

氢化物发生-原子荧光光谱法在本科实验教学中的应用

李华敏*, 彭淑女, 陈招斌, 杨利民*

厦门大学化学化工学院, 化学国家级实验教学示范中心(厦门大学), 福建 厦门 361005

摘要: 为拓展学生的视野, 将氢化物发生-原子荧光光谱法应用于本科实验教学。本实验用氢化物发生-原子荧光光谱法对水样中的砷进行分析测定, 对最佳实验条件如仪器载气流速进行了考查和优化, 测定了方法的检出限、定量限和精密度等评价指标。通过课程学习, 可以使学生掌握氢化物发生-原子荧光分光光度计的工作原理及其使用方法, 掌握氢化物发生-原子荧光光谱法测定砷的定量分析方法, 学会处理和分析实验数据, 并能了解不同的原子光谱法的工作原理及应用领域。

关键词: 氢化物发生; 原子荧光光谱; 仪器分析实验; 实验教学

中图分类号: G64; O6

Application of Hydride Generation-Atomic Fluorescence Spectrometry in Undergraduate Experimental Teaching

Huamin Li*, Shunü Peng, Zhaobin Chen, Limin Yang*

National Demonstration Center for Experimental Chemistry Education (Xiamen University), College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian Province, China.

Abstract: Hydride generation-atomic fluorescence spectrometry was applied to undergraduate experimental teaching to improve the knowledge of students. In this study, hydride generation-atomic fluorescence spectrometry was performed to detect arsenic in water samples. The best experimental conditions, such as the flow rate of the carrier gas, were investigated and optimized. The detection limit, quantification limit, and precision of the method were determined. Through the study of the course, students can master the working principle and operating method of hydride generation-atomic fluorescence spectrophotometry and grasp the quantitative analysis method of detecting arsenic through hydride generation-atomic fluorescence spectrometry. In addition, students can learn how to process and analyze experimental data and understand the working principles and application fields of different types of atomic spectrometry.

Key Words: Hydride generation; Atomic fluorescence spectrometry; Instrumental analysis experiment; Experimental teaching

仪器分析实验课不仅是化学专业的必修基础课程之一, 也是材料、生命科学、环境科学、食品、农业等专业的重要课程之一。原子光谱实验是仪器分析实验的一个重要组成部分, 国内多数高校都开设了原子吸收光谱(AAS)实验^[1]和原子发射光谱(AES)实验^[2]等原子光谱实验。

收稿: 2020-05-15; 录用: 2020-06-15; 网络发表: 2020-06-30

*通讯作者, Emails: huaminli86@xmu.edu.cn (李华敏); lmyang@xmu.edu.cn (杨利民)

基金资助: 国家自然科学基金(21701133)

汞、砷、锑、铋、锆、锡、铅、硒、碲等元素的含量是环境保护、卫生防疫、城市给排水、地质普查等与国计民生息息相关的部门的重要检测项目。这些元素的激发谱线大部分在紫外区，用火焰原子吸收分光光度法、石墨炉原子吸收分光光度法甚至电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES)测量灵敏度低，测定这些元素有很大的困难，常无法满足一般样品分析需求。

氢化物发生-原子荧光光谱法(HG-AFS)，是利用某些能产生初生态氢的还原剂或通过化学反应，将样品溶液中的待测元素组分还原为挥发性共价氢化物，然后借助载气流将其导入原子荧光光谱分析系统进行测量。氢化物发生进样法可以使分析元素能够与可能引起干扰的样品基体分离，消除了基体干扰；与溶液直接喷雾进样相比，进样效率几乎高了 100%，氢化物可以在氩-氢火焰中得到很好的原子化，所以对于砷、锑、铋、锆、锡、铅、硒和碲这 8 种易形成气态氢化物的元素以及汞(形成原子)可以得到很好的检出限，很高的灵敏度。氢化物发生-原子荧光分光光度计因此被专门用于砷、硒和汞等测定^[3-6]，成为众多分析测试实验室的常规测试分析仪器，得到广泛推广和应用，已经建立了卫生防疫、水质分析和环境等系统的国家标准、行业标准和地方标准。然而，该仪器在本科实验教学中普及程度并不高。

为了让学生掌握氢化物发生-原子荧光分光光度计的工作原理及其使用方法，掌握氢化物发生-原子荧光光谱法的定量分析方法，了解不同原子光谱法的工作原理及应用领域，本实验中心于 2016 年参考国标(GB/T 5750.6-2006)开设了“氢化物发生-原子荧光光谱法测定水样中砷的含量”教学实验^[7]，作为化学相关专业本科生仪器分析实验的一个实验内容，共 4 个学时。

1 实验目的

- (1) 掌握氢化物发生-原子荧光分光光度计的工作原理及其使用方法。
- (2) 掌握氢化物发生-原子荧光光谱法测定砷的定量分析方法。
- (3) 理解仪器条件对分析方法的灵敏度和准确度等的影响，掌握最佳实验条件的选择方法。
- (4) 掌握分析方法学的建立，学会处理和分析数据。

2 实验原理

原子荧光光谱法是用激发光照射含有一定浓度的待测元素的原子蒸气，从而使基态原子跃迁到激发态，受激原子在去激发回到较低能态或基态过程中发射出一定波长的光辐射即原子荧光。通过测定所发射的原子荧光的强度即可求得待测元素的含量^[8,9]。

若激发光源发射的单色光是平行、均匀的光束且强度稳定，则照射到原子化器上的入射光强度是稳定的，可认为是一常数。假设原子化器产生原子蒸气是理想气体，忽略自吸效应。那么，荧光强度与基态原子浓度成正比，即：

$$I_{af} = \varphi_a A I_{oa} \epsilon L N$$

式中： I_{af} 为荧光强度； I_{oa} 为激发光强度； φ_a 为荧光量子效率，它表示单位时间内发射荧光光子数与吸收激发光光子数的比值，一般小于 1； A 为荧光照射在检测器上的有效面积； L 为吸收光程长度； N 为单位长度内的基态原子数； ϵ 为峰值摩尔吸光系数。

当实验条件固定时， N 与试样溶液中待测元素的浓度 c 成正比。所以在固定实验条件下，原子荧光强度与试样中待测元素浓度成线性关系。即：

$$I_{af} = \alpha c$$

式中 α 为常数。

原子荧光光谱定量分析的基本方程式，仅仅适用于低浓度的原子荧光分析。随着原子浓度的增加，由于谱线展宽效应(主要是多普勒变宽和劳伦茨变宽)、自吸和散射等因素的影响，使工作曲线出现弯曲偏离线性。

本实验中，氢化物发生-原子荧光光谱法测定自来水样中的砷，是先通过硫脲-抗坏血酸将水样

中的砷全部还原成砷(III)，在盐酸介质中，砷(III)与硼氢化钾反应生成砷化氢，由载气(氩气)将砷化氢带入石英原子化器中，过量氢气和氩气在点火装置作用下形成氩-氢火焰，砷化氢受热解离成原子态砷。在特制砷空心阴极灯的照射下，基态砷原子被激发至高能态，在去活化回到基态时，发射出特征波长的荧光，得到的荧光信号被光电倍增管接收，然后经放大，解调再由数据处理系统得到分析结果，如图 1 所示。在一定浓度范围内，其荧光强度与砷含量成正比，通过测量砷荧光强度即可求得砷含量。

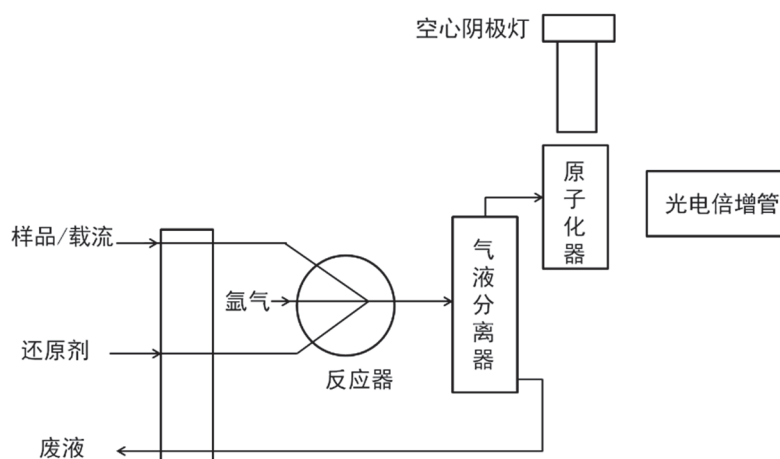


图 1 氢化物发生-原子荧光分光光度计结构图

载流: HCl, 还原剂: KBH_4

3 仪器与试剂

仪器: AFS-8230 型原子荧光分光光度计(北京吉天仪器有限公司); 高强度砷空心阴极灯(北京吉天仪器有限公司提供); 高纯氩气钢瓶(99.99%)。

试剂: 盐酸(优级纯), 硼氢化钾(含量>95%, 分析纯), 氢氧化钾(分析纯), 硫脲(分析纯), 抗坏血酸(分析纯), 以上试剂均购自国药集团化学试剂有限公司。1000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷标准贮备液购于国家标准物质中心。所用水为去离子水。自来水样为实验室现场采集。

4 实验步骤

4.1 试剂的配制

(1) 还原剂: 2% KBH_4 溶液(0.2% KOH 介质), 称取 1.0 g KOH 溶于 500 mL 去离子水中, 再加入 10.0 g KBH_4 , 溶解后混匀。现用现配。

(2) 载流: 5%盐酸, 量取 50 mL 浓盐酸, 用去离子水定容至 1000 mL。

(3) 1:1 盐酸, 量取 100 mL 盐酸与 100 mL 去离子水混匀。

(4) 硫脲-抗坏血酸溶液, 称取硫脲和抗坏血酸各 10 g 溶解于 100 mL 去离子水中。现用现配。

(5) 1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷标准使用溶液, 移取 1000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷标准贮备液 100 μL 于 100 mL 容量瓶中, 用去离子水定容并摇匀。

4.2 水样的采集

打开实验室中的自来水, 先放 3–5 min, 再用实验室准备的塑料瓶采集水样。

4.3 仪器的预热

按照仪器的使用方法启动仪器, 打开氩气钢瓶和仪器操作软件, 调节各实验参数, 点燃原子化器炉丝, 预热 20–30 min。仪器实验参数如表 1 所示。

表 1 仪器测定参数

仪器参数	数值
灯电流/mA	60
辅助电流/mA	30
负高压/V	-270
原子化器高度/mm	8
载气流量/(mL·min ⁻¹)	400
屏蔽气流量/(mL·min ⁻¹)	800
进样体积/mL	0.5

4.4 标准系列溶液的配制

于 5 个 50 mL 容量瓶中, 各加入 5.0 mL 的 1 : 1 盐酸和 5.0 mL 硫脲-抗坏血酸溶液, 然后分别加入 1.0 mg·L⁻¹ 砷标准使用液 0、0.10、0.20、0.40、0.50 mL, 然后用去离子水定容并摇匀。

4.5 水样试液的配制

于 50 mL 容量瓶中加入 25.00 mL 自来水样, 再依次加入 5.0 mL 1 : 1 盐酸和 5.0 mL 硫脲-抗坏血酸溶液, 然后用去离子水定容并摇匀。

4.6 原子荧光分光光度计最佳仪器条件的选择

配制 4.00 μg·L⁻¹ 砷标准溶液, 改变仪器条件的参数, 测定不同条件下 4.00 μg·L⁻¹ 砷标准溶液的荧光强度。

4.7 荧光强度的测定

配制的标准溶液和样品溶液放置至少 10 min 以后, 按仪器的使用方法逐个测量并记录各标准系列溶液和试液的荧光强度。绘制砷的标准工作曲线, 根据标准工作曲线计算出试液中砷的含量, 并计算水样中砷含量。

4.8 检出限、定量限和精密度的测定

将仪器测量方法转换成 Statistics 模式, 其余仪器条件不变(注: 检出限、定量限与精密度的测定在设定好的条件下不间断连续测量完成)。连续测量标准空白溶液 15 次, 取后 11 次测量的数据仪器自动计算标准偏差 SD, 测量上述标准系列, 做一工作曲线, 计算斜率 K 。连续测定 10.00 μg·L⁻¹ 砷标准溶液 15 次, 根据测量的数据计算相对标准偏差。

4.9 实验处理与实验报告

学生利用 Origin 软件处理实验数据, 绘制标准工作曲线, 计算回归方程、回归系数。学生按要求独立完成一份实验报告, 包括实验目的、实验原理、具体的实验步骤、原始数据、数据处理、结果分析和实验讨论。

5 结果与讨论

本文以实验教师某次准备实验记录数据为例, 对实验过程和结果进行如下总结和讨论。

5.1 原子荧光分光光度计最佳实验条件的选择

在原子荧光分析实验中, 测定条件的选择直接影响分析的灵敏度、准确度及干扰消除程度, 因此正确选择和严格控制实验条件是很重要的。原子荧光分光光度计的实验条件包括空心阴极灯灯电流、载气流量、屏蔽气流量、光电倍增管负高压和原子化器高度等很多方面, 更改某一参数时, 仪器一般需要一定时间进行自动设置, 如果每个参数都进行优化的话, 会消耗很多时间, 难以在规定的学时内完成实验。为了让学生了解仪器最佳实验条件的选择方法, 实验中考查了载气流速对荧光强度的影响, 以便选择最佳的载气流速。

氩气将氢化物反应生成的砷化氢吹出气液分离器, 带入原子化器中将砷化氢原子化。氩气不仅是载气, 还是氩-氢火焰的组成部分。载气流速太小, 不能形成氩-氢火焰, 所以载气流速从 300 mL·min⁻¹

开始。用 $4.00 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷标准溶液, 固定其他仪器条件, 以不同的载气流速(300、400、500、600 和 $700 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$)测定相应的荧光强度。实验结果如图 2 所示, 载气流速为 $400 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时, 荧光强度最强。载气流速过低, 难以迅速将砷化氢带入原子化器, 会产生气相干扰, 火焰不稳定。载气流速过高则稀释了砷化氢和氢气, 产生的基态砷原子蒸气在原子化器中停留时间短, 荧光强度也会降低。所以本实验选择载气流速设置为 $400 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

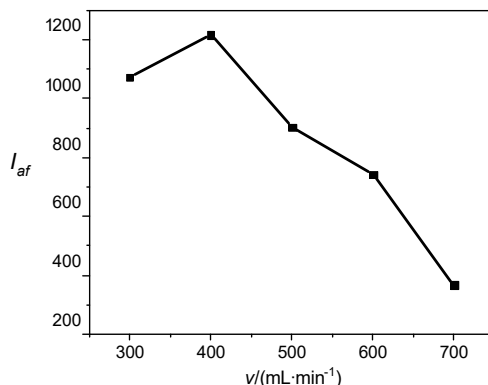


图 2 载气流速对砷荧光强度的影响

在仪器工作条件选择环节中, 更改参数可直接观察到测量结果的变化, 可启发学生的学习兴趣, 引导学生对不同条件下得到的实验结果进行比较和讨论, 有利于学生加深对基础知识、原理的掌握和理解, 培养学生的观察和思维能力。

5.2 分析方法学的测定

5.2.1 标准工作曲线的建立

配制 0.00 、 2.00 、 4.00 、 8.00 和 $10.00 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷标准溶液, 分别测定荧光强度。以砷浓度为横坐标, 荧光强度为纵坐标, 建立标准工作曲线, 如图 3 所示, 在 0 – $10.00 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围内, 荧光强度与砷浓度有线性相关关系, 相关系数 r 为 0.9975 。

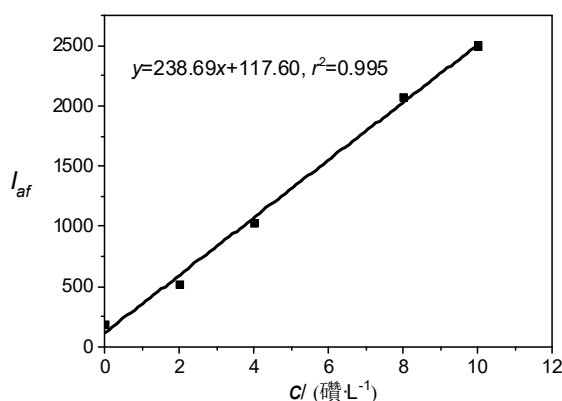


图 3 测定砷的标准工作曲线

5.2.2 检出限和定量限的测定

在光谱分析中, 检出限(limit of detection, LOD)是指能用该分析方法以给定置信度(通常取置信度 99.7%)检测出被测组分的最小量或最小浓度, 通常是以 $\text{LOD} = 3 \times \text{SD}/K$ 计算, SD 是连续测量标准空白溶液足够多次的标准偏差, K 是校正曲线的斜率。定量限(limit of quantitation, LOQ)是指用

该分析方法能准确定量被测组分的最小浓度, 其测量结果具有一定准确度和精密度, 按公示 $LOQ = 10 \times SD/K$ 计算。通过连续测量标准空白溶液 15 次, 取后 11 次测量的数据仪器自动计算标准偏差 SD, 测量标准溶液系列计算标准工作曲线斜率 K , 计算出检出限为 $0.05 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 定量限为 $0.16 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

5.2.3 精密度的测定

精密度是指多次重复测定同一量时各测定值之间彼此相符合的程度, 它反映了分析方法存在的随机误差的大小, 常用相对标准偏差来表示。连续测定 $10.00 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷标准溶液 15 次, 根据测量的数据计算相对标准偏差为 2.1%。

在仪器分析实验教学中, 增加方法学考查的内容, 如线性范围、检出限、定量限和精密度等, 让学生学会建立完整的分析方法学, 将来学生步入社会之后, 才能在以后的工作岗位中胜任分析方面的工作, 面对陌生的分析物才能知道如何分析^[10]。

5.3 自来水的分析

利用建立的标准工作曲线计算出试液中砷的含量, 进而计算出原自来水中砷的含量为 $0.09 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 高于方法的检出限 $0.05 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 但低于方法的定量限 $0.16 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 说明该自来水样中含有砷含量, 但浓度 $< 0.16 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。根据国家《生活饮用水卫生标准》(GB 5749-2006), 生活饮用水中砷限量为 $0.01 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 说明本地的自来水中砷含量远远小于国家标准中要求的限量值, 优于国家标准。

通过对实验结果的分析, 学生了解了检出限和定量限的意义。在检测工作中, 当样品测定值低于定量限, 高于检出限时, 按“<定量限”出具报告, 并给出定量限的量值; 当样品测定值低于方法检出限的测量值, 按“未检出”出具结论, 并给出检出限的量值。并学会如何通过查找资料, 运用所学基础知识积极思考, 去解决学习和生活中遇到的实际问题, 培养学以致用意识。

6 思考题

- (1) 在测定砷的含量时, 为什么加硫脲-抗坏血酸溶液?
- (2) 若试样中同时含有三价砷和五价砷, 怎样才能分别测出它们各自的含量?
- (3) 原子吸收分光光度计和原子荧光分光光度计在构造上有何异同点?

7 实验教学建议

实验配制溶液过程中, 会用到高浓度盐酸等腐蚀性溶液, 须叮嘱学生需要佩戴防护手套等防护用品操作。本实验所用的玻璃器皿在使用之前均需要用 10% HNO_3 浸泡过夜, 再依次用自来水、去离子水洗涤干净, 必须专门专用, 谨防被污染。

本实验自 2016 年以来已经运行 4 轮, 分成每 6 人一个大组, 2 人一个小组共同完成实验, 原子荧光分光光度计有 1 台, 采用循环模式进行实验教学, 共 4 个学时。学生在规定的实验教学时间内自己动手操作, 练习了移液、定容等配制溶液相关实验基本技能, 再上机操作实验。通过本实验, 学生基本掌握了原子荧光光谱法的实验原理、定量方法以及分析条件的优化, 学会了建立完整的分析方法学, 包括校正曲线的线性范围, 方法的检出限、定量限和精密度等, 提高了学生的学习兴趣 and 动手能力。在实验过程中我们也强调了对原子荧光分光光度计的维护和保养, 培养学生对大型仪器的维护概念和意识, 并初步培养学生的科研意识和能力。

8 结语

本文介绍了将氢化物发生-原子荧光光谱法实验作为本科仪器分析实验的一个教学内容, 在 4 年 (2016-2019 年) 的教学实践中取得了良好的教学效果。通过对自来水样中元素砷的测定, 提高了学生的学习兴趣 and 实验技能, 还可以进一步引导学生完成其他元素的测定和对其他实际样品的测定, 使学生主动去探究和学习原子荧光光谱法在分析检测中的应用, 深入理解体会不同原子光谱方法的特点

和应用领域。学生毕业后，不管是继续深造还是工作，能比较容易地依靠仪器分析实验所学知识选择相应的分析方法来满足实际需求。

参 考 文 献

- [1] 王健英, 唐莹, 李俊松. 实验科学与技术, **2012**, 10 (5), 120.
- [2] 冯国栋, 宋志光, 郭玉鹏. 大学化学, **2017**, 32 (9), 41.
- [3] 王玉云, 赵兵. 四川环境, **2018**, 37 (6), 102.
- [4] 吕莉, 李源, 井美娇, 马梦丹, 彭玥晗, 秦顺义, 李留安. 光谱学与光谱分析, **2019**, 39 (2), 607.
- [5] 刘冰冰, 韩梅, 贾娜, 张辰凌, 刘佳. 理化检验(化学分册), **2019**, 55 (6), 644.
- [6] Grijalba, A. C.; Fiorentini, E. F.; Martinez, L. D.; Wuilloud, R. G. *J. Chromatogr. A* **2016**, 1462, 44.
- [7] GB/T 5750.6-2006. 生活饮用水标准检验方法, 金属指标. 30-31.
- [8] 邓勃, 迟锡增, 刘明钟, 李玉珍. 应用原子吸收与原子荧光光谱分析. 第1版. 北京: 化学工业出版社, 2003: 28-30.
- [9] 杨孙楷, 苏循荣, 林竹光. 仪器分析实验. 第1版. 厦门: 厦门大学出版社, 1996: 140-141.
- [10] 刘浩然. 大学化学, **2017**, 32 (2), 25.