
EasySensor DGT 产品测定土壤操作指南

1、DGT 原理

参照“EasySensor DGT产品介绍”(下载中心)。

2、土壤 DGT 装置组装

土壤 DGT 测定采用内腔式 (Open capacity type) 放置方式, 其装置组成及组装详细信息参照“EasySensor DGT 产品介绍”(下载中心)。

参考文献:

Ding SM, Wang Y, Zhang LP, et al. New holder configurations for use in the diffusive gradients in thin films (DGT) technique. RSC Advances, 2016, 6(91): 88143-88156.

3、土壤 DGT 装置的保存及使用注意事项

- 1) DGT 装置在室温下保存, 其中 AgI DGT 和 ZrO-AgI DGT 需要避光。已开封包装的 DGT 装置可放在装有少量 0.01M NaCl 溶液的自封袋中, 保持袋中湿润, 并定期检查。
- 2) 为防止装置受到污染, 使用前勿使装置长时间暴露空气中, 勿用手或其他物件接触 DGT 装置暴露窗口。
- 3) 装置投放前, 需对装置充氮气去氧 16h 以上。对于已密封包装的装置已经充氮处理, 因此使用前再打开装置, 以防氧气进入。

4、土壤 DGT 的投放及步骤 (图 1)

供试土壤经风干或冷冻干燥过 2mm 尼龙筛, 测定土壤的最大田间持水量。

1) 土壤的预平衡:

土壤加水预平衡方式有两种, 可根据需要选取

- a) 称取 10g-30g 土样加入塑料容器中 (每个装置测定需土壤约 10g, 如同时收集

土壤溶液，土壤样品量需适当加大），加入最大田间持水量70%~80%的去离子水，充分搅拌均匀后（可使用电动非金属搅拌器）（表层看见光滑平整的水膜），覆盖保鲜膜防止水分蒸发，于恒温下（一般25℃）放置平衡48h。

b) 先加水至土壤最大田间持水量的60%左右，放置48h。往上述土壤中继续加水至80%~100%，并充分搅匀均匀，直至表层看见光滑平整的水膜。

- 2) DGT放置：待土壤平衡后，用干净塑料勺先取少量处理好的土壤（约3g）放入DGT圆孔中，在桌面上轻轻平行抖动，使得土壤与滤膜表面充分接触，继续添加土壤直至填满内腔。将装好的DGT装置转移到事先放有少量去离子水的自封袋中，袋口处于半封闭状态。
- 3) 在恒温条件下放置24h后，将土壤移除，利用去离子水冲洗DGT装置，取出固定膜放入自封袋中，并滴入少量去离子水湿润，密封后，4℃条件下保存待分析。

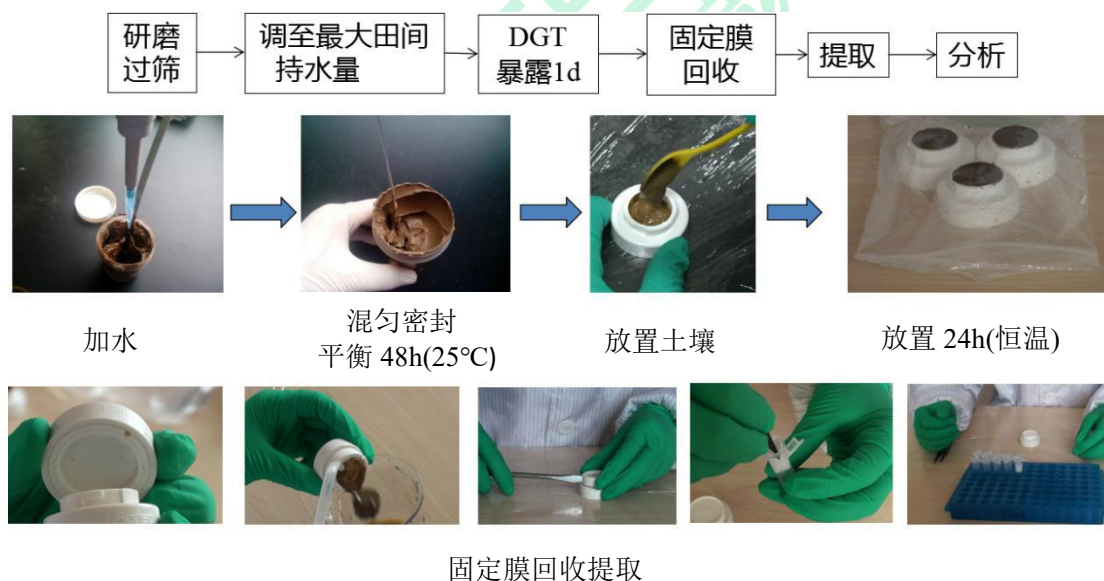


图 1 DGT 土壤测试流程图

5、固定膜分析与数据处理

5.1 磷含量分析

5.1.1 溶液提取法

- 1) 从装置中取出Zr-Oxide固定膜圆片，用少量去离子水冲洗膜表面。
- 2) 将圆片膜放入2.0mL的离心管中，加入1.8mL 1M NaOH，室温下静置提取，24h后取出膜，保存提取液待测定。
- 3) P测定：采用磷钼蓝显色法，紫外分光光度计测定；微量样品采用96微孔板分光光度计法，可在1分钟内一次性比色分析96个样品（Xu et al., 2012）。

微孔板分光光度法：

显色剂配置：称取 20g 钼酸铵 $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ 和 0.5g 酒石酸锑钾 $[\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\cdot 1/2\text{H}_2\text{O}]$ 分别于 100mL 水中溶解，两者缓慢加入到 194.6mL 的浓硫酸中，冷却后定容至 1000mL。该溶液作为储备液贮存于棕色试剂瓶中，在冷处可保存数月。磷微量比色分析前，称取 1.5g 抗坏血酸溶于 100mL 储备液中。用于制备溶液的所有试剂均为分析级。

测定流程：吸取适量 NaOH 提取液至 96 孔酶标板微孔中，确定合适的稀释倍数，按样品与 2M H_2SO_4 比例 4:1（体积比）加入 2M H_2SO_4 进行酸碱中和，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 微型振荡器中恒温振荡显色 45min，然后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，得到每个微孔中提取液的吸光度，根据标线换算成提取液浓度。

- 4) DGT 有效磷浓度（ C_{DGT} ）计算过程如下：

$$M = \frac{C_e(V_e + V_g)}{f_e} \quad (1)$$

C_e 为提取液磷浓度， V_e 为提取剂体积， V_g 为固定相体积（土壤圆片一般记为 0.2mL，切片固定膜体积忽略不计）， f_e 为磷提取率。

利用公式（2）计算 DGT 浓度：

$$C_{DGT} = \frac{M \Delta g}{DA t} \quad (2)$$

M 为固定膜中磷的累积量 (μg)， Δg 为扩散层厚度 (cm)， D 为磷在扩散层中扩散系数 (cm^2s^{-1})， A 为每一个圆片膜的面积 (3.14cm^2)， t 为 DGT 装置的放置时间 (s)。

- 5) 提取率和扩散系数参考“DGT 提取率与扩散系数”（下载中心）。

参考文献：

Ding SM, Xu D, Sun Q, et al. Measurement of dissolved reactive phosphorus using the diffusive gradients in thin films technique with a high-capacity binding phase. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(21): 8169-8174.

Xu D, Wu W, Ding SM, et al. A high-resolution dialysis technique for rapid determination of dissolved reactive phosphate and ferrous iron in pore water of sediments. *Science of the Total Environment*, 2012, 421-422(0), 245-252

5.1.2 固定膜着色法

该技术是将 Zr-oxide 膜着色与电脑密度成像计量 (CID) 相结合，对 P 进行二维高分辨测定。着色原理与溶液中磷钼蓝反应原理一致，在 Zr-Oxide 膜表面直接生成蓝色络合物，事先将扫描获得的灰度值与单位膜面积 P 的累积量建立校正曲线，利用校正曲线将样品的灰度转换成积累量，从而实现沉积物中有效 P 亚毫米分布信息的大批量获取。

主要仪器：

扫描仪 (Canon-5600F)、恒温水浴锅。

主要试剂：

KH_2PO_4 储备液 (100mg L^{-1})、钼酸铵 $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ 、酒石酸锑钾 $[\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}]$ 、抗坏血酸。

显色剂配置：

称取 20g 钼酸铵和 0.5g 酒石酸锑钾分别溶解于 100mL 水中，两者缓慢加入到

194.6mL的浓硫酸中，冷却后定容至1000mL。该溶液作为储备液贮存于棕色试剂瓶中，在冷处可保存一个月。使用前称取1.5g抗坏血酸溶于100mL储备液中，加去离子水1000mL。该溶液作为Zr-oxide膜显色的显色剂，含0.113 M MoO_4^{2-} 和8.6mM Vc^- ，pH 0.48，需现配现用（不超过两小时）。显色前，将该溶液预热至35°C。

- 1) 膜着色：将Zr-Oxide膜从DGT中取出，湿滤纸擦干表面，提前配置显色剂，并置于35°C水浴锅中恒温，待显色剂温度恒定后，将膜正面朝上置于显色剂中，35°C恒温显色45min，每张圆片膜添加显色剂体积40mL。
- 2) 扫描和灰度获取：着色后的Zr-Oxide膜立刻用4°C的凉水清洗数遍，将表面残留的显色剂洗净，继续浸泡在凉水里5min（促使显色反应停止）。取出Zr-Oxide膜，用滤纸将表面的水擦净，放置于扫描仪上（沉降面朝下），设置分辨率为150 dpi（相当于0.169mm×0.169mm）-600 dpi（相当于0.0423 mm×0.0423 mm），扫描获得图像后，利用ImageJ软件将图像转成灰度，再利用事先建立的Zr-Oxide膜对P累积量与表面灰度的校正曲线，将得到的灰度转化成P累积量。
- 3) DGT浓度（ C_{DGT} ）计算：

固定膜P的累积量M通过以下校正曲线获得：

$$y = -177e^{-x/4.46} + 223 \quad (3)$$

x 为膜单位面积的累积量 M ，单位为 $\mu\text{g cm}^{-2}$ ， y 为对应的灰度值。

再利用公式（2）计算得到 DGT 浓度（ C_{DGT} ）。

注意事项：

根据Ding等报道，在着色之前固定膜需要在热水（85°C）中处理5天。我们改进了Zr-Oxide固定膜的制备工艺，使得其颗粒分布更加均匀致密，可未经加热预处理，直接进行着色。

温度是影响固定膜着色的重要因素，整个着色过程中必须严格控制。此外，在添加混合显色剂之前确保Zr-oxide膜的沉淀面朝上。

参考文献：

Ding SM, Wang Y, Xu D, et al. Gel-Based Coloration Technique for the Submillimeter-Scale Imaging of Labile Phosphorus in Sediments and Soils with Diffusive Gradients in Thin Films. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(14): 7821-7829.

5.2 砷含量分析

Zr-Oxide DGT 可同步吸收 As(III)和 As(V)，再利用 NaOH 将两者提取出来。

- 1) 从装置中取出 Zr-Oxide 固定膜圆片，用少量去离子水冲洗膜表面。
- 2) 将圆片膜放入 2.0mL 的离心管中，加入 1.8mL 1M NaOH（淡水）或者 1.0 M NaOH-1.0 M H₂O₂（海水），室温下静置提取，24h 后取出膜，保存提取液待测定。
- 3) As 测定：取适量的提取液，稀释后利用 HG-AFS 或者 ICP-MS 进行测定。
- 4) DGT 有效砷浓度（C_{DGT}）计算：同 5.1.1，提取率和扩散系数参考“DGT 提取率与扩散系数”（下载中心）。

参考文献：

Sun Q, Chen J, Zhang H, et al. Improved diffusive gradients in thin films (DGT) measurement of total dissolved inorganic arsenic in waters and soils using a hydrous zirconium oxide binding layer. Analytical Chemistry, 2014, 86(6): 3060-3067.

5.3 同步测定 8 种氧化型阴离子（Oxyanions）

采用 Zr-Oxide DGT 对 8 种氧化型阴离子（P、As、Cr、Mo、Sb、Se、V、W）进行同步测定，利用混合提取剂 0.2M NaOH-0.5 M H₂O₂，即(V(0.4M NaOH):V(1.0 M H₂O₂))=1:1) 同步提取阴离子。

- 1) 利用塑料镊子从装置中取出 Zr-Oxide 膜，去离子水冲洗膜表面。
- 2) 将固定膜放入 5mL 培养皿中（膜的沉淀面朝上），加入 1.8mL 混合提取剂 0.2M NaOH-0.5 M H₂O₂，在冰箱 4℃ 条件下提取 3-5h，取出固定膜，提取液待分析。
- 3) 测定：磷采用磷钼蓝比色法，微量样品可以采用 96 微孔板分光光度法（同 5.1.1），其余七种离子的样品经 1%-3% HNO₃ 稀释后，利用 ICP-MS 进行测定。
- 4) DGT 浓度（C_{DGT}）计算：同 5.1.1，其中提取率和扩散系数参考“DGT 提取率与扩散系数”（下载中心）。

注意事项：

(V(0.4M NaOH):V(1.0 M H₂O₂)=1:1) 混合提取剂需要现配现用。配置所需要的NaOH溶液、H₂O₂溶液和去离子水在混合前必须稳定在4℃。提取液样品放置一段时间后可能出现沉淀,造成分析误差。因此,提取结束后应尽快吸取样品,分别加入去离子水和1-3%硝酸进行稀释后,用于磷的比色分析和其他元素的ICP-MS分析。

参考文献:

Ding SM, Xu D, Wang YP, et al. Simultaneous measurements of eight oxyanions using high-capacity diffusive gradients in thin films (Zr-oxide DGT) with a high-efficiency elution procedure. Environmental Science & Technology, 2016, 50(14): 7572-7580.

5.4 同步测定 8 种金属阳离子 (Metals)

利用 Chelex DGT 对 8 种金属离子 (Fe、Cd、Co、Cu、Mn、Ni、Pb、Zn) 进行测定, 操作步骤如下:

- 1) 利用塑料镊子从 DGT 装置中取出固定膜, 利用去离子水冲洗膜表面。
- 2) 将 Chelex 固定膜放入 2mL 的离心管中(膜的沉淀面与提取液接触), 加入 1.8mL 1.0M 的 HNO₃ 提取液, 室温下静置提取 24h。
- 3) 测定: Fe(II)的测定可采用比色分析法, 其它元素的测定采用 ICP-MS, 提取液需经 1-3%HNO₃ 稀释。

微孔板分光光度法测定 Fe(II):

采用改进的邻菲罗啉法, 从 HNO₃ 溶液中吸取适量的提取液至 96 孔微孔板中, 用去氧水稀释至 100μl, 按样品与显色剂 1:1 (V:V) 加入邻菲罗啉 100μL, 再按样品与还原剂 10:1 (V:V) 加入盐酸羟胺 10μL, 加完样的微孔板置于 35℃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, 扣除空白吸光值后, 得到每个微孔中提取液的吸光度 (Xu et al., 2012)。

- 4) DGT 浓度 (C_{DGT}) 计算: 利用公式 (1) 和 (2) 进行计算, 提取率和扩散系数参考 “DGT 提取率与扩散系数” (下载中心)。

参考文献:

Wang Y, Ding SM, Gong MD, et al. Diffusion characteristics of agarose hydrogel used in

diffusive gradients in thin films for measurements of cations and anions. *Analytica Chimica Acta*, 2016, 945: 47-56.

Xu D, Wu W, Ding SM, et al. A high-resolution dialysis technique for rapid determination of dissolved reactive phosphate and ferrous iron in pore water of sediments. *Science of the Total Environment*, 2012, 421-422(0), 245-252

5.5 同步测定 16 种阴阳离子 (Oxyanions and Metals)

利用 ZrO-Chelex DGT 对 16 种离子 (P、As、Cr、Mo、Sb、Se、V、W、Fe、Cd、Co、Cu、Mn、Ni、Pb、Zn) 进行同步测定, 操作步骤如下 (图 2):

- 1) 利用塑料镊子从 DGT 装置中取出固定膜, 利用去离子水冲洗膜表面。
- 2) 固定膜分步提取: 第一步: 将固定膜放入 5mL 培养皿中 (膜的沉淀面朝上), 加入 1.8mL 1M HNO₃, 静置提取 24h, 取出固定膜, 提取液待分析; 第二步: 将取出的固定膜用超纯水冲洗数次后浸泡 2h (清洗表面残留的硝酸提取液); 第三步: ①若提取 P、As 离子同 5.1.1, 用 NaOH 提取: 经冲洗后固定膜放入 5mL 培养皿或离心管中, 加入 1.8mL 1.0 M NaOH, 室温下静置 24h 后, 取出膜, 提取液待测定; ②若提取 8 种氧化型阴离子 (P、As、Cr、Mo、Sb、Se、V、W), 同 5.3, 加入混合提取剂 1.8mL (V(0.4M NaOH):V(1.0 M H₂O₂))=1:1, 先加入 NaOH, 后加入 H₂O₂, 各 0.9ml, 在冰箱 4°C 条件下提取 3-5h, 取出固定膜, 提取液待分析。
- 3) 测定: HNO₃ 提取液: Fe(II) 的测定可采用比色分析方法, 见 5.4; 其它元素的测定采 ICP-MS, 提取液需用 1-3% HNO₃ 进行稀释; NaOH/混合提取液: P 测定采用磷钼蓝比色法, 同 5.1.1; 其余七种阴离子利用 ICP-MS 进行测定, 测定前样品需用 1-3% HNO₃ 进行稀释, 同 5.3。
- 4) DGT 浓度 (C_{DGT}) 计算: 利用公式 (1) 和 (2) 进行计算, 提取率和扩散系数参考 “DGT 提取率与扩散系数” (下载中心)。

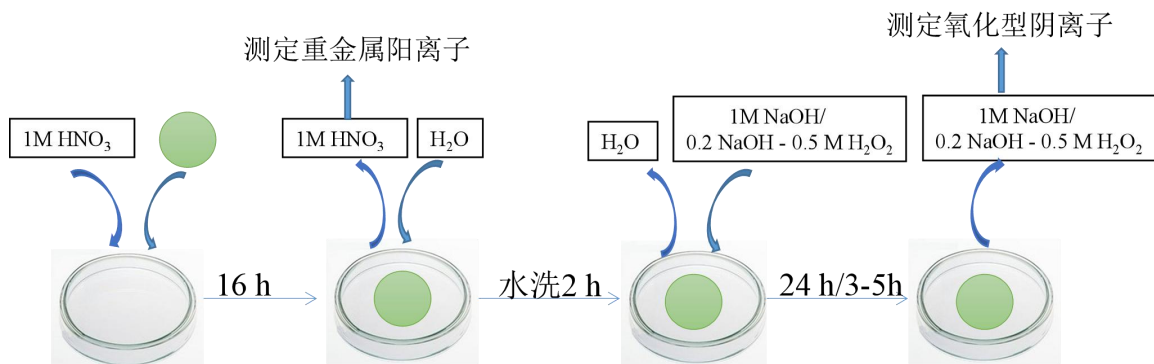


图2 ZrO-Chelex 固定膜两步连续提取流程示意图

参考文献：

Wang Y, Ding SM, Shi L, et al. Simultaneous measurements of cations and anions using diffusive gradients in thin films with a ZrO-Chelex mixed binding layer. *Analytica Chimica Acta*, 2017, 972: 1-11.

5.6 测定硫(S(II))或同步测定 P、S(II)

硫 S(II)测定采用 AgI DGT，P、S(II)同步测定采用 ZrO-AgI DGT。对固定膜上 S(II)的分析采用电脑密度成像计量（CID）技术，P 的分析采用切片、提取的方法。

- 1) 利用塑料镊子从 DGT 装置中取出固定膜。
- 2) 用去离子水轻轻冲洗固定膜，滤纸擦干表面，放置于扫描仪上（正面朝下），设置分辨率为 150 dpi（相当于 0.169mm× 0.169mm）-600 dpi（相当于 0.0423 mm × 0.0423 mm）扫描膜的正面。
- 3) 利用 ImageJ 软件将扫描获得的图像转成灰度，利用校正曲线将灰度转换成积累量：

$$y = -171e^{-x/7.23} + 220 \quad (4)$$

上式为校正曲线，x 为膜单位面积的累积量 M ，单位为 $\mu\text{g cm}^{-2}$ ，y 为对应的灰度值。

- 4) 当使用 ZrO-AgI DGT 同时测定 P、S(II)时，扫描后的固定膜通过切片、提取和比色的方法分析 P，操作步骤同 5.1.1。

- 5) DGT 浓度 (C_{DGT}) 计算: 利用公式 (1) 和 (2) 进行计算, 提取率和扩散系数参考“DGT 提取率与扩散系数”(下载中心)。

参考文献:

Ding SM, Sun Q, Xu D, et al. High-resolution simultaneous measurements of dissolved reactive phosphorus and dissolved sulfide: the first observation of their simultaneous release in sediments. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(15): 8297-8304.

5.7 同步测定 15 种稀土元素 (REE)

利用 Chelex DGT 对 15 种稀土元素 (La (III), Ce (III), Pr (III), Nd (III), Sm (III), Eu (III), Gd (III), Tb (III), Dy (III), Ho (III), Er (III), Tm (III), Yb (III), Lu (III), and Y (III)) 进行测定, 操作步骤如下:

- 1) 利用塑料镊子从 DGT 装置中取出固定膜, 利用去离子水冲洗膜表面。
- 2) 将 Chelex 固定膜放入 2mL 的离心管中(膜的沉淀面与提取液接触), 加入 1.8mL 2.0M 的 HCl 提取液, 室温下静置提取 24h。
- 3) 测定: 提取液用 1-3% HNO_3 进行稀释, 样品用 ICP-MS 测定。

参考文献:

Yuan YM, Ding SM, Wang Y, et al. Simultaneous measurement of fifteen rare earth elements using diffusive gradients in thin films. *Analytica Chimica Acta*, 2018.

5.8 同步测定无机汞与甲基汞 (Hg^{2+} & CH_3Hg^+)

利用 Tulsion® CH-95 固定膜实现对无机汞与甲基汞的同步测定, 测定时是测出总汞和甲基汞的含量, 差值即作为无机汞的含量。

- 1) 利用塑料镊子从 DGT 装置中取出固定膜, 利用去离子水冲洗膜表面。
- 2) 将 Tulsion® CH-95 固定膜放入 2mL 的离心管中(膜的沉淀面与提取液接触), 加入 1.8mL 2%硫脲-0.1N HCl 混合提取液, 室温下静置提取 24h。
- 3) 测定: 样品需稀释后上机测定, 总汞、甲基汞的测定仪器为冷原子荧光测汞仪 (HG-CVAFS), 无机汞=总汞-甲基汞。

总汞测定原理：用 Br 将所有形态 Hg 氧化成 Hg^{2+} ，然后用 SnCl 还原 Hg^{2+} 成气态 Hg^0 ，吹进仪器测定荧光值；甲基汞测定原理：用四乙基硼化钠与甲基汞反应生成气态的甲基乙基汞（可能是），吹进仪器测定荧光值。

测定方法参考 《美国 EPA 1631 标准方法(E 版)》

参考文献：

Ren MY, Wang Y, Ding SM, et al. Development of a new diffusive gradient in the thin film (DGT) method for the simultaneous measurement of CH_3Hg^+ and Hg^{2+} . New Journal of Chemistry, 2018, 42(10), 7976-7983.

EASYSSENSOR
智感环境