

三维荧光光谱研究溶解有机质与汞的相互作用

傅平青^{1,2}, 刘丛强¹, 吴丰昌¹

(1. 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, 贵阳 550002; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要:随着荧光光谱技术的进展, 三维荧光光谱被广泛应用于研究各种天然水体中溶解有机质(包括腐殖质)的各种环境行为. 本文利用三维荧光光谱和荧光猝灭滴定技术研究河流溶解有机质与 Hg(II) 的相互作用. 结果表明, 溶解有机质中含有的 3 种类型荧光基团都能够不同程度地被 Hg(II) 猝灭, 并采用非线性回归分析拟合出 Hg(II) 与 3 种荧光基团之间的条件稳定常数. pH 值对 Hg(II)-DOM 体系具有显著影响. Cl⁻ 对 Hg(II)-DOM 体系具有强烈的竞争作用. Ca(II) 能够使 Hg(II)-DOM 体系荧光增强, 而 Mg(II) 对之影响很小. 此外, Cu(II) 与 Hg(II) 都是 DOM 的荧光猝灭剂, 但是其猝灭机理存在差异.

关键词:溶解有机质; 三维荧光光谱; 荧光猝灭滴定; 配位作用

中图分类号: X132 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2004)06-0140-05

Three-Dimensional Excitation Emission Matrix Fluorescence Spectroscopic Characterization of the Complexation Between Mercury (II) and Dissolved Organic Matter

FU Ping-qing^{1,2}, LIU Cong-qiang¹, WU Feng-chang¹

(1. The State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China; 2. The Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: With the development of fluorescence technique, three-dimensional excitation emission matrix fluorescence spectroscopy (3DEEM) was widely applied to characterize the nature of dissolved organic matter (DOM) in natural waters since the last decade. 3DEEM and fluorescence quenching titration were used to study the interaction between Hg(II) and DOM. The results show that a general decrease in intensity for individual peak A, B and C was found as concentrations of Hg(II) increased. pH is the main parameter that strongly influences the Hg(II)-DOM complexation. The addition of Cl⁻ ion to the Hg(II)-DOM system caused an increase in fluorescence intensity. The results also show that the addition of Ca(II) solution strongly enhanced the fluorescence intensity for humic-like fluorescence, while the protein-like fluorescence only slightly enhanced. On the contrary, no fluorescence enhancement was found in the Hg(II)-DOM system after the addition of Mg(II) ion. A decrease in fluorescence emission intensity was found after the addition of Cu(II) ion to the Hg(II)-DOM solution.

Key words: dissolved organic matter; three-dimensional excitation emission matrix fluorescence spectroscopy; fluorescence quenching titration; complexation

溶解有机质(dissolved organic matter, DOM)能够影响水环境中痕量金属离子的物理迁移、化学转化以及生物可利用性^[1-12]. 为了预测金属离子在水体中的环境地球化学行为, 研究 DOM 与金属离子之间的相互作用就显得非常重要. 荧光光谱^[3,5]是研究它们之间相互作用的比较灵敏而有效的方法之一. 而水体汞污染是一个有关生态和人类健康的全球性问题. 过去几十年中, 人们对汞的生物地球化学循环进行了卓有成效的工作, 但欲彻底理解其在水生生态系统和陆地生态系统中的迁移转化过程尚存困难. 目前, 有机结合态汞和甲基汞的研究已成为环境和地球科学领域的研究热点和难点之一^[5,9,11,12]. 近些年来, 三维荧光光谱(three-dimensional excitation emission matrix fluorescence spectroscopy, 3DEEM)被成功应用于研究 DOM 与重金

属离子的相互作用^[3,13]. 相对于传统的荧光光谱, 3DEEM 的优点在于对多组分复杂体系(如腐殖质)中荧光光谱(激发/发射, Ex/Em)重叠的对象进行光谱识别和表征^[6,7,14,15]. 基于顺磁性金属离子(如 Cu²⁺, Hg²⁺, Zn²⁺ 等)能够使 DOM 产生荧光猝灭的原理, 本文利用 3DEEM 和荧光猝灭滴定方法研究了 DOM 中不同荧光基团与 Hg(II) 的配位作用. 同时, 还研究了 pH、Cl⁻、Cu(II)、Ca(II) 和 Mg(II) 对 Hg(II)-DOM 体系配位作用的影响.

收稿日期: 2003-12-10; 修订日期: 2004-03-15

基金项目: 中国科学院“百人计划”项目; 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KZCX2-105); 国家 973 项目(2002CB412300)

作者简介: 傅平青(1974-), 男, 博士研究生, 主要研究方向为环境地球化学. Email: pqufu@mail.gyig.ac.cn.

1 样品与方法

1.1 样品采集与处理

溶解有机质样品于 2003 年 1 月采自贵阳市南明河下游乌当桥. 南明河是贵阳市的主要排污河流, 其水质受上游农田排灌以及流经贵阳市区时的城市生活污水、工业废水等污染. DOM 样品在采集后立即运回实验室, 并用预先灼烧(450℃灼烧 5h)过的 GF/F 玻璃纤维滤膜(Whatman, UK)过滤, 然后保存在 4℃冰箱里.

1.2 化学分析及实验

所有实验用水均为 Milli-Q 超纯水(Millipore, 18.2 MΩ·cm). 使用奥立龙 818 型 pH 计进行 pH 值测定; 碘量法测定溶解氧(DO); 硅钼黄光度法测定溶解态硅(以 SiO₂ 表示); 原子吸收光谱法(AAS)测定 K、Na、Ca 和 Mg; 冷原子荧光法(CVAFS)测定 Hg(II); 高温催化氧化法测定溶解有机碳(DOC)含量, 仪器为 High TOC II (Elementar, Germany). 利用高效体积排阻色谱法(HPSEC)测定 DOM 样品的重均分子量 M_w , 色谱系统为 HP1100.

使用带有 1cm 石英荧光样品池的高灵敏度荧光光谱分析仪(Hitachi F-4500, Japan)进行 3DEEM 测定. 激发光源为 150W 氙弧灯; 带通(bandpass): $E_x = 5\text{nm}$, $E_m = 10\text{nm}$; 响应时间: 自动; 扫描速度: 1 200nm/min; 扫描光谱进行仪器自动校正. 激发波长范围为 $E_x = 250 \sim 400\text{nm}$ (间隔 5nm), 发射波长范围为 $E_m = 300 \sim 550\text{nm}$ (间隔 2nm). 样品测定前保持温度恒定(恒温水浴 20℃ ± 1℃). 所测结果均扣除实验空白(相同条件下 Milli-Q 超纯水的 3DEEM). 应用 SigmaPlot 软件进行 3DEEM 处理.

荧光猝灭滴定实验: 取 18 个 30mL 聚丙烯瓶(Nalgene, USA), 后各移取 20mL 溶解有机质样品, 再往每个瓶中滴加浓度为 0.01mol/L 或 0.05mol/L

的 Hg(NO₃)₂ 溶液, 使 [Hg²⁺] 依次分布在 0μmol/L ~ 32μmol/L 之间. 使用 2 种浓度(0.1mol/L 和 1mol/L)的 HClO₄ 和 NaOH 溶液调节样品 pH = 8.0 ± 0.05, 加入的酸碱试剂总量不超过 100μL, 忽略浓度稀释效应. 另外, 为了检验 Cu(II), Ca(II) 和 Mg(II) 对 Hg(II)-DOM 的竞争作用, 首先使 DOM 样品通过 H⁺ 型阳离子交换柱(Dowex 50W-X8, Bio-Rad AG)以去除原始水样中的主要金属离子. 使用荧光发射光谱测定竞争作用系列实验, 激发波长 $E_x = 335\text{nm}$. 以上样品均置于黑暗处振荡平衡 24h 后测定其 3DEEM 及荧光发射光谱.

2 实验结果与讨论

2.1 溶解有机质的基本参数

样品的基本理化参数见表 1. DOC 含量为 3.12mg/L, 属于典型的河流 DOC 含量范围. 相对分子量 M_w 为 2297.

2.2 溶解有机质的荧光特性

荧光特性是描述水环境中溶解有机质的来源和组成的重要参数^[6,7,14,15]. 利用荧光发射光谱研究不同来源的溶解有机质时, 通常可得到宽而无特征的荧光峰. 而利用三维荧光光谱(2 种表示方式: 三维投影图: 3D plot; 等高线图: Contour plot, 见图 1) 则可以发现, DOM 样品具有 3 个明显的荧光峰: peak A 的激发波长在 310 ~ 320 nm, 发射波长在可见光区; peak B 的激发波长在紫外光区(230 ~ 250 nm), 发射波长在可见光区; peak C 的激发波长和发射波长均在紫外光区. 前人对 DOM 的 3DEEM 研究表明^[6,7,14,15], peak A ($E_x/E_m = 330/426\text{nm}$) 属于可见区类富里酸荧光(visible fulvic-like), peak B ($E_x/E_m = 245/436\text{nm}$) 属于紫外区类富里酸荧光(UV fulvic-like), 而 peak C ($E_x/E_m = 275/346\text{nm}$) 属于类蛋白荧光(protein-like).

表 1 溶解有机质样品的基本理化参数/mg·L⁻¹

Table 1 Some basic characteristics of the DOM sample/mg·L⁻¹

pH	DO	DOC	K ⁺	Na ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Hg ²⁺ /μg·L ⁻¹	SiO ₂	Chla	E ₃ /E ₄	M _w /Da
7.90	1.36	3.12	6.70	10.46	73.1	16.2	0.122	6.27	1.36	1.198	2297

2.3 Hg(II)-DOM 的配位作用

Yin 等^[2]的研究表明, 在较高 pH 条件下, Hg(II) 以 [Hg(OH)₂]⁰ 形态存在于水溶液中, 而且由于 DOM 样品 Ca²⁺ 离子浓度也很高(见表 1), 而 Ca²⁺ 离子与腐殖酸的亲合力很强^[16], 所以 Hg(II) 对 DOM 的荧光猝灭反应比较慢. 在避光条件下振荡反应 24h 后, 随着 Hg(II) 浓度的增加, DOM 的 3

种荧光峰 A、B、C 的荧光强度都随着 Hg(II) 浓度的增加而下降(见图 1 和图 2), 表明 Hg(II) 与 DOM 之间发生了配位作用.

为了定量描述 Hg(II)-DOM 配位作用, Esteves da Silva 以及其它学者^[4,5,17] 都假设 Hg(II) 与 DOM 形成 1:1 配合物, 并利用修正型 Stern-Volmer 方程^[4]来计算配位稳定常数. 公式如下:

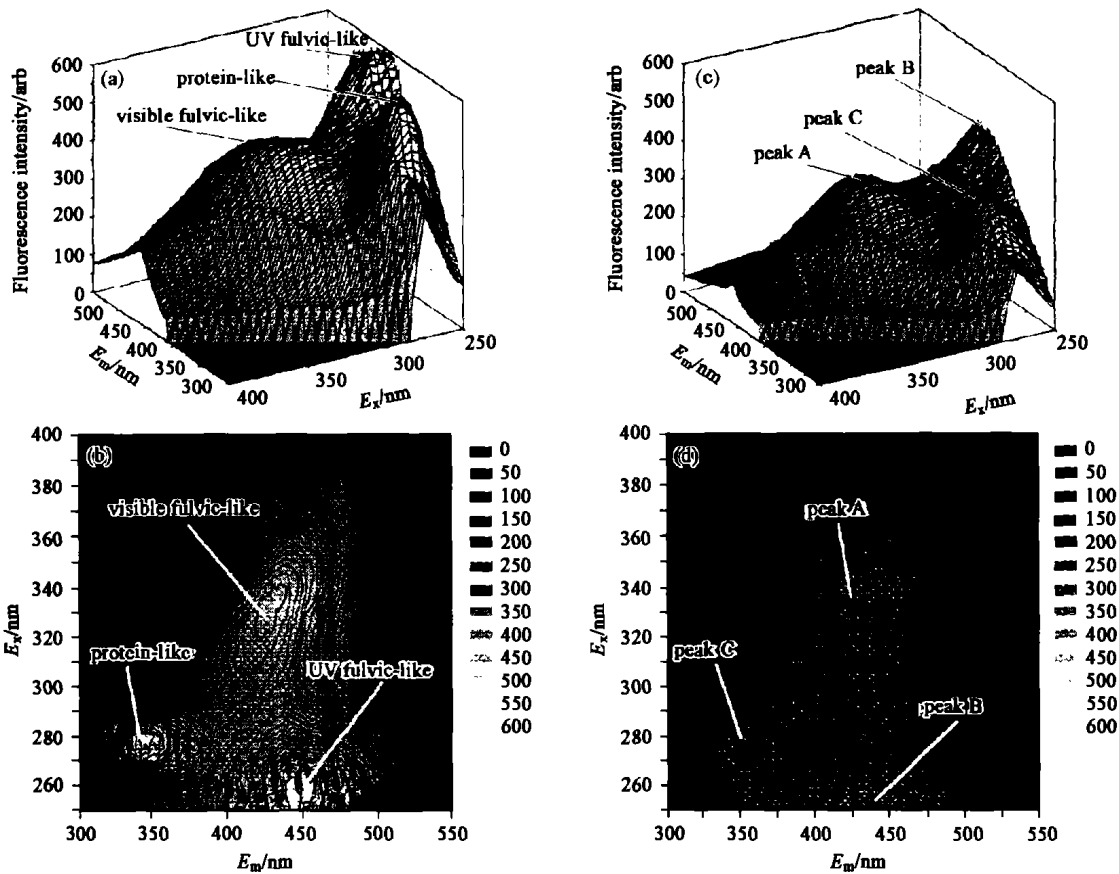


图 1 乌当桥 DOM 样品的三维荧光光谱图[其中 a, c 为三维投影图; b, d 为等高线图(a, b 为原始 DOM 样品; c, d 为加入 $30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}[\text{Hg}^{2+}]$]
Fig. 1 3D(top) and contour (bottom) plots of Wudangqiao DOM sample without(left) and with(right) $30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}[\text{Hg}^{2+}]$

$$F_0/\delta F = 1/(fK^{[\text{Hg}]}) + 1/f \quad (1)$$

这里 F_0 和 F 是 DOM 样品在没有滴加 $\text{Hg}(\text{II})$ 以及滴加 $\text{Hg}(\text{II})$ 后的荧光强度. $\delta F = F_0 - F$, 而 f 是被金属离子配位的荧光基团的比例, K 是条件稳定常数. 对于乌当桥 DOM 样品的 3 个荧光峰, $F_0/\delta F$ 与 $1/\text{Hg}^{2+}$ 之间都显示出很强的线形关系(图 3), 结果见表 2.

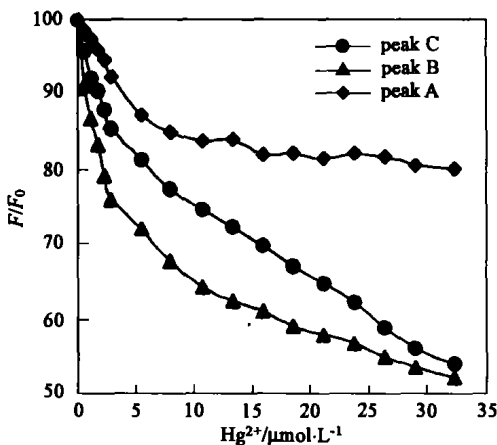


图 2 $\text{Hg}(\text{II})$ 对 DOM 中不同荧光基团的荧光猝灭作用

Fig. 2 $\text{Hg}(\text{II})$ quenching titration with different fluorescent peaks

该实验表明, 在天然水环境中, 溶解有机质(包括腐殖质)的确是 $\text{Hg}(\text{II})$ 的强有机配位体, 条件稳

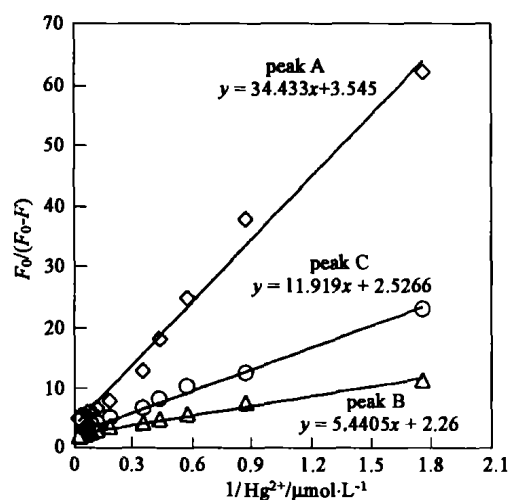


图 3 DOM 样品的修正型 Stern-Volmer 曲线

Fig. 3 Typical modified Stern-Volmer plots for the DOM sample 定常数与其他文献报道基本一致^[2,5,17]. 更重要的是, 本实验结果还显示, 农田污水和城市生活污水来源的蛋白类物质^[13], 即 3DEEM 中的类蛋白荧光物质, 也是 $\text{Hg}(\text{II})$ 的强配位体之一. 之前 Hsu 和 Sedlak^[11] 研究指出, 城市污水经处理后的排出液中含有强的 $\text{Hg}(\text{II})$ 配位体, 但是并未说明是类蛋白物质.

2.4 pH 对 $\text{Hg}(\text{II})$ -DOM 配位作用的影响

表 2 三维荧光光谱中不同荧光峰的配位作用参数

Table 2 Complexation parameters of the peaks of 3DEEM spectra

peaks	$E_x/E_m/nm$	$\log K$	$f/\%$	R^2
A	330/426	5.01	28.2	0.9898
B	245/436	5.62	44.2	0.9851
C	275/346	5.33	39.6	0.9911

在水环境中, pH 是影响 Hg(II) 形态主要参数之一^[12]。一般而言, 在酸性 pH 条件下, Hg 以自由态 Hg(II) 离子存在; 在更高 pH 时, Hg(II) 可以水解形成 $[Hg(OH)]^+$ 和 $[Hg(OH)_2]^0$ 。图 4 显示, pH 对于荧光峰 A、B 和 C 的影响趋势基本一致。当 pH 在 8.5~9.5 时, 3 种荧光峰的荧光强度随 pH 增大而增大, 之后由于 Hg(II) 水解作用, 荧光强度逐渐呈下降趋势。这一现象与前人研究不同来源的 DOM 结论相符^[5]。pH = 8.0 左右时, 类腐殖酸荧光和类蛋白荧光都被猝灭, 说明 Hg(II)-DOM 之间发生强配位作用。当 pH 从 7.5 降到 4.0 左右时, 类蛋白荧光 (peak C) 强度比较平稳, 与 pH 关系不大, 这与溶解态腐殖酸键合甲基汞的行为一致^[9]; 而 peak A 和 peak B 荧光强度在 pH 从 7.5 到 4.0 过程中呈明显上升趋势, 说明随着溶液酸性增强, $[H^+]$ 把 Hg(II) 从 Hg(II)-DOM 体系置换出来, 导致荧光强度增强。随着 pH 从 3.0 降到 2.0, 由于 DOM 所含酸性基团的质子化作用, peak A 和 peak B 的荧光猝灭作用增强。有趣的是, peak C 显示出相反的趋势, 说明在 pH 小于 3 时, Hg(II) 与类蛋白配位体之间的配位作用几乎没有发生。

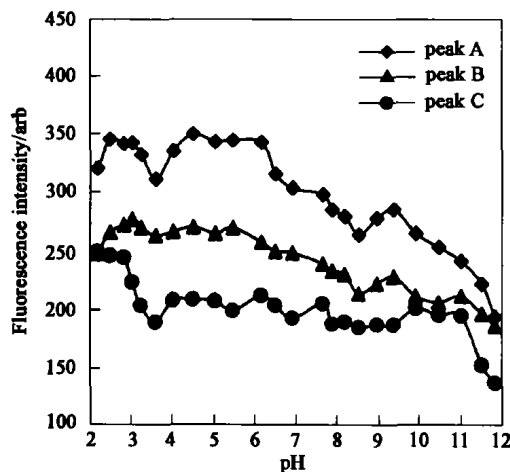


图 4 pH 对 Hg(II)-DOM 配位作用体系荧光强度的影响 ($[Hg^{2+}] = 15 \mu mol \cdot L^{-1}$)

Fig. 4 Influence of pH on the fluorescence

of Hg(II)-DOM complexation ($[Hg^{2+}] = 15 \mu mol \cdot L^{-1}$)

2.5 Cl^- 、 $Ca(II)$ 、 $Mg(II)$ 和 $Cu(II)$ 对 Hg(II)-DOM 配位作用的影响

在天然水体中, 同时存在着 DOM、 Cl^- 和 OH^- 等金属离子配位体。 Cl^- 离子可以与 Hg(II) 之间配

位形成 $HgCl_n$, 其中 n 值随着 Cl^- 浓度变化而不同。DOM 的荧光发射光谱 ($E_x = 335nm$) 强度最大值约在 $E_m = 430nm$ 处。利用 $E_x/E_m = 335/430nm$ 处的荧光猝灭实验结果 (见图 5) 显示, pH = 7.50 或 9.50 时, 往 Hg(II)-DOM 体系中加入 Cl^- , 都使体系荧光强度增强, 说明 DOM 与 Cl^- 之间对 Hg(II) 存在竞争作用, Cl^- 的加入使 Hg(II) 从 Hg(II)-DOM 体系中释放出来, 这与 Lu 和 Jaffe^[5] 的研究结果相一致。从图 5 还可看出, 当 pH = 7.50 时, Cl^- 对 Hg(II)-DOM 体系的竞争作用比 pH = 9.50 时更强。

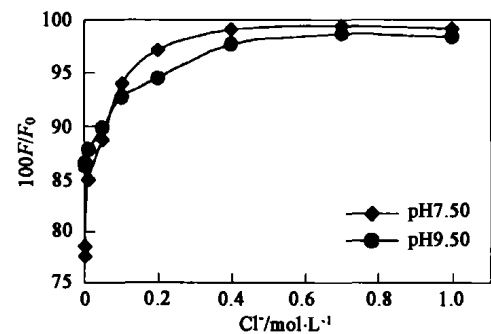


图 5 Cl^- 对 Hg(II)-DOM 配位作用的影响 ($[Hg^{2+}] = 15 \mu mol \cdot L^{-1}$)

Fig. 5 Influence of Cl^- on the Hg(II)-DOM complexation ($[Hg^{2+}] = 15 \mu mol \cdot L^{-1}$)

使用 Dowex 50W-X8 型阳离子交换树脂^[5] 去除 DOM 样品中的二价和三价阳离子后发现, 原始 DOM 样品的荧光强度降低了 30%, 说明天然水体中存在的主要金属离子能够起到荧光增强作用。虽然 $Ca(II)$ 、 $Mg(II)$ 等离子与 DOM 的键合作用没有 Hg(II) 那么强, 但是水体中这些主要离子含量很高, 对 Hg(II)-DOM 配位作用的影响不容忽视。图 6 显示, $Ca(II)$ 能够显著增强类腐殖酸荧光, 对类蛋白荧光的增强作用不明显。相反地, $Mg(II)$ 对 Hg(II)-DOM 体系的荧光强度几乎没有影响, 说明在实验条件下, Hg(II) 和 $Mg(II)$ 之间与 DOM 的竞争作用很弱, 而 $Ca(II)$ 与 Hg(II) 的竞争作用相对较强。对于 DOM 中 $Cu(II)$ 有机配位体的研究已有不少^[6~8, 18]。应用荧光发射光谱研究 $Cu(II)$ 对 Hg(II)-DOM 体系的竞争作用时发现, 随着 $Cu(II)$ 浓度增加, Hg(II)-DOM 体系荧光强度减弱 (图 7)。这是因为 $Cu(II)$ 是比 Hg(II) 更强的荧光猝灭剂。另外一个原因可能是由于 Hg(II)、 $Cu(II)$ 与 DOM 中发生配位反应的荧光基团是不一样的。在天然水体条件下, $Cu(II)$ 主要与 DOM 中的酚基而不是酸性更强的羧基结合^[10], 而 Hg(II) 主要与 DOM 中的含有硫醇的双齿螯合基团以及其它含 O、N 或 S 的基团键合。因此, $Cu(II)$ 的加入能够额外地猝灭

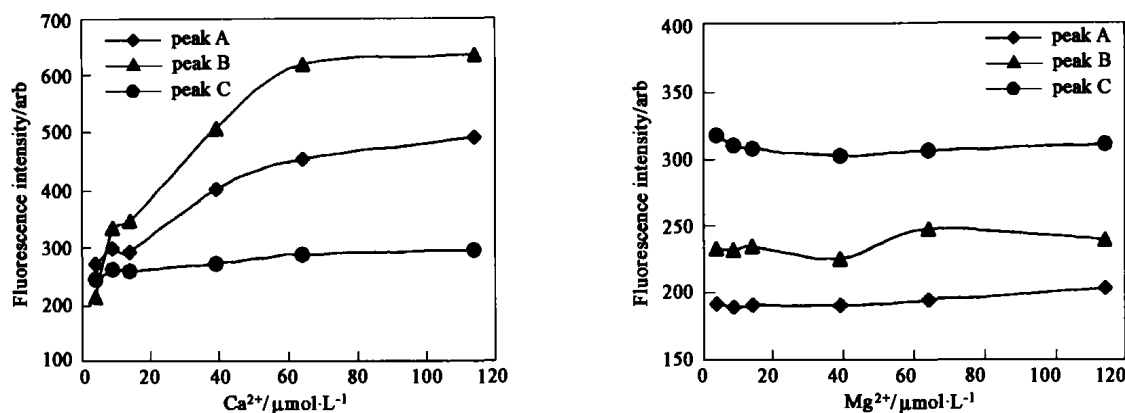


图 6 Ca(II) 和 Mg(II) 对 Hg(II)-DOM 配位作用的影响 ($[Hg^{2+}] = 15 \mu mol \cdot L^{-1}$)

Fig. 6 Influence of Ca(II) and Mg(II) on the Hg(II)-DOM complexation ($[Hg^{2+}] = 15 \mu mol \cdot L^{-1}$)

Hg(II)-DOM 体系的荧光.

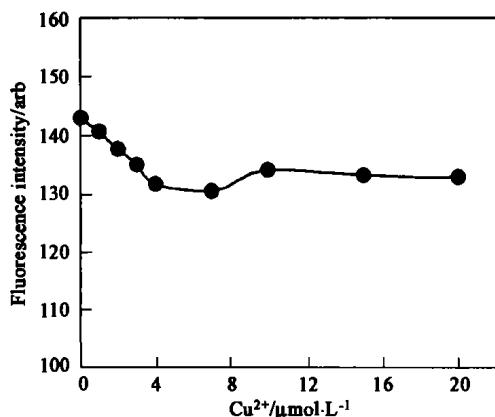


图 7 Cu(II) 对 Hg(II)-DOM 配位作用的影响

($[Hg^{2+}] = 15 \mu mol \cdot L^{-1}$, pH = 7.5)

Fig. 7 Influence of Cu(II) on the Hg(II)-DOM complexation

($[Hg^{2+}] = 15 \mu mol \cdot L^{-1}$, pH = 7.5)

参考文献:

- [1] Ryan DK, Weber JH. Copper(II) complexing capacities of natural waters by fluorescence quenching[J]. Environ. Sci. Technol., 1982, 16: 866~872.
- [2] Yin Y, Allen HE, Huang CP, *et al.* Interaction of Hg(II) with soil-derived humic substances[J]. Anal. Chim. Acta, 1997, 341: 73~82.
- [3] Luster J, Lloyd T, Sposito G. Multi-wavelength molecular fluorescence spectrometry for quantitative characterization of copper(II) and aluminum(III) complexation by dissolved organic matter[J]. Environ. Sci. Technol., 1996, 30: 1565~1574.
- [4] Esteves da Silva JCG, Machado AASC, Oliveira CJS, *et al.* Fluorescence quenching of anthropogenic fulvic acids by Cu(II), Fe(III) and UO_2^{2+} [J]. Talanta, 1998, 45: 1155~1165.
- [5] Lu X, Jaffe R. Interaction between Hg(II) and natural dissolved organic matter: A fluorescence spectroscopy based study[J]. Water Research, 2001, 35(7): 1793~1803.
- [6] Wu FC, Midorikawa T, Tanoue E. Fluorescence properties of organic ligands for copper(II) in Lake Biwa and its rivers[J]. Geochemical Journal, 2001, 35: 333~346.
- [7] Wu FC, Tanoue E. Isolation and partial characterization of dissolved copper-complexing ligands in streamwaters[J]. Environ. Sci. Technol., 2001, 35: 3646~3652.
- [8] Wu FC, Evans RD, Dillon PJ. Fractionation and characterization of fulvic acid by immobilized metal ion affinity chromatography[J]. Anal. Chim. Acta, 2002, 452: 85~93.
- [9] Amirbahman A, Reid AL, Haines TA, *et al.* Association of methylmercury with dissolved humic acids[J]. Environ. Sci. Technol., 2002, 36: 690~695.
- [10] Lu Y, Allen HE. Characterization of copper complexation with natural dissolved organic matter (DOM)-link to acidic moieties of DOM and competition by Ca and Mg[J]. Water Research, 2002, 36: 5083~5101.
- [11] Hsu H, Sedlak DL. Strong Hg(II) complexation in municipal wastewater effluent and surface waters[J]. Environ. Sci. Technol., 2003, 37: 2743~2749.
- [12] Haitzer M, Aiken GR, Ryan JN. Binding of mercury(II) to aquatic humic substances: Influence of pH and source of humic substances[J]. Environ. Sci. Technol., 2003, 37: 2436~2441.
- [13] Nagao S, Aoyama M, Watanabe A, *et al.* Fluorescence quenching studies of Eu-humic complexes by three-dimensional excitation emission matrix spectroscopy[J]. Analytical Sciences, 2001, 17: 1585~1588.
- [14] Coble PG. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy[J]. Marine Chemistry, 1996, 51: 325~346.
- [15] Baker A. Fluorescence excitation-emission matrix characterization of some sewage-impacted rivers[J]. Environ. Sci. Technol., 2001, 35: 948~953.
- [16] Hering JG, Morel FMM. Humic acid complexation of calcium and copper[J]. Environ. Sci. Technol., 1988, 22: 1234~1237.
- [17] Wu FC, Cai YR, Evans RD, *et al.* Complexation between Hg(II) and dissolved organic matter in stream waters: An application of fluorescence spectroscopy[J]. Biogeochemistry, 2004, in press.
- [18] Wu FC, Tanoue E. Molecular mass distribution and fluorescence characteristics of dissolved organic ligands for copper(II) in Lake Biwa, Japan[J]. Organic Geochemistry, 2001, 32: 11~20.

3 结论

应用三维荧光光谱(3DEEM)和荧光猝灭滴定技术研究了 Hg(II) 与 DOM 之间的相互作用. 结果表明, 3DEEM 能够提供 DOM 中不同荧光基团与 Hg(II) 配位的光谱信息. 应用修正型 Stern-Volmer 模型可以求得不同荧光基团与 Hg(II) 的条件稳定常数. 由于天然水体的水化学条件存在差异, 水环境中汞的地球化学行为受到诸如 DOM、 Cl^- 、Ca(II)、Mg(II)、Cu(II) 等离子或配位体的影响和控制. pH 值不仅对 DOM 本身的结构和荧光特性有影响, 而且对 Hg(II)-DOM 之间的相互作用具有显著影响. Cl^- 能与 Hg(II) 之间配位形成 $HgCl_n$, 所以对 Hg(II)-DOM 体系具有强烈的竞争作用. Ca(II) 能够使 Hg(II)-DOM 体系荧光增强, 而 Mg(II) 对之影响很小. 此外, 本研究还表明, Cu(II) 与 Hg(II) 都是 DOM 的荧光猝灭剂, 但是其猝灭机理存在差异.