

注：石家庄铁道大学四方学院科研专项资金资助项目（NO. K201513）

摘要：本文研制了一种基于水中叶绿素 a 在激光照射下可以发出荧光的特性来测定水中叶绿素 a 含量的方法，采用脉冲式高亮发光二极管作为光源，发出的光经过 470nm 的滤光片照射到被测水体，水体中的叶绿素 a 受到激发后，发出比激发光波长更长的荧光，荧光强度与叶绿素的浓度在一定范围内存在线性关系，发出的荧光被光电池接收并产生电信号，根据电信号的强弱来计算被测水体的叶绿素 a 含量变化。该方法具有免试剂、可移动、实时检测的特点，非常适用于我国大面积长距离水源水质安全预警监测和应急监测。

关键词：荧光法；叶绿素 a；实时检测

中图分类号：TN206

文献标识码：A

文章编号：1006-883X(2019)07-0007-04

收稿日期：2019-07-11

淡水中叶绿素 a 的实时检测设计

段兆丽¹ 王锦仁² 辛继国¹ 要海东¹ 张艳伟¹

1. 河北先河环保科技股份有限公司，河北石家庄 050035；2. 石家庄铁道大学四方学院，河北石家庄 051132

一、引言

叶绿素存在于藻类和浮游植物等水中生长的植物中，叶绿素浓度可以反映水中浮游植物的含量，叶绿素浓度已经成为衡量水质营养状况的一个重要指标^[1]。

目前已有的水中叶绿素的测量方法有高性能液相色谱法、分光光度法和实验室荧光法^[2-3]，这些方法需要将叶绿素从浮游植物体内提取出来，经过离心、过滤、浓缩、烘干、研磨等过程，分析周期较长，影响因素很多，无法进行实时监测^[4-5]。

本文研制了一种基于水中叶绿素 a 在激光照射下可以发出荧光的特性来测定水中叶绿素 a 含量的方法，采用脉冲式高亮发光二极管作为光源，发出的光经过 470nm 的滤光片照射到被测水体，水体中的叶绿素 a 受到激发后，发出比激发光波长更长的荧光，荧光强度与叶绿素的浓度在一定范围内存在线性关系，发出的荧光被光电池接收并产生电信号，根据电信号的强弱来计算被测水体的叶绿素 a 含量变化。该方法测试结果与国标方法测试结果变化趋势是一样的，测试结

果在规定的误差范围内。该方法具有免试剂、可移动、实时检测的特点，非常适用于我国大面积长距离水源水质安全预警监测和应急监测。

二、检测的基本原理

1、传感原理

光源发出一定波长的激发光照射被测水体中的污染物，污染物受到激发后发出荧光，荧光强度与污染物的浓度在一定范围内呈线性关系^[6]，即：

$$y=ax+b \quad (1)$$

其中， x —测量电压值；

y —浓度值；

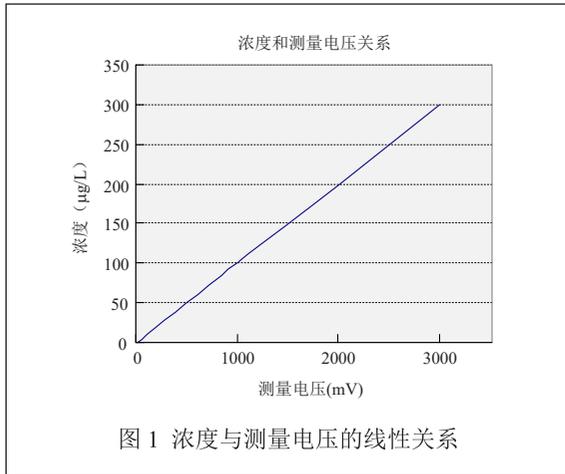
a 、 b —常数，根据实验条件确定实际值。

根据本实验水体中叶绿素激发出的光强与叶绿素浓度成正比，经过校准找到光强（电压值）与浓度的线性关系如图 1 所示，即：

$$y=0.1x-1.024 \quad (2)$$

2、测试系统组成

采用脉冲式高亮发光二极管作为光源，发出的光



经过 470nm 的滤光片照射到被测水体，水体中的叶绿素 a 受到激发后，发出比激发光波长更长的荧光，光电池检测器将接收荧光信号转换成电信号，然后经过 RC 积分电路后变成三角波，三角波经过带通滤波器整形后变成正弦波，正弦波经过整流电路后产生半波信号，然后经过进一步整流滤波变成直流信号，直流信号经过 A/D 转换顺转换成数字信号，经过单片机运算处理从而得到相应的浓度。单片机根据电信号的强弱来计算被测水体中污染物的含量。测试系统构成如图 2 所示。

三、仪器设计中各类干扰因素的去

在仪器的设计中为了有效的将环境光去除，防止环境光干扰被测的荧光信号，除了在光学通路中增设滤光片外，在电子单元部分还采用了叶绿素荧光调制技术，具体如下：

1、针对性设计光源调制电路

对于作为激发光源的 LED 必须考虑三个方面的因素：

(1) 发射光强的稳定性，只有激发光源稳定，才能保证后面检测电路测得发射荧光光谱的可靠性。利用可调的恒流源来供电，

保持发射光源光强的稳定；

(2) 运用调制检测的方法，即用 1kHz 方波调制恒流源，恒流源经过方波调制变为交流的电流脉冲，对 LED 激发后的荧光进行检测，并采用峰值检波电路来获得微弱的光强信号。

(3) 光源调制的方法消除微弱环境背景光对测量的干扰，此外在一定程度上延长发光二极管的使用寿命。

2、消除温度对光源的稳定性和光源强度的影响

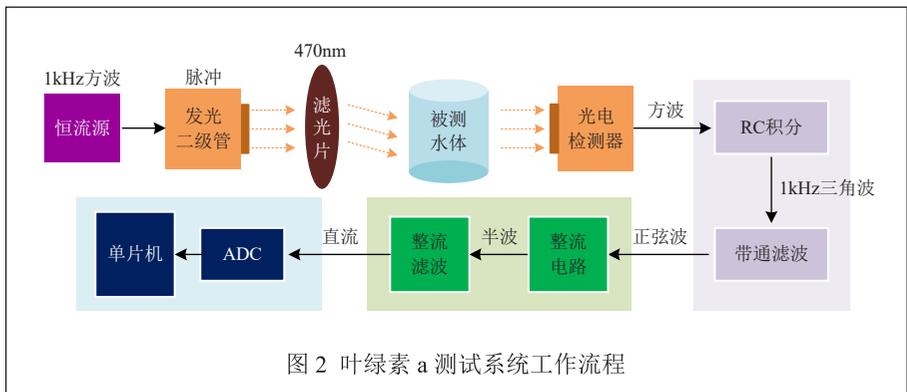
光源的稳定性和光源强度受温度的影响。不同的 LED 光源受温度影响不同，有的 LED 光源在某个波段范围内不受温度影响，有的 LED 光源在某个波段范围内受温度影响，影响的程度还不一样。即使同一种波段的 LED，不同厂家的受温度影响程度不一样；要消除光源受温度影响，可以采用三种方法：

- (1) 给 LED 控温，使其工作在恒定的温度条件下；
- (2) 增加参比光路，从算法上消除光源光强变化对测量结果影响；
- (3) 选用受温度影响小的光源。

3、光电检测器放大器

光电检测器是传感器的一类，它对入射光和其他形式的射线作出响应产生电流，然后通过跨阻放大器将这个电流转换为电压，并在输入和输出端消除可能的负载效应。因此光电检测器也是仪器的重要部件，它的性能指标直接影响仪器的技术指标。

检测器的灵敏度是考虑的一个主要因素，产生的荧光信号经光电池将光信号转换为电信号，因此光电电池的灵敏度受环境温度影响程度也是一个很重要的指



标,不同的光电池可能检测的波段范围是一样的,但是受温度影响的程度是不同的,因此光电池选型的时候一定要选择检测波段不受温度影响的光电池;这样做出的产品在稳定性和漂移方面更胜一筹。

此外探测器的灵敏度和检测窗口也是很重要指标,选型时检测波段范围内的灵敏度选择比较大的,检测窗口选择大的,这样可以提高仪器灵敏度,从而提高仪器信噪比。

4、信号调理和检波电路

小信号电流放大电路的检测,需要采用低温漂、低噪声、低的失调电压、高精度、高带宽的CMOS工艺的运算放大器。光电池将调制后的荧光信号转换为电流信号,电流信号经过隔直电容、电流电压转换电路,然后经过带通滤波电路,再经过交流放大,转化为正弦波,正弦波经过整流电路后产生半波信号,然后经过进一步整流滤波变成直流信号,从而获得荧光信号的最大值。

5、其他干扰影响的消除

在仪器测试过程中要注意其他干扰物质的影响,气泡的影响、浊度的影响、色度的影响、温度的影响、光线的影响等等。在设计时首先考虑这些影响,并消除此影响。

四、不同因素对测量结果的影响

表1~表4测试条件:环境温度25℃~30℃;大气压99kPa~101kPa;相对湿度在85%RH以下。

表5设备在高低温箱中完成的,设定的温度分别为5℃、15℃和30℃,大气压99kPa~101kPa。

测试设备为我们开发的叶绿素分析仪,测试方法:把实验过程中需要的标液按规定的要求准备好放到试剂瓶中,将仪器开机预热待仪器运行稳定后,分别放到工装中进行测试。

测试结果表明,气泡对测试结果有一定的影响,因为气泡会影响光路导致信号变弱。浊度对测量结果没有影响。色度值越大,对测量

结果影响越大,适合色度小于等于1的水体。光线对测量结果有一定的影响,环境光会影响光电池的输出,环境光越强,光电池输出信号越大,如果特别强导致光电池饱和测量结果无效,所以一定要做好避光。温度对测量结果基本不影响,主要是选用的器件都是低温漂的器件,保证了测量系统的温度稳定性。

表1 气泡对测量结果的影响

	测定值 (μg/L)	平均值	相对误差
有气泡	48.5; 47.7; 48.4	48.2	-6.2%
无气泡	51.3; 51.4; 51.2	51.3	
	测定值 (μg/L)	平均值	相对误差
有气泡	134.0; 134.3; 134.8	134.4	-7.5%
无气泡	145.7; 145.6; 145.5	145.6	

表2 浊度对测量结果的影响(所用浊度液标准浓度为400度,被测定标液浓度为37.2μg/L)

浊度值	1	2	5	10	13	16
测量值 (μg/L)	37.6	37.2	36.7	37.0	36.3	36.2
相对误差 (FS)	0.4%	0.0%	-0.5%	-0.2%	-0.9%	-1.0%
城市供水标准	≤15					

表3 色度对测量结果的影响(所用色度液的标准浓度为500度,被测定的标液浓度为54.2μg/L)

色度值	0.1	0.3	0.5	0.8	1.0	1.2
测量值 (μg/L)	54.3	53.9	53.0	52.2	51.0	48.0
相对误差 (FS)	0.1%	-0.3%	-1.2%	-2.0%	-3.2%	-6.2%
城市供水标准	≤1					

表4 光线对测量结果的影响(采用50μg/L的标液进行测试)

避光情况	完全避光	底部不避光	完全不避光
测量值 (μg/L)	50.4; 50.3; 50.4	48.2; 48.4; 48.4	0.0; 0.0; 0.0
平均值 (μg/L)	50.4	48.3	0.0
相对误差 (FS)	0.8%	-3.4%	-

表5 温度对测量结果的影响(采用150μg/L的标准液作为测试液)

温度 °C	5	15	30
测量值 (μg/L)	151.3; 151.2; 151.5	150.9; 151.0; 150.8	149.7; 149.2; 148.9
平均值 (μg/L)	151.3	150.9	149.2
25℃标准值	150		
相对误差 (FS)	0.86%	0.3%	-0.5%

五、实际水样对比试验结果

为了验证数据的可靠性，我们进行了实际水样对比试验，试验情况如图 3 所示。

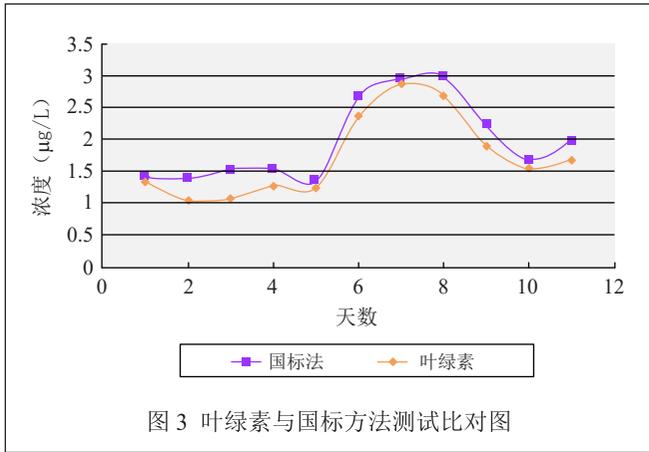


图 3 叶绿素与国标方法测试对比图

实验数据表明，该方法测试结果与国标方法测试结果变化趋势是一样的，测试结果在规定的误差范围内。本系统在水质成分相对稳定的情况下，采用荧光法测定叶绿素是可行的。

六、结束语

本文研制了一种基于水中叶绿素 a 在激光照射下可以发出荧光的特性来测定水中叶绿素 a 含量的方法，该方法具有免试剂、可移动、实时检测的特点，非常适用于我国大面积长距离水源地水质的安全预警监测和应急监测。此外，不仅叶绿素可以采用紫外荧光方法检测，蓝绿藻也可以通过这种方法检测，对其他物质含量检测的设计具有一定指导意义。

参考文献

[1] 张彪, 储焰南, 张玉平, 龚平, 杨世植. 发光二极管作为现场叶绿素荧光仪激发光源实验研究 [J]. 量子电子学报, 2003, 20(4):472-476.

[2] 赵友全, 魏红艳, 李丹, 刘宪华, 张鑫, 刘子毓. 叶绿素荧光检测技术及仪器的研究 [J]. 仪器仪表学报, 2010, 31(6): 1342-1345.

[3] 韩桂春, 谷丰张, 忠臣. 淡水中叶绿素 a 测定方法的探讨 [J]. 中国环境监测, 2005, 21(1): 55-57.

[4] 高一平, 陈萧建. 地表水中叶绿素 a 的测定 [J]. 福建分析测试, 2009, 18(3): 17-19.

[5] 冯菁, 李艳波, 朱擎, 吴为中. 浮游植物叶绿素 a 测定方法比较 [J]. 生态环境, 2008, 17(2): 524-527.

[6] 张玉平, 杨世植, 洪津, 张彪, 孟凡刚, 龚平, 张玉亮. 叶绿素荧光仪中微弱荧光信号的探测 [J]. 量子电子学报, 2005, 22(2): 169-172.

Design of Real-time Detection of Chlorophyll-a in Freshwater

DUAN Zhao-li¹, WANG Jin-ren², XIN Ji-guo¹, YAO Hai-dong¹, ZHANG Yan-wei¹

(1. Hebei Sailhero Environmental Protection Hi-tech., Ltd Hebei Shijiazhuang 050035, China; 2. Shijiazhuang Tiedao University Sifang College Hebei Shijiazhuang, 051132, China)

Abstract: In this paper, a method based on the fluorescing characteristics of chlorophyll a in water to determine the chlorophyll a content in water is developed. The pulsed high-brightness light-emitting diode is used as the light source, and the emitted light is irradiated to the measured by a 470nm filter. In the water body, the chlorophyll a in the water body is excited, and emits fluorescence longer than the wavelength of the excitation light. The fluorescence intensity and the concentration of chlorophyll have a linear relationship within a certain range, and the emitted fluorescence is received by the photo cell and generates an electric signal according to the electric signal. Strength and weakness to calculate the change of chlorophyll a content in the measured water. The method has the characteristics of reagent-free, movable and real-time detection, and is very suitable for safety early warning monitoring and emergency monitoring of large-area long-distance water source water quality in China.

Key words: fluorescence method; chlorophyll a; real-time detection

作者简介

段兆丽: 河北先河环保科技股份有限公司, 工程师, 硕士研究生, 主要研究方向为精密仪器的软硬件开发。

通讯地址: 河北省石家庄市高新区湘江道 251 号

邮编: 050035

邮箱: oringin@163.com

王锦仁: 石家庄铁道大学四方学院, 讲师, 硕士研究生, 主要研究方向为光电传感技术应用。

辛继国: 河北先河环保科技股份有限公司, 助理工程师, 本科, 主要研究方向为电子信息工程。

要海东: 河北先河环保科技股份有限公司, 高级工程师, 本科, 主要研究方向为机械设计制造及其自动化。

张艳伟: 河北先河环保科技股份有限公司, 工程师, 硕士研究生, 主要研究方向为光学工程。