

EasySensor HR-Peeper 操作指南

1、技术原理与发展

1976 年, Hesslein^[1]根据内外膜渗透平衡原理发明了 Peeper 采样技术, 在研究间隙水物化特性方面得到了广泛的应用。Peeper 装置的主体由很多相同体积的小室组成, 小室两侧分别覆盖一层滤膜($0.45\mu\text{m}$), 小室内预先封装采样介质(如去离子水或电解质溶液), 并进行充氮去氧后插入沉积物中。利用滤膜的特性, 使沉积物孔隙水中一些可溶离子和分子通过滤膜与 Peeper 装置中的采样介质进行物质交换, 放置一段时间后达到平衡^[2,3], 通过测定小室内溶液浓度来计算间隙水中离子浓度。

Peeper 技术的主要优点是可从湿地土壤或沉积物等胶体物质中分离出可溶性目标物质, 而不影响其原有特性, 不对环境造成污染^[4]。传统 Peeper 技术采样的空间分辨率一般为厘米级, 平衡时间 20d 以上, 对于空间异质性异常突出、近表层污染反应较为迅速的沉积物而言显然是不够的, 也使得通过间隙水剖面计算得到的界面交换通量可能存在非常大的误差。针对以上缺点, 研究者对 Peeper 装置进行了改进, 发展了高分辨率 HR-Peeper, 在沉积物中仅需要平衡 2~3d, 大大缩小了平衡时间, 提高了分辨率, 满足了高时空分辨信息的获取要求^[5,6,7]。

本公司根据 Peeper 平衡原理研发出 EasySensor HR-Peeper, 适用于沉积物和湿地土壤, 用于分析剖面垂向分布信息, 分辨率可达到 5mm, 具体参数如下表:

长度	宽度	分辨率	平衡时间	取样体积	取样个数	滤膜
20cm	4cm	5mm	48h	400 μL	36 个	PVDF

2、HR-Peeper 结构与组装

2.1 HR-Peeper 结构

如下图 1 为 HR-Peeper 的外壳结构, (a)为正面各组成部分, 1/2/3/4 依次叠加; (b)为横切面与组装后效果。

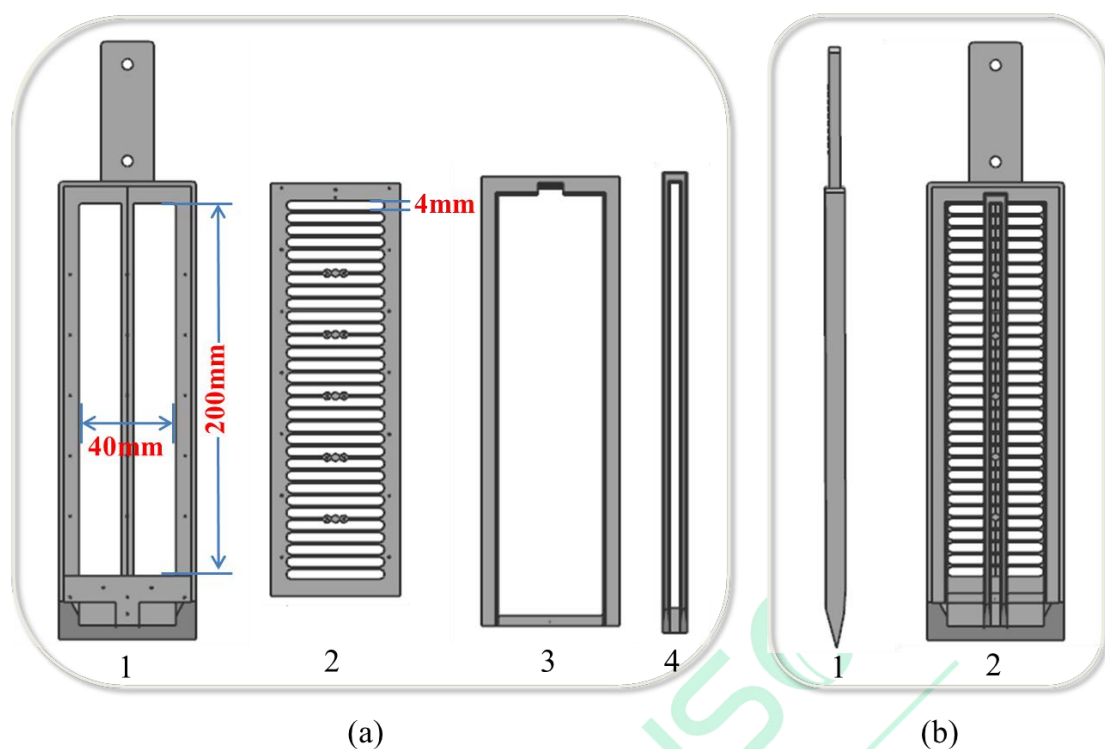


图 1. HR-Peeper 结构图

2.2. HR-Peeper 组装

使用前装置各个组件先用稀酸浸泡清洗干净，切两片与装置内部宽度长度一致的滤膜（通常使用 PVDF 滤膜，孔径 $0.45\mu\text{m}$ ，厚度 0.1mm ）。

- 1) 将 Peeper 组件置于干净的操作台面，将滤膜用去离子水浸湿；
 - 2) 在底板上放置一层滤膜，使其平整；
 - 3) 在滤膜上放置中间隔层，保证底板四周及中间的小孔均与隔层的塑料钉紧密结合，使滤膜平整无褶皱且紧绷；
 - 4) 在隔层中填充去离子水，使隔层与滤膜形成的每个小室中充满水且没有气泡；
 - 5) 在隔层上方再平铺另一张滤膜，同样保证滤膜与水之间没有气泡，盖上盖板，用四周的塑料钉与底部小孔固定，保证滤膜平整，各个部件紧贴，使之形成一个个能锁住水分的密闭小室；
 - 6) 在组装好的装置最外层铺一层超薄滤膜（孔径 $3\mu\text{m}$ ，厚度 0.01mm ），用中间的竖条横杠固定，目的是装置从沉积物或土壤中取出后，可直接去除最表层的这层薄膜，保证下面滤膜的洁净，移取样品时不带入泥土，以免污染隔层中的样品。
- 组装完整的 HR-Peeper 装置实物如下图 2。



图 2. HR-Peeper 组装后实物图

2.3 HR-Peeper 的保存

组装好的 Peeper 浸泡在洁净的去离子水中，避免脱水与剧烈震动，使用前需先充氮气去除装置中的氧气（氧气会影响部分待测离子的形态）。

3、HR-Peeper 投放与回收

- 1) 投放：将已充氮去氧的装置标记界面位置，垂直且缓慢插入土壤或沉积物保留 2~4cm 在上覆水，放置一段时间（一般 48~72h），记录水温。
- 2) 回收：待放置结束后，垂直缓慢取出 Peeper 装置，用湿滤纸轻轻擦拭装置表面大量的土壤或沉积物，然后移除最表层的薄膜，保证滤膜干净无泥（若有，轻擦拭至洁净）。

4、HR-Peeper 样品收集

Peeper 小室中的样品需及时取出保存，以免氧化或遗漏，此时将清洁后的 Peeper 平放于干净台面上，盖上一层干净的保鲜膜，用移液枪从上至下依次将样品取出装到密封的离心管中（可收集 0.4ml 左右样品）。根据需要测定的元素，将液体样品用酸或者其他试剂保存，冷藏或冷冻待分析。

注意：取样时应先在装置一端打孔，另一端吸取样品，以免负压造成吸到隔壁小室的溶液样品；取样时两层滤膜只戳破正面一层，下面一层应保持完好锁住水分。

5、HR-Peeper 样品分析

HR-Peeper 取出的孔隙水样品与沉积物离心处的孔隙水一样，保存的溶液样品根据需要测定各种元素，由于样品量较少，可采用微孔板分光光度计法或者稀释后上 ICP-MS 测定。

5.1 微孔板分光光度计法测定磷

磷含量的测定采用磷钼蓝微孔板分光光度计法，微量样品采用 96 微孔板，可在 1 分钟内一次性比色分析 96 个样品 (Xu et al., 2012)。

测定流程：吸取适量溶液样品至 96 孔酶标板微孔中，确定合适的稀释倍数，加入去离子水进行稀释，总体积为 200 μL 。加入过程中若产生气泡，需进行离心消除。随后，按样品与显色剂 10:1 (体积比) 加入显色剂 20 μL ，加样的酶标板置于 35°C 微型振荡器恒温显色 45min，通过微孔板分光光度计在 700nm 波长下读取每个微孔的吸光值，扣除该微孔的空白吸光值后得到每个微孔中溶液的吸光度，根据标线换算成孔隙水的浓度。

5.2 微孔板分光光度计法测定亚铁

铁含量的测定采用邻菲罗啉微孔板分光光度计法。(Xu et al., 2012)

测定流程：吸取适量溶液样品至 96 孔酶标板微孔中，用去氧水稀释至 100 μL ，按样品与显色剂 1:1 (V:V) 加入邻菲罗啉 100 μL ，再按样品与还原剂 10:1 (V:V) 加入盐酸羟胺 10 μL ，加完样的微孔板置于 35°C 微型振荡器恒温振荡 30 分钟，通过微孔板分光光度计在 520nm 波长下读取吸光值，扣除该微孔的空白吸光值后得到每个微孔中溶液的吸光度，根据标线换算成孔隙水的浓度。

注意：溶液中的 Fe 易氧化，应取出后尽快测定，且测定过程中用水需要用去氧水，试剂均需用去氧水配置。

5.3 微孔板分光光度计法测定氮

用微孔板分光光度计法在不同波长下可测定氨氮、硝态氮和亚硝态氮样品。氨氮采用纳氏试剂法，硝态氮采用酚二磺酸光度法，亚硝态氮采用对氨基苯磺酰胺法。

氨氮测定流程：吸取适量溶液样品至 96 孔酶标板微孔中，用去离子水稀释至 200 μ L，按样品与显色剂 10:1 (V:V) 加入水杨酸钠 20 μ L，再加 3 μ L 次氯酸钠，3 μ L 铁氰化钠，加完样的微孔板置于 35 $^{\circ}$ C 微型振荡器恒温振荡 15 分钟，通过微孔板分光光度计在 697nm 波长下读取吸光值，扣除该微孔的空白吸光值后得到每个微孔中溶液的吸光度，根据标线换算成孔隙水的浓度。

硝态氮测定流程：吸取适量溶液样品至 96 孔石英酶标板微孔中，用去离子水稀释至 200 μ L，按样品与显色剂 50:1 (V:V) 加入 1 mol/L HCl 4 μ L，置于 35 $^{\circ}$ C 微型振荡器恒温振荡 10 分钟，通过微孔板分光光度计在 210 波长下读取吸光值，扣除该微孔的空白吸光值后得到每个微孔中溶液的吸光度，根据标线换算成孔隙水的浓度。

亚硝态氮测定流程：吸取适量溶液样品至 96 孔酶标板微孔中，用去离子水稀释至 200 μ L，按样品与显色剂 50:1 (V:V) 加入 4 μ L 苯磺酸氨显色剂，置于 35 $^{\circ}$ C 微型振荡器恒温振荡 15 分钟，通过微孔板分光光度计在 540nm 波长下读取吸光值，扣除该微孔的空白吸光值后得到每个微孔中溶液的吸光度，根据标线换算成孔隙水的浓度。

备注：测定方法与样品配置与常规分光光度计法一致，可参考《水与废水监测第四版》

5.4 微量重金属元素和氧化型阴离子的测定

金属元素的测定采用 ICP-MS 或其他设备，溶液需用 1-3% HNO_3 进行稀释至所需测定体积（通常 3~5ml），溶液上机测试。

6、HR-Peeper 应用实例

6.1 枯草生长不同阶段溶解态 Mn 和 As 的变化规律

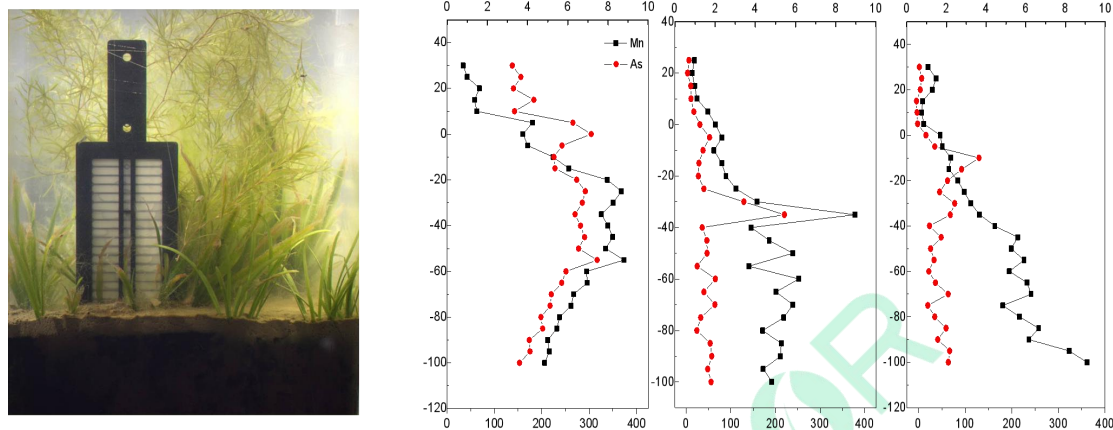


图 3. 枯草生长不同阶段溶解态 Mn 和 As 的变化规律

6.2 太湖沉积物中溶解态磷和铁的同时释放规律

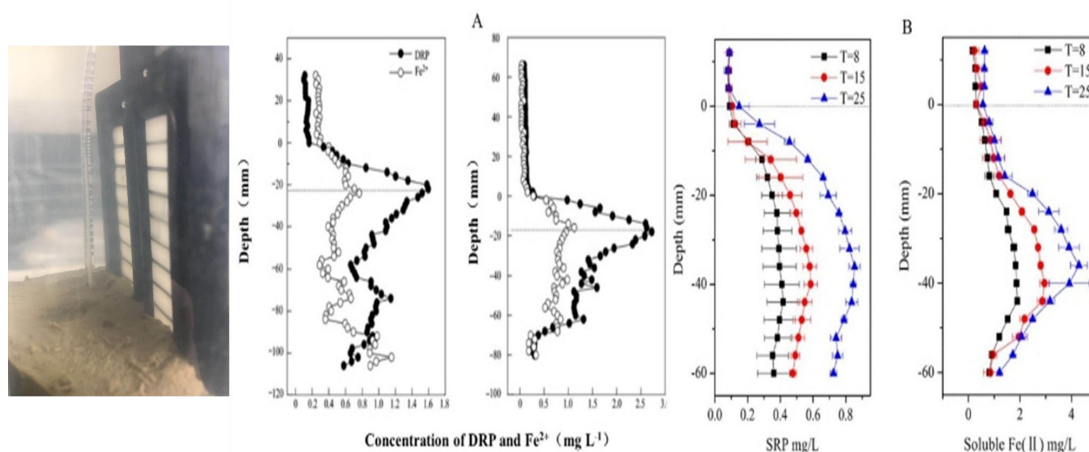


图 4. 太湖沉积物中溶解态磷和铁的同时释放规律

6.3 沉积物加覆盖剂后，随时间变化，溶解态磷和铁含量变化

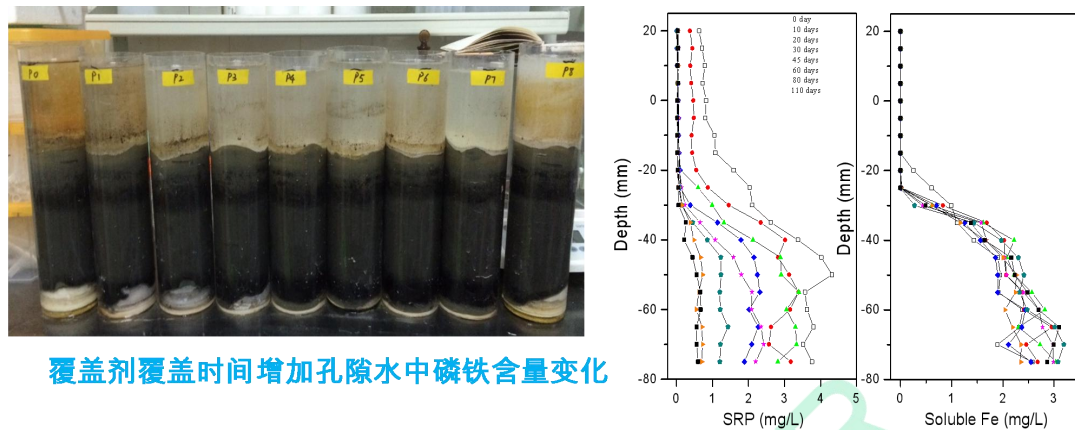


图 5: 沉积物加覆盖剂后，随时间变化，溶解态磷和铁含量变化

参考文献

- [1] Hesslein R H. An in-situ sampler for close interval pore water studies [J]. Limnology and Oceanography, 1976, 21(5): 912-914.
- [2] Teasdale P R, Batley G E, Apte S C, et al. Pore Water Sampling with Sediment Peeper [J]. Trends Analytical Chemistry, 1995, 14(6): 250-256.
- [3] Bufflap S E, Allen H E. Comparison of pore water sampling techniques for trace metals [J]. Water Research, 1995, 29(9): 2051-2054.
- [4] Xu D, Wu W, Ding S M, et al. A high-resolution dialysis technique for rapid determination of dissolved reactive phosphate and ferrous iron in pore water of sediments [J]. Science of the Total Environment, 2012, 421-422(0): 245-252.