

特纳 10 - AU 现场荧光仪吸收光谱测定套件的研发及应用

吴芳 陈佳宁 张勇

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

摘要 针对天然水体中溶解有机物吸收和荧光无法同时测定的问题,对特纳 10 - AU 现场荧光仪进行了改进。通过对仪器样品室的改造,利用反射镜改变光路,设置衰减片和降低光电倍增管电压控制光通量,在不破坏原有仪器结构下实现其吸收光谱测定功能。改进后的仪器测定重铬酸钾和高锰酸钾水溶液的灵敏度较 Cary 100 紫外可见分光光度计分别高约 1 倍和 0.5 倍,相对标准偏差分别为 3.93%、2.12% ($n=7$)。实现了腐殖酸水溶液的吸收和荧光的同时测定,检出限分别为 0.306mg/L 和 0.0104mg/L。实验证明改进后的 10 - AU 现场荧光仪可用于水体中溶解有机物吸收光谱的测定,操作简便,测定结果可靠。

关键词 现场荧光仪;吸收光谱测定;重铬酸钾;高锰酸钾

中图分类号 TH744

Development and Application of the Absorption Measurement Kit of 10 - AU Field Fluorometer

Wu Fang, Chen Jia - Ning, Zhang Yong

(State Key Lab of Marine Environmental Science. (Xiamen University)/Environment Science Research Center, Xiamen, 361005)

Abstract A Turner 10 - AU field fluorometer was improved to solve problems of the study on simultaneously determination of dissolved organic matter absorption and fluorescent properties in natural water samples. The sample cell and cell holder of the fluorometer were modified with a mirror to develop a new absorption measurement kit, and attenuator plates and photomultiplier voltage were used to control the intensity of absorption light. The absorption measurements of potassium dichromate and potassium permanganate solution were realized by the improved fluorometer. The Sensitivities of the improved fluorometer were about 1 and 0.5 times higher than that of Cary 100 UV - Vis spectrophotometer, with the RSD were 3.93%、2.12% ($n=7$), respectively. Satisfactory results were both obtained for the absorption spectra measurement and the fluorescent determination of humic acid in water, detection limit was 0.306mg/L and 0.0104mg/L respectively. It was proved by experimental results that the improved fluorometer was successfully used to determine dissolved organic matter in water with simpler procedure and satisfactory results.

Key words Field fluorometer; Absorption spectra measurement; Potassium dichromate; Potassium permanganate

海岸带水域中有色溶解有机物(CDOM)与溶解有机物(DOM)的研究与全球变化中区域响应、区域海洋生态环境以及海洋有机污染物的迁移转化研究关系密切^[1]。CDOM 同时具有吸光和荧光特性,因而吸光光度法^[2]和荧光光谱法^[3]相继成为该研究领域的主要研究手段。但 CDOM、DOM 的来源、结构复杂,在环境中影响其变化的因素众多^[4],不易保存和运输。因此具有吸收和荧光同时测定功能的现场仪器的研制,对实现 CDOM 吸收光谱和荧光光谱同时在线测定、比较,反映 CDOM 在自然环境中形态的变化具有重要意义。

在一台仪器上实现吸收和荧光同时测定的工作已有报道,较常见的是将两个单独的检测系统或是功能模块集成到同一个系统上。如液相色谱仪紫外分

光/荧光检测器串联^[5]或配置吸收和荧光探头的 CTD^[6]。赵一兵等人^[7]曾通过为室内荧光分光光度计配置自行设计的可见吸收附件实现吸收和荧光测定的两用功能。上述方法或是无法实现现场测定,或是价格昂贵,或是不易应用于湖泊和近岸水域。

特纳 10 - AU 现场荧光仪自上个世纪末商品仪器成型以后,以其稳定的性能、简单的操作和独特的现场使用功能,得到了国外该研究领域科学家们的认同,并在国际上该领域的研究中发挥了积极的作用^[8,9]。本实验小组在保留其现场检测功能的基础上,研制了适用于该仪器的吸收光谱测定套件(ASMK, Absorption Spectra Measurement Kit),实现了被测对象高灵敏吸收光谱和荧光光谱的同时在线测定。

收稿日期:2008 - 12 - 19

基金项目:NSFC(20777062),SRFDP(200803840015)厦门大学科技创新项目(2)科学仪器研制与开发(XDKJCX20061022)资助。

作者简介:吴芳,1980,女,福建,工程师,研究方向:主要从事海洋环境科学方面的研究。

1 实验部分

2.1 仪器与试剂

特纳10-AU现场荧光仪(美国特纳公司);Cary 100紫外可见分光光度计(美国Varian公司);1cm石英比色皿;KQ3200型超声波清洗器(150W,昆山公司);RJ-TDL-40B低速台式大容量离心机(无锡瑞江);重铬酸钾(A.R.,上海金联精细化工厂);高锰酸钾(A.R.,杭州萧山化学试剂厂);腐殖酸(HA)(企业标准,上海试剂二厂),氢氧化钠(天津市光复科技发展有限公司,纯度>96%),盐酸(A.R.,国药集团化学试剂有限公司),高纯水(比电阻>18.2MΩ·cm)。

1.2 仪器的改进

1.2.1 测量原理和仪器结构

特纳10-AU现场荧光仪可进行连续流动检测和单个样品分析。其显著特点是具有防水外壳、内置数据采集仪、自动范围设定、防水滤光片组和超强的稳定性,使其能够满足现场检测仪器的要求。其结构主要由光源、滤光片、样品室、检测器、数据处理系统五部分组成。

其测量原理如图1(a)所示,由光源发出的光,经激发滤光片后,得到所需波长的激发光。设其强度为 I_0 ,通过试样池后,一部分光被样品溶液吸收,故其透射强度减为 I 。其中荧光物质被激发后,将向四周发射荧光。为了消除入射光及散射光的影响,荧光的测量一般在与激发光呈直角的方向上进行。测定荧光时,90°方向上的光经过发射滤光片后,绝大部分杂散光被消除,获得所需要的荧光信号。

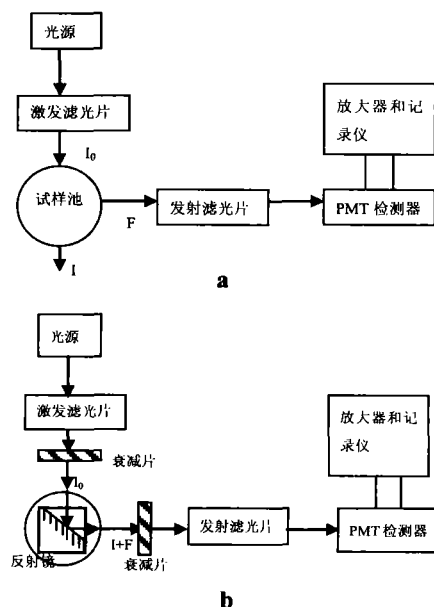


图1 改进前(a)和改进后(b)10-AU现场荧光仪光路示意图

1.2.2 吸收光谱测定套件的研制

普通的分光光度计的测量光路一般在透射光方

向上。为在特纳10-AU现场荧光仪上实现吸收光谱测定,所研制的吸收光谱套件需将透射光导入测量光路。利用光纤导入是实现该方法之一^[10],但需要对其进行破坏性改造。而10-AU现场荧光仪最重要的优点在于其现场测定的便携性、防水性和易操作性。因此吸收光谱测定功能的拓展不仅不能破坏原有仪器的结构,还要装卸方便。基于此,所设计制作的吸收光谱测定套件的主体部件为一直角型石英荧光样品池(见图1(b)),其拐角处嵌入与入射光呈45°角的反射镜,将入透射光反射进入测量光路,进而测量光程内的吸收。由于大多数溶液透射光强度 I 比荧光强度 F 强很多,故需控制光通量或降低光电倍增管的电压,防止光漂白的发生。在光路上加若干衰减片,并将光电倍增管电压调至最小可达此目的。按照样品池和样品室的尺寸制作一套可用螺丝固定于原仪器样品舱中的样品架。在样品架上设计一活动L型拉杆,以便将自行设计、制作的样品池更换测定液时取放于样品架上,实现样品的吸收测定。进行荧光测定时,只需将样品架取下,换上原荧光测定样品架和光学套件即可。

1.3 实验方法

根据测定对象,选择合适波长范围的滤光片和衰减片(本文中为310~390nm)。将待测样品加入自制样品池,并将样品池放入已经固定在样品舱里的自制样品架上,盖上样品舱盖。待显示屏上数据稳定后读取 I 值。以空白溶剂的透射光强度为 I_0 。并根据外标法计算样品的浓度。

2 结果与讨论

2.1 与商品紫外可见分光光度计性能的比较

重铬酸钾和高锰酸钾水溶液在310nm~390nm波长范围内有较强的吸收^[7],故本研究以其作为研究对象来考查自制吸收光谱测定套件的仪器性能。

称取一定量的重铬酸钾和高锰酸钾固体,用高纯水分别配制成系列浓度的工作液。分别用配置吸收光谱测定套件的10-AU现场荧光仪和Cary 100紫外可见分光光度计(标配液池)测其吸光度,并分别绘制工作曲线。结果示于表1,所得工作曲线的相关系数 r 均达到0.9962以上,表明整个吸收测定范围内被测溶液的吸光与其浓度间的关系符合朗伯比尔定律,即光路的改变不影响其测定。实验证实所设计的吸收光谱测定套件可行。

以各自的标准工作曲线的斜率表征方法的灵敏度;通过测定空白,以三倍空白的标准偏差除以标准工作曲线的斜率计算检出限;通过对7份平行样的测定,计算相对标准偏差RSD,来考查精密性。结果示于表1。

表1 吸收光谱测定套件的仪器性能实验结果

样品 Sample	灵敏度 Sensitivity(斜率)		检出限 Detection Limit (mg/L)		RSD%	
	10 - AU + ASMK	Cary 100	10 - AU + ASMK	Cary 100	10 - AU + ASMK	Cary 100
重铬酸钾	0.0204	0.0103	0.498	0.242	3.93	0.704
高锰酸钾	0.00900	0.00590	1.13	0.496	2.02	1.36

由表1可知,改进后的10-AU现场荧光仪测定重铬酸钾和高锰酸钾水溶液的灵敏度分别比Cary 100紫外可见分光光度计(标配液池)高约1倍和0.5倍。其原因可由图2所示结果解释。一般的光度计以一定波长范围(如 $360 \pm 5\text{nm}$)光通量的变化作为定量基础,而改进的10-AU荧光仪以宽波长范围(如 $310\text{nm} - 390\text{nm}$)光通量的变化作为定量基础。但由于加工技术的限制,自制样品池与池架之间的吻合度不够,使得样品池在光路中位置不够稳定,导致其检出限及检测结果的重现性不如商品仪器。但这已可满足分析测定的要求。

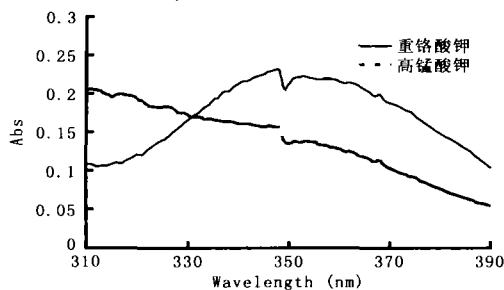


图2 重铬酸钾(20.0mg/L, 实线)和高锰酸钾(32.0mg/L, 虚线)的紫外可见吸收光谱(Cary 100)

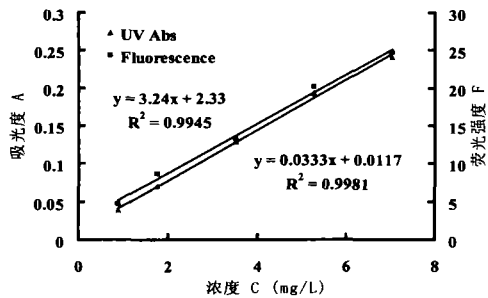


图3 改进后10-AU现场荧光仪测定HA荧光与吸收的结果([HA]=0.88, 1.76, 3.52, 5.28, 7.04mg/L)

2.2 同时测定腐殖酸的荧光和吸收

腐殖酸(HA)是CDOM的主要组成成分,既有吸收特性又具荧光特性,且其吸收特性与荧光特性的相互关系是目前人们关注问题的焦点。故采用HA水溶液来检验改进后的10-AU现场荧光仪用于吸收和荧光特征的同时测定。配制系列浓度经纯化^[11]后的HA水溶液,分别用自制的吸收光谱测定套件测其吸光度,用仪器原装CDOM荧光测定套件测其荧光值。结果示于图3。结果表明,改进后的10-AU现场荧光仪可以实现HA水溶液吸收和荧光的同时测定,其各自的检出限分别为0.306mg/L和0.0104mg/L。

3 结论

改进后的10-AU现场荧光仪在不损伤原仪器的情况下,成功地实现吸收光谱的测定,所得灵敏度较Cary 100紫外可见分光光度计高,检出限和精密度亦达到分析测定的要求。该吸收光谱套件操作简便、价格低廉、易于拆卸,并可配置不同的光学套件从而克服原配件光谱连续性不足的缺点,有推广和商品化价值。吸收和荧光现场同时测定的实现,为现场研究DOM、CDOM及有机物污染物的迁移转化过程、及其受生物或化学因素影响下其形态的变化及相互作用提供了有力的工具,为研究生源要素的生物地球化学循环和污染物的迁移转化奠定了一新的方法基础。

参考文献

- [1] Clementson L A, Parslow J S, Turnbull A R *et al.* Properties of light absorption in a highly coloured estuarine system in south-east Australia which is prone to blooms of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2004, 60(1):101-112
- [2] Huasheng Hong, Jingyu Wu, Shaoling Shang, Chuanmin Hu. Absorption and fluorescence of chromophoric dissolved organic matter in the Pearl River Estuary, South China. *Marine Chemistry*, 2005, 97:78-89
- [3] Pingqing Fu, Fengchang Wu, Congqiang Liu, Feiyue Wang, Wen Li, Lanxiu Yue, Qingjun Guo. Fluorescence characterization of dissolved organic matter in an urban river and its complexation with Hg(II). *Applied Geochemistry*, 2007, 22(8):1668-1679
- [4] 郭卫东,程远月,吴芳. 海洋荧光溶解有机物研究进展[J]. 海洋通报, 2007, 26(1):98-106
- [5] 李瑞琴,狄一安,齐文启. HPLC的发展现状及其在环境监测中的应用[J]. 现代科学仪器, 1998, 6: 25-31
- [6] Shelley M. Blackwell, Mark A. Moline, Andrew Schaffner, Thomas Garrison, Grace Chang. Sub-kilometer length scales in coastal waters. *Continental Shelf Research*, 2008, 28(2):215-226
- [7] Zhao Yibing, Wang Dongyuan, Guo Xiangqun, Xu Jingou. A new spectrum technique based on direct detection of light intensity absorbed [J]. *Science In China Series B*, 1998, 41(3):239-246
- [8] A. M. F. Pinto, E. von Sperling, R. M. Moreira. Chlorophyll-a determination via continuous measurement of plankton fluorescence: methodology development. *Water Research*. 2001, 35(16):3977-3981
- [9] Peter J. Stopa, Sherry A. Mastromanolis. The use of blue-excitable nucleic-acid dyes for the detection of bacteria in well water using a simple field fluorometer and a flow cytometer. *Journal of Microbiological Methods*. 2001, 45(3):143-153
- [10] 朱元保,王树敏,徐远金,何双娥. 多功能光纤分光光度计[J]. 化学传感器, 1993, 13(2):44-47
- [11] 朱亚先,鹿贞彬,李毓骥等. 重金属离子存在下腐殖酸和砷之间的相互作用[J]. 环境化学, 2006, 25(3):344-346