

激光与光电子学进展

地下水重金属原位荧光检测装置

朱鑫琦^{1,2}, 张佩¹, 谢胜³, 吴淑军³, 王光辉⁴, 陈斌⁴, 朱菁¹, 张华⁵, 黄惠杰^{1*}¹中国科学院上海光学精密机械研究所信息光学与光电技术实验室, 上海 201800;²中国科学院大学, 北京 100049;³湖南大学化学化工学院, 湖南 长沙 410082;⁴上海镭慎光电科技有限公司, 上海 201899;⁵中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室, 贵州 贵阳 550081

摘要 地下水重金属污染正在严重威胁环境安全和人体健康。荧光探针检测技术因具有灵敏度高、选择性好等优势, 已成为检测重金属离子浓度的常用方法之一。受限于光源和光学系统的体积与成本等因素, 现有重金属荧光检测装置无法满足现场原位检测需求。本文研制了一种地下水重金属荧光原位检测装置, 其光学探头以紫外发光二极管(LED)为光源, 采用共聚焦光路设计, 荧光收集角范围可达 102° , 外径不超过 60 mm, 实现了小型化和低成本化。同时, 以商用化台式荧光分光光度计作为参照设备, 搭载相同的二价汞离子(Hg^{2+})荧光探针, 开展了对比性能测试。实验结果表明, 本文研发的装置具有良好的稳定性和线性响应特性, 相关系数 R^2 为 0.989, 检测限可达到 1.47×10^{-9} , 各项性能参数不亚于台式荧光分光光度计。

关键词 光学仪器; 地下水原位检测; 荧光光谱; 重金属检测; 紫外发光二极管

中图分类号 TN23

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP222866

In Situ Fluorescence Detection Device Used in Detection of Heavy Metals in Groundwater

Zhu Xinqi^{1,2}, Zhang Pei¹, Xie Sheng³, Wu Shujun³, Wang Guanghui⁴, Chen Bin⁴, Zhu Jing¹, Zhang Hua⁵, Huang Huijie^{1*}¹Laboratory of Information Optics and Optoelectronic Technology, Shanghai Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China;²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;³College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University, Changsha 410082, Hunan, China;⁴Shanghai Lasensor Optoelectronics Technology Co., Ltd., Shanghai 201899, China;⁵State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550081, Guizhou, China

Abstract Heavy-metal pollution of groundwater is a severe threat to the environmental safety and human health. Owing to their high sensitivity and good selectivity, fluorescence probe detection methods have been commonly used to determine the concentration of heavy metals. Because of the large size and high cost of the light source and optical system, the current heavy-metal fluorescence detection devices cannot meet the demands of *in situ* detection. In this study, we develop an *in situ* fluorescence detection device for the analysis of heavy metals in groundwater samples. The optical detector of the device uses ultraviolet (UV) light-emitting diodes (LEDs) as the light source and exhibits a confocal optical path design with a fluorescence collection angle range and an outer diameter of up to 102° and 60 mm, respectively, to achieve miniaturization and decrease cost. A commercial benchtop fluorescence spectrophotometer was used as a reference device. The devices were equipped with identical Hg^{2+} ion fluorescent probes, and comparative performance tests were conducted. The experimental results demonstrate that the as-developed fluorescence detection device exhibits good stability and a remarkable linear response, with a correlation coefficient (R^2) and detection limit of 0.989 and 1.47×10^{-9} ,

收稿日期: 2022-10-24; 修回日期: 2022-11-29; 录用日期: 2022-12-05; 网络首发日期: 2023-01-04

基金项目: 国家重点研发计划(2020YFC1807303)

通信作者: *huanghuijie@siom.ac.cn

respectively. Furthermore, the performance parameters of the fluorescence detection device are comparable to those of the benchtop fluorescence spectrophotometer.

Key words optical device; groundwater *in situ* detection; fluorescence spectroscopy; heavy metal detection; ultraviolet light emitting diode

1 引言

随着工业的快速发展,环境中重金属含量的增加不可避免。重金属污染不仅会影响环境质量,而且由于其不可生物降解的特性^[1],一些生物毒性较大的重金属,如砷(As)、镉(Cd)、汞(Hg)和铅(Pb)等,即使是在浓度很低的情况下仍会对人体健康构成威胁^[2-3]。因此,地下水重金属污染是备受全球关注的污染问题之一。

目前常用的重金属分析方法有原子吸收光谱法^[4]、原子荧光法^[5]、电感耦合等离子体质谱法^[6]和X射线荧光光谱法^[7]等。这些方法灵敏度高,可以较为准确地测量出液体中金属离子的含量,但相关设备的价格较为昂贵,且需要复杂的样品前处理过程,因此使用场景局限在实验室中^[8]。而电化学分析法^[9]受限于电极衰减而存在重现性差的问题,紫外可见分光光度法^[10]对金属的选择性不好。因此,开发具有高检测灵敏度特点的分析方法和小型化设备对地下水重金属探测有着重要意义。利用荧光探针检测重金属离子的方法是一种分子荧光法,荧光探针与金属离子结合后会在特定波长的光的激发下出现荧光增强或猝灭现象,通过荧光光谱的变化来实现对金属离子浓度的定量检测^[11-12]。此方法具有灵敏度高、选择性好、反应快速、非侵入性和操作简便等优点,是最具潜力的金属离子检测技术之一。

在荧光探针检测技术中,常用的分析设备是荧光分光光度计,它一般采用氙灯作为光源,利用光栅作为单色器来得到激发波长,同时利用光电倍增管作为探测器,而且激发光路与荧光光路方向垂直,其光学系统复杂,因此设备难以小型化。利用荧光分光光度计对

地下水重金属浓度进行检测时,一般需要在污染场地人工采集水体样品,再运输至实验室进行处理和检测。整个过程需要耗费数十小时甚至几天的时间,因此最终的检测结果往往不能及时地反映真实情况。少数情况下会利用移动检测车装载仪器进行现场检测,但现场检测依然不属于原位检测,主要问题在于场地水中的重金属离子价态和浓度可能会随着时间和环境的改变而产生变化,如砷的价态在水体中易受酸碱度(pH)和氧化还原电位(Eh)的影响在三价和五价之间转换^[13-14]。因此,需要研发可真正实现地下水重金属原位检测的装置。而地下水取样井空间狭小,内径一般在10 cm以下,若要实现真正的原位检测,需要设计低成本的小型化光学探头,置于地下水中直接检测。

本文主要介绍一种自主搭建的地下水重金属原位荧光检测装置。该装置的光学探头以紫外发光二极管(LED)为激发光源,采用共聚焦式光路设计,搭载特异性荧光探针,可深入地下水中实现重金属荧光的原位检测。

2 水下原位检测装置设计

2.1 水下原位检测装置组成

本文设计的水下原位检测装置分为水下光学探头和地上主机两部分。水下光学探头是一个密封的整体,包括光学模块、探针材料、液体腔、泵、管道等,其最大外径为56 mm,可顺利进入地下水取样井中工作,水下探头光学模块与光谱仪实物图如图1(a)所示。荧光信号通过光纤传输至地面的主机部分。驱动模块、光谱分析模块以及后续的数据处理单元集成为主机部

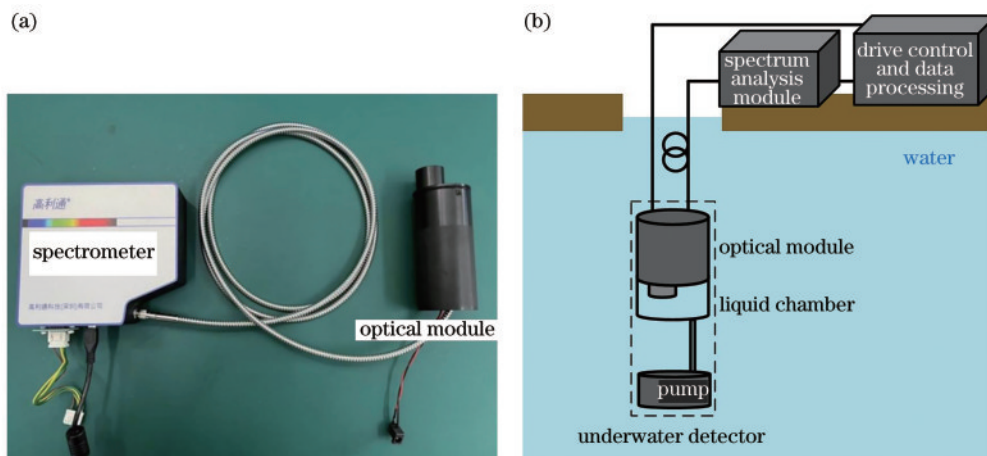


图1 地下水重金属原位检测装置。(a)水下探头光学模块与光谱仪实物图;(b)装置各部分组成示意图

Fig. 1 Groundwater heavy metal *in situ* detection device. (a) Photo of optical module of underwater detector and spectrometer; (b) schematic diagram of components of device

分。图 1(b)为装置各部分示意图。检测前,荧光探针放置在液体腔中,地下水被前端装置过滤杂质后泵入液体腔中与荧光探针充分混合,等待检测。

2.2 水下光学探头设计

水下探头是水下原位重金属检测装置的重要组成部分,其光学部分是装置的设计重点。小型化水下探头需要对激发光路进行简化,而多数荧光探针能被紫外光激发,因此可以选用一个小体积的紫外波段的激光二极管作为光源。而现有的激光二极管的发光波长多在可见波段和红外波段,商用的紫外波段激光二极管光源的最短波长在 375 nm 左右,且 400 nm 以

下的激光二极管售价极为昂贵。近年来,紫外 LED 由于具有价格低廉、功耗低、体积小等优点,在小型仪器检测毒素、生化物质、有毒气体和重金属等方面已经有广泛的应用^[15]。因此,LED 可以完全满足本文的设计需求。综合考虑水下探头的体积和成本,本文选用了紫外 LED (YL-UVALP-TO18-365, 永霖光电有限公司, 中国) 为光源,其标称波长为 365 nm, 实测中心波长为 370.9 nm, 发光角度为 15°, 光功率稳定在 20 mW。由海洋光学光谱仪 (QE Pro, Ocean Optics 公司, 美国) 测得的 LED 直接输出的光谱曲线如图 2(a) 所示。

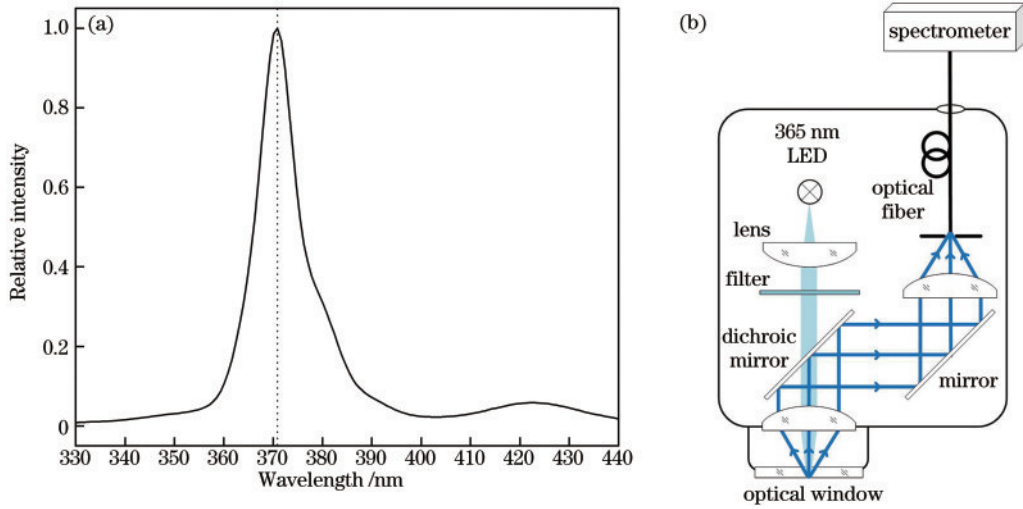


图 2 水下探头。(a)选用的紫外 LED 的输出光谱曲线;(b)水下探头光路示意图

Fig. 2 Underwater detector. (a) Output spectrum curve of selected ultraviolet (UV) LED; (b) schematic diagram of optical path of underwater detector

除了光源,在光路设计和机械结构方面也可以进行优化以达到探头小型化的目的。常见的激光诱导荧光光学系统分为斜射式、透射式与共聚焦式三种。斜射式光路需要激发光和荧光成一定角度,由于空间限制的关系,若选用较大数值孔径的透镜会影响荧光的激发;透射式光路的激发光路与发射光路共线,结构较为简单,但由于样品池设置在光路中间,不适用于水下探头的设计。而共聚焦式光路可以提高数值孔径,提升荧光的检测效率,并且相比于斜入射光路可以更好地实现光路的紧凑性设计。

共聚焦光路设计是将光源发出的光聚焦后照射在样品的某一点,被照物点发出的荧光精确聚焦在探测器前放置的小孔光阑上,此时光源、被照物点、小孔光阑处于光学物像共轭位置上^[16]。探测器只能测到样品被照物点处发出的荧光信号,环境中其他杂散光可以被小孔光阑有效阻挡,以此来提升光学系统的信噪比。

本文采用的具体光路结构如图 2(b)所示,其数值孔径可达到 0.78,可以接收发射角度在 102°以内的荧光。LED 发出的紫外光通过透镜组在熔石英玻璃窗口表面聚焦成直径为 2 mm 的圆形光斑,作用于液体

腔中的样品,激发出荧光。对光源聚焦点光功率稳定性进行检测,光功率的相对起伏(功率变化量/功率平均值)为 0.37%。在激发光路中设置一个中心波长为 365 nm、带宽为 40 nm 的滤光片。对通过滤光片后的激发光进行光谱检测,曲线如图 3 所示,因此,该滤光

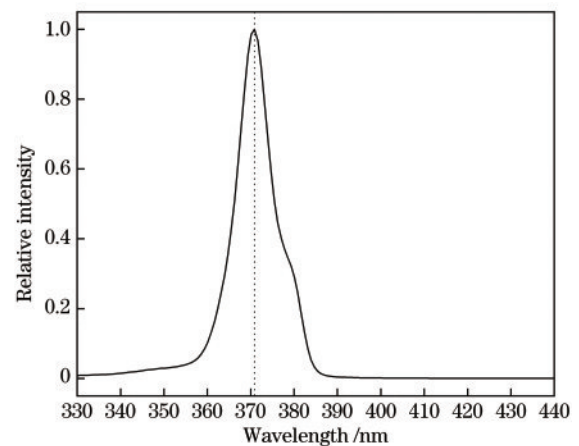


图 3 紫外 LED 通过滤光片并聚焦后的光谱曲线

Fig. 3 Spectrum curve of UV LED after passing through filter and focusing

片可以有效滤除 LED 发射光谱中 385 nm 以上的光。荧光透过石英玻璃窗口进入光路,被与光轴成 45° 放置的二向色镜反射,再经反射镜反射后被透镜聚焦耦合进入光纤。选用的二向色镜的透射波段为 350~390 nm,对 LED 发出的激发光有 85% 以上的透过率;反射波段为 415~650 nm,有利于消除激发光对荧光的影响。光纤将荧光传输至光谱仪(SPEC-GLA600,高利通公司,中国)中进行光信号分析。光谱仪的可探测波长范围是 390~890 nm。与光路配合的铝制机械结构内部做了氧化发黑处理以避免其他杂散光的干扰。同时,水下探头外围作了密封处理以达到防水效果。

3 性能测试与分析

3.1 荧光探针

本文选用了一种可被紫外光激发的特异性 Hg^{2+} 荧光探针对研制的地下水重金属检测装置进行性能测试与验证。采用的荧光探针由湖南大学提供。该荧光探针分子具有 Hg^{2+} 的配位结合位点,在保证高选择特异性的同时,与 Hg^{2+} 结合后形成难溶的配位聚合物,激活聚集诱导发光基团的荧光性能。当探针溶解在水溶液中时,聚集诱导发光活性基团的活跃自由分子内运动可以将激发态能量湮灭,导致探针无法被激发出荧光;而当水环境中的汞离子与探针发生配位结合后,荧光探针分子与汞离子络合形成金属有机聚合物,进一步发生聚集或沉淀使原本活跃的基团分子内运动受到限制,导致探针可被激发出荧光信号。探针分子及与 Hg^{2+} 结合后形成的金属络合物的可吸收波段均在 400 nm 以下。当激发波长为 360 nm 时,荧光峰值波长为 499 nm。

3.2 对照实验

为了评估研制的原位检测装置的检测性能,本文以应用较多的一款商用台式荧光分光光度计作为参照

设备,并采用前文所述的 Hg^{2+} 荧光探针开展对照实验。

本文选用美国 Thermo Scientific 公司的 Lumina 型荧光分光光度计作为参照设备,该仪器内置 150 W 氙灯,激发光路和荧光收集光路垂直,由光栅配合光电倍增管探测荧光光谱。实验中选用的激发波长为 360 nm。将荧光探针溶液置于标准石英比色皿中进行 Hg^{2+} 浓度梯度滴定实验,滴定浓度(质量分数)范围为 $0\sim 1\times 10^{-6}$,如图 4 所示。

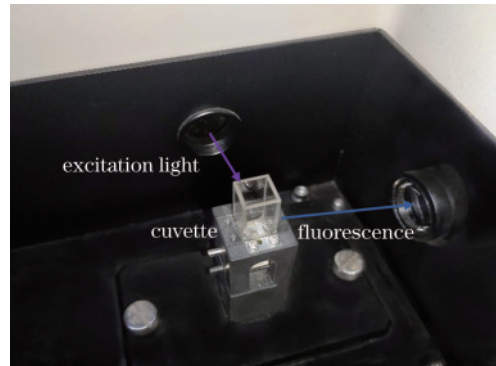


图 4 在 Thermo Scientific 荧光分光光度计上测试示意图
Fig. 4 Schematic of detection on Thermo Scientific fluorescence spectrophotometer

逐渐增加滴定的 Hg^{2+} 的质量分数,测得的荧光发射光谱如图 5(a) 所示,荧光峰值强度随着 Hg^{2+} 质量分数的升高而增强。荧光光谱的峰值波长为 499 nm,提取每个实验 Hg^{2+} 质量分数的峰值荧光强度,如图 5(b) 所示。在质量分数为 $0\sim 1\times 10^{-6}$ 的范围内采用最小二乘法进行线性拟合,得到的标准工作曲线为 $y=3.44x-185.29$,相关系数 $R^2=0.982$ 。对无 Hg^{2+} 的空白样品的峰值荧光强度进行 8 次检测,计算得到其标准差为 2.18。计算检测限一般取标准差的 3 倍与斜率的比值,因此可得检测限为 1.90×10^{-9} 。

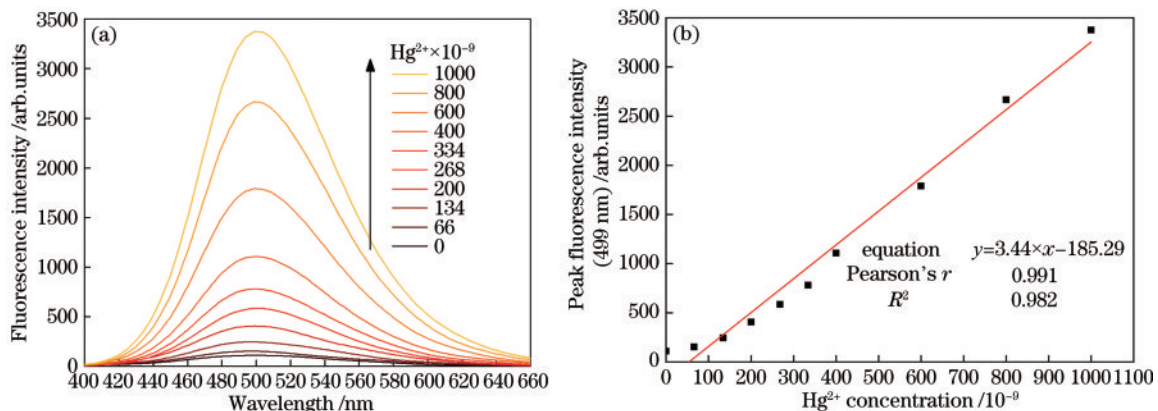


图 5 在荧光分光光度计上进行 Hg^{2+} 质量分数梯度滴定实验。(a) 添加不同质量分数的 Hg^{2+} 对荧光发射光谱的影响;
(b) 质量分数-峰值荧光强度标准曲线

Fig. 5 Hg^{2+} mass fraction gradient titration experiments on fluorescence spectrophotometer. (a) Effect of adding different mass fractions of Hg^{2+} on fluorescence emission spectra; (b) mass fraction-peak fluorescence intensity standard curve

3.3 可重复性检测

装置的重复性可以在相同测试条件下进行多次重复检测的数据的相对标准偏差(RSD)衡量,RSD为标准偏差除以平均值。一般装置的重复性在10%以内。

在研制的装置上分别对 0 、 200×10^{-9} 、 334×10^{-9} 三种质量分数的 Hg^{2+} 与荧光探针溶液混合后的溶液进行8次重复性检测,并记录其峰值荧光强度,如图6所示。可计算得到质量分数为 0 时的荧光峰值强度均值为 1378.73 ,标准偏差为 7.36 ,RSD为 0.53% ;质量分数为 200×10^{-9} 时的荧光峰值强度均值为 4305.22 ,标

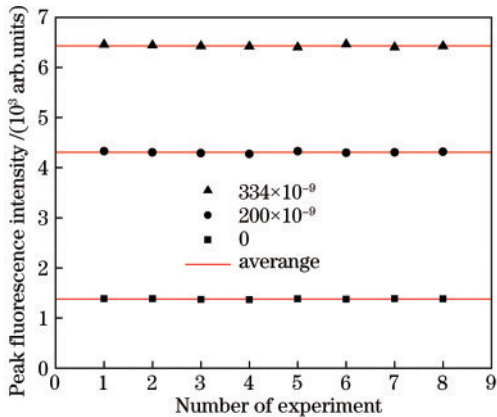


图6 装置重复性测试结果

Fig. 6 Device repeatability test results

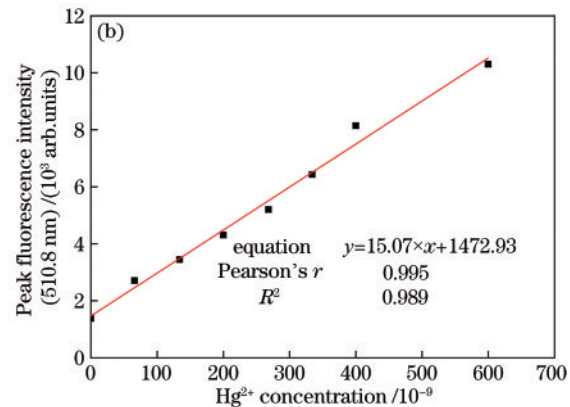
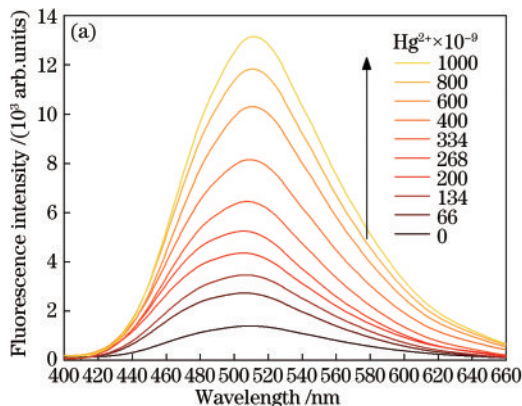


图7 地下水重金属原位检测装置标定结果。(a)荧光光谱;(b)质量分数-峰值荧光强度标准曲线

Fig. 7 Calibration results of groundwater heavy metal *in situ* detection device. (a) Fluorescence spectra; (b) mass fraction-peak fluorescence intensity standard curve

本文对装置进行了工作曲线绘制以及检测限测定。以商用荧光分光光度计的检测结果作为对照,本文装置的线性相关系数($R^2=0.989$)与商用荧光分光光度计($R^2=0.982$)相当,装置检测限(1.47×10^{-9})略优于荧光分光光度计测得的检测限(1.90×10^{-9})。上述测试结果表明,本文研发的检测装置具有较低的检测限和良好的线性响应特性。

4 结论

本文设计了一种基于荧光光谱技术的地下水重金

属检测装置,以紫外LED作为水下光学探头的光源,设计了紧凑、高信噪比的共聚焦式光路系统,实现了重金属荧光检测的低成本化和小型化。以商用荧光分光光度计作为参照设备,利用特异性 Hg^{2+} 探针溶液对装置的性能进行了评价。通过重复性实验得到装置的平均相对标准偏差为 0.44% ,说明装置具有良好的稳定性和可靠性;通过质量分数梯度滴定实验得到了光谱随质量分数的变化曲线,并将峰值波长与质量分数进行线性拟合,其相关系数为 0.989 ,并且检测限可达到 1.47×10^{-9} ,与商用荧光分光光度计测得的检测限

3.4 标准工作曲线与检测限测定

在实际应用之前,需要绘制标准曲线来确定不同 Hg^{2+} 质量分数与装置测到的荧光光强的对应关系。使用不同质量分数的 Hg^{2+} 溶液与荧光探针混合,在液体腔中进行重复测试,每次测试之前需要充分清洗液体腔。使用移液枪取 $10 \mu\text{L}$ 摩尔浓度为 10^{-3} mol/L 的荧光探针,取对应质量分数和体积的 Hg^{2+} 混合均匀,控制总溶液体积始终为 1 mL ,使 Hg^{2+} 质量分数为 $0 \sim 1 \times 10^{-6}$,在装置上测定其荧光光谱变化如图7所示,光谱积分时间为 100 ms 。从图7(a)可以看出,随着 Hg^{2+} 质量分数的增加,荧光强度也逐渐增强,这与图5(a)中商用荧光分光光度计的检测结果类似。荧光峰值波长略有偏移,在 510.8 nm 处,这可能与光谱仪的响应有关。在线性区间 $0 \sim 6 \times 10^{-7}$ 内绘制 Hg^{2+} 质量分数与峰值荧光光强对应的标准工作曲线,如图7(b)所示,工作曲线方程为 $y=15.07 \times x+1472.93$,线性相关系数 R^2 为 0.989 。由3.3节中计算得到的8次空白样品的标准差,利用3倍标准差与斜率的比值,可计算出装置对 Hg^{2+} 的检测限为 1.47×10^{-9} 。

属原位检测装置,以紫外LED作为水下光学探头的光源,设计了紧凑、高信噪比的共聚焦式光路系统,实现了重金属荧光检测的低成本化和小型化。以商用荧光分光光度计作为参照设备,利用特异性 Hg^{2+} 探针溶液对装置的性能进行了评价。通过重复性实验得到装置的平均相对标准偏差为 0.44% ,说明装置具有良好的稳定性和可靠性;通过质量分数梯度滴定实验得到了光谱随质量分数的变化曲线,并将峰值波长与质量分数进行线性拟合,其相关系数为 0.989 ,并且检测限可达到 1.47×10^{-9} ,与商用荧光分光光度计测得的检测限

1. 90×10^{-9} 接近。因此,本文所提出的地下水重金属检测装置可以突破传统的离线检测的限制,实现对水下重金属离子的原位检测。该装置还可以通过更换光源以及相应的光学元件,适应不同吸收波长的荧光探针。

参 考 文 献

- [1] Peavy H S, Rowe D R, Tchobanoglous G. Environmental engineering[M]. New York: McGraw-Hill, 1985.
- [2] Järup L. Hazards of heavy metal contamination[J]. British Medical Bulletin, 2003, 68(1): 167-182.
- [3] Kim H, Jang G, Yoon Y. Specific heavy metal/metalloid sensors: current state and perspectives[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(3): 907-914.
- [4] Brkljača M, Giljanović J, Prkić A. Determination of metals in olive oil by electrothermal atomic absorption spectrometry: validation and uncertainty measurements [J]. Analytical Letters, 2013, 46(18): 2912-2926.
- [5] 李刚, 胡斯宪, 陈琳玲. 原子荧光光谱分析技术的创新与发展[J]. 岩矿测试, 2013, 32(3): 358-376.
Li G, Hu S X, Chen L L. Innovation and development for atomic fluorescence spectrometry analysis[J]. Rock and Mineral Analysis, 2013, 32(3): 358-376.
- [6] Jin M T, Yuan H, Liu B, et al. Review of the distribution and detection methods of heavy metals in the environment[J]. Analytical Methods: Advancing Methods and Applications, 2020, 12(48): 5747-5766.
- [7] 章连香, 符斌. X-射线荧光光谱分析技术的发展[J]. 中国无机分析化学, 2013, 3(3): 1-7.
Zhang L X, Fu B. Advances in X-ray fluorescence spectrometry[J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2013, 3(3): 1-7.
- [8] 纪雪峰, 单斌, 王莎莎, 等. 荧光探针在水中重金属离子检测中的应用研究进展[J]. 青岛理工大学学报, 2021, 42(1): 109-118.
Ji X F, Shan B, Wang S S, et al. Application research progress of fluorescent probe in the detection of heavy metal ions in water[J]. Journal of Qingdao University of Technology, 2021, 42(1): 109-118.
- [9] Sun D, Xie X, Cai Y, et al. Voltammetric determination of Cd^{2+} based on the bifunctionality of single-walled carbon nanotubes-Nafion film[J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 581(1): 27-31.
- [10] Breuil P, di Benedetto D, Poyet J P. On-line analysis of copper and zinc in industrial effluents by UV-visible spectrometry (in French)[J]. Analusis, 1998, 26(8): 63-66.
- [11] 杜宪超, 王佳, 秦安军, 等. 聚集诱导发光探针分子在荧光传感中的应用[J]. 科学通报, 2020, 65(15): 1428-1447.
Du X C, Wang J, Qin A J, et al. Application of AIE-active probes in fluorescence sensing[J]. Chinese Science Bulletin, 2020, 65(15): 1428-1447.
- [12] 韩莽霞, 单斌, 徐淑飞, 等. 荧光探针在水中汞离子检测中的研究进展[J]. 山东化工, 2021, 50(15): 63-66.
Han Q X, Shan B, Xu S F, et al. Research progress of fluorescent probe in the detection of mercury ion in water [J]. Shandong Chemical Industry, 2021, 50(15): 63-66.
- [13] 陈梦舫. 我国工业污染场地土壤与地下水重金属修复技术综述[J]. 中国科学院院刊, 2014, 29(3): 327-335.
Chen M F. Review on heavy metal remediation technology of soil and groundwater at industrially contaminated site in China[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2014, 29(3): 327-335.
- [14] 朱青青, 王中良. 中国主要水系沉积物中重金属分布特征及来源分析[J]. 地球与环境, 2012, 40(3): 305-313.
Zhu Q Q, Wang Z L. Distribution characteristics and source analysis of heavy metals in sediments of the main river systems in China[J]. Earth and Environment, 2012, 40(3): 305-313.
- [15] Yeh P, Yeh N, Lee C, et al. Applications of LEDs in optical sensors and chemical sensing device for detection of biochemicals, heavy metals, and environmental nutrients[J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2017, 75: 461-468.
- [16] 冯金垣, 区伟能, 付治新. 共聚焦激光诱导荧光检测系统的研究[J]. 半导体光电, 2008, 29(6): 964-967.
Feng J Y, Ou W N, Fu Z X. Research of confocal laser-induced fluorescence detection system[J]. Semiconductor Optoelectronics, 2008, 29(6): 964-967.