的相关研究，书中部分实例取材于他们的硕士学位论文（可登陆中国知网 [www. cnki. net](http://www.cnki.net) 中的“中国优秀硕士学位论文全文数据库”查阅）；河北省药品检验所冯丽主任药师与作者进行了学术讨论并提供了大量中药样品；河北师范大学化学与材料科学学院、生命科学学院、科技处、实验室与设备管理处、分析测试中心的领导对本项研究给予了大力支持；科学出版社对本书的出版给予了支持，在此一并表示衷心感谢。

中药材种类繁多，本书所及只是其中的一部分。由于学识水平和时间等方面的局限，书中关于中药三维荧光图谱的原理和实验技术的阐述可能存在疏漏，给出的各种中药材的检验方法和相应的三维荧光图谱未必是最优的，还有进一步优化、充实的巨大空间。希望本书能够起到抛砖引玉的作用，吸引读者在中药三维荧光图谱方面开展更加广泛、深入的研究，使其能够在中药质量控制中得到应用。期望读者对本书提出宝贵意见，以求日趋完善。

作 者

2012年7月于河北师范大学

目 录

前言

第一章 概论 1

1.1 引言..... 1

1.2 三维荧光基本原理..... 2

1.2.1 二维荧光光谱 2

1.2.2 三维荧光光谱 3

1.2.3 三维荧光光谱的数学表示 4

1.2.4 三维荧光光谱中包含的信息 4

1.3 一般实验方法..... 8

1.3.1 样品提取液的制备 8

1.3.2 三维荧光图谱的绘制 9

1.3.3 三维荧光图谱的校正 10

1.4 提高专属性的方法 11

1.4.1 溶剂效应 11

1.4.2 酸度效应 12

1.4.3 有序介质的作用 13

1.4.4 生成荧光络合物 15

1.5 图谱解析与样品鉴别 17

1.5.1 荧光图谱的解析 18

1.5.2 供试样品的鉴别 25

参考文献..... 27

第二章 根及根茎类中药..... 30

2.1 根类中药 30

巴戟天 30

白薇 31

白头翁 32

白芍 33

白芷（杭白芷） 34

百部（对叶百部） 35

板蓝根 35

草玉梅 36

赤芍 37

赤芍（川赤芍） 37

川木香 38

川牛膝 39

川乌 40

大红袍（毛杭子梢） 40

当归 41

党参 42

地黄 42

熟地黄 43

地榆 43

独活 44

防风 45

防己（粉防己） 45

粉葛 46

甘遂 47

岗梅 47

固果根 48

何首乌 49

制何首乌 50

黑老虎 50

红大戟 51

红芪 52

黄芪 52

黄芪（膜荚黄芪） 53

黄芩 54

金果榄 (青牛胆)	55	续断	79
金铁锁	55	玄参	80
金樱根	56	野牡丹	81
桔梗	57	郁金	81
苦参	58	远志	82
狼毒 (狼毒大戟)	58	朱砂根	83
狼毒 (月腺大戟)	59	竹叶柴胡	83
两面针	60	紫草 (新疆紫草)	84
漏芦 (祁州漏芦)	60	紫花前胡	85
麦冬	61	紫金龙	85
绵大戟	62	2.2 根茎类中药	86
棉花根	62	芭蕉根	86
明党参	63	菝葜	87
木香	64	白附子	88
南沙参	64	白及	89
牛膝	65	白茅根	89
千斤拔	66	白前 (柳叶白前)	90
前胡	66	白术	91
茜草	67	白土苓 (短柱肖菝葜)	91
秦艽 (小秦艽)	67	百合	92
三七	68	半夏	93
山麦冬	69	北豆根	94
山芝麻	70	苍术	95
楸木	71	苍术 (北苍术)	95
水防风 (宽萼岩风)	71	重楼	96
太子参	72	川贝母	96
桃金娘根	73	川射干	97
天冬	73	川芎	98
天花粉	74	穿山龙	99
铁筷子	75	刺五加	99
透骨香	76	大黄 (药用大黄)	100
土木香	77	大黄 (掌叶大黄)	101
乌药	78	丹参	101
五指毛桃	78	滇黄精	102
喜马拉雅紫茉莉	79	东风橘	103

莪术 (温郁金)	103	射干	127
粉萆薢	104	升麻	127
干姜	105	石菖蒲	128
甘草	105	唐古特大黄	129
甘松	106	天麻	129
藁本	107	土茯苓	130
藁本 (辽藁本)	107	威灵仙	131
狗脊	108	夏天无	131
骨碎补	108	仙茅	132
红参	109	薤白	132
红参芦	110	徐长卿	133
红景天	110	延胡索	134
胡黄连	111	伊贝母	135
湖北贝母	112	玉竹	135
虎杖	113	藏菖蒲	136
黄精	113	泽泻	137
黄连	114	浙贝母	138
坚龙胆	115	知母	138
姜黄	115	紫色姜	139
宽叶缬草	116	紫菀	140
龙胆	117	第三章 茎木类中药	141
芦竹根	117	川木通	141
绵萆薢	118	大血藤	142
绵马贯众	119	滇鸡血藤	143
南板蓝根	119	丁公藤	144
披麻草	120	功劳木	145
片姜黄	120	钩藤	145
平贝母	121	桂枝	146
羌活	122	鸡血藤	147
羌活 (宽叶羌活)	123	降香	147
人参	123	苦木	148
三棱	124	宽筋藤	149
山豆根	125	绿包藤	149
山柰	125	买麻藤	150
珊瑚姜	126	青风藤	151

忍冬藤	152	第五章 叶类中药	178
桑枝	153	艾叶	178
首乌藤	153	侧柏叶	179
苏木	154	匙羹藤叶	180
通关藤	155	刺梨叶	181
小叶买麻藤	155	大青叶	181
芫花条	156	大叶紫珠	182
野木瓜	157	灯台叶	183
玉叶金花	158	丁香叶	184
柘木	159	杜仲叶	185
紫苏梗	159	番石榴叶	186
第四章 皮类中药	161	番泻叶	187
白鲜皮	161	飞龙掌血叶	188
椿皮	162	岗松	188
地骨皮(枸杞)	162	广东紫珠	189
杜仲	163	广山楂叶	190
膏桐	164	荷叶	191
关黄柏	165	虎杖叶	192
桂皮	165	九里香	193
合欢皮	166	橘叶	193
红杜仲	167	罗布麻叶	194
厚朴	168	落花生枝叶	195
黄柏	169	满山白	196
苦楝皮	169	满山红	197
龙芽楸木	170	芒果叶	197
牡丹皮	171	木芙蓉叶	198
秦皮	172	枇杷叶	199
肉桂	173	桑叶	200
桑白皮	173	山绿茶	201
香加皮	174	山楂叶	201
小檗皮	175	松叶	202
云实皮	175	甜茶	203
紫荆皮	176	甜叶菊	204
祖师麻	177	西河柳	204
		银杏叶	205

紫花杜鹃	206	芫荽	233
紫苏叶	207	芫澄茄	234
第六章 花类中药	208	补骨脂	235
贝母花	208	苍耳子	235
槟榔花	209	草果	236
丁香	210	陈皮	236
谷精草	211	川楝子	237
合欢花	212	刺梨果	238
红花	212	地肤子	239
槐花	213	佛手	239
槐米	214	枸杞子	240
黄芩花	215	瓜蒌皮	241
鸡冠花	215	广枣	242
金银花	216	诃子	243
菊花	217	鹤虱	244
款冬花	218	白胡椒	244
莲须	219	黑胡椒	245
烈香杜鹃	220	花椒	246
凌霄花	220	化橘红	247
玫瑰花	221	槐角	248
密蒙花	222	黄荆子	248
蒲黄(水烛香蒲)	223	火麻仁	249
山银花(灰毡毛忍冬)	224	蒺藜	250
西红花	224	金樱子	251
夏枯草	225	锦灯笼	251
辛夷	226	连翘	252
旋复花	226	罗汉果	253
芫花	227	马兜铃	254
洋金花	228	麦芽	254
野菊花	229	毛诃子	255
第七章 果实及种子类中药	231	母丁香	256
7.1 果实类中药	231	木瓜	257
八角茴香	231	南鹤虱	258
巴豆	232	南山楂	259
板栗壳	233	南五味子	259

牛蒡子	260	芥子	283
女贞子	261	决明子	283
蒲葵子	261	决明子 (小决明)	284
青皮	262	苦菜子	284
桑椹	263	苦杏仁	285
沙棘	263	莱菔子	286
砂仁	264	莲子	287
山茱萸	265	骆驼蓬子	287
蛇床子	265	马钱子	288
石榴皮	266	木鳖子	289
双边瓜蒌皮	267	南葶苈子	289
桃金娘果	267	牵牛子	290
藤合欢	268	芡实	291
甜瓜蒂	269	苘麻子	292
乌梅	269	肉豆蔻	292
吴茱萸	270	沙苑子	293
五味子	270	使君子	294
西青果	271	酸枣仁	295
香橼	272	桃仁	296
益智	272	桃仁 (山桃)	296
罂粟壳	273	王不留行	297
余甘子	273	相思子	297
预知子	274	第八章 全草类中药	299
梔子	275	矮地茶	299
枳壳	275	白花丹	299
枳实	276	白花蛇舌草	300
猪牙皂	277	白屈菜	301
7.2 种子类中药	277	白英	301
白果	278	百蕊草	302
槟榔	278	半边莲	303
广天仙子	279	半支莲	303
黑豆	280	博落回	304
黑种草子	281	薄荷	305
红豆蔻	281	车前草 (车前)	305
花生红衣	282	车前草 (平车前)	306

穿心莲	307	老鹤草	332
船形乌头	308	篱栏网	332
垂盆草	308	连钱草	333
灯心草	309	路边青	334
灯盏细辛	310	绿萍	335
地耳草	310	绿绒蒿	335
地瓜藤	311	麻黄(草麻黄)	336
地锦草(斑地锦)	312	麻黄(中麻黄)	337
地锦草(地锦)	312	马鞭草	338
地稔	313	马兰草	339
冬凌草	314	毛大丁草	339
独一味	315	墨旱莲	340
鹅不食草	316	盘龙参	341
翻白草	316	佩兰	341
凤尾草	317	蒲公英	342
甘青青兰	318	漆姑草	343
瓜子金	318	青蒿	344
贯叶金丝桃	319	全叶青兰	344
广藿香	320	肉苁蓉	345
槲寄生	321	肉苁蓉(管花肉苁蓉)	346
华佩兰	321	三白草	346
鸡矢藤	322	山风	347
吉祥草	323	伸筋草	348
绞股蓝	323	肾茶	349
节裂角茴香	324	石椒草	349
结石草	325	锁阳	350
金钱草(过路草)	325	头花蓼	351
荆芥	326	土荆芥	351
菊苣(毛菊苣)	327	兔耳草	352
卷柏(垫状卷柏)	328	瓦松	353
卷柏	328	萎陵菜	353
爵床	329	溪黄草	354
苦地丁	330	仙鹤草	355
苦玄参	330	仙人掌	355
蓝布正	331	香薷	356

小蓟	357
杏叶防风	358
绣线菊 (粉花绣线菊)	359
岩黄连	360
叶下珠	360
益母草	361
茵陈	362
淫羊藿 (朝鲜淫羊藿)	362
肿节风	363
珠子草	364
紫花地丁	364
第九章 藻、菌类中药	366
薄芝菌丝体粉	366
茯苓	367
马勃	367
灵芝	368
鹧鸪菜	369

第十章 树脂类中药	370
安息香	370
龙血竭	371
血竭	372
没药	373
苏合香	374
藤黄	375
第十一章 其他类中药	376
儿茶	376
芦荟	377
青黛	378
五倍子	378
五灵脂	379
中文名索引	381
药材拉丁名索引	389
植物拉丁学名索引	397

第一章 概 论

1.1 引 言

中医药是中华民族传统文化的瑰宝,为中华民族的繁衍昌盛做出了巨大贡献。随着现代科学技术的发展,中医药面临着严峻的挑战和宝贵的发展机遇。将传统中医药与现代科学技术相结合,使之在保持自身特色的同时更加现代化、标准化,是中医药和分析化学工作者面临的重大课题。

中药大部分来源于植物,小部分来源于动物和矿物。中药品种繁多,来源广泛,成分复杂,单味中药中即含有几十种乃至更多的化学成分,临床又多使用复方制剂,且中药作用的特点是多成分整体作用于机体,因此,中药质量评价和质量控制始终是困扰中药分析工作者的难题,也是中药现代化发展的瓶颈。近年来,中药指纹图谱特别是色谱指纹图谱被认为是最能满足表征中药成分整体特性的技术而被国内外广泛接受^[1-4]。《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)2010年版^[5]对某些中药注射剂、固体制剂和提取物建立了色谱指纹图谱,使新版《中国药典》在整体性控制中药质量方面有了突破。除了色谱指纹图谱之外,紫外光谱^[6]、红外光谱^[7]等光谱技术也被用于建立中药指纹图谱,但由于方法本身的局限,其专属性和特征性相对较差。

中药为天然有机化合物,其中的某些成分能够在紫外光或日光照射下产生不同颜色的荧光,因此,荧光检验法是中药鉴别中常用的一种理化鉴别方法^[8-13]。这种方法利用人的肉眼观察药材断面、粉末或浸出液的荧光,或将浸出液点于滤纸上干燥后观察荧光。例如,黄连在紫外灯下显金黄色荧光,秦皮的水浸出液在日光照射时显淡蓝色荧光等。一般观察荧光的紫外光波长为 365 nm 或 254~265 nm,两种紫外光产生的荧光现象不同。这种方法简便易行,应用颇广。但是,人眼观测荧光易受主观因素的影响,由于实验条件和操作者不同,对实验现象的描述往往不尽相同,缺乏客观的评判标准,这就使目视荧光检验法在中药鉴别方面的应用受到一定的局限。

1991年以来,人们利用荧光分光光度计测量某些中药材(如秦皮和大黄^[14]、人参等^[15,16]、树脂类中药^[17]、叶类中药^[18]和某些矿物药^[19])的荧光光谱,避免了目视观察荧光所带来的主观误差,使测量的灵敏度和精密度都有了很

大提高。此类研究一般沿用目视荧光检验法的思路,用 254 nm 或 365 nm 的紫外光作为激发波长,测量药材浸出液的荧光发射光谱,根据荧光峰的位置和相对强度进行中药鉴别。由于时代和客观条件的局限,这些研究存在一些不足。例如,在特征荧光峰辨识时常将瑞利散射、拉曼散射或二级散射误认为荧光峰,导致不同的中药材有过多的相同特征峰,降低了荧光光谱的专属性;还有,大多数中药材的最佳荧光激发波长不是 254 nm 或 365 nm,由此测得的荧光发射光谱的灵敏度和特征性都不是最好的,而且一幅荧光发射光谱所能提供的信息有限,不能全面表征复杂中药体系的荧光特性。这些在认识上、方法上的局限性制约了中药荧光光谱鉴别法的发展。与红外光谱和紫外光谱相比,荧光光谱用于中药材鉴别的研究较少^[20,21]。

近年来,数学和计算机技术与分析化学的密切结合,促进了分析仪器的迅速发展。由计算机控制的智能化荧光仪器可以快速获取、储存和处理大量的光谱数据,使得三维荧光测量成为某些荧光仪器(如国内应用较多的日立 F-4500 型、F-4600 型和 F-7000 型荧光分光光度计)的基本功能。将三维荧光技术应用于中药分析,便产生了中药三维荧光图谱^[22-25]。这种图谱可以给出被测体系全面的荧光信息,为复杂中药体系的荧光分析提供了方便。依据三维荧光图谱中荧光峰的位置和形状可以对药材种类进行鉴别,由荧光峰的强度可以估计荧光成分的含量,进而评价药材的质量。因此,中药三维荧光图谱正在发展成为一种新的中药指纹图谱,用于中药鉴别和质量评价。

1.2 三维荧光基本原理

1.2.1 二维荧光光谱

荧光是光致发光现象。当具有一定能量的光照射荧光物质的分子时,分子吸收入射光,光子的能量传递给分子,使处于基态的分子中的电子从较低电子能级向高能级跃迁,变为激发态分子。由于分子具有一定的能级分布,所以,对于入射光的吸收是选择性的,只有当光子的能量与分子能级之间的差值(能级差)相匹配时,才能发生光吸收,因此,不同波长的入射光对荧光分子具有不同的激发效率。处于激发态的分子不稳定,可以通过辐射跃迁和非辐射跃迁的衰变过程失去能量而返回基态,其中由第一激发单重态的最低振动能级经过辐射跃迁的方式返回基态的不同振动能级的过程会产生不同波长的荧光,因此,发射荧光的强度具有一定的波长分布。

不同波长的入射光对荧光分子的激发效率以及发射荧光强度的波长分布可以

用荧光分光光度计进行观测,即扫描荧光激发光谱和荧光发射光谱。荧光分光光度计一般包括光源、激发单色器(光栅)、荧光池、发射单色器和检测器五部分。光源一般用氙灯,可以在紫外光区和可见光区产生连续辐射。激发单色器对光源产生的复合光进行分光,使一定波长的单色光照射到荧光池,产生荧光。荧光在与入射光垂直的方向射出,进入发射单色器进行分光,之后,具有一定波长的荧光被检测器记录下强度。荧光激发光谱是在固定发射单色器为一定波长的情况下扫描激发单色器,获得的荧光强度与激发波长的关系曲线;荧光发射光谱是在固定激发单色器为一定波长的情况下扫描发射单色器,获得的荧光强度与发射波长的关系曲线。这两种扫描方式得到的荧光光谱都是二维的,即横坐标是波长,纵坐标是相对荧光强度。

普通荧光分析所测得的光谱一般是二维光谱,这种光谱扫描快捷,但提供的荧光信息与设定的激发或发射波长有关,因而是有限的。对单一荧光成分的分析测定,一般扫描二维光谱可以满足需要。但是,当体系中存在多种荧光成分且需要全面了解体系的荧光性质时,仅有二维光谱就不够了。

1.2.2 三维荧光光谱^[26-28]

荧光强度是激发波长和发射波长两个变量的函数,只有在一幅光谱图中同时给出荧光强度随激发和发射波长变化的信息,才能全面描述被测体系的荧光性质。这种能够同时描述荧光强度随激发和发射波长变化的关系图谱即三维荧光光谱(three-dimensional fluorescence spectrum, 3D fluorescence spectrum)。三维荧光光谱在文献中又被称为总发光光谱(total luminescence spectra)、激发-发射矩阵(excitation-emission matrix, EEM)等。对于可能含有多种荧光成分的复杂中药体系而言,三维荧光光谱是表征体系荧光性质的最佳方式。

一般获取三维荧光光谱的方法,是在不同激发波长位置上多次扫描发射光谱,并将其叠加以等角三维投影图(isometric three-dimensional projection)或等高线光谱(contour spectra)的图像形式表现出来。前者是一种直观的三维立体投影图,空间坐标 X 、 Y 和 Z 轴分别表示发射波长、激发波长和荧光强度,如图1.1(a)所示。后者则以平面坐标的横轴表示发射波长,纵轴表示激发波长,平面上的点表示由两个波长所决定的荧光强度。将荧光强度相等的各个点联结起来,便在 X - Y 平面上显示了由一系列等强度线组成的等高线光谱,如图1.1(b)所示。

用等角三维投影图的方式表示三维荧光光谱,能够比较直观地看到在不同波长下的相对荧光强度,但不便观察一定激发-发射波长所对应的荧光强度,图中较强的瑞利散射和二级散射容易干扰对荧光峰的观察,位于前边的强荧光峰可能

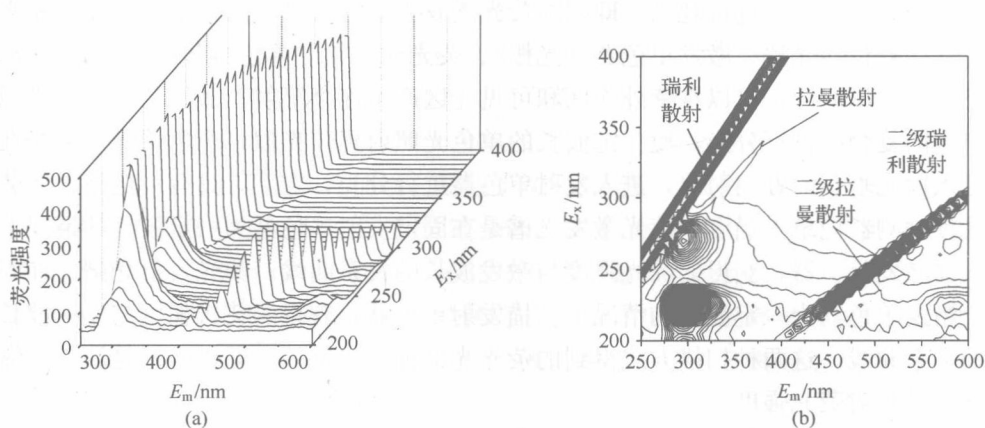


图 1.1 天麻水浸液的三维荧光光谱

(a) 等角三维投影图; (b) 等高线光谱图

掩盖后边的弱荧光峰。等高线光谱的表示形式易于确定一定激发-发射波长所对应的荧光强度, 容易体现三维荧光与普通的荧光激发光谱和发射光谱的关系, 易于避开散射光谱和二级光谱对荧光的干扰, 也易于分辨多组分体系中的各种荧光组分, 从而获得更多的信息。因此, 等高线光谱的形式更常用。本书主要采用三维荧光等高线光谱图。

1.2.3 三维荧光光谱的数学表示

三维荧光光谱可以表示为一个激发-发射矩阵 (EEM)。矩阵的行序表示发射波长, 列序表示激发波长, 矩阵元表示荧光强度。

单一组分体系的 EEM 表示为

$$M = axy$$

式中, a 为与波长无关而与浓度有关的系数; 矢量 x 和 y 分别为荧光发射光谱和激发光谱。单一组分的 EEM 之所以能用这种形式表示, 是基于发射光谱的相对形状与激发波长无关以及激发光谱的相对形状与发射波长无关的事实。

对于含 n 种组分的荧光体系, 其 EEM 可表示为

$$M = \sum_{i=1}^n a^i x^i y^i$$

这种表示形式意味着, 只要体系的吸光度足够低且组分间不发生能量转移, 所观测到的荧光是体系中各组分荧光的线性叠加。

1.2.4 三维荧光光谱中包含的信息

由实验所获得的三维荧光光谱中不仅包含荧光峰, 还包含瑞利散射 (Ray-