

使用三维荧光光谱的多变量分析法评价水中有机物

评价水中可溶性有机物的种类和含量时，可选用三维荧光光谱或荧光指纹（EEM: Excitation Emission Matrix）法。

这里我们采集自来水厂净化河水过程中各处理工序的水源，获取其EEM，依据实验数据进行平行因子分析（PARAFAC¹⁾）及主成分分析，评价水中可溶性有机物的变化。



F-7100 荧光分光光度计

¹⁾ PARAFAC : Parallel Factor Analysis,

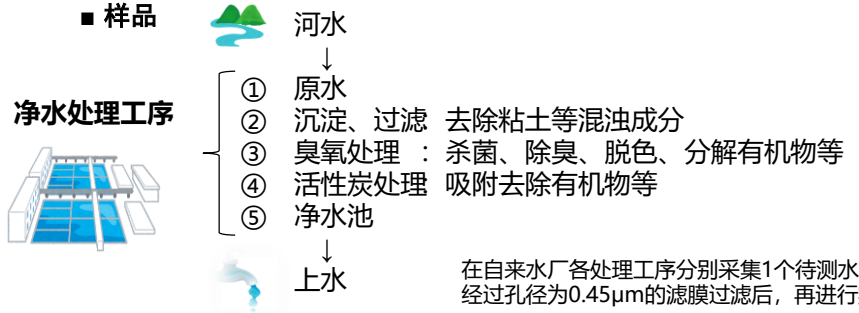
各处理工序水源的三维荧光光谱实验

- ✓ 使用F-7100荧光分光光度计，测定自来水厂处理工序中各样品的三维荧光光谱。
- ✓ 可溶性有机物的荧光强度随着处理工序的进行而减弱，在最终工序净水池中的荧光强度十分微弱（图1 ①~⑤）。

■ F-7100荧光分光光度计 测定条件

激发侧狭缝：5nm
发射侧狭缝：5nm
扫描速度：30,000nm/min
响应：自动
光电倍增管电压：500V
光谱校正：ON

■ 样品



在自来水厂各处理工序分别采集1个待测水源，经过孔径为0.45μm的滤膜过滤后，再进行实验。

■ 三维荧光光谱

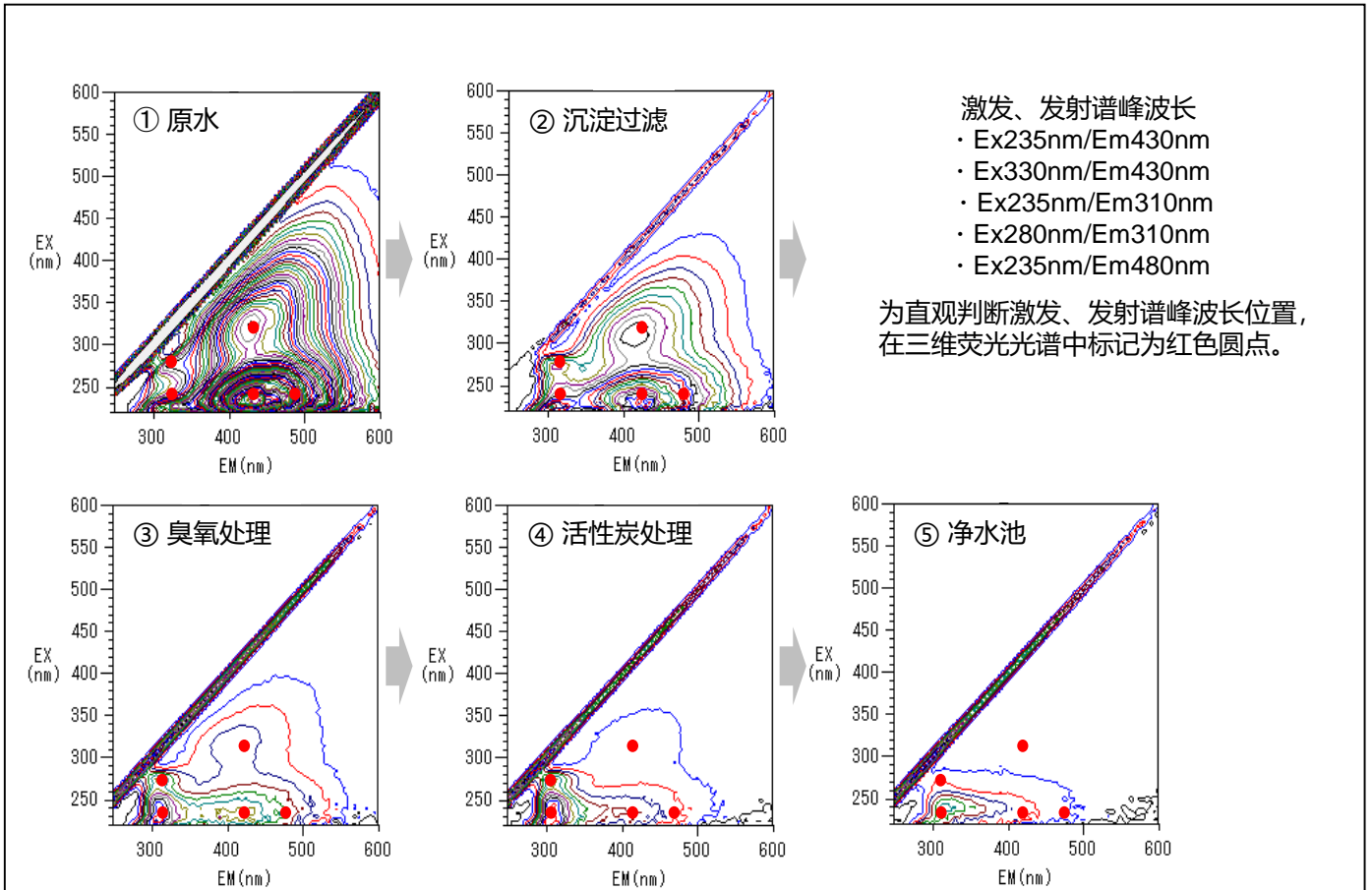


图1 各净水处理工序水源的三维荧光光谱

使用PARAFAC分析推测各净水工序的成分

- ✓ 加入1μg/L 硫酸奎宁(QS: Quinine Sulphate), 使各样品的荧光强度达标(FLNo.150002)。
- ✓ 从使用硫酸奎宁进行荧光强度标准化后的样品谱图中, 扣除荧光强度标准化之后的纯水三维荧光光谱。
- ✓ 进一步通过紫外可见分光光度计U-5100测定²⁾ 6个待测样品的吸收光谱, 校正荧光内滤效应。

■U-5100紫外分光光度计 测定条件

光路长度 : 10nm
狭缝 : 5nm
扫描速度 : 400nm/min
基线校正 : 纯水

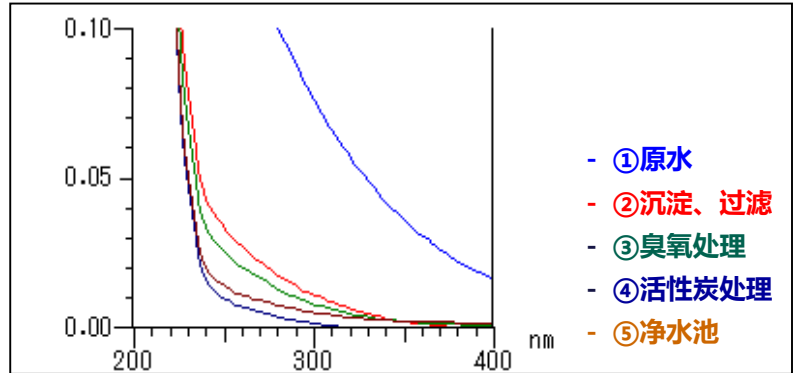


图2 U-5100测定的吸收光谱

2)也可使用荧光分光光度计选配的吸收池支架 (P/N: 650-0165) 或移动式吸收流通池 (定制) 进行测定。

■ 内滤效应的校正公式

$$F_{corr} = \alpha \times F_{meas} \times 10^{[(Abs_{ex} + Abs_{em})/2]}$$

F_{corr} : 校正激发波长 / 发射波长后的荧光强度
 F_{meas} : 在激发波长 / 发射波长下测得的荧光强度
 Abs_{ex} : 激发波长(ex)下的吸光度
 Abs_{em} : 发射波长(em)下的吸光度
 α : 校正系数 (初始值 1)

可通过荧光分光光度计软件FL Solutions4.2(rev.10 ~)的三维数据校正功能计算出内滤效应校正值。详情请参考技术报告 FL No.200001

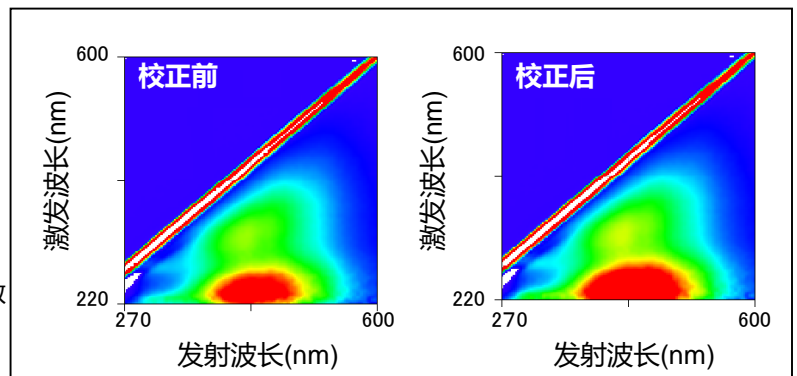
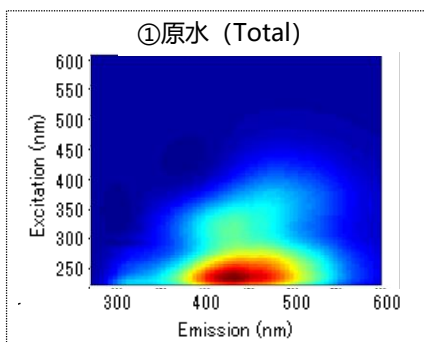


图3 校正内滤效应的荧光强度

■ 净水的三维荧光光谱及PARAFAC分析结果



使用多变量分析软件*进行PARAFAC分析, 可以将谱峰分离为至少3种成分。依据各成分的激发、发射波长的参考文献³⁾, 推测成分如下。

- (a) 富啡酸
- (b) 腐质酸
- (c) 蛋白质

3) 伊藤由纪使用三维荧光光谱和多变量分析进行新生代沉积岩地区的地下水流动检测 THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS, Vol.59 No.2 (2016)

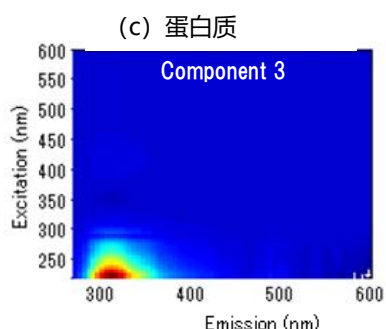
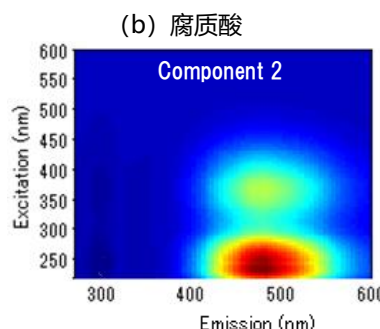
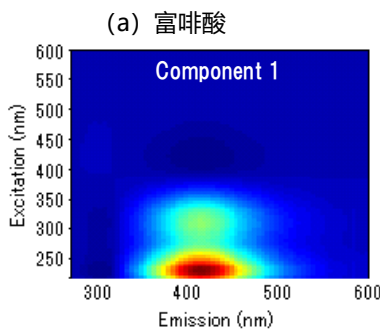
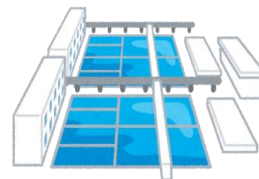
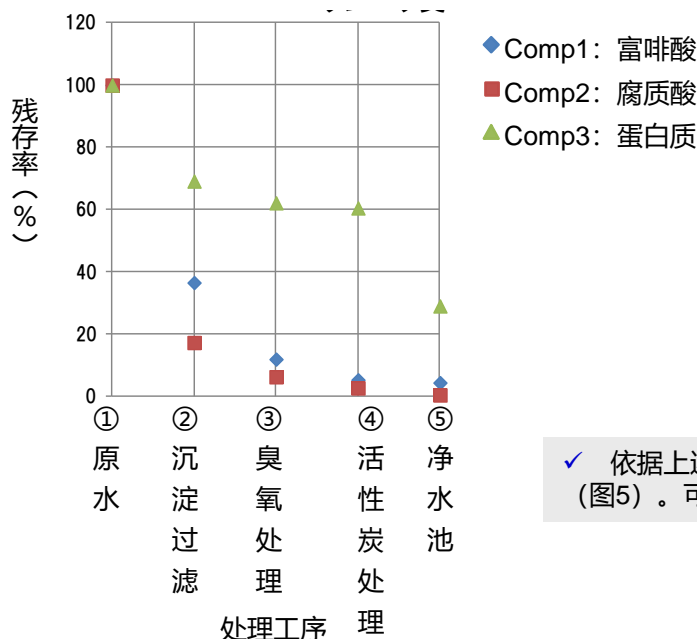


图4 分析数据 (各成分中分离的三维荧光光谱)



各净水工序水源中腐殖物质及蛋白质的残存率

■残存率(%)

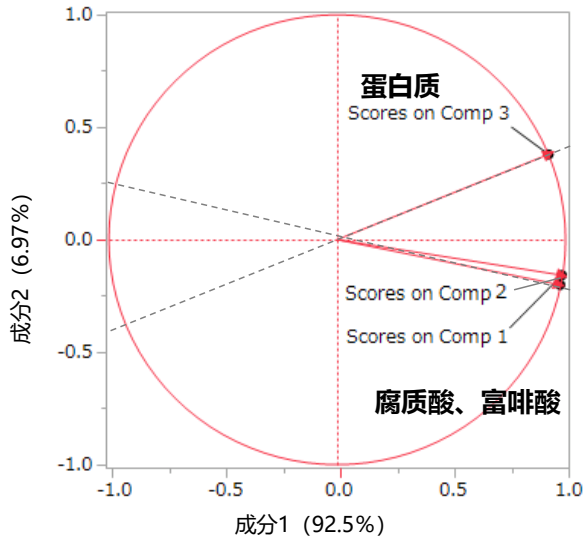
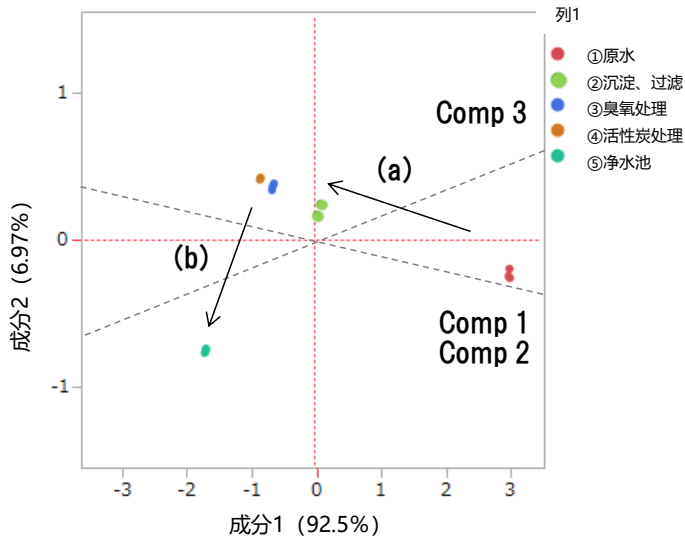


✓ 依据上述PARAFAC分析的得分值计算出各成分的残存率(图5)。可确认各工序中可溶性有机物的变化(净水效应)。

图5 处理工序中各成分的残存率

采用主成分分析评价各净水工序水源

■主成分分析



- ✓ 利用PARAFAC分析结果, 使用多变量分析软件*, 进行主成分分析。
主成分分析是一种将大量数据简化为几个主成分, 并以低维度形式表现, 从而进行样品种类判别的统计方法。各图的三维荧光光谱数据在坐标中以一个点显示。
- ✓ 图6为主成分分析的分布图。X轴表示荧光强度。Y轴表示蛋白质和腐质酸、富啡酸的比率。
根据图7矢量数据, 图6用虚线轴表示各有机物的增减。
- ✓ 根据图5净水工序中各成分的残存率及图7因子载荷的矢量方向, 可确认从①原水到④活性炭处理(图6中(a))中, 荧光强度随处理工序的进行减弱, 从而确认腐质酸、富啡酸成分的去情况。
- ✓ 同样, 可确认图6中④活性炭处理和⑤净水池(图6中(b))中蛋白质去除情况。
- ✓ 使用多变量分析, 可将荧光指纹数据低维度表示, 以此判断净化过程中可溶性有机物的变化。

水样品分析中的荧光指纹自动测定系统

对于采用自动进样器和高灵敏度流通池的系统，灵敏度与使用方形样品池时相同，可自动进行水样品的荧光指纹分析。



■ 自动进样器

- 液体操作机器人：自动液体操作系统 Model 223: GILSON公司
- 蠕动泵：蠕动泵 MINIPULS 3: GILSON公司

■ 荧光分光光度计

- F-7100荧光分光光度计

(选配件构成示例)

- 自动滤光器附件 (P/N: 5 J0-0158)
- 高灵敏度流通池装置 (选配)
- 吸收流通池池架 (选配)
- 选配程序
EEM 辅助程序 (P/N: 5J0-0366)
- 分析软件
3D SpectAlyze (DYNACOM Co.,Ltd., Chiba, Japan)
Solo 8.1.1 及以上版本 (Eigenvector Research, Inc., USA)
JMP® (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)



3D SpectAlyze
视频介绍

✓ 三维荧光光谱测定系统连接自动进样器，可轻松自动测量多个待测样品的荧光指纹。

- 测定时间：5 min/样品 (200-600nm, 5nm间隔)
- 进样量：20 mL/样品 (使用高灵敏度流通池时)
- 最大进样量：56个

- ✓ F-7100的灵敏度是前代型号的1.5倍，而且还标配长寿命氙灯，使用寿命是前代型号的5倍。
- ✓ 通过自动滤光器附件可去除掉荧光指纹谱图中不必要的高阶光。
- ✓ 通过使用吸收流支架 (定制) 或移动式吸收池支架 (定制) 也可自动进行吸收光谱测定。
- ✓ 可将输出文件读取到分析软件3D SpectAlyze 或Solo，进行PARAFAC分析。

* “EEM 辅助” 是日立高新技术科学的商标。
EEM 辅助: Excitation-Emission Matrix Assist

* “JMP”是美国 SAS Institute公司在日本及其他国家的注册商标。
* “3D SpectAlyze”是株式会社Dynacom在日本的注册商标。

[KEY WORDS]

注意：本资料中刊登的数据仅为测试示例，不保证性能。

环境分析、上水、荧光分光光度计、F-7000、F-7100、F-2700、硫酸奎宁、荧光强度标准化、3D SpectAlyze
PARAFAC、多变量分析、荧光指纹、tap water、Quinine Sulfate Dihydrate, FL Intensity Standardization、EEM