

摘 要

本论文主要进行了两个方面的研究工作：一是进行了流动注射-荧光分析法检测重金属离子的试验方法及动力学研究，为采用激光激发荧光光谱、光纤维传导、CCD 检测等技术研制便携式重金属离子监测装置奠定了基础；二是进行了用细菌氧化硫铁矿制备铁系混凝剂处理火电厂灰水、粉煤灰沉降性能及城市污水回用作电厂循环冷却水的研究。

（第一部分内容是：

建立了流动注射荧光分析试验装置，并进行了优化运行试验；筛选出了适合于重金属离子如 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cd^{2+} 及 Zn^{2+} 等检测的荧光试剂。试验结果表明：流动注射-荧光分析方法测定上述几种重金属离子的检测限低于德国饮用水标准，线性范围要宽于常规的荧光分析方法。

采用停留-流动注射方法，实测出了荧光试剂 Newport GreenTM 与 Ni^{2+} 的化学反应动力学曲线，并推导出了该反应动力学方程，进而提出并验证了 Ni^{2+} 非稳态测定方法。在此基础上，利用 Zn^{2+} 与 Newport GreenTM 是瞬态反应，而 Ni^{2+} 与 Newport GreenTM 是渐态反应的速度的差异，提出了同时测定 Zn^{2+} 及 Ni^{2+} 的方法及其计算关系式。

采用数理统计学中的偏最小二乘法进行了同时测定三种或四种重金属离子的研究，在合适的荧光试剂条件下，能够较好地测定水溶液中多种金属离子的浓度。还进行了样品微滤膜处理的试验研究。

在上述一系列试验研究的基础上，研制出实时监测水体中重金属离子的测定装置。该测定装置采用氮气激光激发荧光光谱，光纤维传导及 CCD 检测技术。试验研究结果表明：该装置用于测定水中金属离子浓度，检测限可以达到 ppb 级，低于德国饮用水标准。

论文的第二部分内容是：

进行了用微生物氧化硫铁矿制备酸及铁盐水处理剂的试验研究。酸性水可用来降低电厂灰水的 pH 值，铁盐水处理剂可用于降低灰水中的悬浮物 SS。该方法是以废治废，无二次污染。本文对电厂粉煤灰的沉降性能及城市污水回用作电厂循环冷却水也进行的研究。

关键词：水环境，水污染，重金属，流动注射分析，激光激发荧光光谱，光纤维化学传感器，硫铁矿，水处理剂，火电厂废水，粉煤灰，城市污水回用

Abstract

This dissertation presents the development of a mobile, on-line, fiber optic sensor for heavy metal ions and the new treatment and reuse technologies of wastewater in coal-fueled power plant

Several heavy metal ions such as Cd^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} were tested by using the various fluorescent chelators e.g. BTC-5N, Newport GreenTM and neocuproine as well FIA. It was found the detection limits for Cd^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} are in the ppb range. By using stopped-flow injection technology, the kinetic curve of the reaction of Ni(II) with Newport GreenTM ($5.07 \mu\text{mol/L}$) was recorded by the fluorimeter LS-50 in a real time. And it can detect Ni^{2+} by using Newport GreenTM without stable stage. The mathematical model deduced from the experimental result can predicate the concentration of Ni^{2+} exactly. And it was found that Ni^{2+} and Zn^{2+} could be detected simultaneously according the difference of their reaction rate with Newport GreenTM. Partial least-squares method was applied to determine 3 or 4 heavy metal ions in one solution successfully.

On the basis of the experiments, the heavy metal detection device was set up. This device combines laser-induced fluorescence spectroscopy (LIFS) with flow injection analysis (FIA) along with a membrane sample treatment. In the sample treatment, a membrane removes substances, which may disturb the detection of heavy metals, and protects the subsequent FIA system and flow-through cell. The treated sample is injected into a flow-through cell by a six port valve, where ligands form complexes with heavy metal ions. These complexes are excited by a nitrogen laser to produce fluorescence. Optic of fibers is used to guide the excitation and emission light. The detection unit consists of a spectrograph with an intensified charge-coupled camera (CCD-camera) and a computer for automatic control and data analysis.

This device array can measure several metal ions simultaneously by using a Charge-coupled Camera (CCD camera). Tests were also carried out in different matrices such as sea, lake and river water. All experiments have shown that the sensor array could be used for on-line monitoring of the heavy metal ions. Such sensors can give timely warnings when concentrations of heavy metal ions go beyond permitted levels.

The second part of the dissertation is about the wastewater treatment and municipal wastewater reuse in coal-fueled power plant. A coagulant was developed from pyrite by using biological method. The experiment shows the effect is satisfactory, it can decrease not only SS, but also F and pH. The characteristic of FLY was analyzed in theory. And through some experiments in lab find that when use concentration tank to treat ash water, the design parameters should be decided by some sediment experiments. So can obtain the best effect. This dissertation also analyses the water uses, water quantity and water quality in power plant. It was pointed out that it is feasible to reuse treated sewage as circulating cooling water in power plants, But it needs further research in order to find better treating method and gain better water quality.

Key words: water Environment, water pollution, heavy metal ions, Flow injection analysis (FIA), laser-induced fluorescence spectroscopy (LIFS), charge-coupled camera (CCD-camera), fibre optic chemical sensor, pyrite, wastewater, coal-fueled power plant, coagulant, fly ash, reuse of municipal sewage

第1章 引言

1.1 重金属

当金属的密度超过 3.8 g/L, 如 Fe, Cu, Zn, Cd, Cr, Hg, Ni 等, 就称为重金属^[1]。重金属一般以氧化物, 硫化物, 碳酸盐及硅酸盐的固体形式存在于自然中。大气, 水, 及土壤中重金属离子的本底浓度是很小的。有一些重金属在微量时是人体生命所必须的元素, 如 Fe, Cu, Zn 等。但大多数重金属对生物体来说并不是必需的, 相反他们对生物都是有毒性的。现代工业的发展, 在给人类带来物质文明的同时, 也带来了对人类赖以生存的自然环境的严重破坏。重金属污染事件在世界上许多地区屡屡发生越来越成为人们所关注的话题。为确保人们身体健康, 许多国家逐步降低饮水中重金属离子的允许浓度^[2]。

1.1.1 环境中的重金属循环

环境中重金属的循环可以分为全球人类活动所带来的循环, 地球化学循环和生物地球化学循环^[3]。图 1-1 显示了各种循环的过程。

由人类活动所带来的环境中重金属浓度的显著增加始于十九世纪的工业化。主要来源是冶炼业和金属加工业, 还有其它一些行业, 如水泥制造, 蓄电池和电池生产及电镀等, 农业上由于化肥的使用也可带来重金属如镉进入土壤中。一方面重金属的污染来源于有目的使用重金属作为原料的生产活动, 另一方面它也可以来源于煤, 石油和垃圾等的燃烧。重金属以废渣, 废水和废气的形式最终进入土壤, 进而通过食物链(植物 → 动物 → 人)而影响人类。由人类活动所带来的环境中金属循环的影响可以说是全球性的(图 1-1a)。重金属的地球化学循环来自于深成岩, 由于火山的喷发到达于地球表面, 大气或者海洋中。岩石的风化也可以使重金属进入水体中或者以灰尘的形式进入重金属的循环。重金属可以通过各种反应沉淀下来, 但各种条件的变化如水中 pH 的改变, 沉淀物的地球化学改变, 废水的络合反应的影响等能使重金属的沉淀物

又溶解出来。进入大气中的重金属尘粒可以通过降水的作用进入土壤或水体中(1-1b)。从总体上来说重金属的循环属于生物圈的活动范畴。由地球化学作用和人类活动所带来的重金属的循环可以通过水体沉积物或者污泥中的微生物反应或者溶解反应而进入水体,然后通过食物链的作用进入鱼类,植物或动物中,最终影响人类(1-1c)。

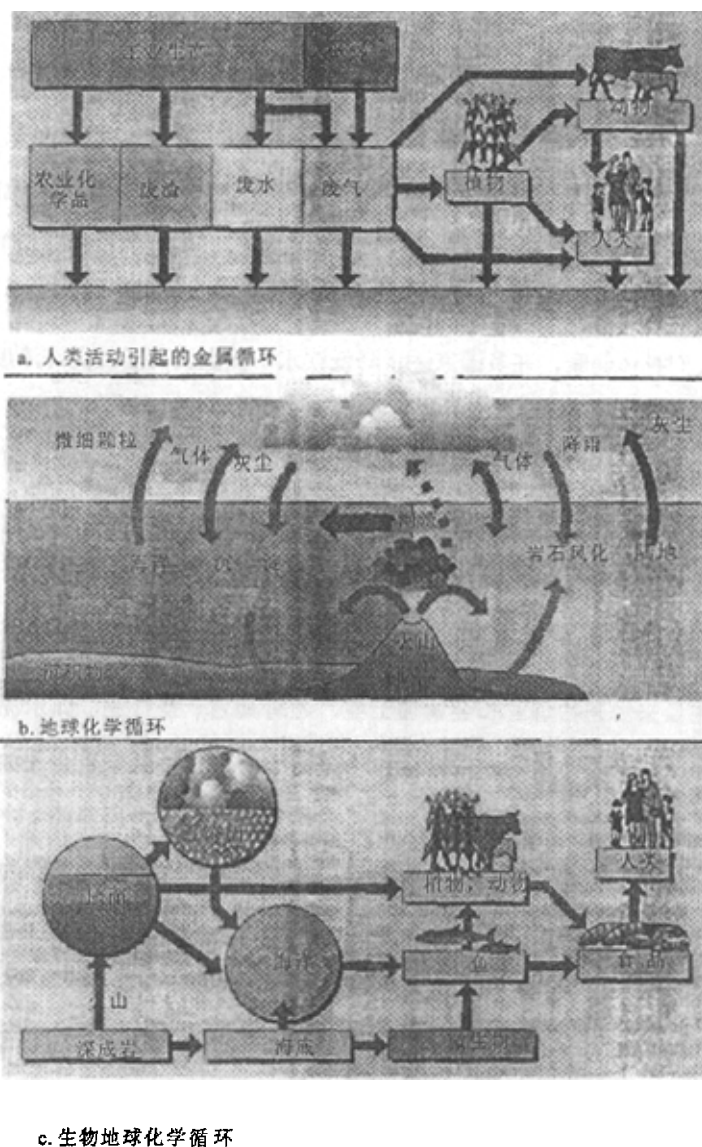


图 1-1 环境中重金属的循环

1.1.2 环境中重金属存在的形式

重金属可以通过上述各种循环进入水体，土壤中。重金属在环境中可以固相也可以流动相的形式存在，它可以和环境中其它物质发生多种化学反应^[4]。

图 1-2 是重金属在土壤-水体系统可能发生的化学反应及存在的形式。

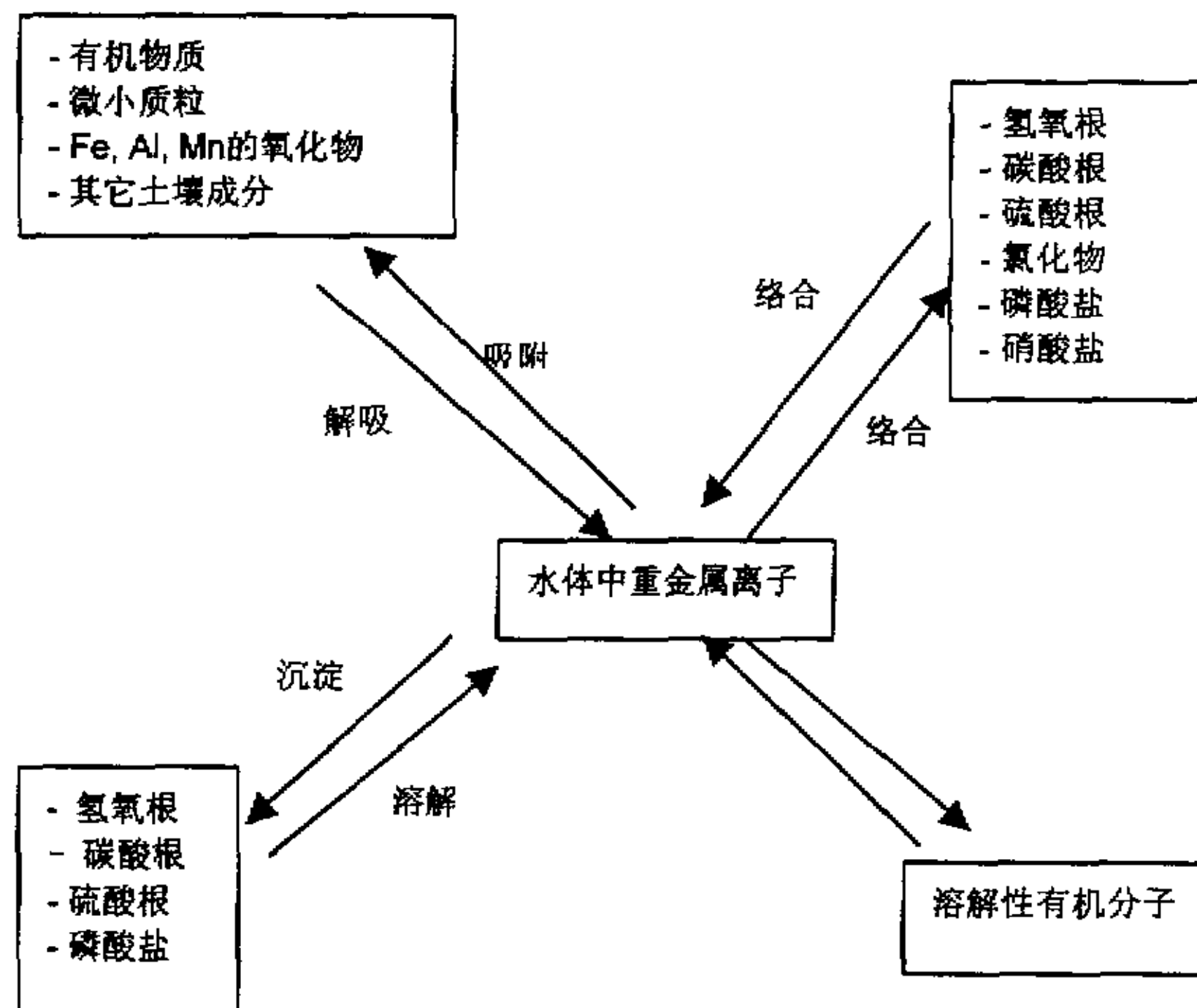


图 1-2 水体中重金属离子可能发生的化学反应

1.1.3 重金属的毒性

金属污染不仅是我们这一时代的特有现象，大约在公元前 400 年，第一次工业所带来的环境污染事件就是由于铅和银的提炼而造成的土壤污染。在世界上著名的环境污染事件中于重金属污染有关的有：1788 年由于 Marktreidwity 化学品生产厂连续排放汞而造成的土壤污染；日本的“水俣病”事件，这个事件的源头可上溯到从 1938 年排放到 Minimata 海湾中含汞的废水，在接下来的几十年中由于人们食用海湾及附近的被汞污染的鱼，到 1972 年已发现有几个受害者；1988 年在 Basel 附近的莱茵河，由于一家农药厂失火，用来灭火的水携带该厂生产的农药(含汞)流入莱茵河，大量鱼类被杀死等等。重金属中不仅是

汞给人类带来了灾害，其它的重金属离子对人类，对生物都具有不同类型的危害^[5]。几种典型的重金属离子的影响如下：土壤，水体中的铜源于工业，矿山的开采，还有铜管的腐蚀等。铜不是特别有毒性，人体中如缺乏铜还会引起贫血骨骼上不适。但过量的铜会损害肝脏。镉，镍，汞被广泛用于金属电镀，电池的原料等。镉是银白色，有光泽的重金属。它被广泛用于制造电池(镍镉电池)，电镀保护膜，合成化合物时的加色剂，塑料制品中的稳定剂等。镉可以通过食物链积累于水体生物如鱼中，蔬菜，蘑菇中常常可以发现较高浓度的镉，如果这些生物作为食品被食用，则将进入人体。进入到人体中的镉的6%将被人体所吸收，其中只有一部份被排泄掉，其余的都将积累于人体中。人体中过高的镉浓度将导致高血压，肾脏疾病，细胞组织的损伤，红血球细胞的破坏等。镍被用于有机试剂的合成。镍可以积累于人体的肾脏，肺部，制造荷尔蒙的组织等。过量的镍会导致染色体的损害，改变荷尔蒙和酶的正常活动，改变葡萄糖的耐受性，血压及生长过程等。汞是具有光泽的有剧毒的流体金属。它具有较高的蒸气压力，在室温下已经可以蒸发，如温度升高则蒸发加强。汞也是工业上不可缺少的原料，它甚至与人们的生活密切相关。如水银温度计，电池，汞蒸气灯，它还用于医学上消毒等。在德国据1993年统计，全年汞的使用量为72.9吨。来源于自然界的汞很少，本世纪上半叶，汞污染情况越来越引起人们的重视。汞能损害人体的中枢神经系统，导致过敏反应，瘫痪，眼盲，神经错乱，染色体变异，畸形儿，甚至可以致命。所以饮水标准中汞的允许值特别低。铍虽然不能划分在重金属之列，由于其毒性，人们也同样开始对它引起重视。铍来源于电力，飞机制造及有关原子能使用的地方。高浓度的铍引起肺病，血液中如有高浓度的铍将阻止身体贮存镁，干扰酶的代谢等。铅和铅的化合物都属于对环境有严重污染的物质。铅可以来自于汽车尾气，废物燃烧，火电厂，老的自来水管(铅密封)，其它需要用到铅的工厂等。铅可以沉积于污泥或沉积物中，同样可以积累于生物体中^[3]。图1-3是不同重金属离子的毒阈值。

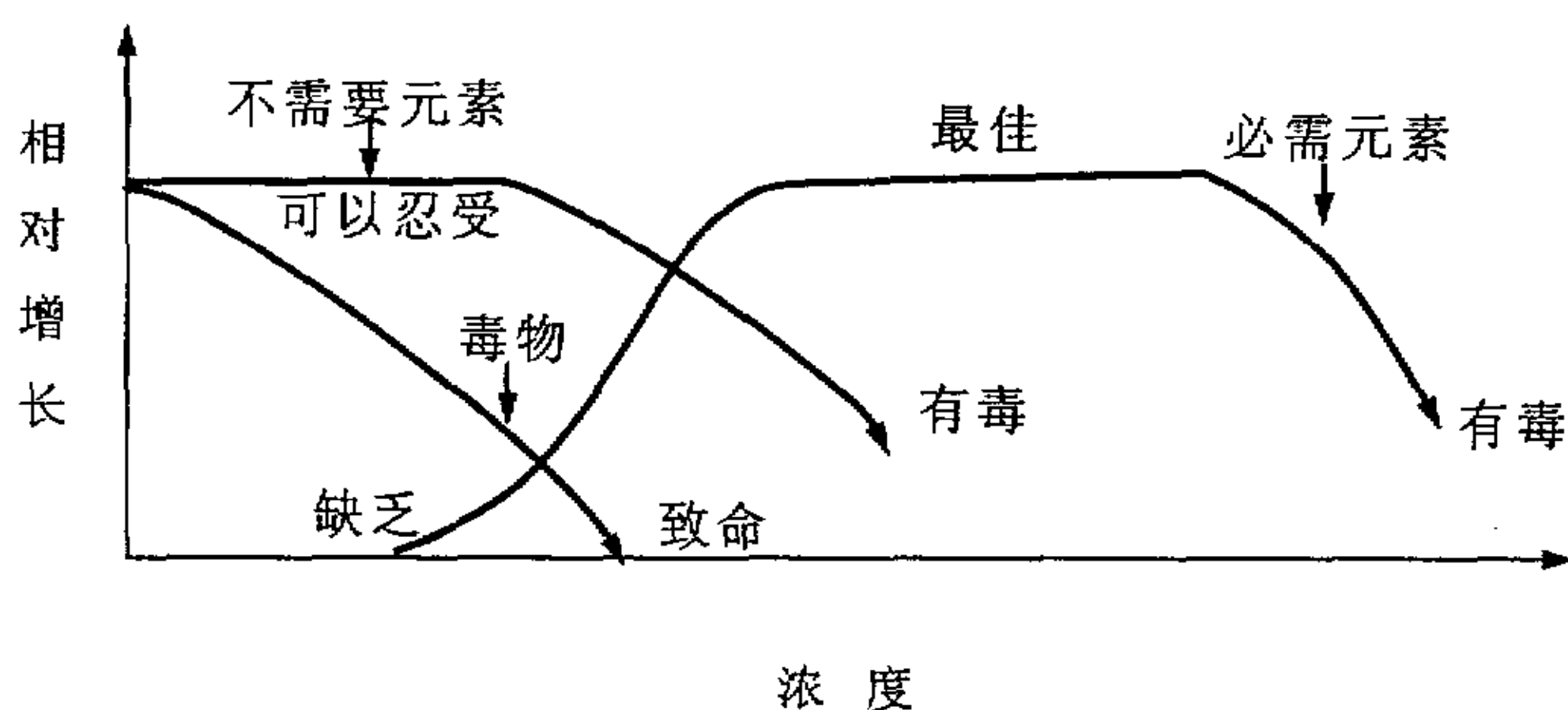


图 1-3 不同重金属的毒阈值

因为重金属的毒性和不可降解性，各国对饮用水中重金属的允许浓度和废水中重金属的排放浓度都制定了较为严厉的标准。

1.2 重金属的分析方法

尽管重金属一般在水环境中处于微量范围，但由于其不可降解性和对生物体的毒性，对重金属的分析一直是分析工作者关注和研究的课题。对水环境中的重金属离子进行分析对了解环境污染程度，防止环境污染，提出处理污染方法有着重要的意义。重金属的分析方法和其他元素的化学分析方法一样经历了从传统分析方法到仪器分析方法的发展过程^[6-8]。

1.2.1 传统分析方法

传统分析方法是通过沉淀，萃取或蒸馏等方法从样品中分离出所要分析物质来进行的。如要进行定性分析，则把分离出来的物质与某一试剂混合，生成化合物，然后人们可以通过其生成物的颜色，熔融点，溶解度，气味，光学特性或者折射率来辨认原物质的组成。最典型的例子就是溶液中 Cl^- 离子通过与银离子反应生成沉淀来确定。如要进行定量分析，则是通过重量分析或者滴定的

方法来来进行。重量分析是通过确定分析物或者是由分析物组成的化合物的质量来进行。而滴定分析则是通过滴定反应得到所用滴定剂的体积或者质量，进而计算分析物质量。这些经典的分析方法至今仍有许多实验室使用。

1.2.2 仪器分析方法

仪器分析是把人们不可直接感觉到或不可理解的信号转换成人们可以分析的形式，它是通过测量表征物质某些物理和物理化学性质的参数来确定其化学组成，它可以说是被分析样品和人们之间的一种媒介^[8]。事实上仪器分析方法的许多基础知识在一百多年前或者更早一些时候已经被人们所熟识，只是由于错误的认识或简陋仪器而未得到发展。本世纪三十年代人们开始使用仪器分析，但人们使用仪器分析的初衷并不是用于解决化学分析问题，而是测量物质的物理参数：导电性，电势能吸附或发射光的特性，荧光特性等等^[6]。仪器分析是从无机物分析开始，直至有机分析和生物化学分析。几乎在同时出现了新的有效的分离技术层析。仪器分析与传统分析方法相比具有如下特点：操作简单，分析速度快，可以实现自动化分析；试样需要量少，灵敏度高，检测限低，所需试样用量可以为 μL ，但检测限可以到 ppb 级；选择性好，许多仪器分析方法可以通过选择或调整测定的条件，使共存的组分测定时，相互之间不产生干扰；但仪器分析也同时存在一些问题，如：相对误差较大，一般为 5%，它不适用于常量和高含量物质的分析；价格昂贵。现代仪器分析是随着电子和计算机技术的应用而突飞猛进发展起来的。计算机的应用可使操作和数据处理快捷，准确和简单。各种傅里叶变换仪器的问世提供比传统仪器更多的功能，如灵敏度提高，分析速度大大加快，可以和其他仪器联用等。目前常用的仪器分析方法可以分为光学分析法，电化学分析法，色谱法，质谱法，和热分析法等^[9]。

表 1-1 列出了经常用于仪器分析的信号和基于这些信号所开发的仪器^[6]。

表 1.1 应用于仪器分析的信号及相应的仪器

信号	仪器分析方法
光谱发射	发射光谱仪 (X 射线, UV 紫外线, VIS 可见光, 电子射线, 眼睛)
光谱吸收	分光光度计, 光度计
光的散射	浊度计, 拉曼光谱仪
光的折射	折射仪, 干涉仪
光的衍射	X 射线和电子衍射法
光的旋转	偏振计等
电位	电位计
电量	库仑仪等
电流	极谱仪, 电流计
电阻	电导仪
质/荷的比例	质谱仪
反应速率	动力学方法
热力学特性	传热性
放射性	活化和同位素稀释方法

从表中可以看出, 前六位都是基于电磁光谱信号, 后四种是利用不同的电信号, 可以利用的被分析物的其它特性还有如反应速率, 热力学特性和放射性等。

1.2.2.1 光化学分析法

光化学分析法是基于电磁波作用于待测物质后产生辐射信号的变化而而建立的分析方法。它可以分为光谱法和非光谱法。非光谱法不是以光的波长为特征信号, 而是通过测量光的其它性质, 如反射, 折射, 干涉, 衍射和偏振建立起来的方法。光是一种电磁波, 它具有一定的能量。不同波长光的能量与分子和原子内电子不同的能级的跃迁能量相对应。以光的发射, 吸收和荧光为基础建立起来的方法就是光谱法。它是通过检测光谱的波长和强度来进行分析的,

光谱分析方法在近 50 年获得了突飞猛进的发展, 基于各种光谱性质而开发出来的分析仪器不断出现^[11]。

1.2.2.2 电化学分析方法

电化学分析方法是根据物质在溶液中和电极上的电化学性质为基础建立起来的一种分析方法。测量时要将试液构成化学电池的组成部分。通过测量该电池的某些电参数, 如电阻, 电导, 电位, 电流, 电量的变化对物质进行分析。根据测量的参数不同可分为电导分析法, 电位分析法, 电解和库仑分析法以及伏安和极谱分析法等。

1.2.3 常用的检测重金属仪器分析方法

对于重金属的分析, 最常用的仪器分析方法有: 原子吸收光谱法^[12], 原子发射光谱法^[13], ICP(电感耦合高频等离子体)-质谱法^[14-16]; X 射线荧光光谱法^[17], 离子选择性电极, 伏安法, 库仑计等^[18]。

1.2.3.1 原子发射光谱法

原子发射光谱是化学原子的原子和离子在热激发或电激发下, 发射特征的光磁辐射而进行元素的定性和定量分析的一种方法。原子吸收是目前应用的较为普遍的一种方法。它可以同时测定多个元素; 分析速度快; 可在几分钟内对几十种元素进行定量分析; 分析样品可以不经化学处理, 固体液体都可直接进行测定, 且试样耗量少; 选择性好, 因每种元素的原子结构不同, 发射的特征光谱也不同, 它可以测定一些在化学性质极为相似的元素; 检测限低, 一般光源可达 10^{-10} g/L, 新光源电感耦合高频等离子体(ICP)检出限可达 ppt 级; 准确度高, 一般光源相对误差为 5%-10%, ICP 相对误差可小于 1%; ICP 光源校准曲线线性范围宽可达 4-6 个数量级, 一个试样可以进行多元素分析, 又可进行定量分析。原子发射光谱法常用于测定金属离子, 对于非金属离子象 P, Se, Te 等, 由于其激发电位高, 灵敏度较低^[19]。

1.2.3.2 原子吸收光谱

原子吸收光谱是目前被许多小型实验室所广泛使用的方法。它是基于被测元素基态原子在蒸气状态对其原子共振辐射吸收进行元素定量分析的方法。原子吸收光谱有很多优点,检出限低,火焰原子吸收法可达 ppb 级,石墨炉原子吸收法可达 $10^{-10} \sim 10^{-14} \text{g}$; 准确度高,火焰原子吸收法的相对误差 $< 1\%$,石墨炉原子吸收法约为 $3\% \sim 5\%$; 选择性好,大多数情况下共存元素对被测元素不产生干扰; 分析速度快; 应用范围广,能够测定的元素多达 70 多个; 仪器比较简单,价格较为低廉,所以一般的实验室都可配备。其缺点是: 测定难熔元素,如 W, Nb, Ta, Zr, Hf, 稀土元素等和非金属元素,效果不能令人满意; 不能同时测定多个元素^[20-23]。

1.2.3.3 X 射线荧光光谱法

X 射线是一种波长为 $0.001 \sim 50 \text{ nm}$ 的电磁波。当 X 设想照射物质时,除发生散射,衍射和吸收等现象外,还产生次级 X 射线,即荧光 X 射线。这种荧光 X 射线的波长只取决于物质中各元素原子电子层的能级差。因此根据 X 荧光的波长,就可确定物质所含元素; 根据其强度可确定所属元素的含量。X 射线荧光分析法具有如下特点: X 射线荧光来自原子内层的跃迁,谱线简单,干扰少。对于化学性质及其相似的元素,如稀土元素等,利用其 X 射线荧光具有不同波长,直接进行分析,具有分析简单的特点; 分析的浓度范围较宽,从常量组分到痕量杂质均可测定; 分析试样不受破坏,试样形式可多样化,分析快速,准确,也便于实现自动化; 分析轻元素的困难较大,精确度较差; 设备构造复杂,价格昂贵,使用上受到一定的限制^[24-25]。

1.2.3.4 ICP(电感耦合高频等离子体)-质谱法

质谱法是将样品转化为运动的气态离子并按质荷比(M/Z) 大小进行分析记录的分析方法。所得的结果为质谱图。根据质谱图提供的信息可以进行多种有机物和无机物的定性和定量分析,复杂化合物的结构分析,样品中各种同位素比的测定和固体表面的结构和组成分析等等。质谱仪的灵敏度高,检测限低,线

性范围宽(4-5 个数量级), 准确度好。但质谱仪技术含量大, 必须由专业人员操作。

1.2.3.5 离子选择性电极

离子选择性电极在很多年以前都已经作为一种标准方法而应用于实验室。它实际上是一种电化学传感器, 敏感膜是其主要组成部份。敏感膜是一个能分开两种电解质的溶液, 并对某类物质有选择性响应的薄膜。最早也是最广泛被应用的电极就是用于 PH 测定的 玻璃电极。后来在此基础上开发出测量非金属元素和金属元素的其它形式的电极。

离子选择性电极测定的线性范围一般较宽, 有 4-6 个数量级, 响应快, 平衡时间短。

1.2.3.6 极谱和伏安分析技术

极谱和伏安分析技术是一种特殊的电解分析方法。它是电化学分析方法的重要组成部分。极谱法的工作电极面积较小, 分析物的浓度也较小, 浓差极化的现象较为明显。这种电极称为极化电极。电解池由它与参比电极组成。伏安法是这类方法的总称, 它可使用面积固定的悬汞, 石墨, 铂等电极作为工作电极, 也可使用表面作周期性连续更新的滴汞电极作工作电极。后者就称为极谱法, 它是伏安法的特例。极谱法和伏安法根据电解过程中的电流-电位曲线来进行分析。凡在汞电极上能被还原或氧化的无机和有机物质都可用极谱的方法测定。最常用极谱分析的元素有 Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, In, Tl, Sn, Pb, As, Sb, Bi 等^[26]; 极谱法对一般有机化合物, 高分析化合物, 药物和农药等分析也非常有用; 极谱分析不仅可作定量分析, 还可测定配合物离子的离解常数和配位数。在极谱法基础上发展起来的溶出伏安法, 不仅可以测定重金属离子, 还可测定一些阴离子如氯, 溴, 碘, 硫等。这种方法在灵敏度, 分辨率上都有很大改善^[27-28]。

1.2.3.7 几种重金属分析方法的比较

表 1-2 列出了实验室中几种常用的重金属仪器分析方法的检测限，表 1-3 是这些仪器的购买价格(德国)^[29]。从表中可以看出，这些方法的检测限都为 ppb 级，阳极溶出伏安法的检测限比其它几种方法都低。同时它的价格也不贵。但是，在这种方法中，对测定不同的族的元素，必须采用不同样品的准备方法，并且测定步骤也不同，该方法中一般用汞作为工作电极，所以对汞的用量是否适当必须认真考虑。

表 1-2 几种测定方法的检测单位 [$\mu\text{g/L}$]

金属离子	方 法			
	AAS	ET-AAS	ICP-MS	ASV
Al	45	0.15	0.16	0.03
C	0.7	0.006	0.03	<0.0002
Co	9	0.15	0.01	<0.005
Cr	3	0.06	0.01	0.02
C	1.5	1.5	0.02	0.002
Fe	7.5	0.06	0.2	<0.04
Hg	300	1.2	0.02	0.005
Ni	6	0.3	0.04	0.001
Pb	15	0.15	0.01	0.001
Sn	30	0.6	0.06	<0.03
Zn	1.5	0.03	0.01	0.02

表 1-3 德国仪器购买价格和运行维护费用比较

方法	购买价格(DM)	运行维护费用 (DM)
ICP质谱法	400000-500000	很高
ICP原子发射法	150000-250000	高
原子吸收法	30000-150000	中等
ET原子吸收法	140000-180000	中等
极谱法	12000-50000	低
伏安法	12000-50000	低

运用这些光学、电化学和核分析技术,虽然灵敏度和选择性较高,但为了扩展检测限,使重金属的检测限达到 ppb 级或更低,提到分析结果的精密度和准确度,一般要用到富集技术^[30]。近年来痕量金属离子的富集技术得到了很大的发展^[31]。

上述各种方法一般都是在实验室进行,且检测方式不是连续的、在线的。

1.2.3.8 分子荧光分析方法

分子荧光现象用于元素分析不是一个新的课题。第一次发现荧光现象的是 16 世纪西班牙的内科医生和植物学家 N. Monardes^[32], 1575 年他提到在含有一种称为“Lignum Nephriticum”的木头切片的水溶液中,呈现极为可爱的天蓝色。尽管在十七世纪和十八世纪中还发现了其它一些发荧光的材料和溶液,然而在解释荧光现象方面却没有什麼进展。直到 1852 年来 Stokes 在考察奎林和叶绿素的荧光时,用分光计观察到其荧光的波长比入射波的波长稍微长一些。才发现荧光现象是物质在吸收光后重新发射不同波长的光,而不是由光的漫射作用引起的,从而得出了荧光是光发射的概念^[33]。他还对荧光强度和浓度之间的关系进行了研究,描述了在高浓度时以及外来物质存在时的荧光淬灭现象。他可能是第一个提出应用荧光作为分析手段的人。随后,在 1880 年 Liberman 提出了“荧光与化学结构的关系法则”。从此,荧光技术开始被应用于化学分析中。二十世纪以来,人们对荧光现象研究越来越多,例如 R. L. Bowman 推动了荧光分析仪器的应用和发展^[34], Th. Foersterh 是研究荧光基础理论的先锋,他的书《Fluoreszenz Organischer Verbindungen》至今仍然是荧光光谱研究的圣经^[35]。近几十年来,激光,微处理机和电子学等学科取得的新成就,大大推动了荧光分析法在理论方面的研究进展,促进了种类繁多的荧光分析仪器出现,如同步荧光测定,导数荧光测定,时间分辨荧光测定,相分辨荧光测定,固体表面荧光测定,荧光反应速率法,荧光偏振测定,荧光免疫测定,低温荧光测定,三维荧光光谱技术和荧光光纤化学传感器等^[36]。新近发展起来的激光诱导荧光等在已显示出极大的发展前景,如氮气激光脉冲作为激发光测定稀土元素的检测限可达 $4 \times 10^{-14} \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。可以说荧光分析技术是当代分析专业中的“热门”技术,

荧光分析方法的灵敏度比一般的分光光度法高出 1-4 个数量级, 又具有荧光寿命, 荧光量子产率, 激发峰波长, 发射峰波长等多种参数, 因而具有较好的选择性, 试样少, 测定方法简便, 且仪器设备亦不复杂, 昂贵, 它已广泛用于有机化学, 无机化学, 环境化学, 石油化学, 生物化学, 药物检验, 食品检验等许多领域。随着各式各样新型的荧光分析仪器的问世, 使得荧光分析方法不断朝着高效, 痕量, 微观和自动化的方向发展^[43]。目前荧光方法大多用于定量分析:

用于有机物的测定: 由于芳香族化合物具有共轭的不饱和结构, 多能发生荧光, 可以直接进行荧光测定^[38]。可用其测定氨基酸, 蛋白质, 以研究蛋白质的结构, 也可定性和定量分析酶以及研究酶动力学和机理, 也常用于药品的分析等^[39-40]。

用于无机物的测定: 由于自身发荧光的无机元素很少, 因此往往需要利用有机试剂与荧光较弱或根本没有荧光的物质共价或非共价结合形成发荧光的配合物来进行测定, 或用荧光淬灭法进行测定。虽然某些元素不与有机试剂组成发生荧光的配合物, 但这些元素的离子可以从发生荧光的其它金属有机配合物中取代有机试剂或金属离子以组成更为稳定的配合物, 而导致溶液荧光强度的降低, 由荧光强度降低的程度来测定该元素的含量。金属离子的测定都是用使荧光试剂的荧光加强或减弱的方法来进行^[41]。

1.2.4 重金属分析方法的发展趋势

对重金属分析方法的选择, 和其他物质分析方法一样, 要看方法的灵敏度, 准确度, 检测限, 较好的选择性, 较快的分析速度, 较宽的应用范围, 同时测定的可能性, 较为简单的试样准备, 且所需的试样量要少。另外还要考虑分析试样的花费, 试剂的费用, 设备运行维护的费用等^[7]。对环境中重金属的检测, 不管采用传统的检测方法, 还是采用上述的仪器分析, 一般都包括下面几个步骤: 历史数据总结; 现场情况调查; 手工采样; 样品运输至实验室; 样品处理; 样品分析。这一系列步骤不仅昂贵, 而且时间持续长, 对采用仪器分析的试样,

有的仪器对样品的准备要求严格, 有的甚至需要持续几天。如采样现场距分析实验室很远, 还存在取样品量小, 采样频率低, 不具有代表性, 样品的如何保存等一系列问题。另外, 在有些情况下, 我们需要及时知道污染情况, 以便迅速制定相应的处理对策。因此人们越来越迫切需要在线, 实时, 现场分析等分析手段。移动实验室, 便携检测器, 化学传感器等名词越来越频繁出现在环境检测领域中。在欧洲, 在线, 实时, 现场环境检测方法正在成为或已成为传统检测方法的补充^[42]。不用置疑, 实时现场检测代表当代环境分析仪器的发展方向^[43], 分析实验室的墙壁正在逐渐倒塌^[44]。

虽然和传统及一般的实验室固定仪器分析方法相比, 便携式, 移动式分析仪器存在准确度较低等问题, 但其高的采样频率, 具有代表性的样品足以弥补这种不足^[45]。因此目前人们正已极大的热情研究开发或已经开发出了有关这方面的仪器。化学传感器正是符合这一发展方向代表^[46]。

1.3 化学传感器

环境检测的目的实际是有选择性的获取物质的化学, 生物, 物理等信息。从而确定该物质的组成和数量。化学传感器就是能选择性地将分析对象的化学信息转化成分析仪器易于测量的物理信号的装置。因此根据转换信号的不同, 可分为电化学传感器和光化学传感器。

电化学传感器是建立在电化学于电量测基础上的将分析对象的化学信息以电位, 电流和电导等电学量表达的传感装置。如玻璃 pH 电极实际就是最早出现的化学传感器。光化学传感器是近二十年出现的化学传感器中蓬勃发展的新的一族。它是建立在光谱化学和光学波导与量测基础上的将分析对象的化学信息以吸收, 反射, 荧光或化学发光, 散射, 折射和偏振光等化学性质表达的传感装置。pH 试纸可以看成现代光化学传感器的雏形。它是通过试纸颜色的变化来反映溶液中氢浓度的变化, 只是这种变化是通过肉眼而不是通过电子仪器来识别的。光化学传感器和传统的光谱分析方法有基本的相同原理。不同是: 传统的光谱测量中, 分析样品通常被放在仪器中固定的位置, 而在光化学传感器

中,通过波导材料,将探测光从仪器引出,并与样品相互作用,再将信号光返回仪器。

尽管人们迫切各种类型的化学传感器用于实时在线检测,但是到目前为止,化学传感器还没有被广泛承认为一种可靠的检测手段。几种用于常规检测手段的化学传感器都是基于较为成熟的电化学分析方法。如基于离子选择性电极的化学传感器用于检测 pH, 阴离子, 重金属离子等。基于电势和电流用于各种环境如警报系统, 汽车尾气中的气体传感器。即使对这些已用于实践中的几种传感器, 在许多场合下还存在选择性和稳定性的问题。人们也致力于开发出各种不同的化学选择性膜去校正这些电极, 但大多数电化学测定方法是单变的, 不具有选择性。传感器的选择性能依赖于化学选择性膜, 而遗憾的是, 对于大多数的膜, 选择性和稳定性是两个矛盾的统一体。参入到膜中间的试剂在使膜具有较好的选择性的同时可能会破坏膜的物理和化学稳定性^[47]。

目前人们一致认为光谱检测技术在稳定性和选择性方面要优于电化学检测方法。基于吸收, 拉曼, 荧光等的化学传感器具有较强的抗电磁干扰能力。对电化学有较大影响的静电, 表面电位, 强磁场等, 均不干扰光学信号。另外光化学传感器所涉及的光学信号可以通过自身的方式获得, 不象电化学传感器中需要另外的参比电极, 而这些参比装置的液接电位是较严重的误差源。但是, 尽管光谱检测技术应用于化学分析已有一百多年的历史, 在廉价, 高效, 轻便的光纤出现之前, 光化学传感器的发展非常缓慢。

在历史上, 光学的发展并不比电学慢, 但由于后来发现了低损耗的传输电流的线路, 使得电的利用获得了突飞猛进的发展。光信号的利用, 由于没有象电那样低损耗的传输线路而限制了其快速的发展。直到六十年代末, 光的传输损耗仍然十分严重, 大约为 100-1000dB/Km。1966 年, 英国标准电话研究所的高锟博士提出: 利用带有包层材料的石英玻璃光学纤维, 其损耗可低于 20dB/Km 以下, 从而可用作通信媒质。1970 年, 美国康宁公司宣布研制成功传输损耗为 20dB/km 的光导纤维。从而开创了现代光通信的新纪元。目前, 石英光导纤维的损耗已降至 0.2dB/km 以下^[48]。经过近三十年的发展, 纤维光学理论, 光纤维

制造技术都有了极大的发展,各种特殊的光纤维也不断出现,如双折射光纤,衰减场光纤,掺稀土元素的光纤等。这些具有不同性能的光纤不仅用于信号的传输,还被广泛用于信号的处理和信号的获取。光导纤维是适应通信的需要而出现的。但由于其独特的优点,在其它方面获取信号的应用也不比在通信方面的应用晚多少年。出现了各种光纤维温度传感器,光纤维电流传感器,光纤维化学传感器等^[49]。各种光学波导器件的进步奠定了光化学传感器成为分析化学前沿研究领域的物质基础,另一方面,由于世界工业化的发展,环境污染现象变的越来越严重,因此对各类在线,连续检测污染源的实时检测仪器的需要成为推动光纤维化学传感器发展的动力。

1.3.1 光纤维化学传感器

光化学传感器一般由四大部分组成:光源,光信号传输,传感器头,光电转换及信号处理系统等。用光纤维传输光信号化学传感器就称为光纤维化学传感器。光化学传感器的历史可以追溯到三十年代 Kautsky 和 Hirsch 基于吸附于硅胶上的丫淀黄或荧光素的磷光可被低浓度的三重态氧熄灭这一原理,开发出连续检测光合成过程中产生微量氧的传感装置。而最早将光纤维和化学传感器联系起来的是 Hesse,他的工作是设计了基于荧光熄灭,光纤维传导测定氧和碘的传感器。后来,Hardy^[50]和 David^[43]等人提出了将光导纤维纤芯的涂层和保护层剥去,在光纤维上直接涂抹一层敏感指示剂,使吸收测量敏感度显著提高。对光化学传感器开发工作具有里程碑意义的是 Peterson 等人,他们详细描述了光纤维 pH 传感器的构造,并成功地应用于体内与体外血液 pH 值测量。之后光纤维化学传感器得到了突飞猛进的发展。用光纤维作波导具有如下优点:灵敏度高,响应速度快,动态范围大,抗干扰能力强;直径细小,与其它光电元件组合可以制成轻巧,紧凑的微型化传感器,还可将多个传感器组合构成传感器阵列^[51];应用光纤维传感器还可实现连续监测,遥测或在恶劣的环境下如高温,高压,有毒气体等条件下分析;另外光纤维传感器还具有无源性,化学惰性,绝缘性,极宽的信号带宽和“传”,“感”合一等许多优点^[52-53]。光纤维化学传感器经过

二十多年的发展,已经成为种类繁多的家族^[54]。其检测的对象,从荷电的无机阴氧离子,中性的有机物气体到生物领域的酶,药制剂等^[55-68]。

1.3.2 检测重金属的光纤维化学传感器

原则上,凡是能用作元素分析的普通光谱方法,都可被光纤维金属传感器所采用^[69-70]。但是对于金属离子来说,在常态下其本身并不具有可供检测的光学信息,因此,对光纤维金属传感器的设计,首要的问题是含有金属离子的样品能和试剂相互接触发生化学反应,进而产生能被检测的光信号。目前用于金属离子检测光信号有吸收,发光(包括荧光,磷光,化学发光)等,Czolk等开发了基于反射光谱同时测定 Cd、Pb、和 Hg 的光纤维传感器^[71], Delmarre, Vaughan 等也开发了相似但检测限更低的传感器^[72-73], Kuswandi 等研究出了检测水体中 Hg 离子的毛细管光极^[74], Malcik 等研制出了基于吸收光谱测定海水中 Fe³⁺的传感器^[75-76]; Kovacs 开发出的基于^[77]化学发光的金属离子传感器, Gregory A 研制出基于激光诱发衰减光谱检测土壤中重金属的传感器^[78]。与其它方法相比,荧光更常用于光纤维重金属离子传感器^[79-81]。基于荧光的光化学传感器构成了光化学传感器的最大群体^[82-83]。其检测原理既可基于荧光的直接检测,又可基于荧光熄灭等。这是因为荧光检测具有较高的敏感度。例如 Segura Carretero 开发了基于荧光的检测水体中 Hg 离子的光纤维化学传感器^[84],其荧光剂为不断更新的 Thiamine; Fabbriizzi 等研究出了用基于荧光滴定检测 Cu²⁺、Ni²⁺和 Zn²⁺的光化学传感器^[85]等。对于光化学纤维传感器,在激发光源,光检测器等改进上人们都投入了极大的热情进行研究。如激发光源从灯光源,发光二极管到激光器等^[80];光检测器从光电二极管,光电倍增管到采用光电耦合传感—照相机(CCDcamera, Charged Coupled Design Camera)^[86-87]。这些光学器件的采用提高了光纤维化学传感器的性能,如激光器的采用大大提高灵敏度,降低了检测限,CCD照相机的采用可以实现同时测定多种组分的传感头阵列等^[88]。但是对基于荧光的光纤维重金属传感器,最关键的还在于传感头,或称探头的设计,如何采集样品,如何进样,如何选择合适的荧光试剂,如何引入荧光试

剂, 样品如何与荧光试剂发生反应产生荧光信号等等是目前需要解决的问题。虽然人们在这些方面进行了很多的研究, 但还没有真正成熟的技术问世, 这些问题归纳起来就是传感头的设计形式。就目前来说, 对于采用试剂与样品发生反应产生可检测信号光纤化学传感器, 其探头设计可以有以下几种形式^[47]:

1) 将试剂固定在载体上(*intrinsic sensor*), 这种载体可以是如纤维素酯, 离子交换树脂或石英等一类的物质, 也可以就是光纤本身, 如在光纤的另一端, 直接涂上一层敏感试剂, 该试剂可以和金属离子产生反应生成可以检测的光信号。这种探头, 也称为“光极”, 最早是由 Hardy, et al David 在七十年代中期提出来的, 直到现在, 对于这种探头形式的基本构造还没有改变。这种形式的探头, 附件少, 较为简洁, 轻巧, 但是, 它要求试剂是可逆的, 而事实上, 大部分化学试剂是不可逆的, 这就限制了适合于这种类型传感器试剂的选择范围。通常情况是, 当试剂受到光的反复照射, 会产生光分解而颜色减退或荧光强度下降, 即光漂白。另外, 为了避免响应时间太长, 敏感层通常作的很薄, 这层很薄的敏感层和样品长期接触时, 会被逐渐洗脱而随样品流走。虽然人们在提高试剂的稳定性方面作了大量的工作, 但是, 采用这种形式的光纤化学传感器在传感器的使用寿命, 选择性, 敏感性, 动力学范围, 响应时间和重现性方面仍然存在许多问题。这些问题限制了这种形式的传感器在真实状态下的使用。

2) 采用流动腔用泵将试剂注入(*extrinsic sensor*), 试剂与样品在流动腔里发生反应, 光信号由光纤导出。试剂在测量中或测量后会得到更新。这种概念是 Berman 和 Burgess 在 1990 提出来的。基于这种概念开发出的传感器, 在响应时间, 使用寿命, 灵敏度和选择性方面都有很大提高。由于没有重现性而不能被固定化膜传感头采用的试剂, 用这种技术都可被利用, 这样实际上是扩大了可以检测物质的范围。在本课题的第一第二代传感头都是采用这种技术。但是这种技术通常是采用一种膜将试剂和样品固定于膜腔中, 传感器的响应时间通常受制于膜的自然的扩散速度。在本课题的第一和第二代传感器中都存在响应时间太慢等问题^[89]。

1.4 火电厂废水处理及回用技术

在我国，燃煤火力发电厂是用水大户，一个采用二次循环用水容量为百万千瓦的电厂，其耗水率约为 $1.5\sim 2.0\text{m}^3/\text{s}$ ，相当于有一个二十多万人口的中等城市的供水量，一方面火电厂生产需要大量的水，另一方面在火电厂生产的各个环节中又产生大量的废水。

1.4.1 火电厂生产用水及废水

火电厂的用水量主要在以下几个方面:化学用水、除灰用水、冷却塔补充用水、生活消防用水等。各部分比率如表 1-4 表示:

表 1-4 电厂各种用水所占的比率

冷却塔补充水	除灰用水	轴冷却水	化学用水	消防用水	空调用水	总计
52	32	5	5.7	3.8	1.5	100

在火电厂生产过程中消耗大量的水，同时，每个环节中有排出大量的废水。冷却塔耗水主要是蒸发、风吹和排污损失，其中风吹和蒸发损失是不可回收的，它对环境造成的损失不是很大，从表 1-4 可以看出，占电厂耗水率第二位的是水力除灰用水，这一现象也可能是我国的特色，因为在发达国家中，一般都是采用干排灰技术，所以不存在冲灰水排放造成的污染。冲灰用水不仅量大，同时也是火电厂排放的主要污染源，在用水冲灰的过程中，粉煤灰中的物质必然会溶解于水中，这样会使冲水水含有大量的污染物质，在冲灰水中，超标的污染指标主要有: pH，悬浮物(SS)，其它有毒元素如氟，砷等。其中 pH，悬浮物超标不仅污染水体，同时对灰水回用也带来技术上的难度。因为冲灰水量大，虽然人们提出了种种方法进行尝试，如将灰水用混凝剂处理后排放或回用是一种较好的办法，但因为冲灰水量，用目前市场上所售的水处理剂，处理成本又较高，因此在目前还没有一种真正行之有效，经济实用的处理方法。灰水的重复利用，或称零排放，在我国已是一种发展趋势，目前减少灰水量的普遍措施就是采用自然沉降的浓缩池工艺，一方面可以重复利用上部的清液，另一方面

在浓缩池底部可以是粉煤灰得到浓缩。但是，目前设计火电厂浓缩池大都是按一般浓缩池或沉淀池的设计方法设计。但是，由于粉煤灰的特性不同沙、泥及其它矿渣，且不同电厂的粉煤灰的特性也不同，使目前许多已运行的浓缩池的处理效果不理想。甚至出现溢流水超标的情况，

2 国内外城市生活污水用于火电厂现状及在我国的发展前景

前已述及，火电厂是用水大户，水是火力发电厂正常生产必不可少的“血液”，但是由于人口的剧增，工业的发展，对水的需求量也增大，同时，水污染现象也日趋严重，造成我国出现水资源的短缺，特别是北方地区，水资源的短缺已成为火电工业乃至其它行业的制约因素。要缓解这种局面，有两种办法，一是火电厂内部节约用水，一水多用，或重复利用。但由于火电厂生产的特殊性，水的损失量较大，及时补充水是很必要的。因此第二个解决办法就是寻找新的水源。城市污水由于其来源的稳定性和可靠性，成为可以利用水源之一。城市生活污水的再利用不是一个新的话题，我国很早就将城市生活污水用作农业灌溉用水。目前，有将城市污水处理后回用作中水，或工业用水，如低压锅炉的循环冷却水。国外甚至有将城市生活污水深度处理后回用于饮用水的补充水。美国、英国、南非、以色列等有将生活污水处理后回用于火电厂循环冷却水的报道。

在一些缺水国家和地区，生活污水处理后回用于低压锅炉循环冷却水已有普遍报道，我国也有这方面的应用实例；生活污水在火电厂的再回用国外也有报道，如美国加利福尼亚州伯班克电厂，英国科里登发电厂等都用水处理深度处理的出水作电厂循环冷却水的补充水。而我国目前生活污水回用于电厂主要用在冲灰水方面，因为冲灰水对水质要求不高，在冲灰的过程中，由于粉煤灰的吸附、凝聚等作用，还可将生活污水净化，一举两得，因此有的电厂甚至用这种方法来处理生活污水，一方面满足了冲灰用水的需要，另一方面使污水也得到了净化。纵观国内外，生活污水回用于火电厂锅炉用水还鲜有报道，这主要是由于锅炉用水水质要求很高，并且随着大容量、高参数锅炉的采用，

对水质的要求越来越严格,要使生活污水达到锅炉用水的条件,则处理工艺相当复杂,费用也高。所幸的是,在火电厂整个用水中,这部分用水量所占份额不大。随着我国电力工业的迅猛发展,对水的需求量也越来越大,同时水资源也日趋紧张,但随着我国污水处理技术的不断提高,污水回用于火电厂不仅用在对水质要求低的冲灰水方面,也可用在其它如冷却水、杂用水等方面。

1.5 本论文研究的重点

本论文的研究重点分为两部分:一是新型重金属污染物检测仪器的开发研制;二是火电厂废水处理及回用技术的研究。

1.5.1 新型重金属污染物检测仪器的开发研制

鉴于 1.3.2 所述两种传感头的缺点,本论文的目的就是在前人工作的基础上将流动注射技术应用于光纤重金属传感头的设计中,也就是说把第二种传感头的加以改进,用流动注射技术,使试剂不断得到更新。使该重金属传感器能在实时检测水体中重金属离子浓度。流动注射分析技术是由丹麦的 J.Ruyicka E.H. Hansen 在 1975 年创立的溶液自动分析及处理的技术^[90]。它具有分析速度快,精度好,设备和操作简单,节省试剂与试样及实用性广等一系列特点。流动注射本身不是一个新的话题,将流动注射分析与光纤传感器结合起来是目前分析化学领域一个很热门的研究课题^[91],例如, R. Compeneoe, Johnson 等将流动注射用于荧光光谱测定海水中的 Zn, Ca Cu 等^[92-93] K. Schugerl 将流动注射分析用于生物传感器,开发出自动,在线,可靠的生物过程控制系统^[94], John Mortenen 开发出基于流动注射系统的硫属化物玻璃传感器用于检测重金属 Cr, Pb, Cu, Cd 等^[95]。流动注射分析已经渗透到分析化学的各个领域,促进了分析仪器的自动化。本课题采用激光激发荧光光谱,光纤传导,另外将流动注射技术与光电耦合传感照相机(CCD, Charge Coupled Device)和微机联用,旨在开发可以现场实时检测多种重金属离子的传感器阵列。本论文着重对适合于基于荧光的光纤重金属离子传感器的流动注射分析系统进行设计和优化,确定

系统的各种参数；利用数理统计方法对采用流动注射方法和正常的荧光测定方法进行对比，对重金属离子如 Cu, Ni, Cd, Zn 等离子金属荧光螯合物的选择，影响检测的因素，测定的线性范围，检测限等的确定；多个流动注射系统和传感头结合起来后同时检测多种重金属的响应结果等。

1.5.2 火电厂废水处理及回用技术的研究

在这一部分，主要进行了硫铁矿生物法制备铁系净水剂处理燃煤电厂冲灰水的开发研究，粉煤灰在水中沉降规律的研究及处理后的城市污水回用于电厂循环冷却水的可行性研究。

本论文第一章为有关重金属检测的意义，检测方法和发展趋势；有关光纤维重金属离子传感器的发展状况等，火电厂废水处理及回用意义及发展趋势等；第二章主要介绍流动注射方法原理及有关系统优化试验研究结果；第三章是用流动注射方法测定一种或同时测定几种重金属离子的试验研究；第四章为样品的膜处理；第五章主要介绍基于激光激发荧光光谱的光纤维重金属离子传感器构造及试验结果；第六章为火电厂废水处理及回用技术的研究；第七章为结论及展望。

第2章 流动注射荧光分析系统性能试验研究

流动注射分析方法 (Flow Injection Analysis, 简称FIA) 是近二十多年来发展起来的微量湿分析技术。自其诞生以来, 由于其灵活性, 可以和各种不同电化学、光化学或其它原理的检测器组合, 在一般的分析与研究工作、化学控制过程检测、传感器研制和发展及各种仪器性能的提高方面得到了广泛的应用^[96]。可以说, 是流动注射分析才使化学实验室从分批式的间歇到连续的自动操作成为了可能。流动注射技术与溶液分批式间歇处理技术相比, 具有如下优点^[97-99]:

- i. 分析结果重现性高;
- ii. 在相同的时间内分析速度快;
- iii. 结构简单, 灵活, 可以和不同方法的检测器组合; 且价格低廉;
- iv. 过程易于实现自动化控制;
- v. 试剂的耗量低;
- vi. 整个分析过程总是处于一个封闭的系统, 因此, 避免了试剂和试样的污染等。

因此, 流动注射分析是一种简单而易于实现自动化的微量化学分析技术。正因为流动注射分析有如此多的优点, 使得它在环境分析、食品分析、药物分析及其它生化分析和工业过程检测分析中获得的广泛的应用, 流动注射方法和荧光分析连用可以对许多成分进行分析, 其系统简单, 且测定结果准确, 可以达到较低的检测限^[100-109]。

2.1 流动注射分析方法的原理

流动注射分析是将样品注入到一流动的、非间隔连续载流中, 注入的样品在载流中形成一个样品带, 被输送至检测器, 检测器可以连续记录由于样品带

通过流通池而引起光化学信号、电化学信号或者其它物理量的变化^[110]。图2-1是单通道流动注射分析的基本流路图。

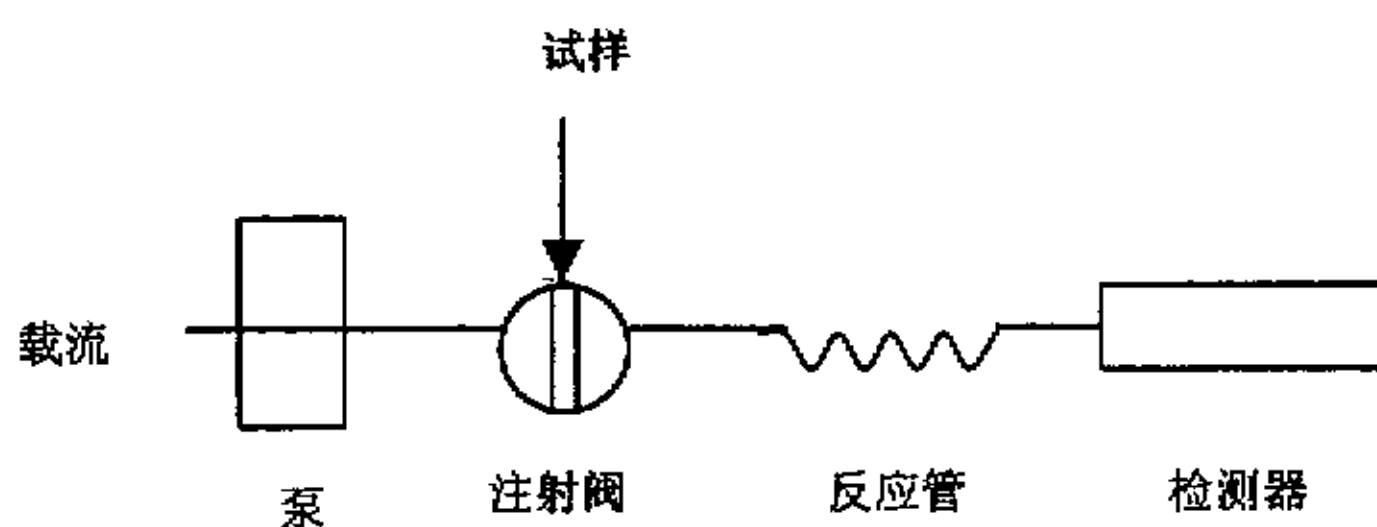


图2-1 FIA基本流路图

图中，泵用来驱动载流通过管道，注入阀可以重现地将一定体积的样品溶液注入载流中，样品带在微型反应器（或管道）流动并被分散与载流发生反应，生成为检测器所能响应的产物，记录仪记录产物的信号，并以一定形式如峰等输出。对于如pH、电导或一般的原子吸收中，测定的是样品的原始组成，因此，样品必须以高度重复未稀释的方式通过管道流入检测池；而对于如分光光度、荧光、化学发光等，待测物必须转变成可为某种检测器检出的化合物。对这类的测定的先决条件是：样品带在通过管道时须与试剂混合，且有足够的时间来生成其量足以检出的化合物。但是在流动注射分析中，并不需要均匀混合，也不需要达到所谓的稳定状态。因为在流动注射分析系统中，所有的分析样品都通过分析通道按序以完全相同的方式处理，也就是说，一个样品有什么变化，任何其它样品也会有完全相同的变化。这也是为什么流动注射分析具有高重现性的原因。

在分散样品带通过检测器时，记录下来的检测信号为峰形，峰形的高度 H 、宽度 W 或面积 A 等都包含着分析信息。但最常用的是峰高，因为峰高，即基线到峰顶的距离易于辨认，并直接与检测器的响应相关，且通过线性函数与被测物的浓度 C 有关，即

$$H = k C \quad (2-1)$$

式中 k 为比例常数。

一个流动注射系统的设计是否合理主要与以下几个参数有关：停留时间，扩散系数，注样体积等，这些参数都直接影响输出信号的大小，因此要通过实验进行优化。

对于利用与金属螯合剂反应生成可检测的荧光产物来检测重金属离子浓度来说，在这几个参数中最重要的是分散系数，因为FIA的化学反应是样品在试剂中分散，即样品带的浓度梯度在分散过程中形成的同时发生的。样品分散过程和样品与试剂反应的化学过程直接影响峰高的大小^[111]。

为了合理地设计FIA系统，必须知道：原始样品在流入检测器中被稀释了多少；从样品注入到读出需要多少时间。描述这些因素最重要的一个参数就是分散系数^[112]。分散系数定义为分散前样品浓度 C_0 与分散后给出分析读数的流体元中的样品最大浓度 C_{max} 之比。

$$D=C_0/C_{max} \quad (2-2)$$

根据朗伯-比尔定律，分光光度法中峰高与浓度存在线性关系：因 $H=kC$

$$\text{所以, } D=C_0/C_{max}=k H_0/H_{max} \quad (2-3)$$

如图2-2所示，对于荧光光度法来说，只要测定信号的峰高，即可知道D。

如 $D=2$ ，则样品溶液被载流1:1稀释了。利用荧光光度计测定FIA系统分散系数 D_{max} 的方法较简单：注入一定体积的染料于无色载流中，测定其峰高，并于流通池中完全充满为稀释染料的峰高相比，在遵从朗伯-比尔定律得条件下，即得分散系数 D_{max} 。事实上分散系数只是一个假想的概念，因为，流动注射的峰形，是同时发生的两个动力学之和，即分散的物理过程和试剂与样品反应的化学过程。而分散系数考虑的仅是物理过程，而不考虑化学过程。尽管如此，测定分散系数仍是优化流动注射系统的重要工作。

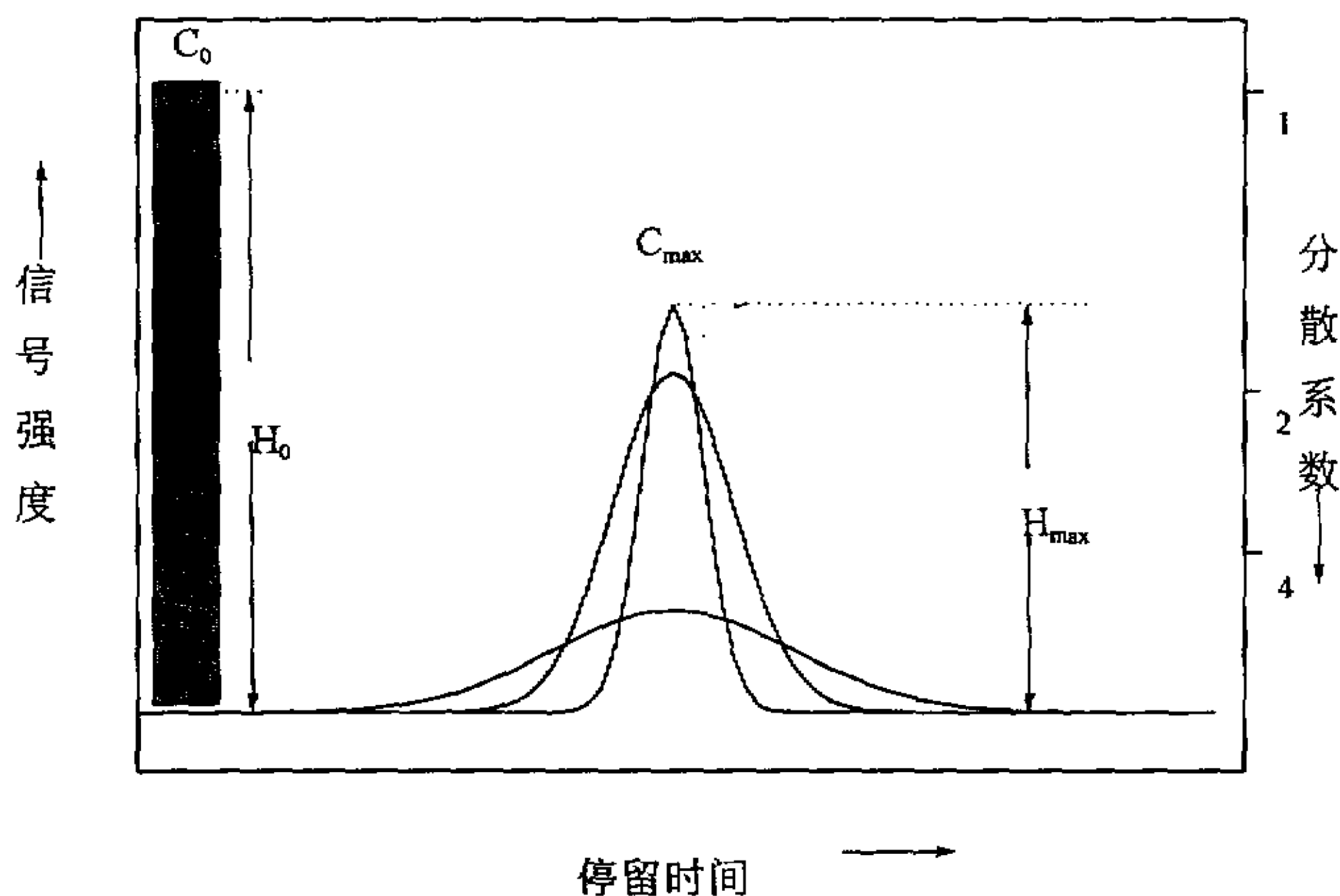


图2-2 分散系数与浓度及峰高的关系示意图

分散系数 D 一般分为三个范围：

即，低分散度系统： $D=1-2$ ，在该系统中，样品带于载流的混合稀释的程度很小，系统主要其传送样品带的作用，以离子选择性电极，原子吸收光谱等为检测器的测定常采用这种系统；

中分散度系统： $D=2-10$ ，试剂和样品发生了充分的混合，这种方法适用于多数基于某种化学反应的光度测定。在这类分析中需要试样与试剂反应以生成可测定的反应产物。适当的分散是为了保证试样与试剂之间一定程度的混合以使反应正常进行。

高分散度系统： $D>10$ ，试剂与样品发生了完全的混合，这种系统用于对高浓度试样进行必要的稀释及某些FI梯度分析技术。

在我们的试验中，重金属离子必须首先与试剂发生反应，生成可以检测的荧光物质，因此，应采用中等分散度体系，因为在中等分散度体系中，样品的稀释程度不致于太高或太低，这样一方面保证样品可以和试剂充分混合，生成

可以检测的适量荧光产物，另一方面，不致于使样品或试剂的浓度太高，可以节省试剂和样品。

峰高不仅与注射体积有关，与反应管长，流速等都有很大关系。

2.2 FIA 系统结构图

图2-3是流动注射装置的构造。它是一个单通道的流动注射系统。一个四通道的蠕动泵用于输送试剂、样品及冲洗液，一个六点注射阀用于准确充样和注射，试剂与试样混合后在反应管中发生反应，生成的荧光产物的荧光强度在流通池中被检测。

2.3 试剂及设备

试剂：荧光素钠（Uranine, Merk, Germany）；高纯水（Millipore, Corporation, USA）

设备：四通道蠕动泵（Ismatec Sa MS-Reglo/8-100B, MS-4, Glattbrugg-Zurich）；荧光分光光度计（Perkin-Elmer LS-50 Luminescence Spectrometer, England）；六点注射阀（Upchurch Scientific, Inc. V-450, Germany），Teflon管道（Upchurch Scientific, Inc., Germany）等。

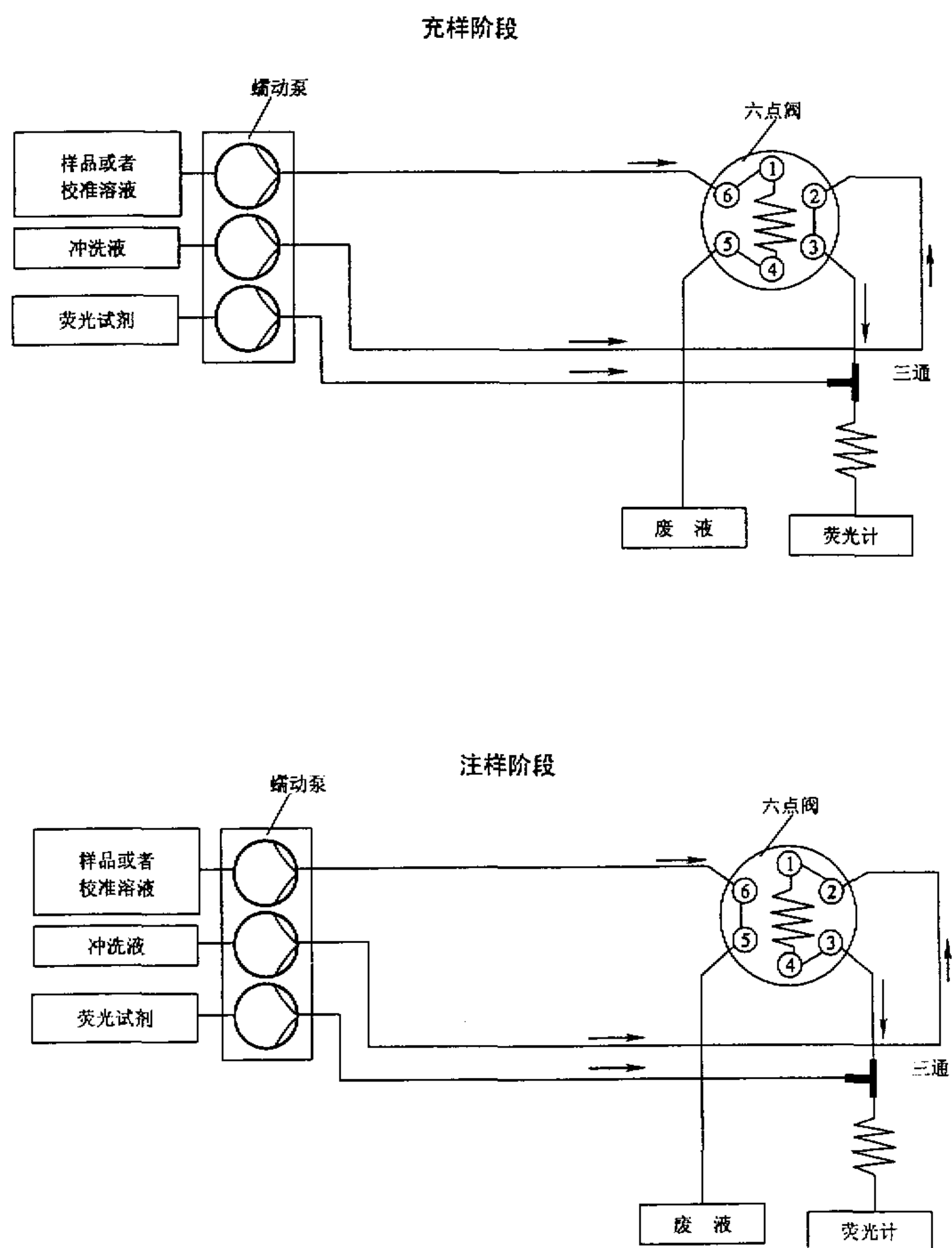


图2-3 流动注射系统流程图

2.4 FIA系统优化试验研究及结果

为了测试该流动注射系统的性能,得到基本参数,对泵的工作情况,系统的分散系数等进行了试验研究。

2.4.1 泵效率

图2-4是在用不同直径的泵管时泵的速率和流出液体的速率的关系。在管径一定的情况下,该蠕动泵的转速与液体的流速具有很好的线性关系,其相关系数均大于0.9999。这说明该泵的工作性能很稳定。

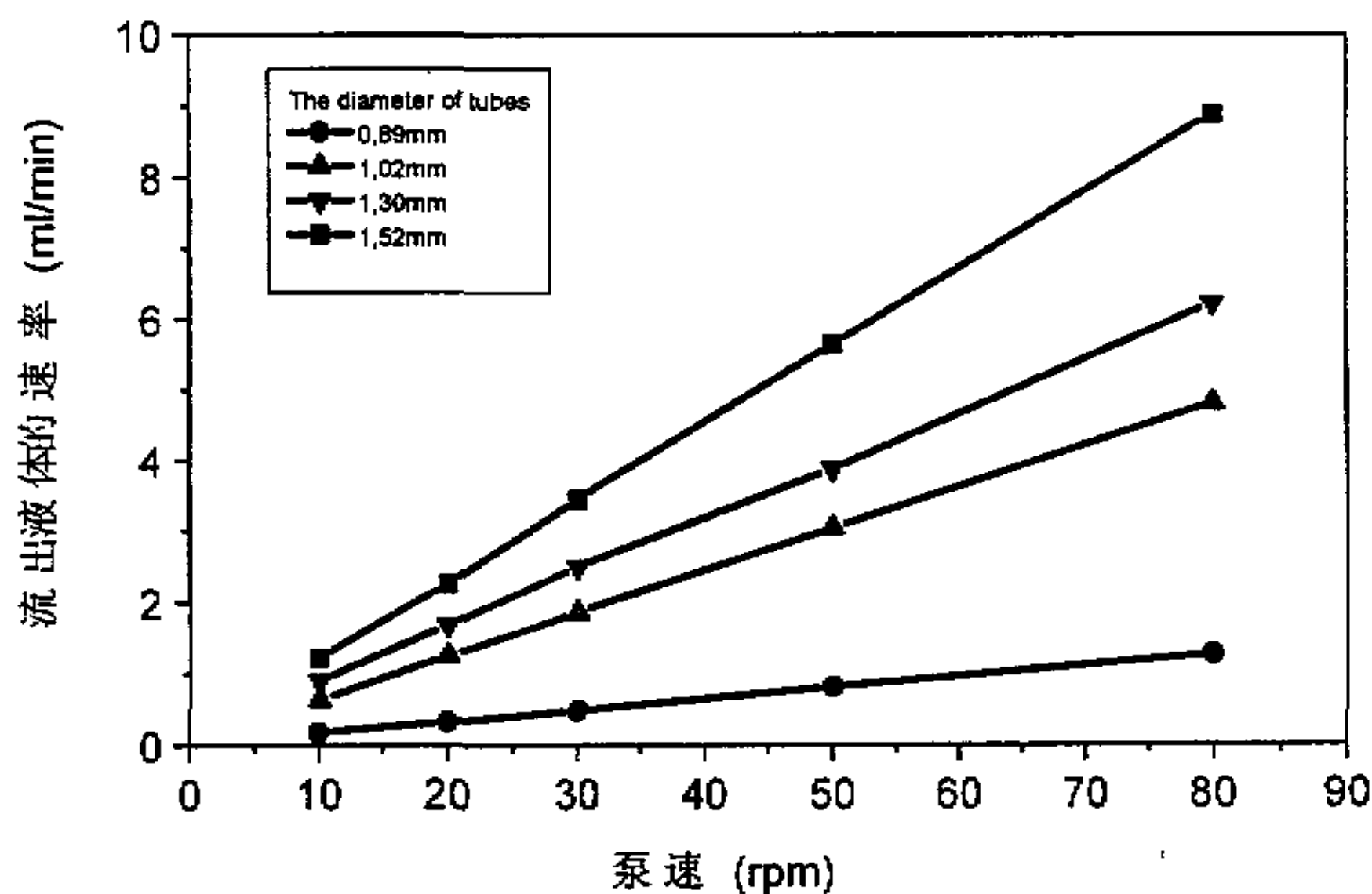


图2-4 泵速与流速的关系

2.4.2 泵速对峰的影响研究

Ruzicka与Hansen在著作中指出:“试样带的分散随着流速的降低而降低”,分散的降低即意味着与样品与试剂发生反应生成的荧光产物减少,但如图2-5所示,似乎在流速低的条件下,其信号反而更强。其实这并不与书中所述规则相矛盾,因为荧光计在记录信号时还与其读取信号的间隔时间有关。如间

隔时间一定, 流速过快, 其最大峰高在记录时可能已经通过流通池, 所以检测的信号峰高反而偏低, 在本试验中采用的记录间隔时间为0.5秒。

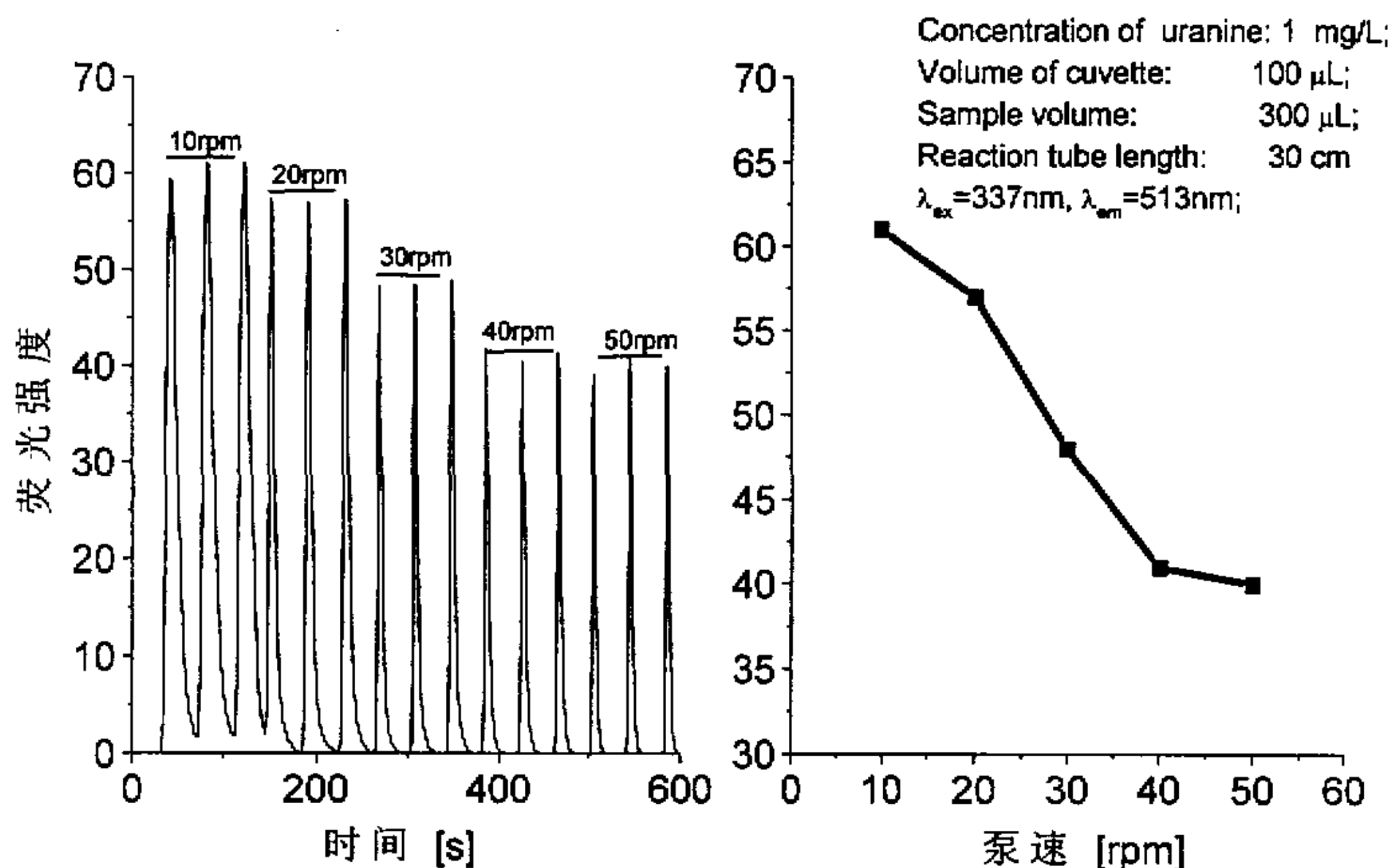


图2-5 泵速与峰高的关系图

2.4.3 分散系数 D

分散系数是FIA法的核心问题, 在本试验中主要进行了注入体积及反应管长度等因素对分散系数的影响试验研究。

2.4.3.1 分散系数与注样体积的关系研究

图2-6a是在激发波长为337nm时, 用不同的注样体积测定荧光素钠所得到的荧光强度随时间变化的峰形图, 计算不同体积下的分散系数, 得到图2-6c。由试验结果, 得到分散系数D与注样体积V的关系可用下式表示:

$$D = \frac{1}{1 - e^{-0.00853V}} \quad (2-4)$$

即系统分散系数随着注样体积的增加而减少, 而荧光强度随着注样体积的增大而增加(图2-6b)。在流动注射用于光谱反应中, 分散系数一般在2-10之间, 为了使荧光强度不至太小, 将注样体积定为70 μL 。

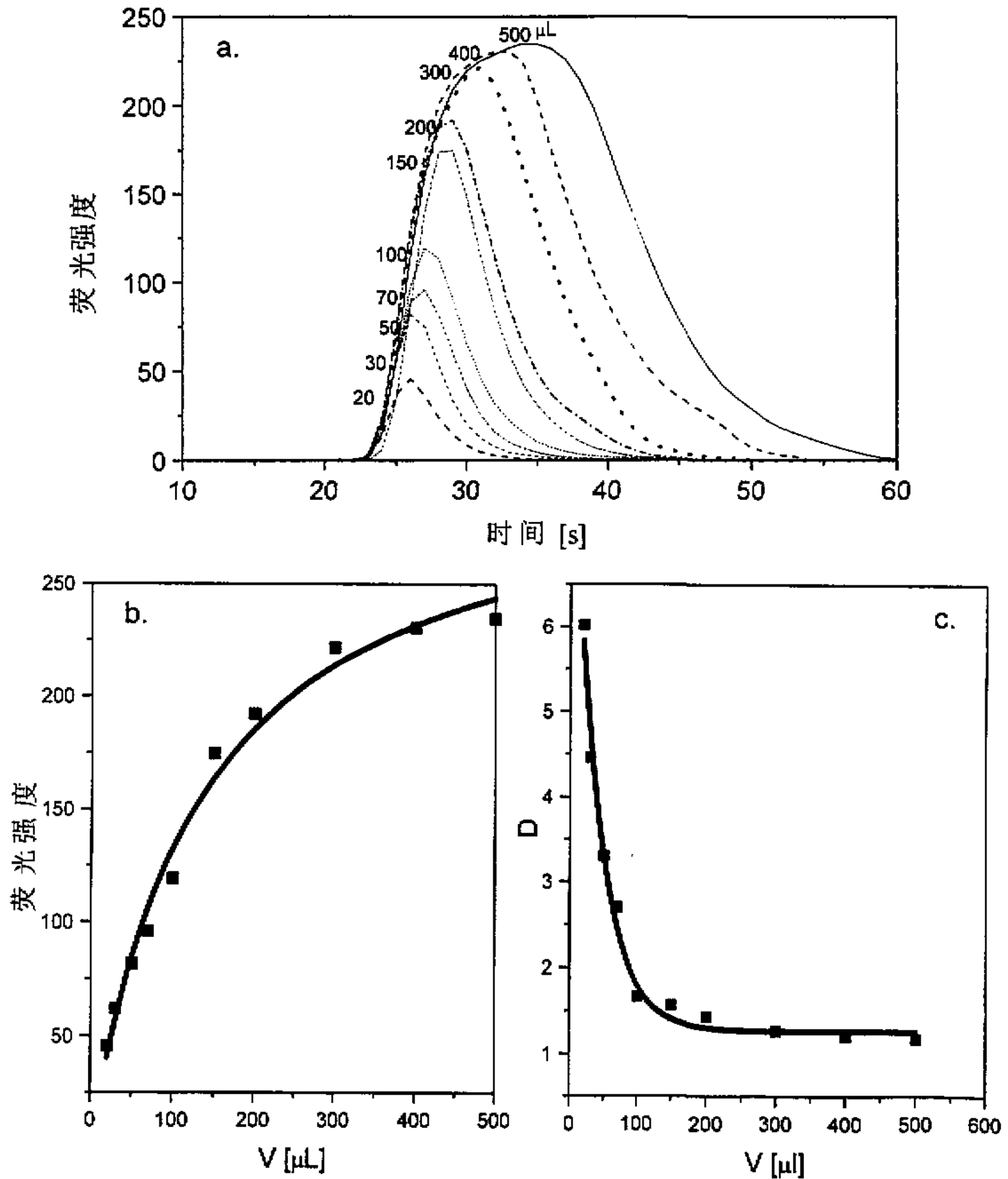


图2-6 注样体积与分散系数的关系

2.4.3.2 分散系数与反应管长度的关系研究

图2-7显示了用不同反应管得到反应管长、反应时间与荧光强度及分散系数的关系式。

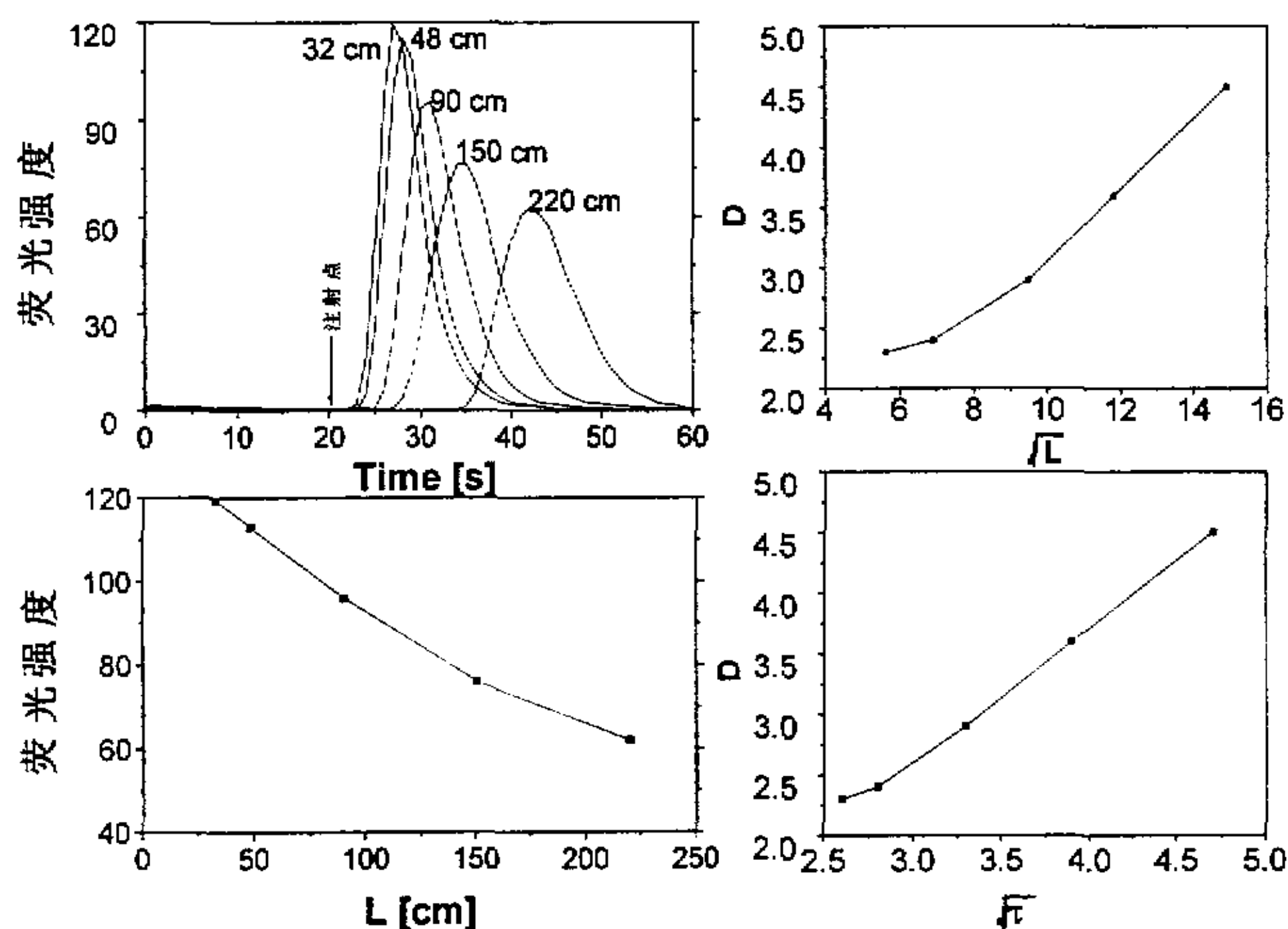


图 2-7 反应管长与分散系数的关系

分析试验数据可以得到, D 与反应管长度的关系为:

$$D = 0.76 + 0.24\sqrt{L} \quad (2-5)$$

相关系数 R 为 0.9900, 标准偏差 SD 为 0.16。

D 与停留时间 τ 的关系式为:

$$D = -0.56 + 1.07\sqrt{\tau} \quad (2-6)$$

相关系数为 0.9980, 标准偏差 SD 为 0.067。

分散系数随反应管长度的增加而增加, 而荧光强度则相反, 因此, 综合两者考虑, 将反应管长度定为 30 厘米。

2.4.3.3 荧光素钠标准曲线

为了更进一步了解该流动注射系统的重现性,用一系列不同浓度的荧光素钠溶液进行分析,如图2-8所示:

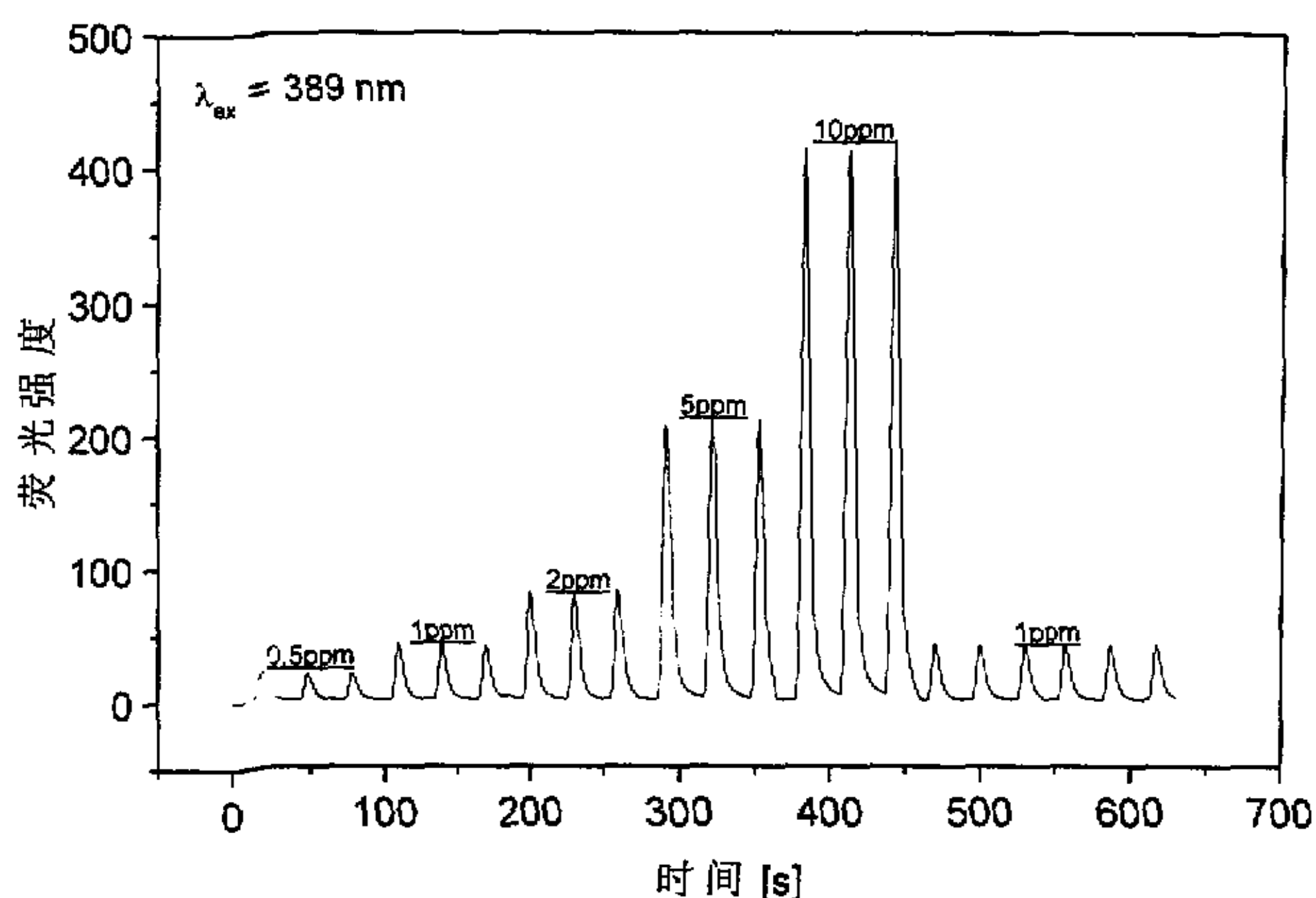


图2-8 荧光素钠标准曲线

回归方程为: $I = 41.68C$, 相关系数为0.9999, 检测限为74ppb, 1ppm荧光素钠溶液6次重复测定的相对标准偏差为0.05%, 可见该流动注射系统的重现性很好。

2.4.3.4 不同体积流通池对荧光素钠峰的影响

本文也对不同体积(25 μ L、100 μ L及500 μ L)的检测流通池对检测信号的影响进行了比较, 试验表明, 在其它试验条件相同时, 对同一浓度的荧光素钠采用500 μ L的流通池所测得的荧光强度要大, 且检测限要低, 但是用较大体积的流动池, 在下面的检测金属离子的试验研究中所需的荧光指示剂也要多, 综合考虑这些因素, 在以下的试验中采用体积为100 μ L的流通池。

2.4.3.5 流动注射系统优化参数

根据以上试验结果及分析，在以下的试验中采用如表2-1所列的参数。

表2.1 优化参数表

参数	Value
流通槽体积	100 [μL]
注样体积	70 [μL]
反应管长度	30 [cm]
泵速	20 [rpm]
反应管直径	0.5 [mm]
泵管直径	1.39[mm]
分析频率	90次/分钟

2.5 本章小结

流动注射分析方法是结构简单、灵活，分析重现性高，分析速度快，且价格低廉，易宜和不同检测器组合的微湿量分析技术。本章建立了流动注射分析系统，并用荧光素钠通过试验对该系统的性能进行了测试，得到了有关优化运行条件。

本章试验研究结果证明：流动注射系统的分散系数D与注样体积、反应管长度及泵速等等因素均有较大关系，控制这些运行条件在合适的范围内，可以得到较好检测信号；用荧光素钠对该流动注射装置进行测试，证明装置性能稳定，测定重现性好，分析速度快。

第3章 流动注射荧光测定重金属离子试验研究

利用荧光分析方法测定金属离子, 荧光试剂是影响测定结果好坏的重要因素。在本章中首先对测定几种金属离子Cu、Ni、Zn、Cd和Be的荧光试剂进行了筛选, 金属离子Be虽然不能划分为重金属离子之列, 但因为其毒性越来越得到人们的重视, 本文也对其荧光测定进行了研究; 其次, 利用流动注射系统在荧光分光光度计上对上述几种金属离子进行试验研究, 得到了其检测限, 线性范围及其它一些因素对测定的影响等^[179-180], 并应用数理统计方法对流动注射分析方法和正常的荧光光度计分析方法进行了对比分析及对同时测定几种重金属离子的试验研究。

3.1 荧光分析测定原理

3.1.1 荧光光谱

根据量子理论, 微观体系(原子、分子等)的内部运动一般是不连续的, 它具有一系列分立的能级。体系由一能级向其它能级的过渡称为跃迁。体系由高能级向低能级的跃迁伴随着能量的释放; 由低能级向高能级跃迁伴随着能量的吸收。能量的释放和吸收可以以辐射的方式进行(放出或吸收光子), 称为辐射跃迁; 也可以以无辐射的方式进行, 如粒子相互碰撞而产生的能量就是无辐射跃迁的例子。全部能级间可能的辐射跃迁对应于一系列辐射频率, 称为该物质的光谱。当组成物质的体系由高能级向低能级跃迁从而放出辐射时, 可观察到物质的发射光谱; 当考察各种频率的辐射通过物质而被吸收的情况时, 得到物质的吸收光谱, 它对应于低能级向高能级的辐射跃迁。同辐射发射和吸收相关联的除了原子和分子外, 还有它们的聚集结构——如晶格、半导体中的电子空穴对, 等等。但对于分析化学来说, 最重要的利用得最多的还是原子和分子光谱。图3-1显示了分子能级图, 荧光分子光谱就是当处于第一激发单重态得分子通过辐射的方式回到基态时, 即可观察到荧光分子光谱。

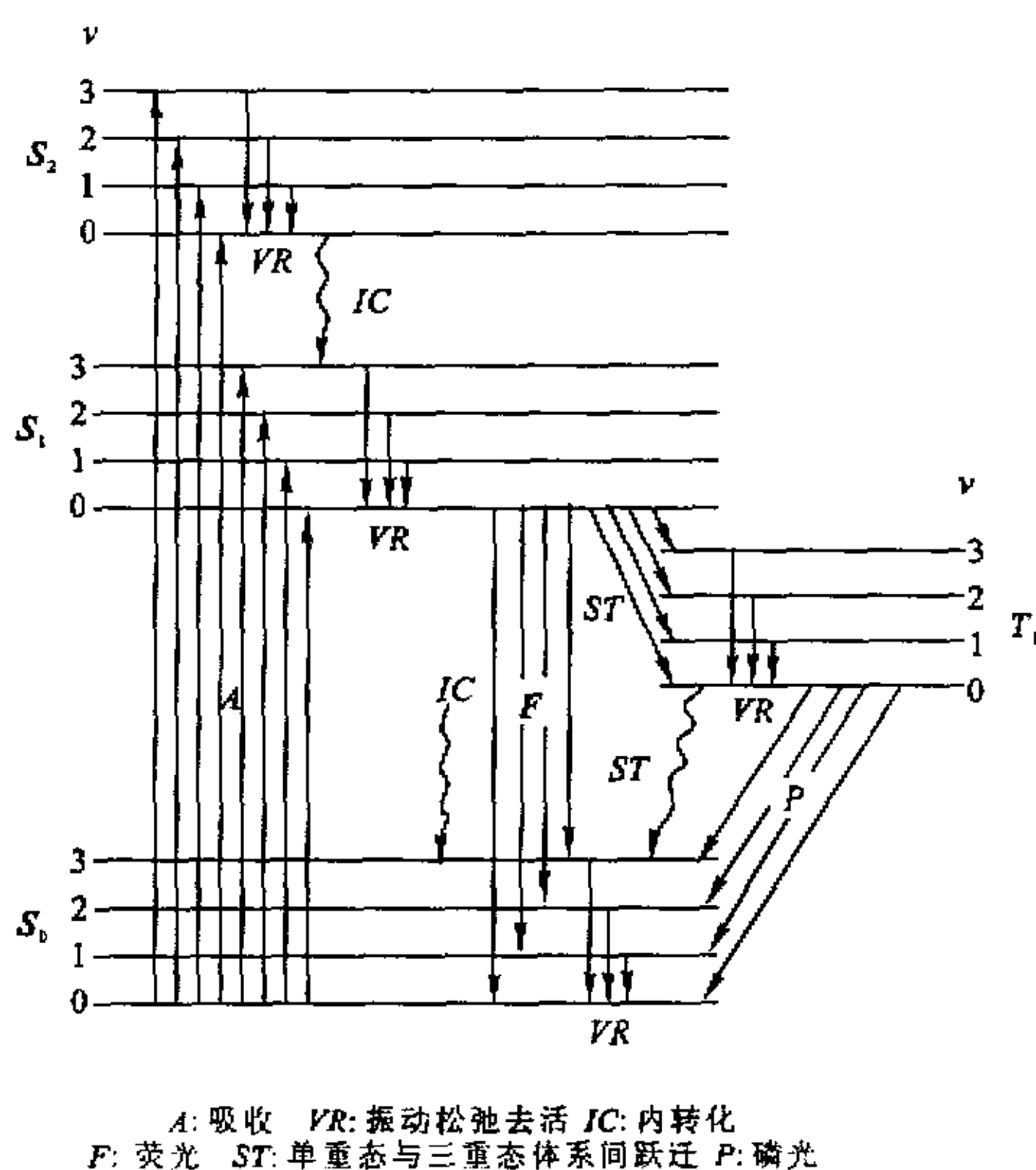


图3-1 分子能级图

荧光现象涉及分子的激发与发射两种过程，因而它能提供比吸收光谱更多的信息。在当今众多的光化学传感器中，基于荧光现象的占绝大多数，这是因为荧光法不仅有较高的灵敏度和选择性，丰富的测量信号，而且其传感头的设计也较为简便^[48]。

3.1.2 金属螯合物的荧光

因为大多数金属离子与溶剂之间的相互作用很强烈，使得激发态分子或离子得能量因分子碰撞去活化作用，以非辐射得的方式返回基态，或发生光化学作用，所以在紫外或可见光激发下发荧光的很少。因此，为使金属离子也可以通过荧光的方法的分析，一般是把不发荧光的金属离子与有吸光结构的有机试剂发生配合，生成会发荧光的配合物，再进行荧光测定。

金属离子与有机螯合物发生反应形成金属螯合物的荧光特性主要受下面几个因素的影响：a. 螯合剂的种类；b. 金属离子的种类；c. 金属和螯合物电子之间相互影

响的程度和规律；d. 分子内部能量转移过程；e. 溶剂的特性和温度等。其中最重要的是金属和螯合物的种类。

金属离子按结构可以分为三类：

1. 金属离子的外电层具有与惰性气体相同的结构，为抗磁性的离子，它与含有芳基的有机配合体形成配合时多数会发出较强的荧光。这些离子在与有机配位体配合时，会使有机配位体原来的单线最低电子激发态 S_1 为 n, π_1^* 能层转变为 π, π_1^* 能层，并使原来的非刚性平面构型转变为刚性的平面构型，使原来不发荧光（或弱荧光）的有机配位体转变为发强荧光。此类配合物的荧光强度随金属离子原子量的增加而减弱，吸收峰和发射峰也分别向长波方向移动。此类金属配合物有配位体L吸光和发光，故称为 $L^* \rightarrow L$ 发光。
2. 此类金属离子也具有惰性气体的外层结构和具有抗磁性，然而其次外电子层为含有未充满电子的f层。这类金属离子会产生 $f^* \rightarrow f$ 吸光跃迁，也会产生 $f^* \rightarrow f$ 发光跃迁，但都较微弱。但当它们和有机配位体生成二元配合物后由于 f^* 能层多在配位体最低单线态 S_1 的 π, π_1^* 能层下方，因此，被激发的有机配位体的能量可能转移给金属离子m而产生金属离子激发态 m^* ，即产生 $m^* \rightarrow m$ 跃迁，然后由激发态金属离子 m^* 返回基态离子m而产生 $m^* \rightarrow m$ 发光。这类发光称为 $m^* \rightarrow m$ 发光，象 Tb^{3+} ， Eu^{3+} ， Sm^{3+} 和 Gd^{3+} 等都属于这类金属离子。
3. 这类金属离子为过渡金属离子。它们与有机配位体生成的配合物，大多数不发出荧光。

能够与金属离子形成会发荧光的配合物的有机试剂，绝大多数是芳香族化合物。这类有机配位体通常含有两个或两个以上的官能团，其中一个官能团能与金属离子形成 σ 键。目前，发现或合成新的金属离子荧光试剂仍然是一个热门的题目。

3.1.3 荧光强度与溶液浓度的关系

荧光是物质在吸光之后发射出的波长较长的辐射，溶液的荧光强度与该溶液的吸光程度及溶液中荧光物质的荧光量子产率有关。假如以每秒钟每平方厘米的

光强度为 B_0 的入射光，照射到一个吸光截面积为 A 的盛有荧光物质溶液的滤池，而由检测系统所测出的荧光强度为 I 。根据比尔定律，通过液池的投射光强度 B_t 为

$$B_t = AB_0 e^{-abc} \quad (3-1)$$

式中， c 为溶液中荧光物质的浓度， b 为液池厚度， a 为吸光系数。

假设在离液池表面 x 处的一层很薄的液层 dx 的吸光为 dB ，见图3-2。

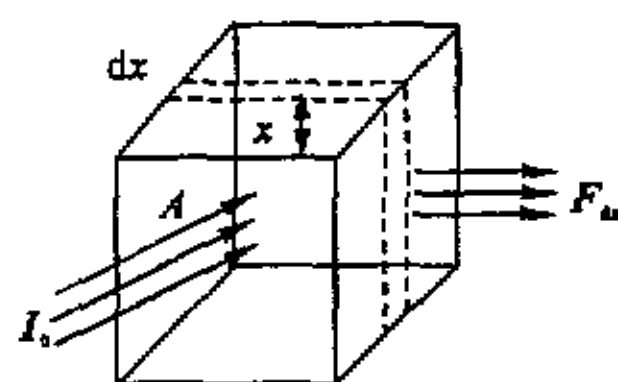


图3-2 溶液荧光强度计算示意图

所发射的荧光强度为 dI ，则，

$$dI = KdB \quad (3-2)$$

在进入该薄层之前的入射光强度为 $AI_0 e^{-acx}$ ，而通过该薄层之后的投射光强度为 $AI_0 e^{-ac(x+dx)}$ 。则被 dx 薄层所吸收的能量为：

$$dB = AB_0 [e^{-acx} - e^{-ac(x+dx)}] \quad (3-3)$$

因为 dx ， ac 数值很小，所以

$$dB = AB_0 ace^{-acx} \cdot dx \quad (3-4)$$

将式(3-4)代入式(3-2)：

$$dI = KAB_0 ace^{-acx} dx \quad (3-5)$$

求液池中溶液的荧光强度时，应对整个液池长度 b 进行积分，即

$$\begin{aligned} I &= KAB_0 ac \int_0^b e^{-acx} dx \\ &= KAB_0 (1 - e^{-abc}) \\ &= KAB_0 \left[abc - \frac{(abc)^2}{2!} + \frac{(abc)^3}{3!} - \dots \right] \end{aligned}$$

$$= AKB_0abc\left[1 - \frac{abc}{2} + \frac{(abc)^2}{6} - \dots\right] \quad (3-6)$$

如 $abc \ll 0.05$, 则上式可简化为

$$I = KB_0abc \quad (3-7)$$

在荧光分析中, 通常采用 \log_{10} , 而不是采用 \log_e , 采用摩尔吸光系数 ϵ , 而不是采用吸光系数 a , 采用荧光量子产率 Y_F , 而不是采用荧光比率 K , 因此, 上式可改写为:

$$I = 2.3Y_F B_0 \epsilon bc \quad (3-8)$$

由式(3-8)可以知道, 对于某种荧光物质的稀溶液, 在一定频率和一定强度的激发光照射下, 如光被吸收的分数不大, 且溶液的浓度很小时, 则溶液所产生的荧光强度与溶液中该荧光物质的浓度成正比。但是, 如果 $\epsilon bc \geq 0.05$, 则荧光强度和溶液的浓度不成线性关系。

在荧光分析中, 是直接测量所产生的荧光强度, 在很低的基底(空白值)上检测信号的微弱变化, 只要能够提高荧光计检测系统的灵敏度, 即可提高荧光分析的灵敏度。另外, 增大入射光的强度, 可以增大荧光的强度, 从而也可以提高荧光分析的灵敏度。

3.1.4 荧光熄灭原理

在前面主要是对荧光加强的作用的叙述, 在荧光分析中, 还经常用到荧光熄灭作用。

荧光熄灭又称荧光淬灭。荧光淬灭指的是荧光物质分子与溶剂分子或溶质分子之间所发生的导致荧光强度下降的物理或化学作用过程。与荧光物质分子发生相互作用而引起荧光强度下降的物质, 称为荧光淬灭剂。荧光淬灭过程实际上是淬灭剂与荧光物质的发光过程相互竞争从而缩短发光分子激发态寿命的过程。荧光淬灭过程可以分为动态淬灭和静态淬灭两种, 动态淬灭是淬灭剂和荧光物质的激发态分子之间所发生的相互作用过程, 如能量转移过程或电子转移过程。在某些情况下, 可能生成瞬时的激态复合物(exciplex), 而这些激态复合物可能不发射荧光。或者荧光的发射特性与原先的荧光物质不同, 从而引起荧光淬灭现象, 动

态淬灭的效率受荧光物质激发态分子的寿命和淬灭剂浓度的影响；静态淬灭是淬灭剂与荧光物质分子在基态时发生配合反应，所产生的配合物通常是不发光的。即使配合物在激发态时可能离解而产生发光的型体，但激态复合物的离解作用可能较慢，以致激态复合物经由非辐射的途径衰变到基态的过程更为有效。结果，基态配合物的生成由于与未配合的荧光物质的基态分子竞争吸收激发光而降低了荧光物质的荧光强度。在大多数情况下，动态荧光淬灭可以用Stern-Volmer方程式来描述^{[113][37]}：

$$I_0/I = \tau_0/\tau = 1 + k_d \cdot [Q] = 1 + k_q \cdot \tau_0 \cdot [Q] \quad (3-9)$$

I_0 和 I ：分别为没有淬灭剂存在时和由淬灭剂存在时荧光物质的荧光强度；

k_d ：淬灭常数或Stern-Volmer 常数；

$[Q]$ ：淬灭剂的浓度；

k_q ：双分子淬灭常数；

τ_0 和 τ ：是在没有淬灭剂存在和由淬灭剂存在下荧光分子的平均寿命。

Stern-Volmer公式说明， I_0/I (或 τ_0/τ)与淬灭剂的浓度呈线性关系。

静态淬灭过程可以用与Stern-Volmer公式相似的公式来描述：

$$I_0/I = 1 + k_s \cdot [Q] \quad (3-10)$$

k_s ：淬灭常数，它和配合物的形成常数相似。

在静态淬灭中与动态淬灭相似， I_0/I 与淬灭剂的浓度也呈线性关系。此为利用荧光淬灭作用测定水体中重金属离子的理论基础。

因为荧光分子与淬灭剂分子的碰撞是在激发态下发生，激发态的寿命也会因此缩短，动态淬灭是由扩散作用控制的，因此它也受溶剂的粘度和温度的影响，淬灭效率将随着温度的提高而提高。因为温度升高可能引起配合物的稳定度的下降，所以在温度高的情况下，将会减小静态淬灭的程度。

对于一种荧光淬灭现象是动态淬灭是还是静态淬灭，可以通过淬灭现象与荧光寿命、温度及粘度的关系来区分。对于本试验的目的是确定溶液中重金属离子的浓度，因此，可以利用重金属离子对某中荧光试剂的荧光的淬灭作用，建立重金

属离子浓度与荧光试剂荧光强度降低的关系式^[114-115]。在下面的试验中,铜离子的测定就是利用其对新试铜灵的荧光具有淬灭作用而进行的。

3.2 试验材料、药剂及设备

所有试剂都是分析纯,配制试剂所用的为Milli-Q-Plus 系统所制的高纯水(Millipore, Eschborn, Germany); 荧光试剂来自于以下公司:新试铜灵(Merk, Germany), BTC-5N、Newport GreenTM (Molecular Probes, Eugene, OR, USA), 二水变色酸二钠(Fluka, Germany); 所有重金属离子的标准溶液Ni(II), Zn(II), Cu(II) and Cd(II) (浓度1g/L) 均购自Merck; 所有的缓冲溶液(pH=5,6,7,8,) 从Fluka (Neu-Ulm, Germany)公司购买。所需的重金属离子浓度通过加入高纯水稀释原始标准的重金属离子的浓度来获得; 荧光剂的配制要加入缓冲液, pH 为多大最为理想可以通过试验来获得。

试验所用仪器为: 荧光分光光度计(Perkin-Elmer LS-50 Luminescence Spectrometer, England); 火焰原子吸收光谱仪(Perkin Elmer 4100, England); 石墨炉原子吸收光谱仪(Perkin Elmer 3300, England); X射线荧光光谱仪(Atomika Instruments EXTRA II a); 流动注射装置同第2章; pH计(pH 191, Germany)等。

在试验中除有特别注明,用荧光分光光度计进行测量时,其激发光谱一般采用 $\lambda_{ex}=337\text{nm}$,与氮气激光发射光谱一致,

3.3 金属荧光剂的筛选

目前,用于检测金属离子荧光剂的一个缺点就是选择性不好,因为相近性质的金属离子会彼此产生干扰。本文在前人工作的基础上,针对要检测的金属离子 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ni^{2+} 及 Be^{2+} ,选取了新试铜灵、BTC-5N、Newport GreenTM和二水变色酸二钠等几种荧光试剂进行了试验。

3.3.1 新试铜灵（新试铜灵）

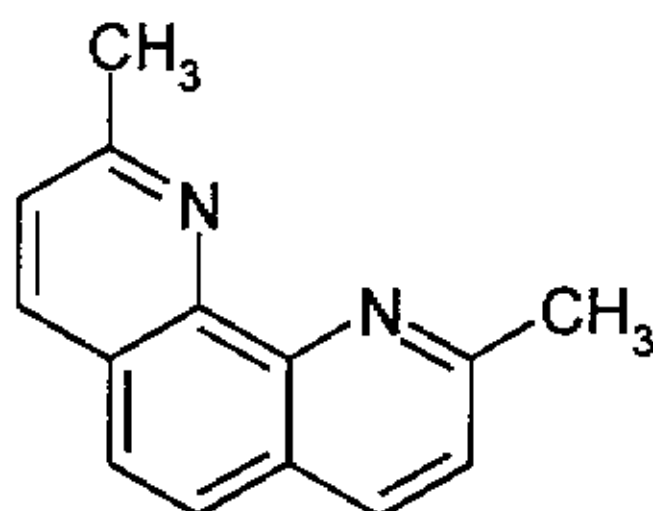


图3-3 新试铜灵分子结构图

新试铜灵 (neocuproine), 又称 (2,9Dimethyl-1,10-phenanthroline, 二甲基-1,10-菲咯啉), 分子式为 $C_{14}H_{12}N_2$, 分子量为208.27, 分子结构见图3-3, 为透明固体, 不易溶于水, 最大激发波长和最大发射波长分别为281nm和425nm, 见图3-4^[116]。

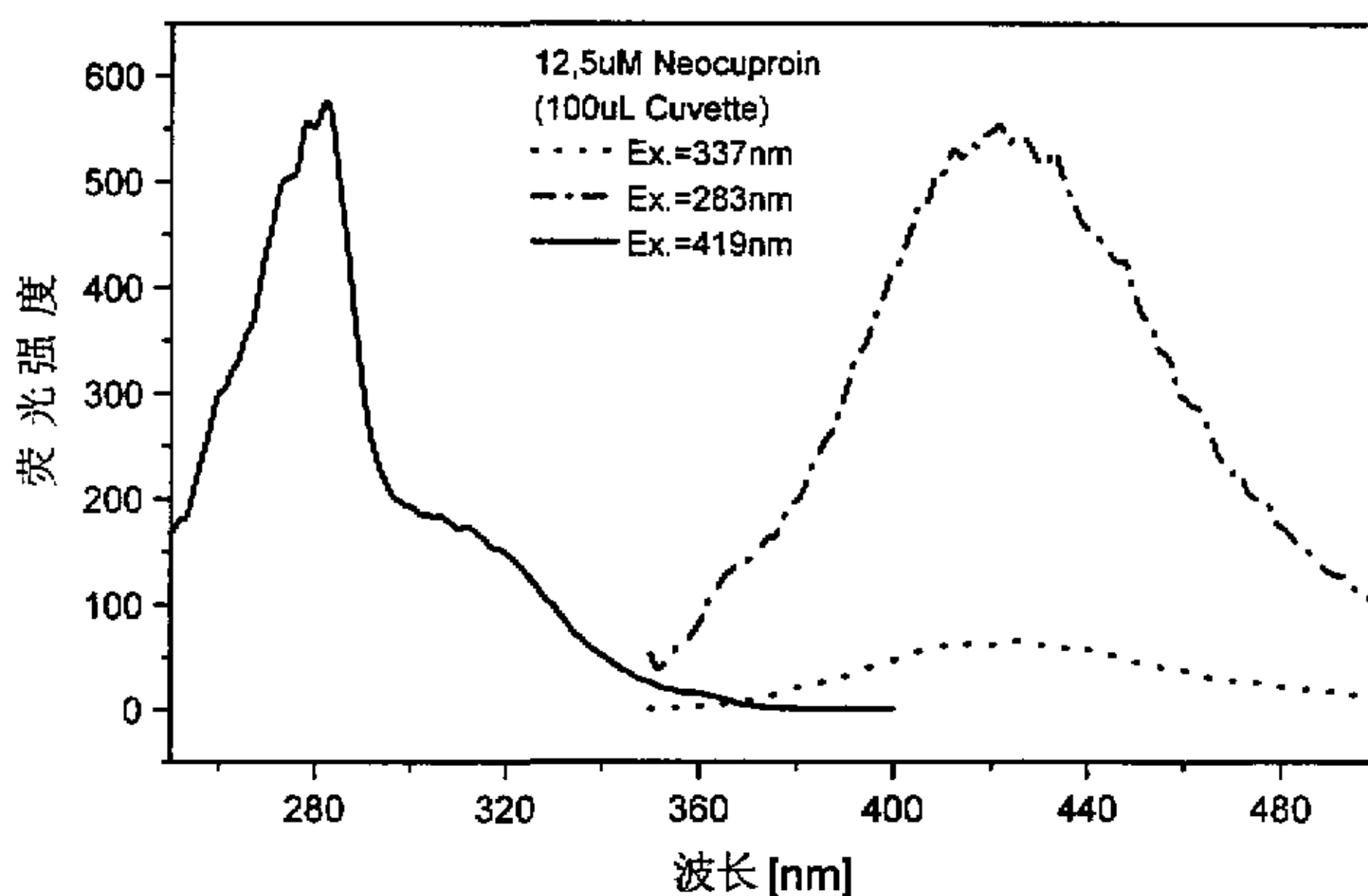


图3-4 新试铜灵 ($12.5 \mu\text{mol/L}$) 的最大激发波长和最大发射波长

在溶液中有铜离子存在的情况下会淬灭新试铜灵 的荧光^[116], 其它重金属离子如Hg、Cd、Pb和Zn等对neocuporine的荧光没有多大影响, 如图3-5所示, 但Ca、Mg对其荧光性有较大影响, 与铜离子相反, Ca、Mg离子增强新试铜灵的荧光。有关钙离子对铜离子影响的试验及分析结果见3.5.2。

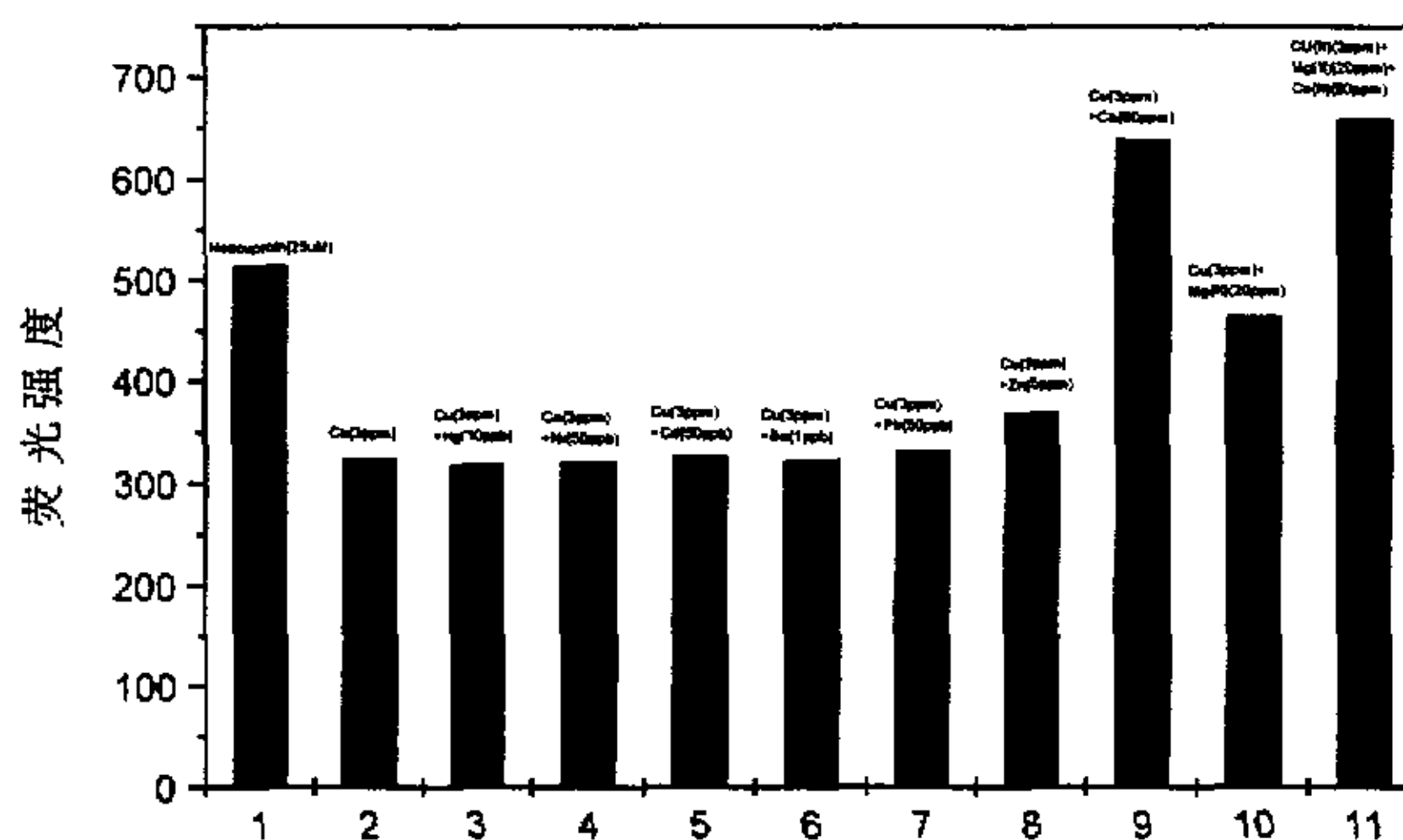


图3-5 其它金属离子对新试铜灵测定铜离子的影响

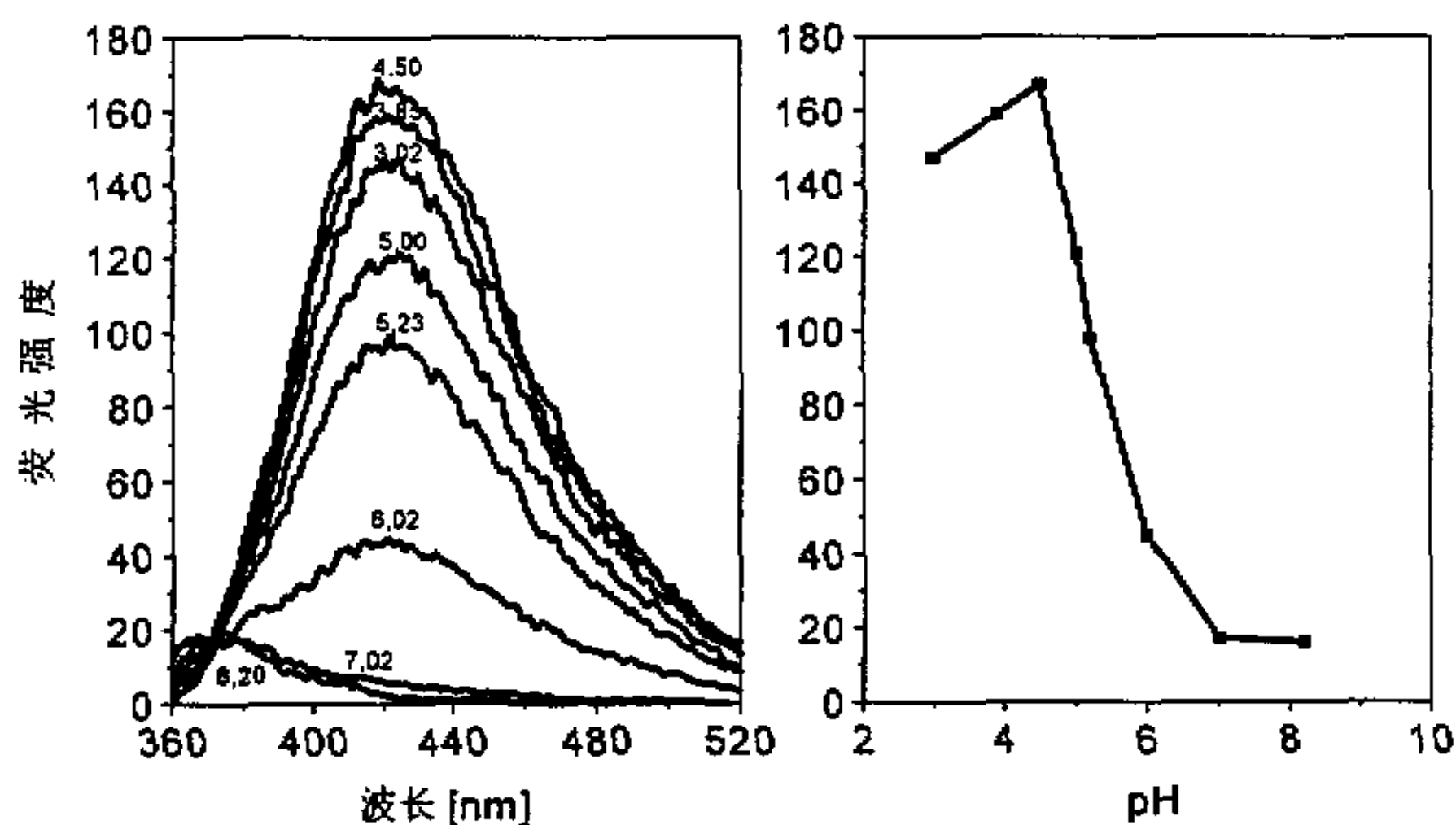


图3-6 pH对新试铜灵的影响

pH对新试铜灵的荧光特性有较大的影响,如图3-6所示,在酸性范围内其荧光强度比在碱性范围内要高的多,当pH>7以后,在激发波长为337nm时,其荧光强度小于20,这对于用荧光熄灭的方法测定铜离子已没有多大的意义。因此,在以后的试验中,用缓冲溶液稳定溶液的pH=5.00。

在温度为0-30° C范围内, 温度的变化对新试铜灵的影响不是很大, 如图3-7所示, 在温度分别为0, 10, 20° C时, 在激发强度为337nm时, 其荧光强度基本没有变化。这一特性特别有利于在野外温度变化范围很大的情况下的测定。

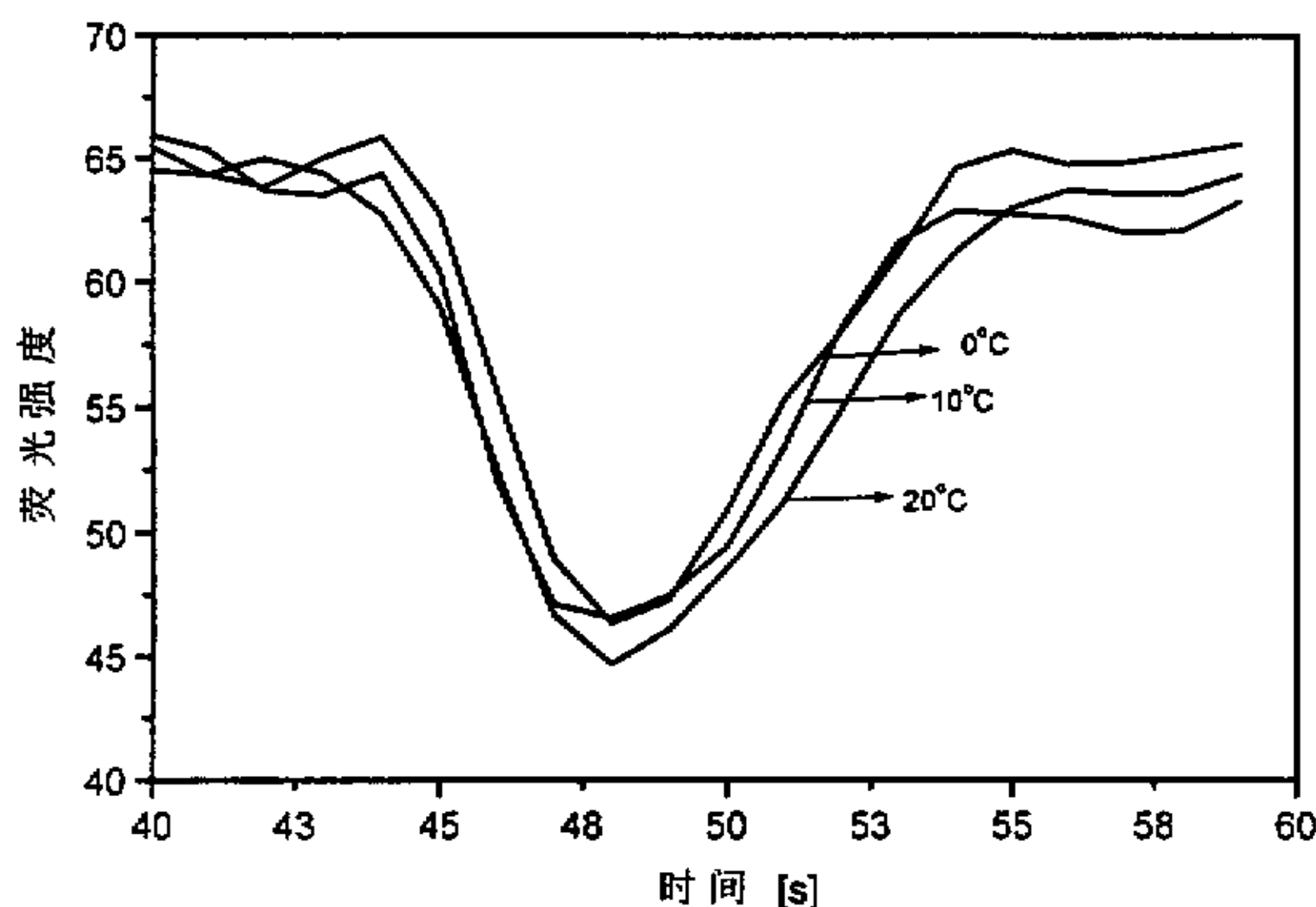


图3-7 温度对新试铜灵荧光特性的影响

3.3.2 BTC-5N

BTC-5N, (tetraotassium salt), 分子式: $C_{32}H_{22}K_4N_4O_{14}S$, 分子结构见图3-8^[117], 分子量: 875.00, 黄颜色固体, 易溶于水, 最大激发波长和最大激发波长分别在415nm和 519nm, 见图3-9。传统的重金属离子荧光试剂很容易受到 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的干扰, 但BTC-5N对较高浓度的 Ca^{2+} ($100 \mu M$) 和 Mg^{2+} (35mM)也几乎没有响应。当溶液中有重金属离子 Ba^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 、 La^{2+} 、 Pb^{2+} 或者 Zn^{2+} 存在的情况下, 在波长415nm处激发, 其荧光强度将增加, 但重金属离子 Al^{3+} 、 Bi^{3+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Mn^{2+} 对它的荧光强度的影响相对较弱^[118], 几种重金属离子对BTC-5N荧光特性的影响见图3-10。从图中可以看出: BTC-5N是 Cd^{2+} 和 Zn^{2+} 及 Hg^{2+} 良好的荧光试剂。

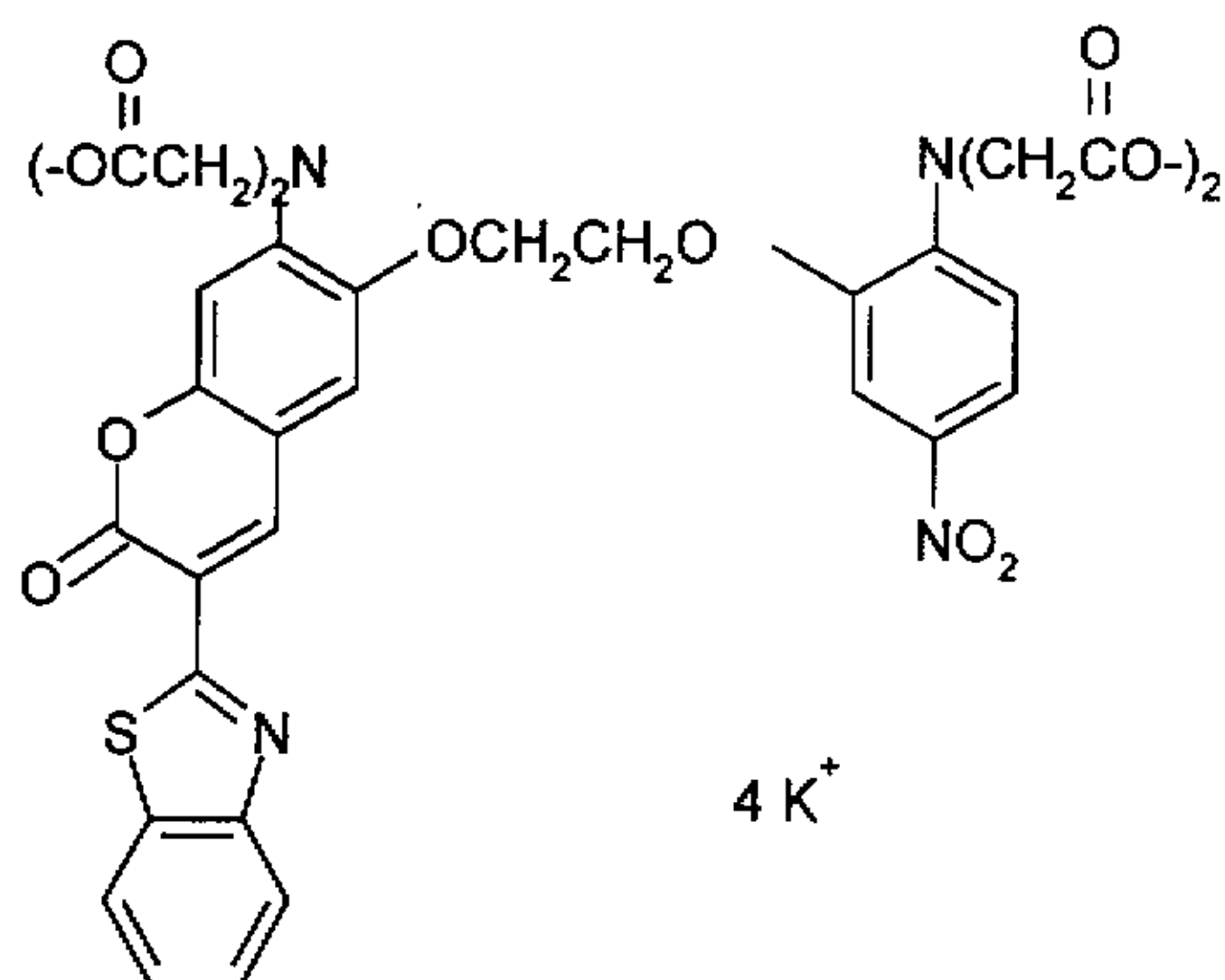


图3-8 BTC-5N分子结构图

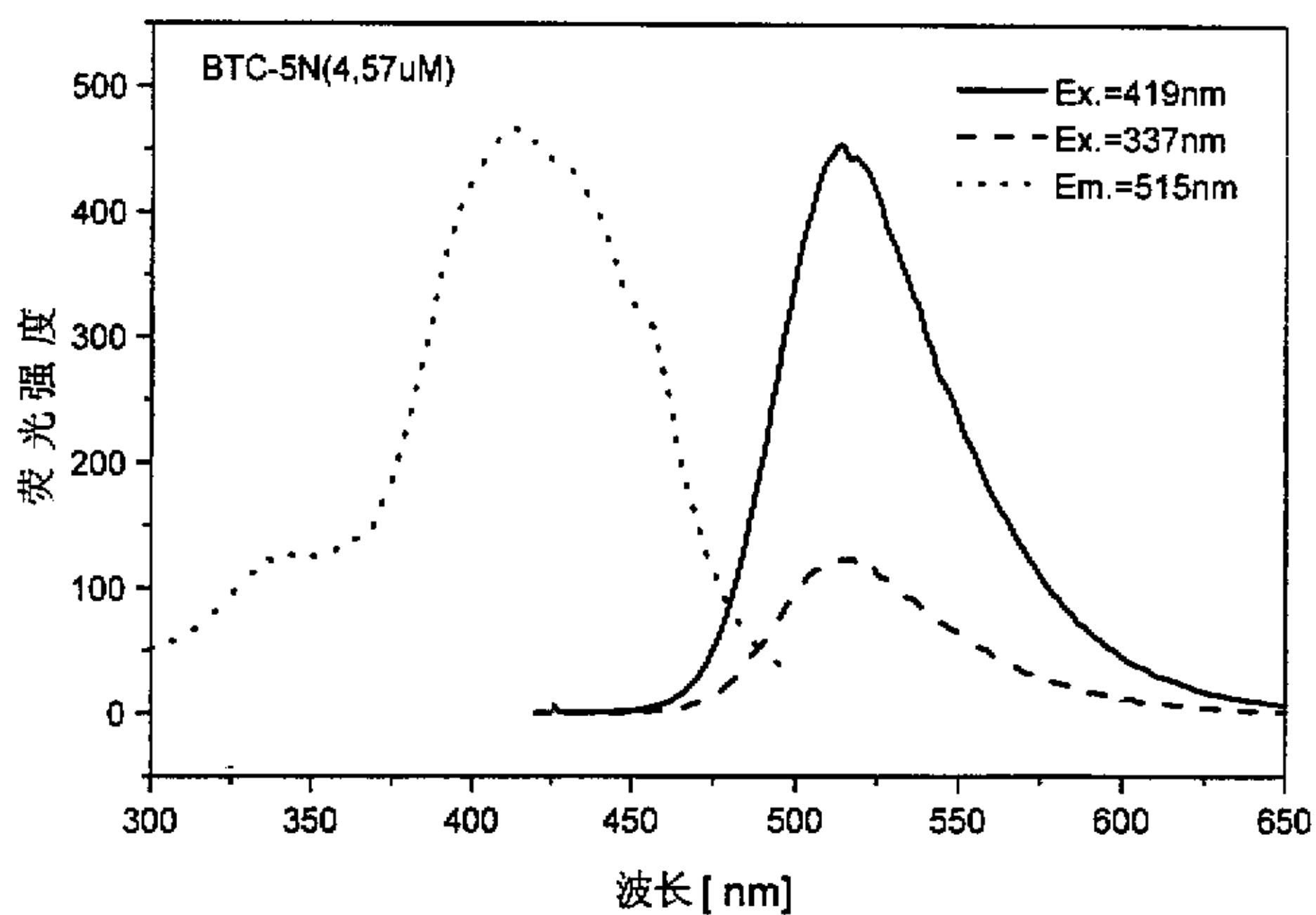


图3-9 BTC-5N (4.57 μM) 的最大激发波长和发射波长

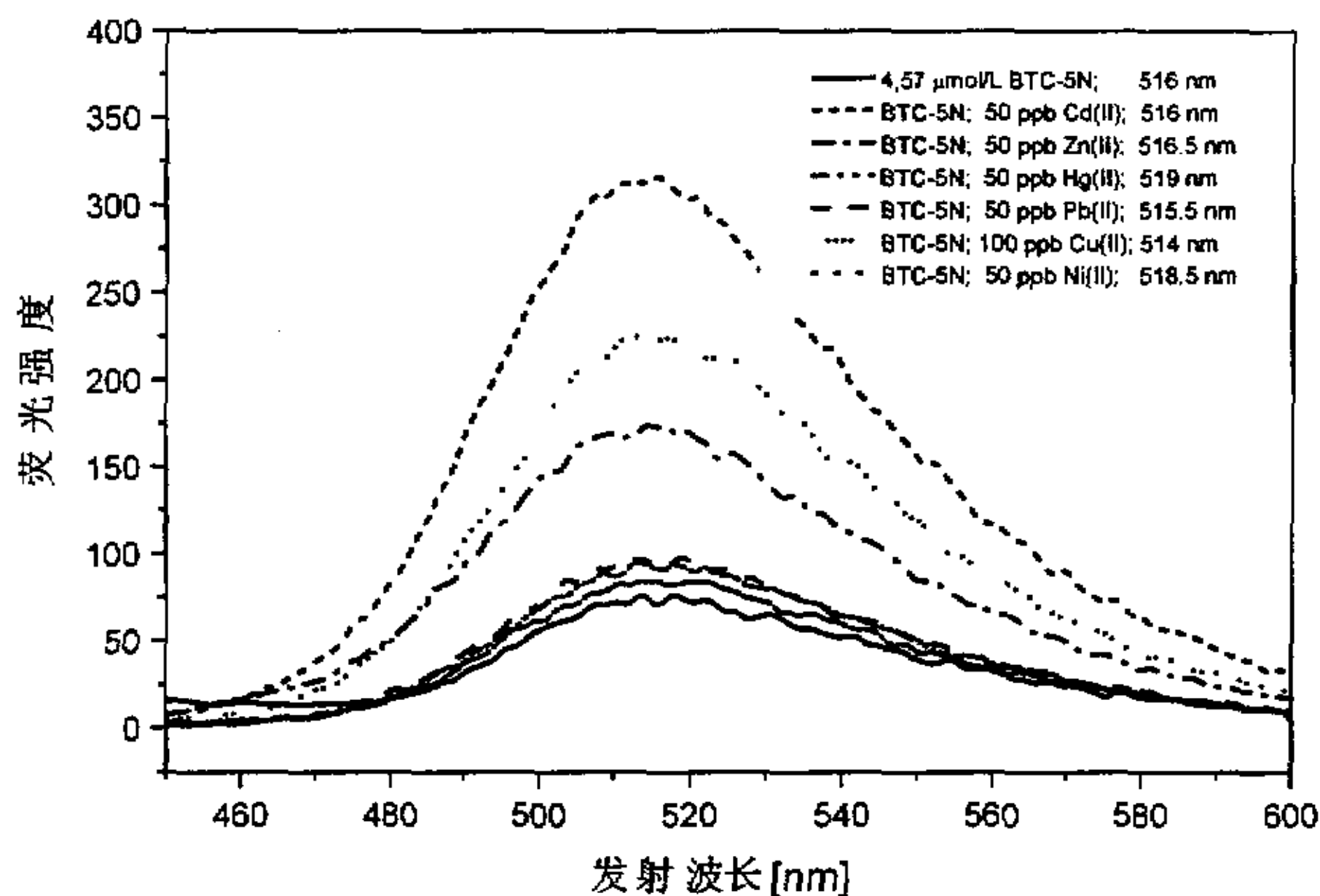
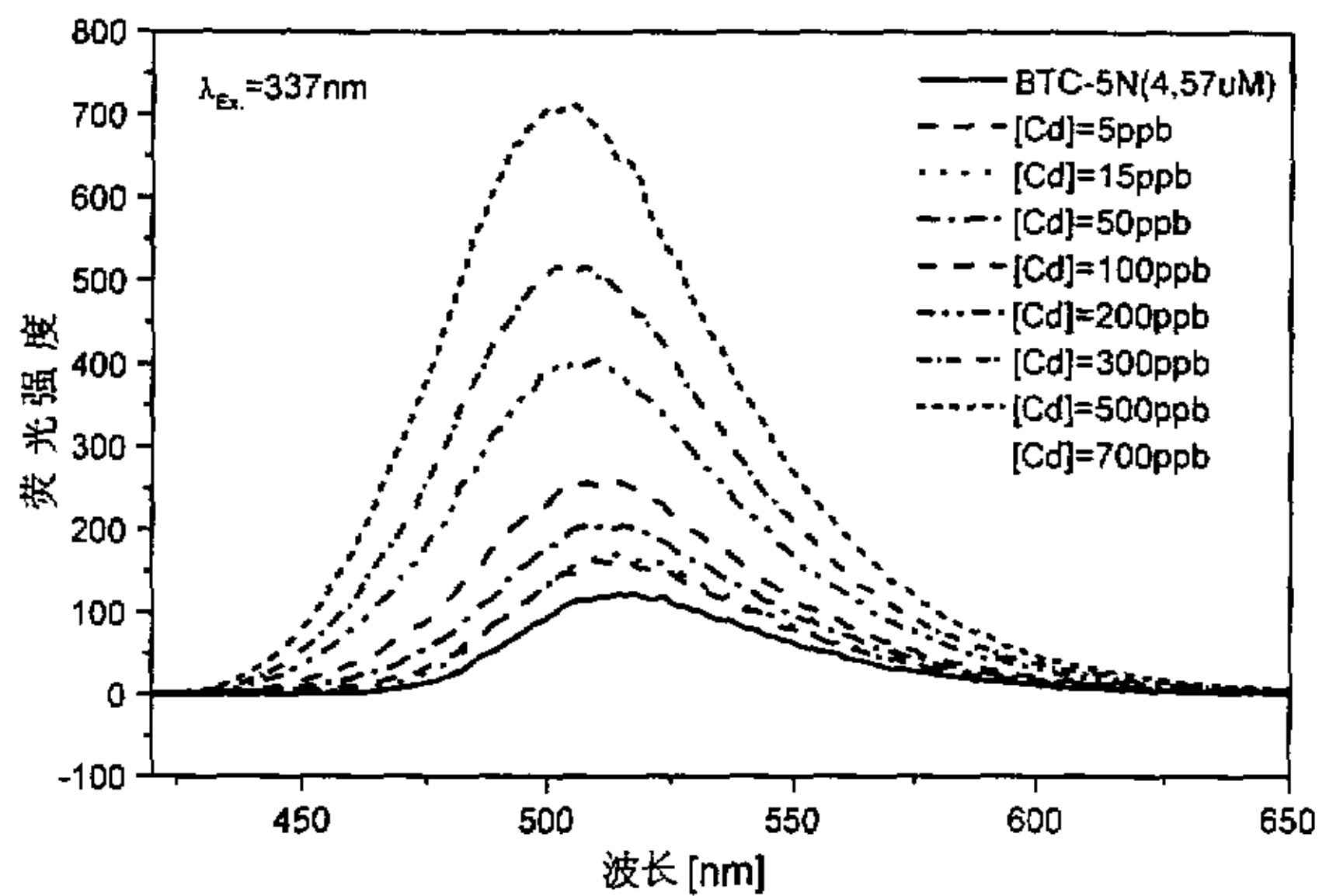
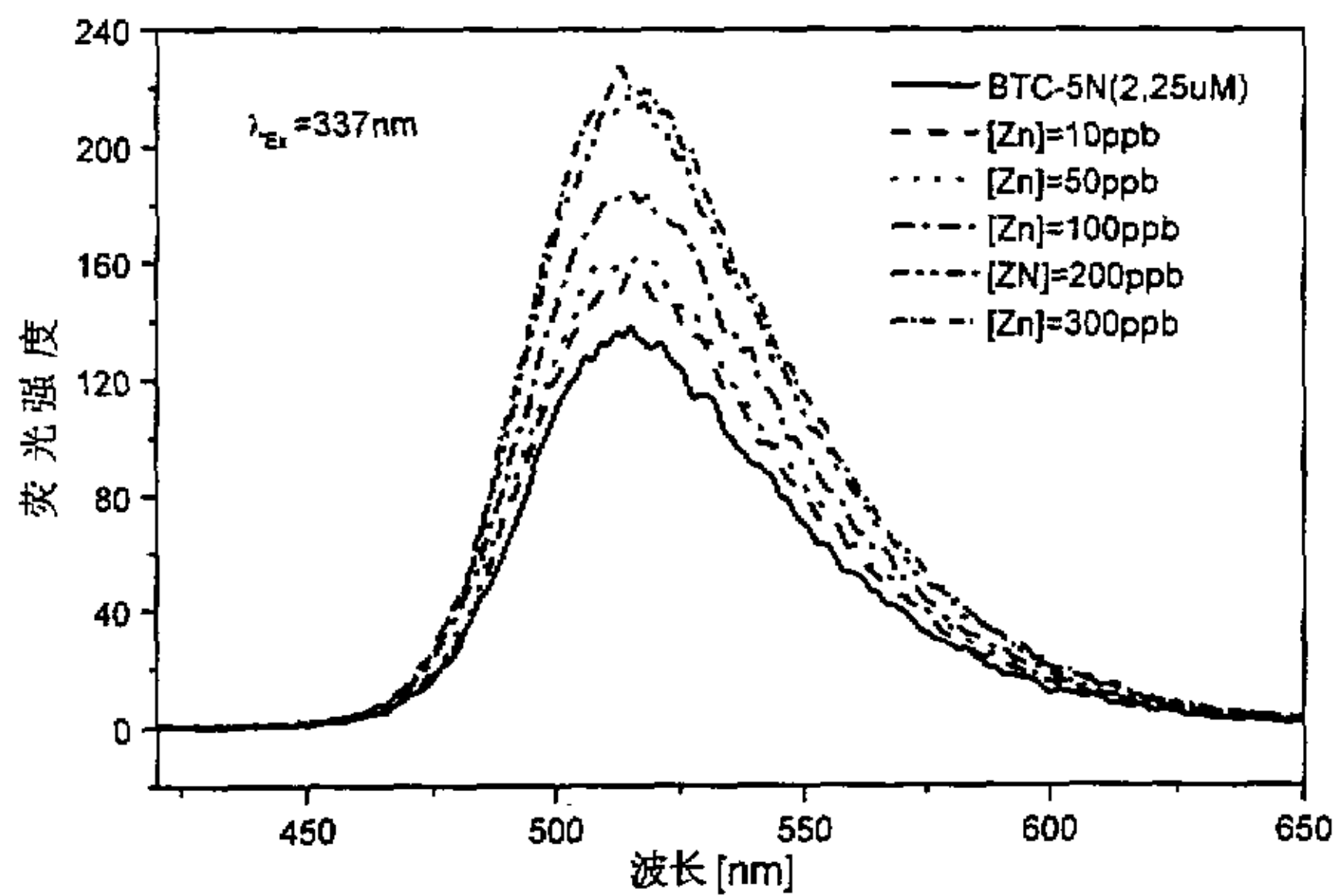


图3-10 在不同重金属离子存在下BTC-5N的荧光加强情况

图3-10是在不同的重金属离子与BTC-5N反应时荧光加强的情况，从图中可以看出在同样浓度（50ppb）下， Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Hg^{2+} 使BTC-5N荧光加强的程度要高，而 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} （100ppb）、 Ni^{2+} 等离子对BTC-5N荧光影响程度较小。

BTC-5N是 Cd^{2+} 和 Zn^{2+} 良好的荧光试剂。在不同浓度的 Cd^{2+} 或 Zn^{2+} 存在下BTC-5N荧光强度增长情况分别见图3-11和3-12，从图中看出，加入相同浓度的 Cd^{2+} 或 Zn^{2+} （50 ppb），在BTC-5N浓度相同的情况下，其荧光增加的程度 Cd^{2+} 比 Zn^{2+} 要高出几乎100个相对荧光强度单位。BTC-5N是 Cd^{2+} 离子良好的荧光试剂，但是其价格比较昂贵，1mg的BTC-5N价值250DM左右，根据有关文献^[119-120]，当溶液pH为8时用来作为金属离子的荧光试剂较为合适。

图3-11 不同浓度 Cd^{2+} 存在下BTC-5N的发射波长图3-12 不同浓度 Zn^{2+} 存在下 BTC-5N的发射 波长

3.3.3 Newport GreenTM

Newport GreenTM, (dipotassium salt), 分子式: $C_{39}H_{24}Cl_2K_2N_4O_6$, 分子量: 793.74^[117], 分子结构见图3-13。最大激发波长和最大发射波长分别为502nm和529nm (见图3-14)。

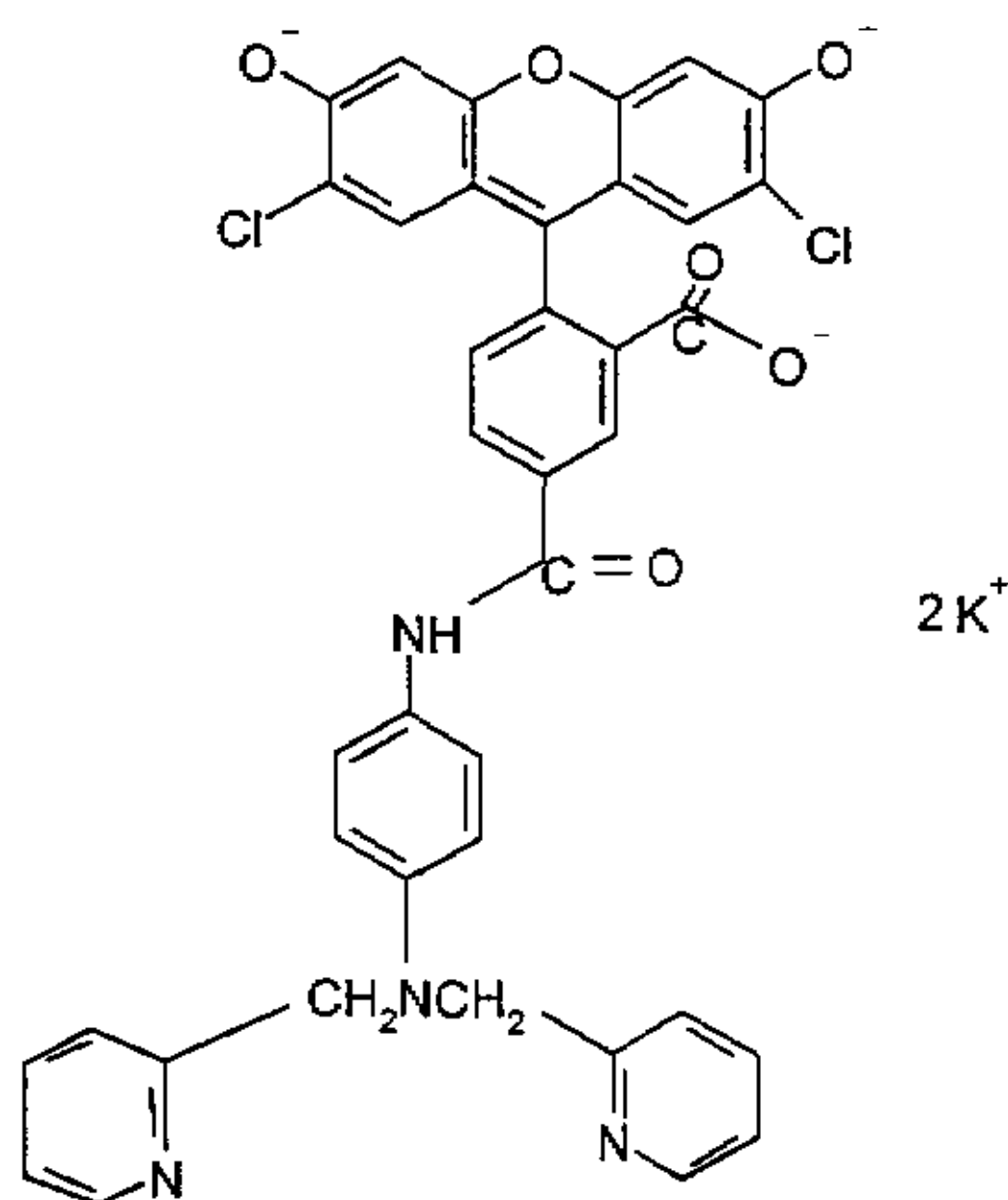


图3-13 Newport Green 分子结构图

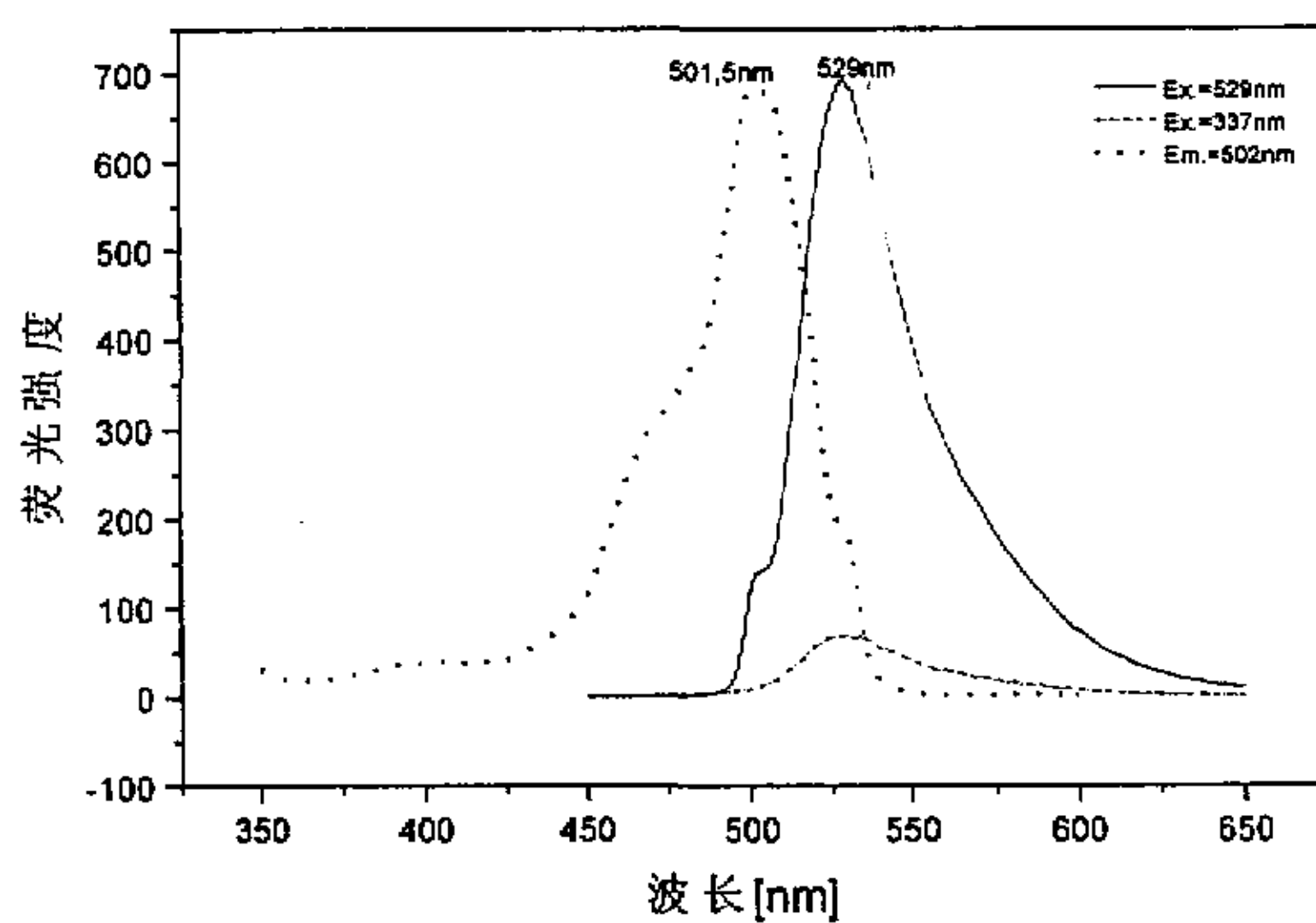


图3-14 Newport GreenTM 的最大激发波长和最大发射波长示意图

几种金属离子对New port Green荧光的影响如图3-15所示:

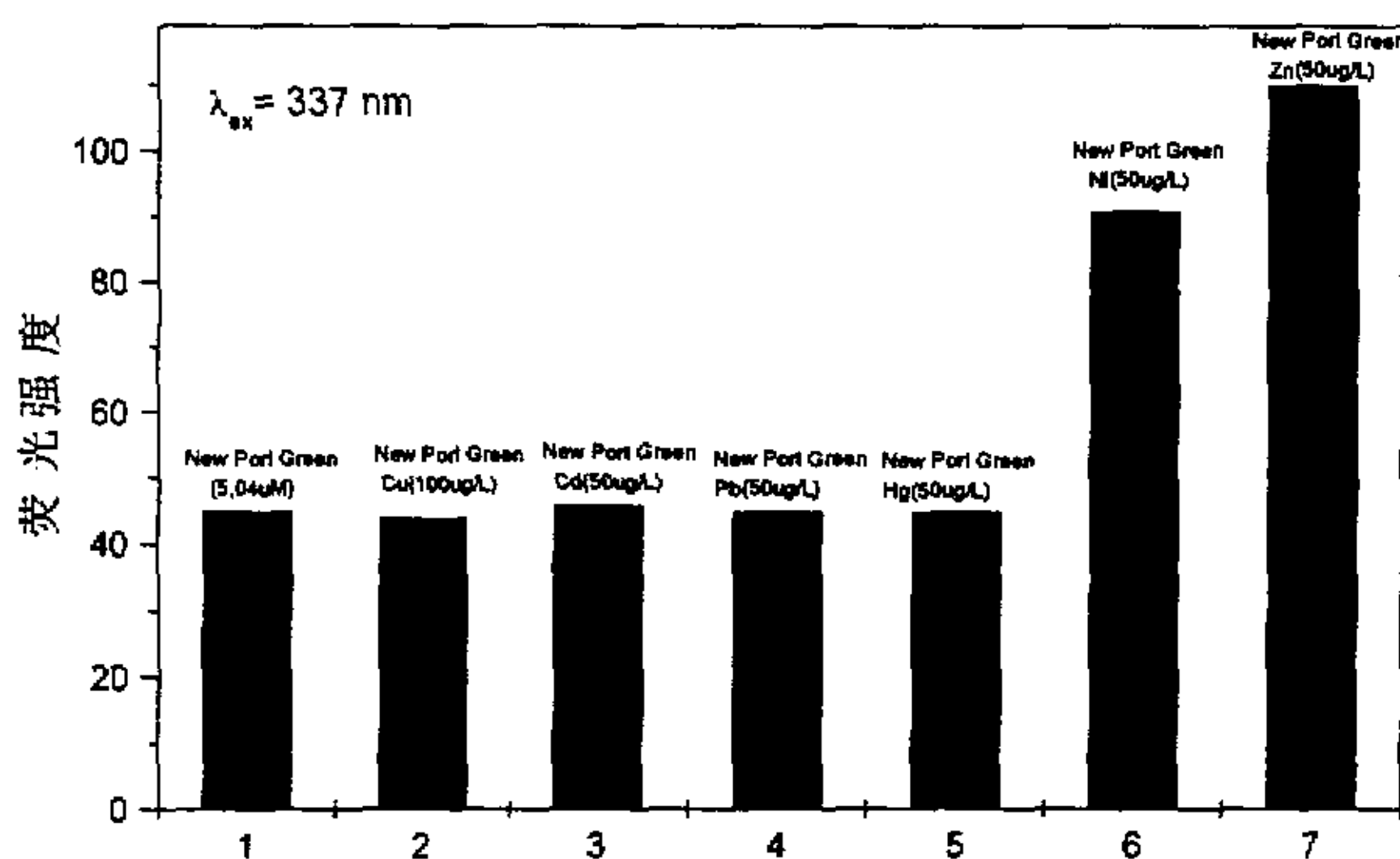


图3-15 几种金属离子对Newport GreenTM荧光的影响

从图中可以看出,在给定的浓度范围内 Cd^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} 对Newport GreenTM的荧光几乎没有影响,但 Ni^{2+} , Zn^{2+} 离子使Newport GreenTM的荧光加强。作为荧光试剂测定重金属离子的合适的pH范围为8^[119-120]。

3.3.4 二水变色酸二钠

二水变色酸二钠,分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,分子量为400.3,分子结构如图3-16所示。其最大激发波长及最大发射波长见图3-17 (pH=8)^[121]。

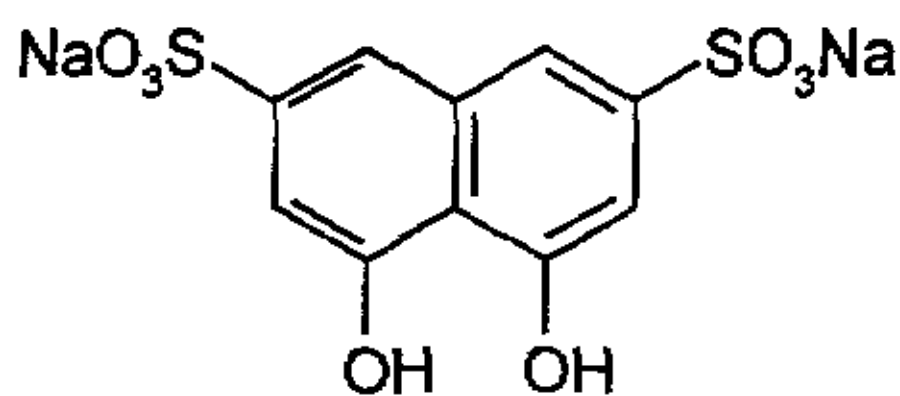


图3-16 二水变色酸二钠分子结构图

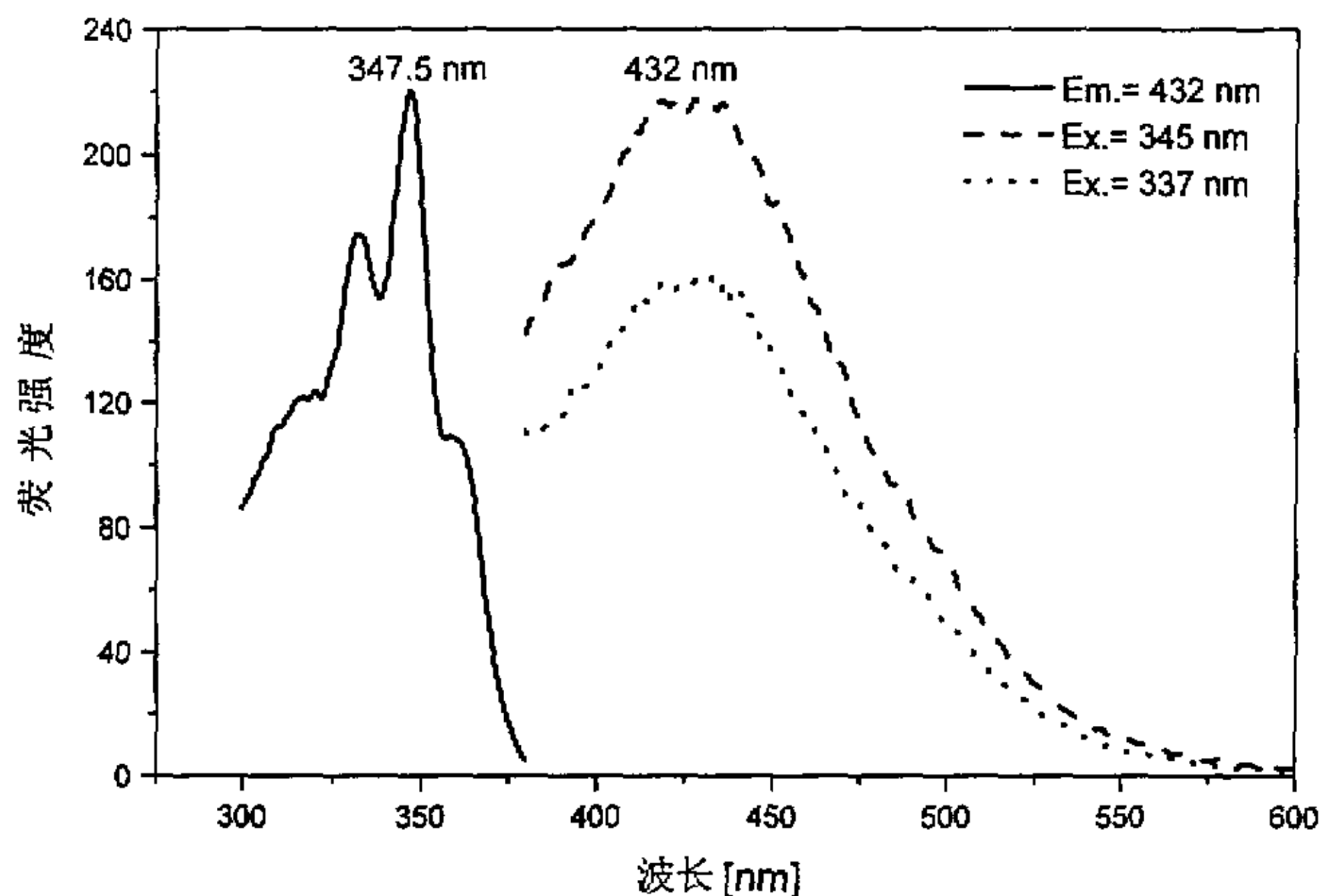


图3-17 二水变色酸二钠激发波长和发射波长示意图

二水变色酸二钠是一种较为廉价的荧光试剂 (25DM/100g)，但它的荧光特性受pH的影响很大，如图3-18所示，在pH<7时，其荧光较弱，pH=8 时，其荧光最强，随着pH的增大，其荧光强度又随之下降，因此，在利用二水变色酸二钠作为荧光试剂时，其溶液的pH应保持恒定，且同一次实验，应当用同一二水变色酸二钠溶液，并且应尽可能在短时间内完成，因为随着时间的增加，二水变色酸二钠的荧光特性也随之减弱。

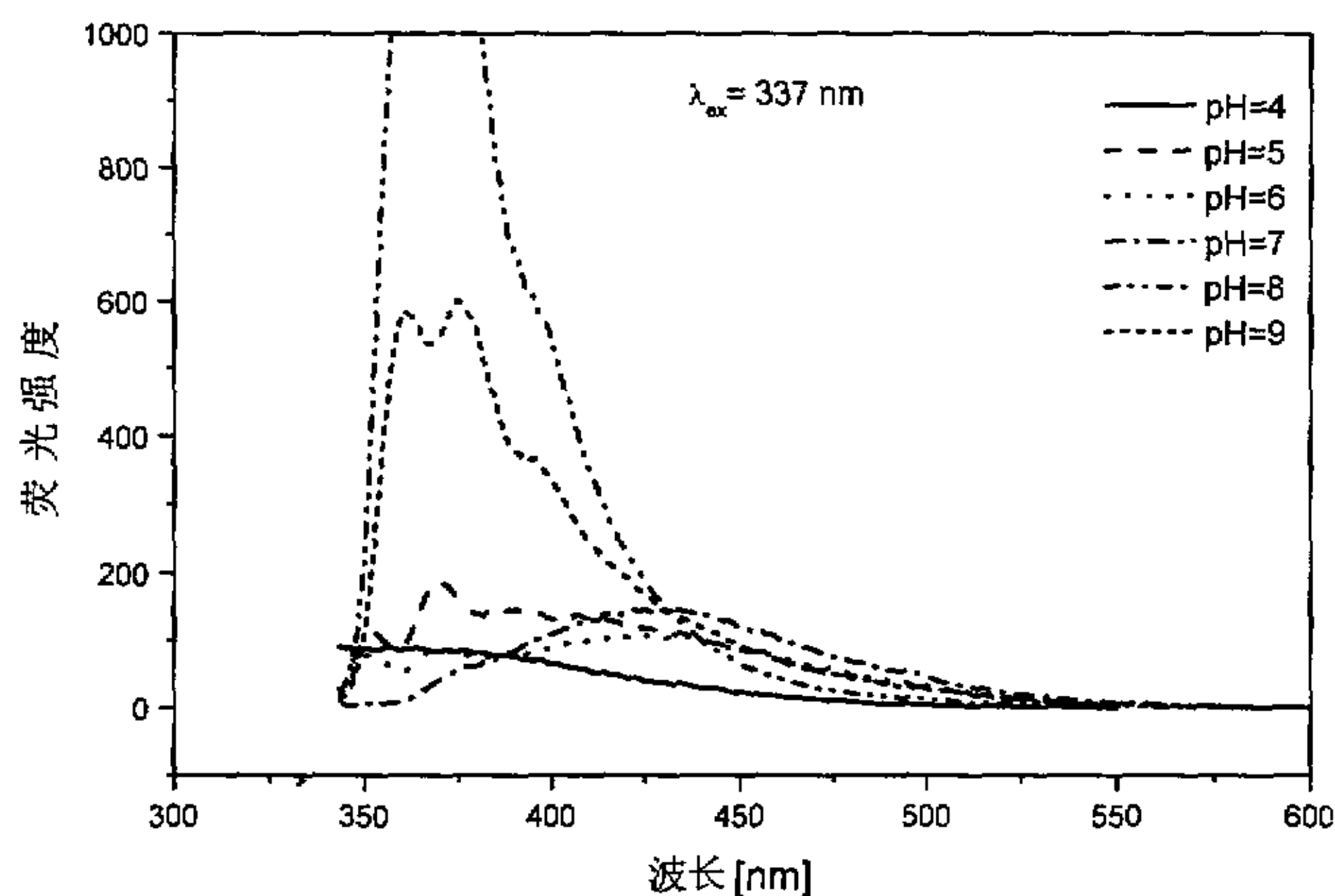


图3-18 pH 对二水变色酸二钠荧光特性的影响

3.4 单一重金属离子测定的试验研究

根据3.3 所作的试验结果, 选取了 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Ni^{2+} 及 Be^{2+} 等几种典型的重金属离子进行进一步试验。表3-1是这几种重金属离子与采用的荧光试剂反应的有关特性。

表3-1 几种重金属离子与荧光试剂反应的特性

分析离子	荧光试剂	最大激发波长 [nm]	荧光变化特性	反应动力学特性
Cu^{2+}	新试铜灵	281	熄灭	快
Zn^{2+}	BTC-5N	415	加强	快
Zn^{2+}	Newport Green	501.5	加强	快
Cd^{2+}	BTC-5N	415	加强	快
Ni^{2+}	Newport Green TM	501.5	加强	慢
Be^{2+}	二水变色酸二钠	347.5	加强	慢

3.4.1 Cu^{2+} 荧光测定研究

图3-19是用不同浓度的新试铜灵测定铜离子得到的标准曲线, 在新试铜灵浓度分别为 $12.5\ \mu\text{M}$ 、 $25\ \mu\text{M}$ 和 $49\ \mu\text{M}$ 时, 其与 Cu^{2+} 反应的等当量点分别以 \times 的形式标于图中。

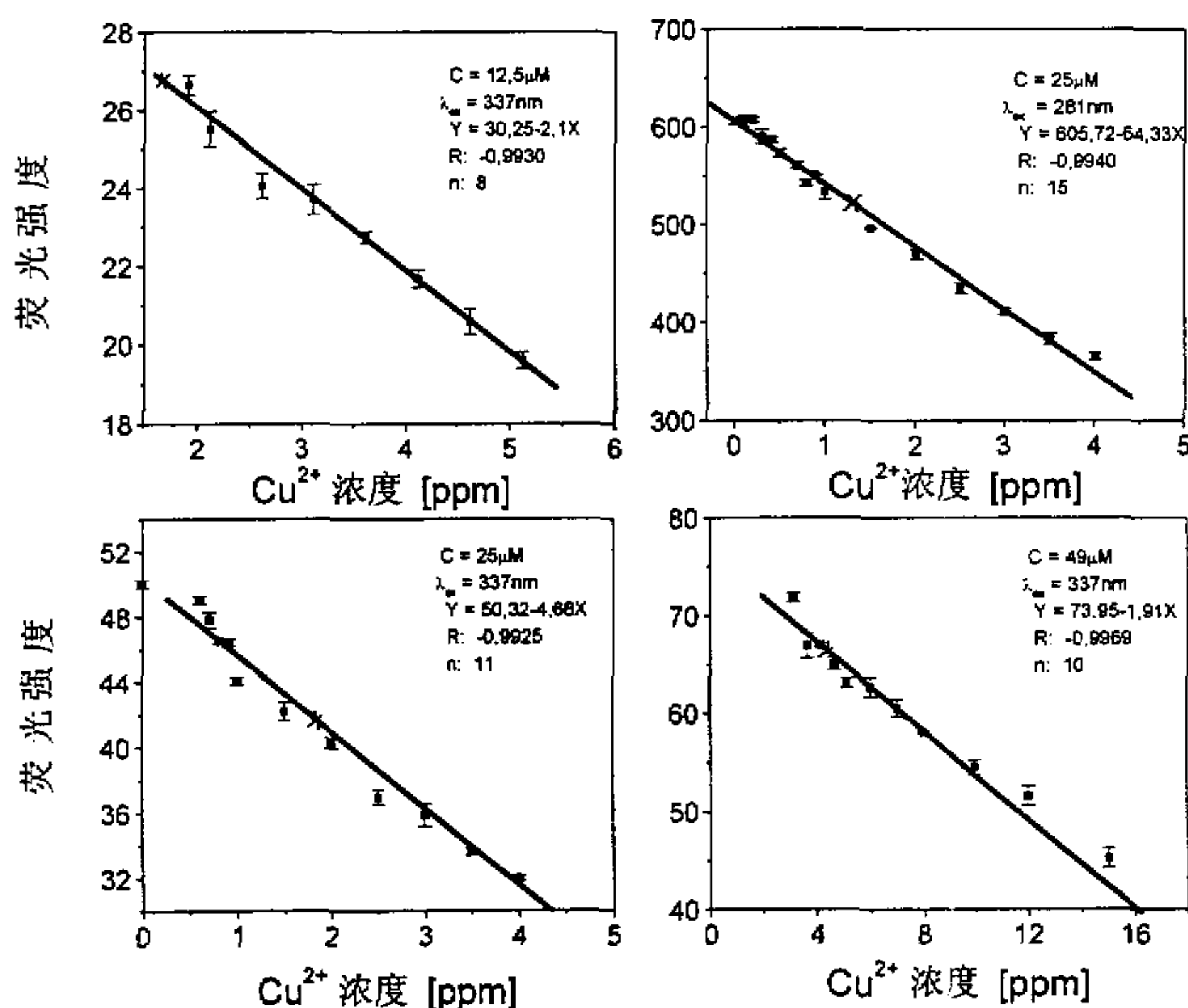


图3-19 不同浓度新试铜灵下测定铜离子的标准曲线

从图中可以看出: 在三种不同浓度下, 可以检测 Cu^{2+} 线性范围远远超过新试铜灵的等当量点, 也就是说当 Cu^{2+} 的浓度超过新试铜灵的浓度后, 仍有一定的线性范围, 这是用一般的荧光检测方法所不能比的。在一般的荧光检测方法中, 荧光剂的用量要超过所检测的 Cu^{2+} 的用量, 且线性范围要比采用流动注射方法窄。具体比较结果可见表3-2。其原因为在流动注射分析方法中, 其反应并不需要达到稳定平衡的状态, 每一次分析试剂的消耗量要比一般荧光分析方法要少, 这也是采用流动注射方法的优点之一。

为了确定用流动注射方法与荧光分析连用测定重金属离子的可靠性,以含 Cu^{2+} 浓度为 3mg/L 溶液用流动注射方法和一般的荧光测定方法分别测定十次,测定结果用数理统计方法的 t 检验和 F 检验进行对比分析^[122]。

表3-2 统计分析数据

	一般荧光测定方法	流动注射方法	
	$\lambda_{\text{ex}}=337\text{nm}$	$\lambda_{\text{ex}}=337\text{nm}$	$\lambda_{\text{ex}}=281\text{nm}$
真实浓度 $[\text{mg/L}]$	3		
标准曲线	$I=382.5-13.12c$	$I=46.67-3.49c$	$I=605.6-64.3c$
测定次数	10		
计算浓度	2.85. 2.77. 2.93. 3.22. 3.16. 2.99. 3.06. 2.79. 3.12. 3.10	3.08. 3.00. 2.92. 3.09. 3.27. 3.02. 3.09. 3.20. 2.90. 3.16	2.97. 3.09. 3.03. 3.05. 3.00. 3.08. 3.06. 3.08. 3.04. 2.98
平均浓度	2.99	3.16	3.04
标准偏差	0.1586	0.1177	0.0426

首先对两种方法的方差进行 F 检验:

一般荧光检测方法的方差为 s^2 , 用流动注射方法时: $\lambda_{\text{ex}}=337\text{nm}$ 时方差为 s_1^2 , $\lambda_{\text{ex}}=281\text{nm}$ 时方差为 s_2^2 。

$$\lambda_{\text{ex}}=337\text{nm} \text{ 时, } F_1 = s^2 / s_1^2 = 0.1586 / 0.1177 = 1.35 \quad (3-11)$$

$$\lambda_{\text{ex}}=281\text{nm} \text{ 时, } F_2 = s^2 / s_2^2 = 0.1586 / 0.0426 = 3.72 \quad (3-12)$$

$\alpha=0.05$, 即在95%的置信限内, 查数理统计表: $F_{0.05}(9,9)=5.12$,

$$F_1 < F_{0.05}(9,9)=5.12, \quad F_2 < F_{0.05}(9,9)=5.12$$

$$\text{所以, } \sigma_1^2 = \sigma^2, \quad \sigma_2^2 = \sigma^2$$

其次对两种方法进行 t 检验: 一般荧光检测方法的均值 \bar{x} , $\lambda_{\text{ex}}=337\text{nm}$ 时均值为 x_1 , $\lambda_{\text{ex}}=281\text{nm}$ 时均值为 x_2 ,

$$t = \frac{x_i - \bar{x}}{s_i / \sqrt{n}} \quad (3-13)$$

由此计算出: $t_1=1.72$, $t_2=1.09$

同样在 $\alpha = 0.05$, 即在95%的置信限内, 查表: $t_{0.05}(18) = 2.78$

$$t_1 < t_{0.05}(18), t_2 < t_{0.05}(18)$$

$$\text{所以 } \mu_1 = \mu, \mu_2 = \mu$$

通过F检验和t检验知道, 两种方法的方差和均值均无显著性差异, 这说明用流动注射方法, 在激发波长分别为 $\lambda_{\text{ex}} = 337\text{nm}$, $\lambda_{\text{ex}} = 281\text{nm}$ 时用新试铜灵测定 Cu^{2+} 和用一般的荧光测定的方法没有显著差别, 测定结果是可靠的。

3.4.2 Cd^{2+} 的测定

从3.3.2可以知道, BTC-5N是 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 及 Hg^{2+} 良好的荧光试剂, 本文主要利用BTC-5N对 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 进行了试验。图3-20是用BTC-5N测定 Cd^{2+} 时的波形图及标准曲线。十次测定 $200 \mu\text{g/L}$ Cd^{2+} 离子的相对标准偏差为0.5%。说明用该流动注射系统的测定的重现性较好。图3-21是用加入法在海水样中加入 Cd^{2+} 的峰形。图3-20是在自来水、纯水、不同的海水样中加入 Cd^{2+} 后标准曲线。除纯水外, 在其它的水样中都存在对BTC-5N的荧光特性有干扰的物质, 如 Ca^{2+} , Mg^{2+} 等金属离子, 及其它一些有机物质。这些物质可以是使BTC-5N的荧光加强(自来水中), 也可以是使BTC-5N的荧光熄灭(海水中)。但在上述几种水样中, 用BTC-5N测定 Cd^{2+} 时其相关系数均大于0.99, 都有良好的线性关系。

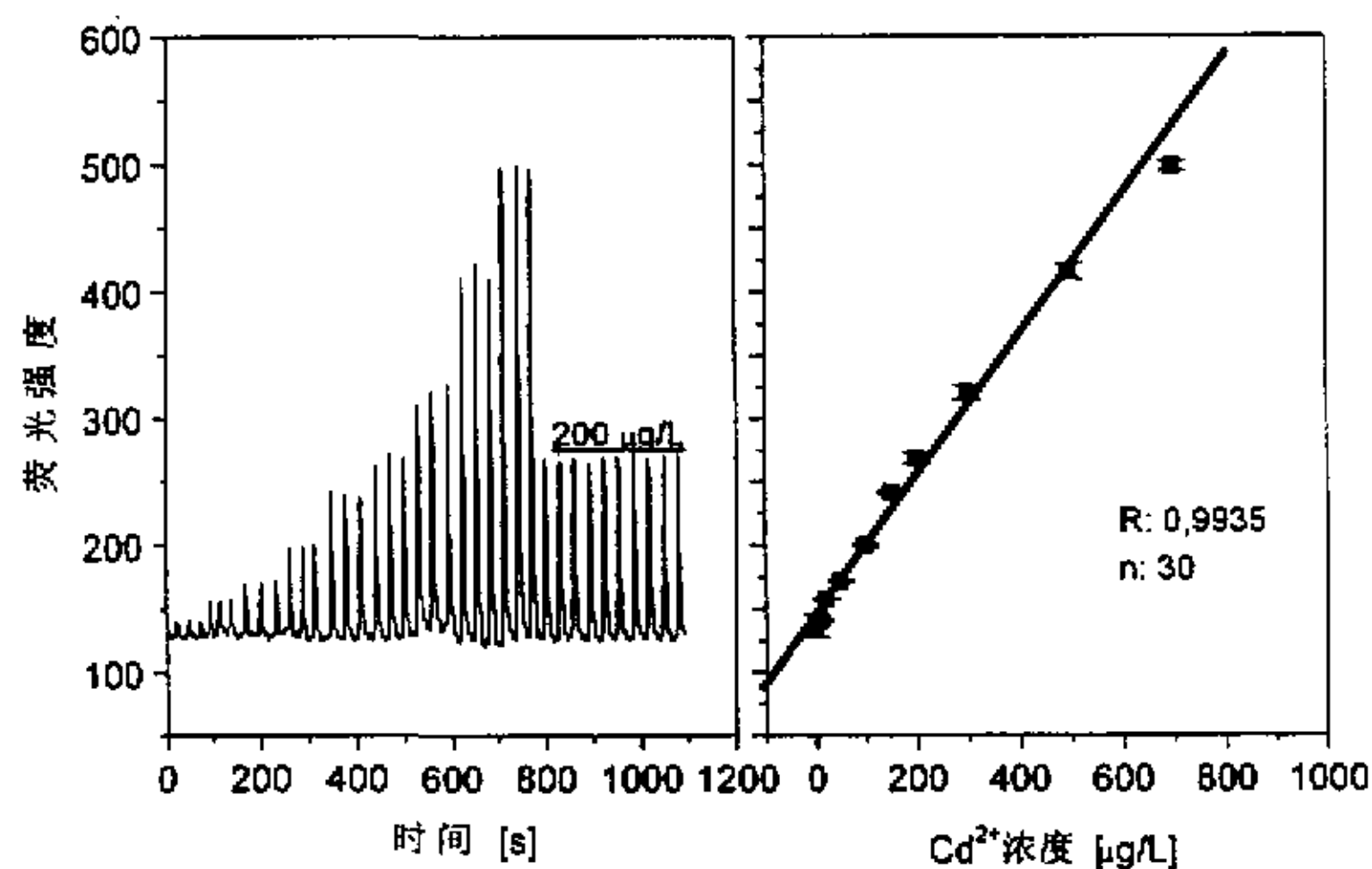
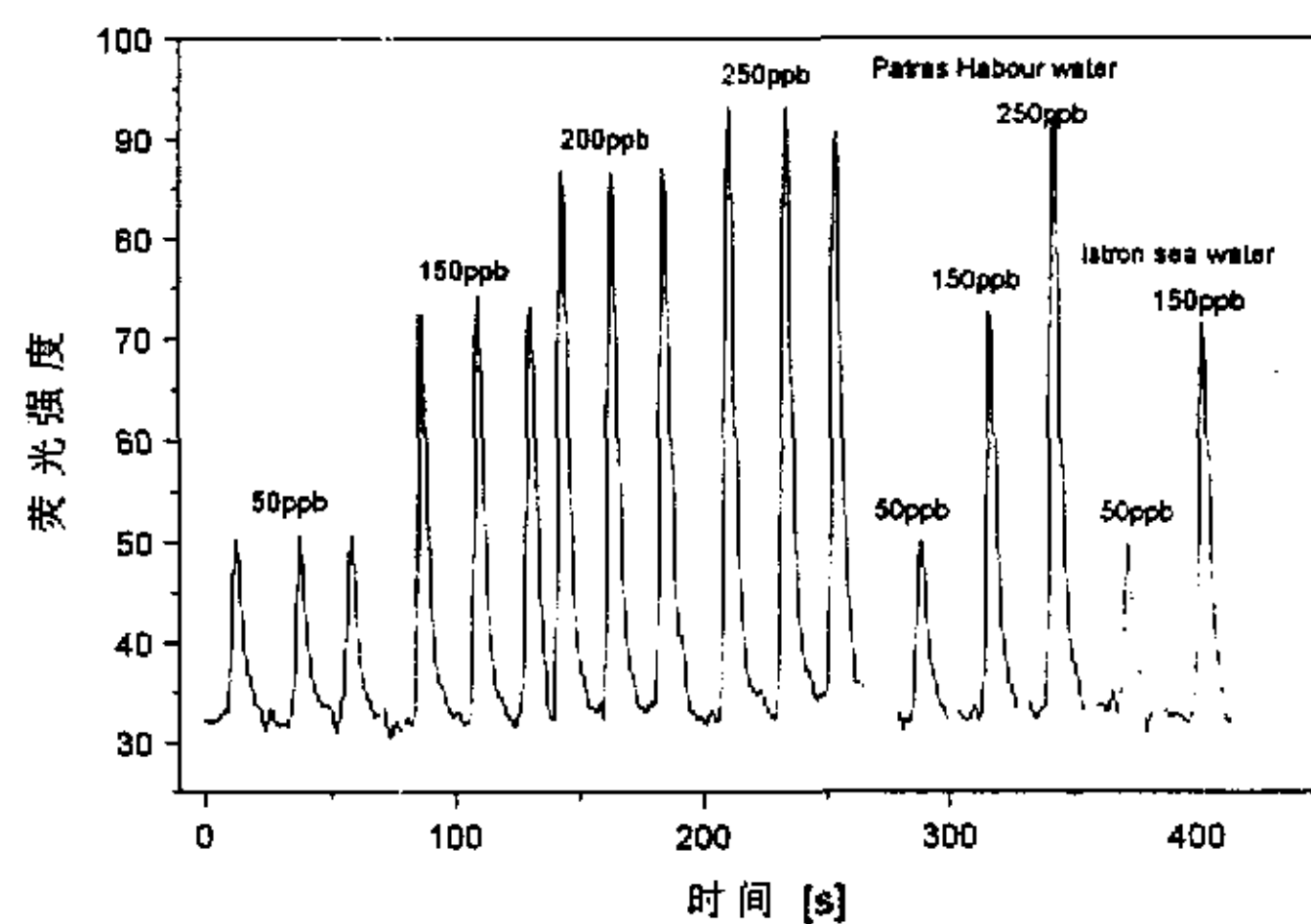
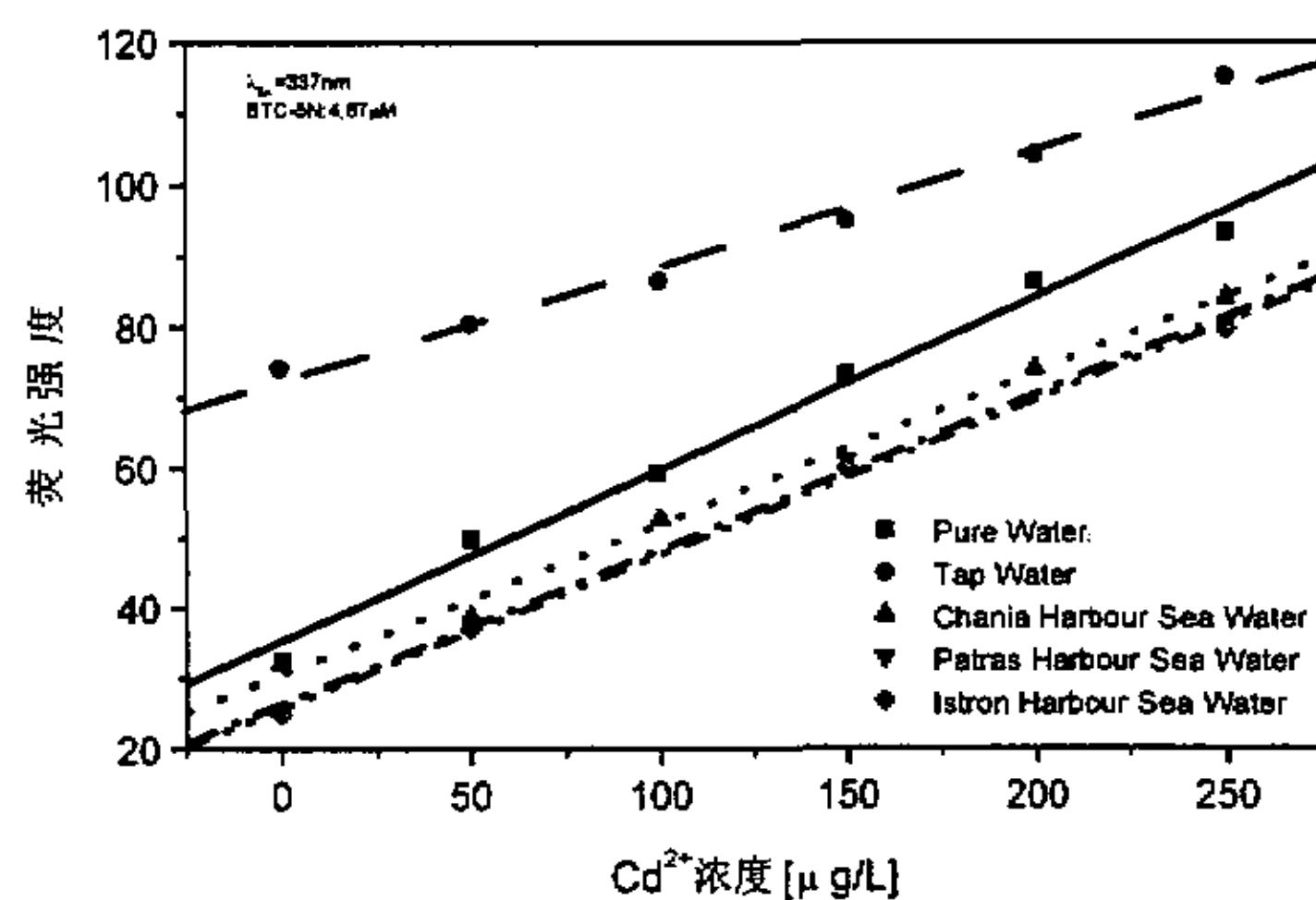


图3-20 流动注射波形图及标准曲线

3-21 在海水中加入Cd²⁺后的峰形

3-22 在不同水样中的标准曲线

3.4.3 Ni^{2+} 离子的非稳态测定研究

由表3-1可知, Ni^{2+} 与Newport GreenTM反应的速度较慢, 因此测定时不适宜用上述流动注射方法^[123], 因为如采用与上述流动注射系统相同的参数, 从注射点到检测槽中的时间只需要大约8秒钟, 在这极短的时间内还不足以产生可以检测到的荧光物质, 因此本文采用停流-注射技术。所谓停留-注射技术的系统组成与上述试验采用的系统完全一样, 只是样品和试剂的混合物被注入到检测槽后, 立即关闭蠕动泵, 这样荧光光度计即时记录其反应产物的荧光强度随时间变化的情况。图3-23即是用不同浓度的 Ni^{2+} (0-200 $\mu\text{g/L}$) 与5.04 $\mu\text{mol/L}$ 的Newport GreenTM反应动力学曲线。该曲线真实记录了 Ni^{2+} (0-200 $\mu\text{g/L}$) 与Newport GreenTM反应产物的荧光强度随时间的变化情况。

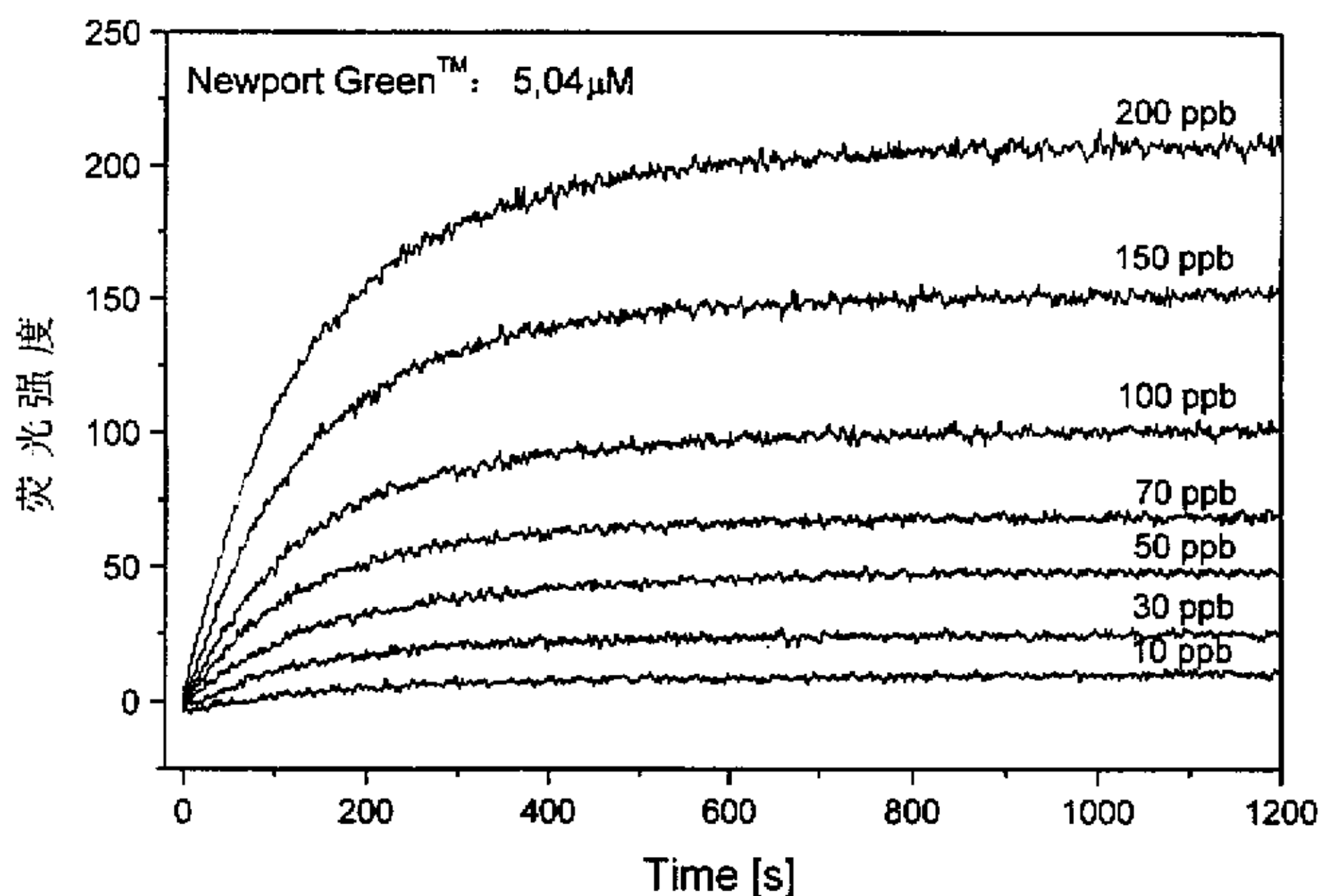


图3-23 Ni^{2+} 与Newport GreenTM反应的动力学曲线

其荧光强度随时间变化的情况可由下式表示:

$$\Delta I = \frac{P_1 t}{P_2 + t} \quad (3-14)$$

$$\text{而} \quad P_1 = -3.42 + 1.17 \cdot C \quad (3-15)$$

$$P_2 = 109,65 + 1082,65 \cdot e^{\frac{-(C-0,3)}{7,2}} \quad (3-16)$$

$$\text{所以} \quad \Delta I = \frac{-(3,42 + 1,17C) \cdot t}{109,65 + 1082,65 \cdot e^{\frac{-(C-0,3)}{7,2}} + t} \quad (3-17)$$

这里: ΔI : 荧光强度=实测荧光强度-溶液空白荧光强度, 相对单位, 无量纲;

t: 反应时间, 秒;

P_1 : 随 Ni^{2+} 的浓度而变化, 相对单位, 无量纲;

P_2 : 随 Ni^{2+} 的浓度而变化, 秒。

C: Ni (II) 浓度, $[\mu\text{g/L}]$ 。

从图3-23可以知道, Ni^{2+} 与Newport Green™的反应至10分钟以上才达到平衡状态。如果采用平衡状态时的荧光强度来确定 Ni^{2+} 的浓度, 则所耗时间太长, 这不利于用于传感器实时检测。图3-24, 表3-3对不同反应时间 Ni^{2+} 浓度与荧光强度的关系作了分析。从中可以知道, 在反应时间分别为2min, 5min, 20min时, Ni^{2+} 浓度与荧光强度均有较好的线性关系。因此, 在用于实际检测时, 可以只测定反应时间为2min时荧光强度, 从而实现 Ni^{2+} 离子的非稳态测定。

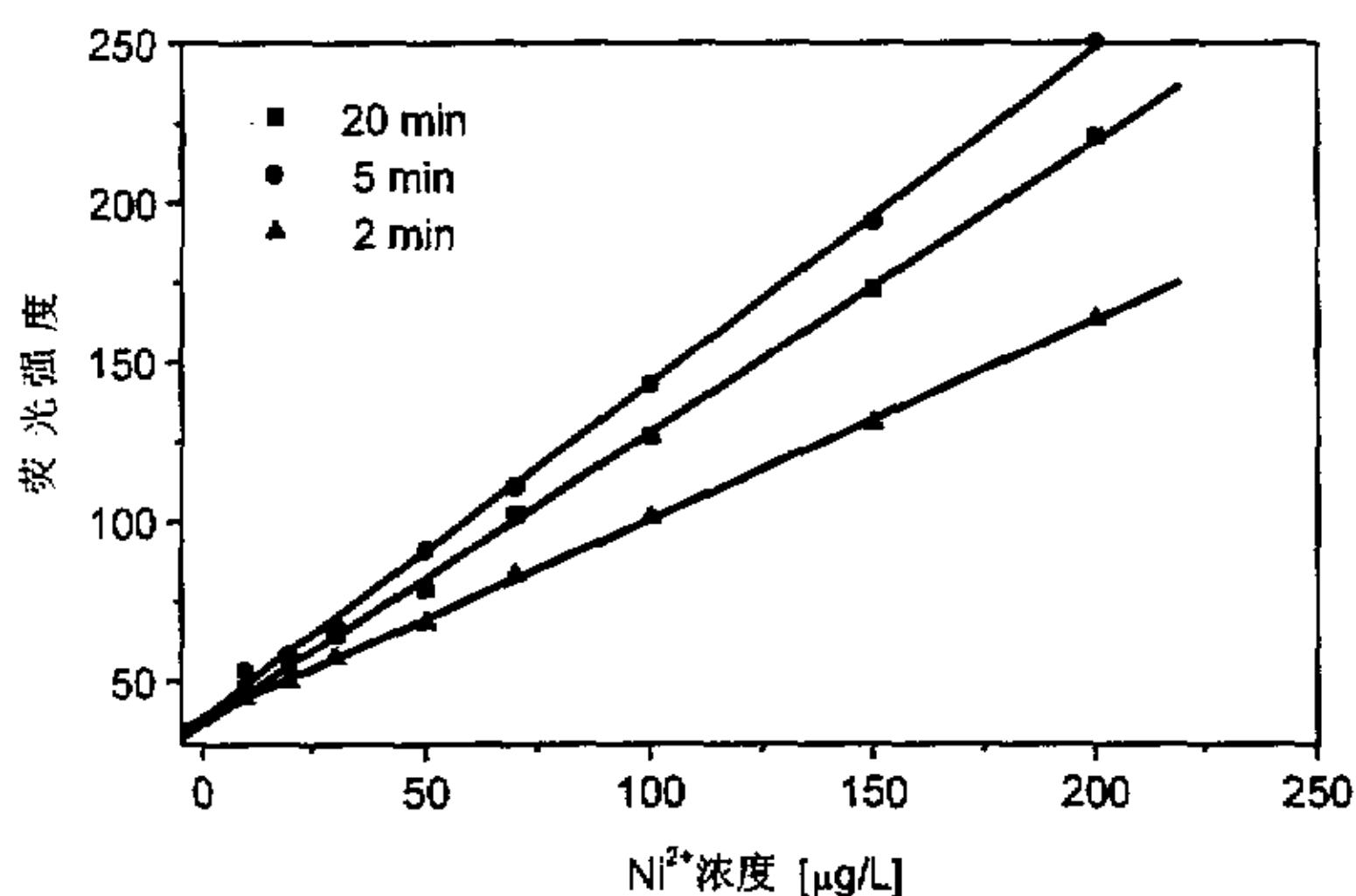


图3-24 不同反应时间 Ni^{2+} 浓度与荧光强度的关系

表3-3 不同反应时间下浓度与荧光强度的相关情况

	反应时间		
	2 min	5 min	20 min
标准曲线	$I=38.07+0.62C$	$I=36.37+0.91C$	$I=38.20+1.05C$
回归系数	0.9998	0.9996	0.9995
标准偏差	1.02	1.93	2.38
检测限 [ppb]	8.07	10.35	8.76

反应时间为2min, 应用式3-17计算的 Ni^{2+} 浓度和真值的比较结果见图3-25。

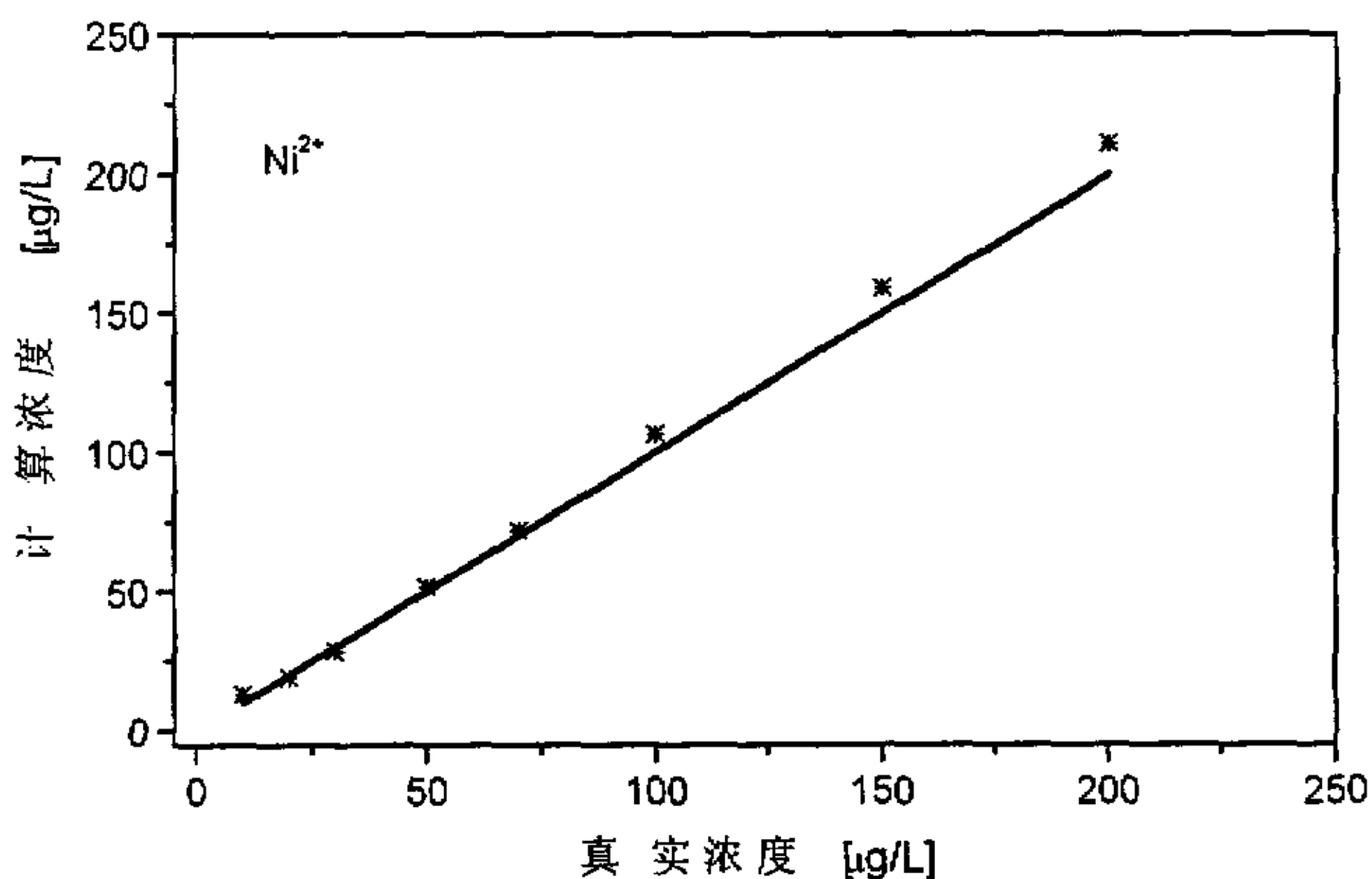


图3-25 由式3-9计算结果和真实浓度比较

从图中可以看出, 计算结果与真实值具有较好的拟和性, 因此, 无需反应达到平衡, 该式即可以准确地预测溶液中 Ni^{2+} 的浓度。

3.4.4 Zn^{2+} 荧光测定研究

Zn^{2+} 可以用BTC-5N测定, 也可以用Newport Green™测定, 图3-26A, B是分别用BTC-5N 和 Newport Green™测定的结果, 由两图可知用BTC-5N测定时, 其线性范围要宽于用Newport Green™测定, 但用Newport Green™测定时的检测限要低于用BTC-5N测定, 具体测定数据可见表3-4。

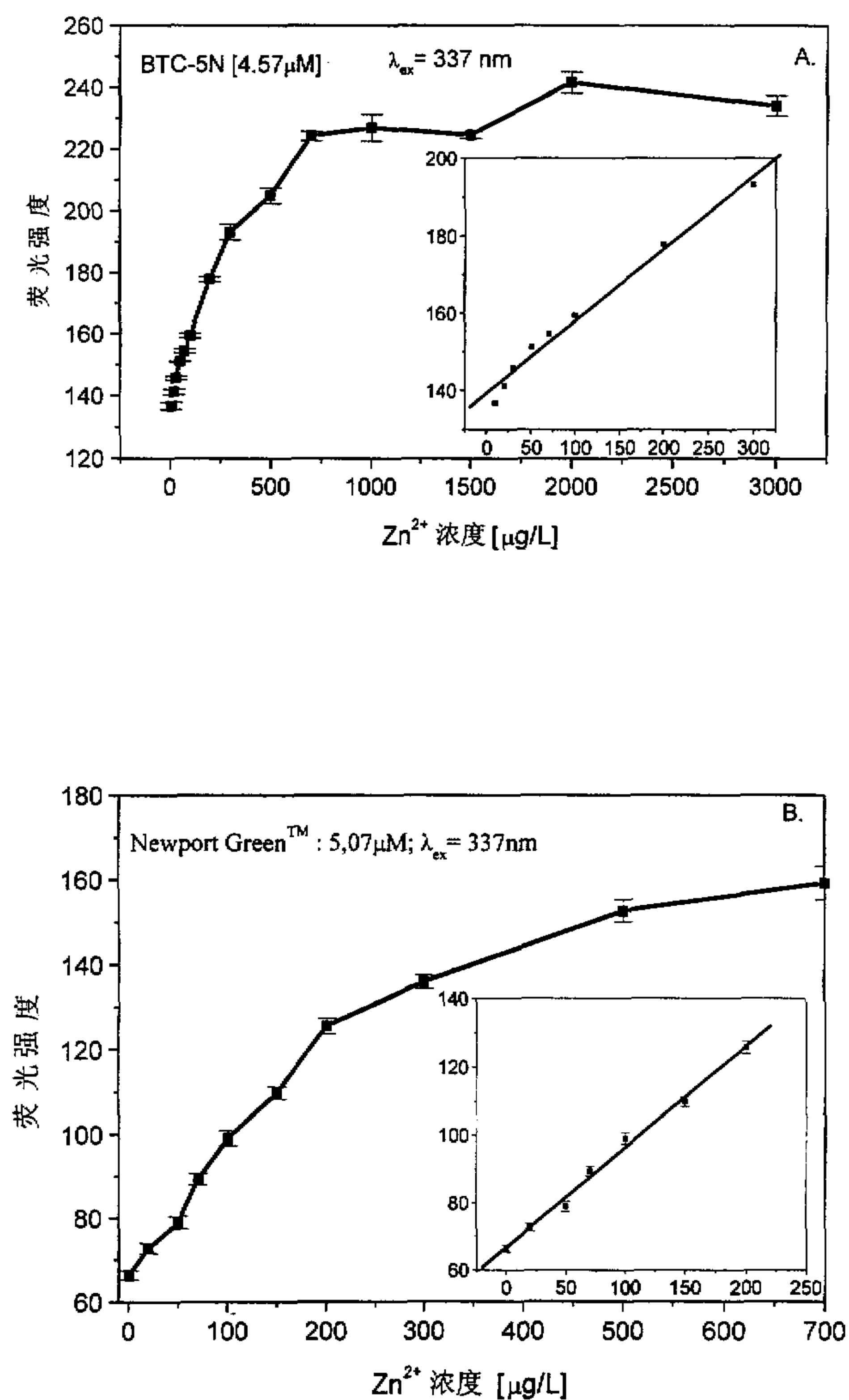


图 3-26 Zn^{2+} 标准曲线。A. 用BTC-5N测定；B. 用Newport Green™测定

3.4.5 Be^{2+} 的测定

Be^{2+} 与二水变色酸二钠反应的速度也较慢,因此,它的测定也同 Ni^{2+} 的测定一样,采用停流-注射方法进行,也可以实现非稳态测定。图3-27是由荧光光度计记录的 Be^{2+} 与二水变色酸二钠反应动力学曲线,同样地,其生成的螯合物的荧光强度与反应时间的关系也可以用式(3-6)描述:

$$\Delta I = \frac{P_1 t}{P_2 + t}$$

但是, P_1 和 P_2 与浓度的关系不象测定 Ni^{2+} 那样有规律。

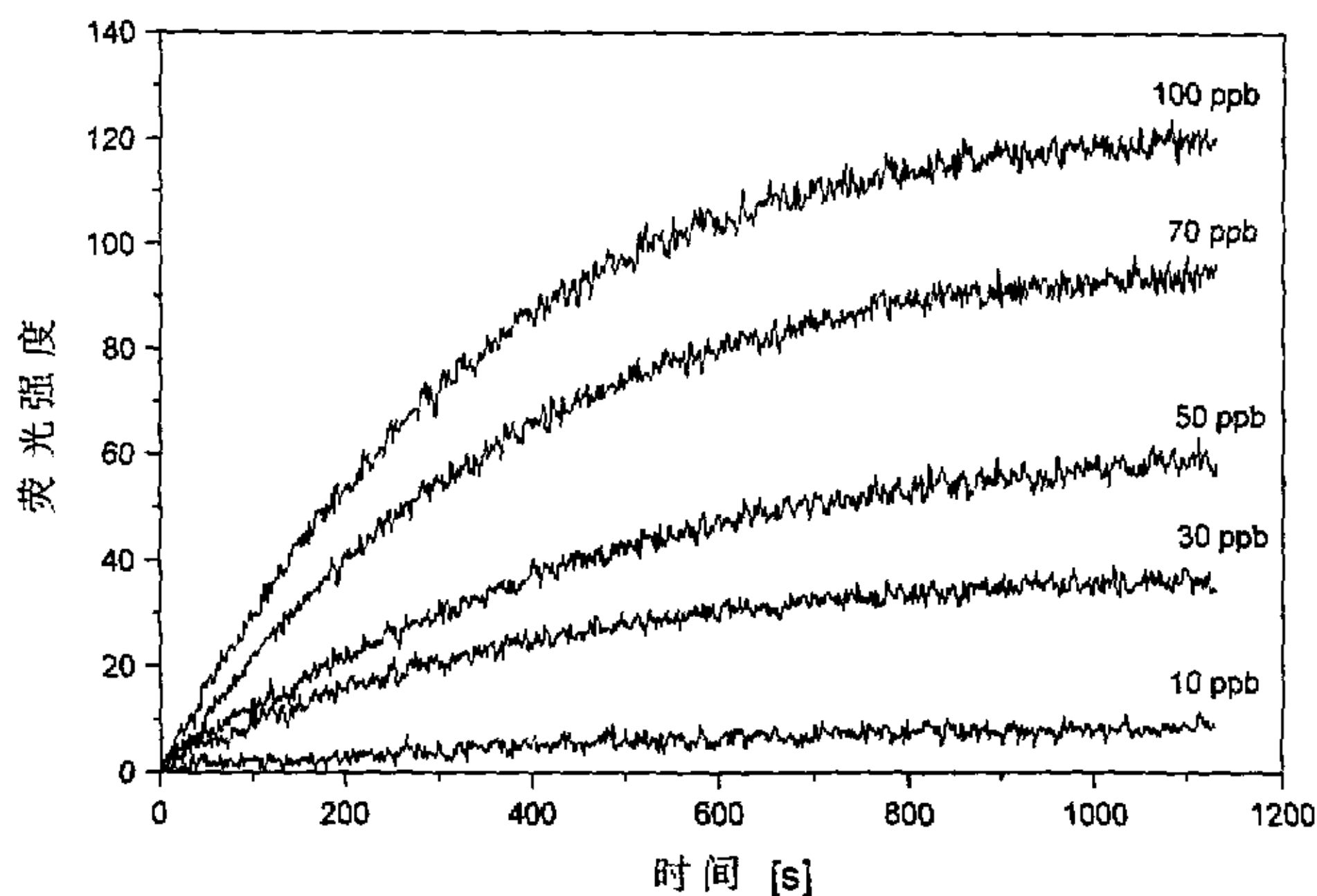


图3-27 Be^{2+} 与二水变色酸二钠反应动力学曲线

总结上述用流动注射方法测定单个金属离子的情况,与一般的荧光测定方法进行比较,得到有关结果列于表3-4。

表3-4 一般的荧光测定方法和采用流动注射测定方法的比较

金属离子	荧光试剂	一般荧光测定方法		流动注射测定方法	
		检测限 [$\mu\text{g/L}$]	线性范围 [$\mu\text{g/L}$]	检测限 [$\mu\text{g/L}$]	线性范围 [$\mu\text{g/L}$]
Cu^{2+}	新试铜灵	76.9	0-400	960	1000-4000
Cd^{2+}	BTC-5N	0.7	0-100	17.8	25-700
Zn^{2+}	BTC-5N	4.6	0-200	42.5	50-300
Zn^{2+}	Newport Green TM	2.0	0-100	8.43	10-200
Ni^{2+}	Newport Green TM	2.1	0-30	8.07	10-200
Be^{2+}	二水变色酸二钠	0.2	0-10	8.36	10-100

3.5 两个金属离子同时测定试验研究

在实际水体中, 往往是几种金属离子同时存在, 要将几种金属离子用一种或者几种荧光试剂测定出来, 在目前还存在许多困难, 其原因之一, 就是相近性质的金属离子之间相互产生干扰, 荧光试剂的选择性不好等。本文通过试验研究首次发现, 利用 Zn^{2+} 和 Cu^{2+} 与Newport GreenTM反应速度的不同可以同时测定两种离子的浓度, 利用 Cu^{2+} 对新试铜灵的熄灭作用可以判断溶液中 Cu^{2+} 的存在。

3.5.1 Ni^{2+} 和 Zn^{2+} 同时测定试验研究

Ni^{2+} 及 Zn^{2+} 离子均使Newport GreenTM的荧光加强, 但 Ni^{2+} 与Newport GreenTM的反应速度慢, Zn^{2+} 与Newport GreenTM的反应是立即进行, 采用停留-流动注射技术, 用50rpm的泵速, 使试剂与样品的在3秒的时间内到达流通检测池, 然后立即停泵, 同时记录2min钟内荧光强度的变化情况。

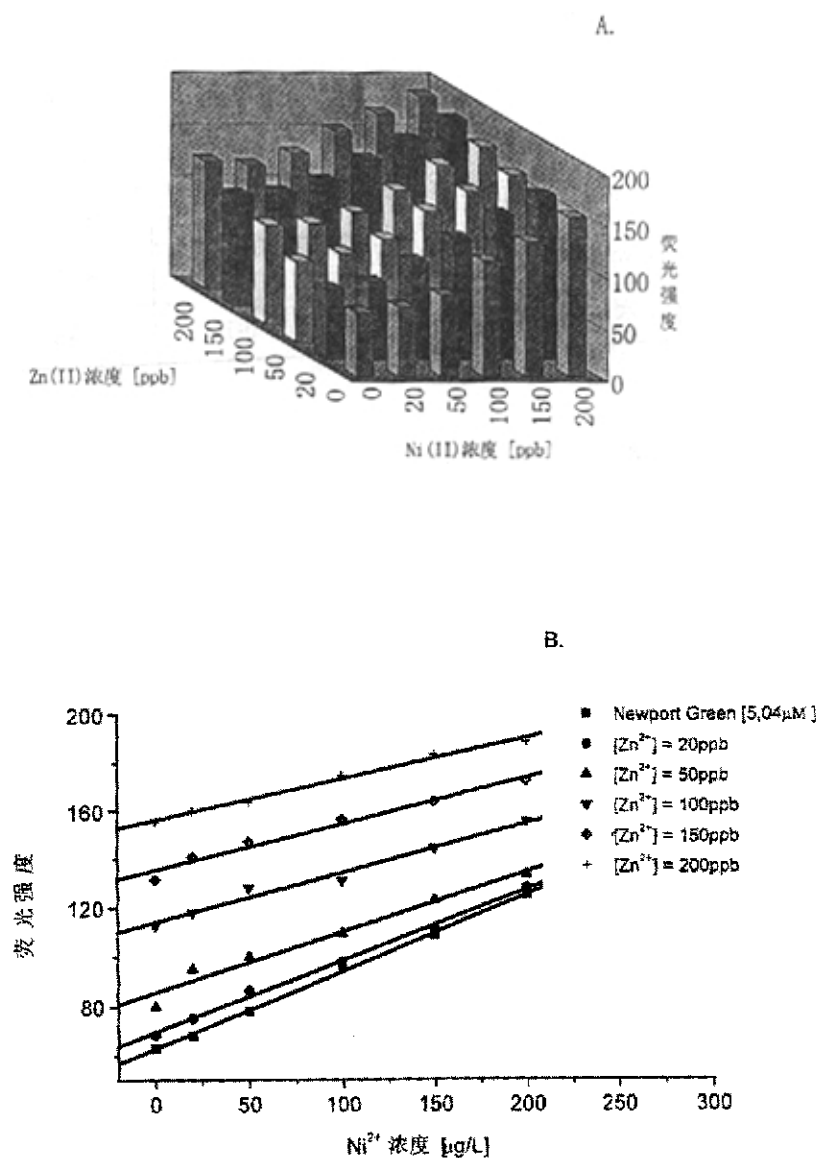


图 3-28 Newport Green同时测定 Ni^{2+} , Zn^{2+} 标准曲线

图3-28A是同时 Ni^{2+} 和 Zn^{2+} 不同浓度溶液在2min时测得的荧光强度的柱状图,将不同 Zn^{2+} 浓度下用 Ni^{2+} 浓度与荧光强度的关系作图,得到图3-28B。

设 ΔI_{Zn} 为 Zn^{2+} 的螯合物的荧光强度, ΔI_{Ni} 为 Ni^{2+} 的螯合物的荧光强度, $I_{t=0}$ 为反应初始时溶液的荧光强度, I_0 为空白溶液的荧光强度, 则反应至2min时溶液的荧光强度 $I_{t=120}$ 为:

$$I_{t=120} = \Delta I_{\text{Zn}} + \Delta I_{\text{Ni}} + I_0 \quad (3-18)$$

$$\Delta I_{\text{Zn}} = I_{t=0} - I_0 \quad (3-19)$$

$$\Delta I_{\text{Ni}} = I_{t=120} - I_{t=0} \quad (3-20)$$

将 ΔI_{Ni} , ΔI_{Zn} 分别对 Ni^{2+} 及 Zn^{2+} 浓度 c_{Ni} 和 c_{Zn} 进行线性回归, 得回归方程:

$$\Delta I_{\text{Zn}} = -0.28 + 0.31c_{\text{Zn}}$$

$$\text{相关系数 } R=0.9976$$

$$\Delta I_{\text{Ni}} = -2.62 + 0.42c_{\text{Ni}}$$

$$\text{相关系数 } R=0.9982$$

$$c_{\text{Zn}} = \frac{I_{t=0} - I_0 + 0.28}{0.31} \quad (3-21)$$

$$c_{\text{Ni}} = \frac{I_{t=120} - I_{t=0} + 2.62}{0.42} \quad (3-22)$$

为了检验该计算式的准确性, 运用添加法对溶液中 Ni^{2+} , Zn^{2+} 浓度进行预测。结果见表3-5。对 Zn^{2+} 的预测优于对 Ni^{2+} 的预测, 但总的说来, 其预测结果是较好的。

表3-5 根据上述两式对 Ni^{2+} 及 Zn^{2+} 的预测结果

样品号	加入 Zn^{2+} 浓度 [ppb]	加入 Ni^{2+} 浓度 [ppb]	计算 Zn^{2+} 浓度 [ppb]	计算 Ni^{2+} 浓度 [ppb]	相对误差 Zn^{2+} [%]	相对误差 Ni^{2+} [%]
1	50	50	48.20	57.45	-3.6	14.7
2	50	100	54.00	109.07	8	9.1
3	50	200	52.28	200.90	4.56	0.45
4	100	50	107.52	45.12	7.52	-9.8
5	100	100	103.34	103.8	3.34	3.8
6	100	200	101.71	200.33	1.71	0.17
7	200	50	202.19	47.2	1.1	-5.6
8	200	100	199.35	91.85	-0.33	-8.2
9	200	200	201.78	183.38	0.89	-8.31