



中华人民共和国海洋行业标准

HY/T 133—2010

海水中颗粒物和黄色物质 光谱吸收系数测量 分光光度法

Determination of spectral absorption coefficient of particles and dissolved
material for seawater—Spectrophotometry

2010-02-10 发布

2010-03-01 实施

国家海洋局 发布

前 言

本标准的附录 A、附录 B 为规范性附录,附录 C 为资料性附录。

本标准由国家海洋技术中心提出。

本标准由全国海洋标准化技术委员会(SAC/TC 283)归口。

本标准起草单位:国家海洋技术中心遥感技术研究室。

本标准主要起草人:周虹丽、陈清莲、李铜基、朱建华。

引 言

随着海洋光学调查技术的不断发展,海水中颗粒物和黄色物质光谱吸收系数已经成为海洋光学调查中广泛测量的参数之一。深入了解海水中颗粒物和黄色物质光谱吸收特性不仅是海洋光学遥感定量化的基础,也有助于我们更深入地了解生物-光学模型、离水辐射特性和辐射在水中的传输规律。目前,国内有多家单位采用分光光度法测量海水中颗粒物和黄色物质光谱吸收系数,也已获得了大量宝贵的海上试验数据,但由于国内没有该方法的测量标准,不同单位没有统一的测量方法,大量数据无法共享,造成了资源的浪费。制定海水中颗粒物和黄色物质光谱吸收系数测量方法的行业标准,以明确测量范围和对象,规范测量程序和方法,提高测量水平和质量,共享测量数据。

海水中颗粒物和黄色物质 光谱吸收系数测量 分光光度法

1 范围

本标准规定了海水中颗粒物和黄色物质光谱吸收系数测量时的试剂与材料、仪器、分析步骤、数据处理和试验报告内容。

本标准适用于采用分光光度法进行海水中颗粒物和黄色物质光谱吸收系数的测量。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB 17378.3 海洋监测规范 第3部分:样品采集、贮存与运输

HY/T 040-1996 系列采水器

GB/T 5458-1997 液氮生物容器

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

颗粒物 particles

海水中以悬浮颗粒形式存在的浮游植物、细菌、浮游微生物、有机物碎屑和无机颗粒物(沙子、尘埃等)的总称。

3.2

非色素颗粒物 de-pigmented particles, nonalgal particles

颗粒物去除浮游植物色素后的产物。

3.3

黄色物质 yellow substance, colored dissolved organic matter (CDOM), chromophoric dissolved organic matter, gelbstoff

海水溶解有色有机物质中的一类结构未知的复杂高分子量化化合物的混合物,如腐殖酸等。

3.4

光学密度 optical density

在给定波长上入射到单位体积的辐射功率与该体积发出的散射和直射透过辐射功率总和之比的以10为底的对数。

3.5

光谱吸收系数 spectral absorption coefficient

吸收的与入射的辐射能通量或光通量的光谱密集度之比。

3.6

光程放大校正因子 pathlength amplification correction

滤纸上多次散射引起的光程增大校正的系数。

4 原理

分光光度法测量溶液光谱吸收系数的原理基于朗伯-比尔(Lambert-Beer)定律。在海洋水色研究中,它的具体形式为:

$$a_t = a_w + a_{ph} + a_d + a_g \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- a_t ——总吸收系数,单位为每米(m^{-1});
- a_w ——水吸收系数,单位为每米(m^{-1});
- a_{ph} ——浮游植物色素吸收系数,单位为每米(m^{-1});
- a_d ——非色素颗粒物吸收系数,单位为每米(m^{-1});
- a_g ——黄色物质吸收系数,单位为每米(m^{-1})。

分光光度法测量海水中各成分的光谱吸收系数,涉及到对两种物质形态要素的测量:一种是对固态形式的颗粒物与非色素颗粒物吸收光学密度的测量;另一种是对液态形式的黄色物质吸收光学密度的测量。后者可直接应用分光光度法测量原理;而前者则采用定量滤纸技术(Quantitative Filter Technique, QFT),即将海水中的颗粒物过滤富集在滤纸上,在数据处理过程中对滤纸媒质高散射引起的光程放大效应(β)进行定量校正,获得颗粒物的光谱吸收系数。

5 试剂和材料

试剂和材料如下所示,除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和去离子水或相当纯度的水:

- 5.1 玻璃纤维滤纸:直径 25 mm 或 47 mm,孔径 0.7 μm ;
- 5.2 聚碳酸酯滤纸:直径 25 mm 或 47 mm,孔径 0.20 μm 或 0.22 μm ;
- 5.3 甲醇(CH_3OH),浓度 100%;
- 5.4 盐酸(HCl),浓度 10%。

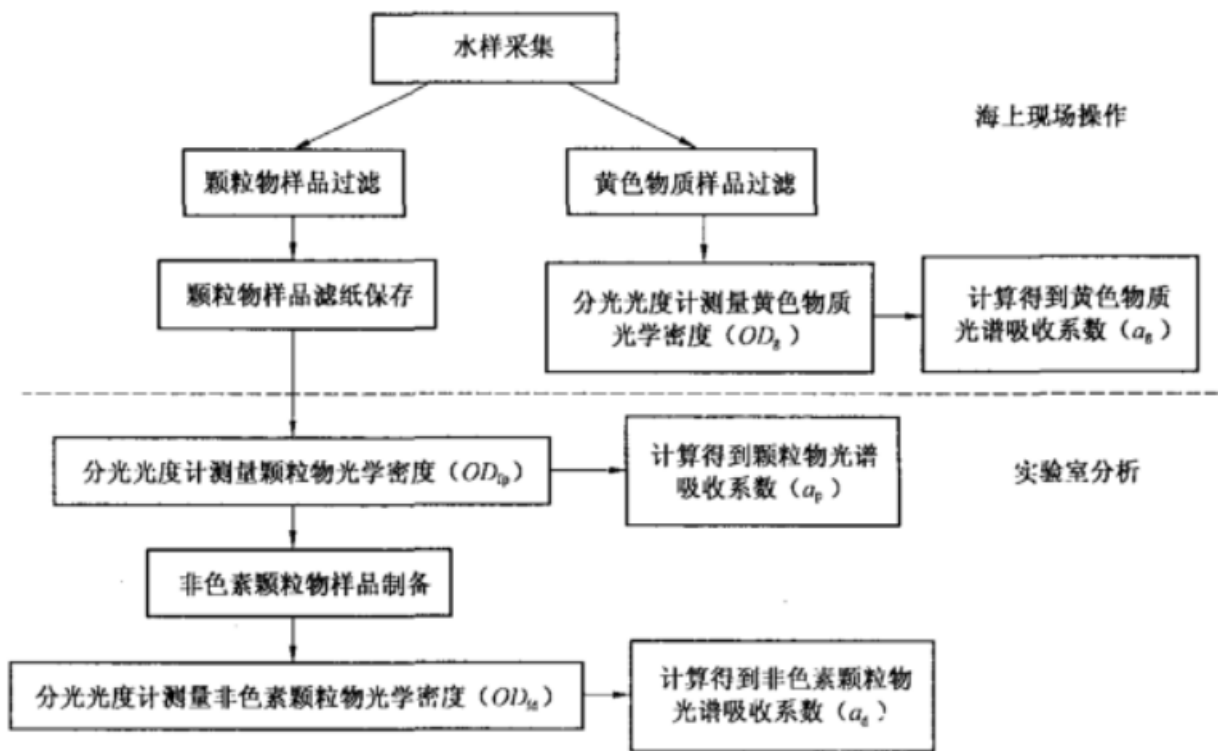
6 仪器

- 6.1 紫外-可见分光光度计:测光方式:双光束;波长范围包含 400 nm~700 nm(在仪器允许条件下包含 790 nm~800 nm);基线噪声小于 0.000 5;波长准确度:±0.5 nm;
- 6.2 采水器:击开式采水器,见 HY/T 040 1996;
- 6.3 液氮生物容器:见 GB/T 5458—1997;
- 6.4 玻璃样品瓶;
- 6.5 聚乙烯样品瓶;
- 6.6 抽滤装置:包括滤器、支架、抽滤瓶和真空泵;
- 6.7 常规实验室分析工具:通用;
- 6.8 无菌样品盒,直径 25 mm 或 47 mm。

7 分析步骤

7.1 操作流程

海水中颗粒物和黄色物质光谱吸收系数的操作流程如图 1 所示。



图中：

OD_{tp} —— 颗粒物滤纸光学密度；

OD_{nd} —— 非色素颗粒物滤纸光学密度；

OD_y —— 黄色物质光学密度；

a_y —— 黄色物质光谱吸收系数，单位为每米(m^{-1})；

a_p —— 颗粒物吸收系数，单位为每米(m^{-1})；

a_d —— 非色素颗粒物光谱吸收系数，单位为每米(m^{-1})。

图 1 海水中颗粒物和黄色物质光谱吸收系数操作流程

7.2 试验前准备

试验前准备步骤如下：

- 准备采水器(6.2)；
- 准备存放颗粒物样品的无菌样品盒(6.8)；
- 将玻璃样品瓶(6.4)浸泡在盐酸(5.4)中 12 h 之后，先用 50 mL 水分别冲洗玻璃瓶三次，再用 15 mL 水分别冲洗玻璃样品瓶三次，用铝箔封住瓶口，将瓶子在 450 ℃ 烘烤(4~6)h；将瓶盖在 70 ℃ 下干燥(4~6)h。将处理好的玻璃样品瓶置于干燥、避光处存放，待用；
- 将聚乙烯样品瓶(6.5)浸泡在盐酸(5.4)中 12 h 之后，先用 50 mL 水分别冲洗聚乙烯样品瓶三次，再用 15 mL 水分别冲洗聚乙烯样品瓶三次，用铝箔封住瓶口，将瓶子和瓶盖在 50 ℃ 烘烤(6~8)h。将处理好的聚乙烯样品瓶置于干燥、避光处存放，待用；
- 准备水样采集信息的记录表格。

7.3 现场操作

7.3.1 海水样品采集

海水样品的采集步骤如下：

- 按照试验要求，用采水器采集水样，采样深度根据具体的测量要求而定，按照 GB 17378.3 的有关规定执行；
- 将水样从采水器中立即转移到按 7.2. c) 处理的玻璃瓶中，保存在环境温度接近现场水温的避光处；
- 记录水样采集的相关信息，记录表格见附录 A。

7.3.2 颗粒物样品过滤与保存

颗粒物样品过滤与保存的操作步骤如下：

- 用盐酸浸泡聚碳酸酯滤纸 15 min,再用水冲洗浸泡好的滤纸三次；
- 将浸泡好的聚碳酸酯滤纸固定在抽滤装置上,过滤足够的海水,作为备用海水；
- 将所有玻璃纤维滤纸在过滤好的备用海水中浸泡 1 h；
- 将浸泡好的玻璃纤维滤纸固定在抽滤装置上,在近似等于 166.25 hPa 的真空度下,将 25 mL 7.3.2. b)得到的备用海水过滤到两片玻璃纤维滤纸上,作为参比滤纸；
- 在近似等于 166.25 hPa 的真空度下,将采集到的海水过滤到玻璃纤维滤纸上,得到颗粒物样品滤纸。应根据现场海水中颗粒物的浓度,确定过滤海水的体积在 50 mL~2 000 mL,过滤海水的体积应满足颗粒物样品滤纸的光学密度 $OD_{ip}(675)$ 大于 0.05 小于等于 0.25、 $OD_{ip}(440)$ 小于等于 0.4 的要求；
- 将 7.3.2. d)得到的参比滤纸和 7.3.2. e)得到的颗粒物样品滤纸分别平整的转移到贴有标签的无菌样品盒(6.8)中,标签上应写明站位号和采水深度,无菌样品盒中事先应滴一滴备用海水,用锡纸包裹无菌样品盒,将无菌样品盒放入液氮生物容器(6.3)中保存；
- 记录 7.3.2. e)得到的颗粒物样品滤纸部分的面积 A_i 和过滤海水的体积 V_i ,记录表格见附录 A。

7.3.3 黄色物质样品过滤与保存

7.3.3.1 黄色物质样品过滤与保存的操作步骤如下：

- 将 0.2 μm 的聚碳酸酯滤纸浸泡在盐酸中 15 min,再用水冲洗浸泡好的滤纸三次,待用；
- 将 7.3.3.1. a)准备好的聚碳酸酯滤纸固定在抽滤装置上,在近似等于 159.6 hPa 的真空度下,过滤约 100 mL 水冲洗按 7.2. c)准备的玻璃样品瓶后倒出,再次过滤约 75 mL 水到玻璃样品瓶,作为参比水待用；
- 在近似等于 159.6 hPa 的真空度下,过滤约 100 mL 的海水样品冲洗按 7.2. c)准备的玻璃样品瓶后倒出,然后过滤 75 mL 海水样品到玻璃样品瓶中,得到黄色物质样品溶液；
- 将 7.3.3.1. c)得到的黄色物质样品溶液放在阴暗处保存待测,并记录相关信息,记录表格见附录 B。

7.3.3.2 现场无条件将黄色物质样品过滤与保存,应将 175 mL 海水样品转移到 7.2. d)准备的聚乙烯样品瓶,保存在液氮生物容器中,并记录相关信息,记录表格见附录 B。

7.4 实验室样品前处理与样品的光学密度测量

7.4.1 颗粒物光学密度测量——光透射测量法

颗粒物光学密度测量采用光透射测量方法,测量步骤如下：

- 接通实验室电源,启动分光光度计,预热 30 min；
- 启动分光光度计操作软件,设置测量参数；
- 从液氮生物容器中取出经 7.3.2. f)处理的无菌样品盒,在避光处将参比滤纸和颗粒物样品滤纸解冻至室温,待测；
- 测量空气对空气的光学密度光谱,谱线应平直,噪声应低于 ± 0.0005 ；
- 将解冻好的两片参比滤纸分别放在分光光度计的样品光路和参比光路上,校正分光光度计,得到的光学密度光谱谱线应平直,在整个测量波长范围内应低于 ± 0.005 ,测量得到参比滤纸的光学密度 $OD_M(\lambda)$ ；
- 从样品光路上移开参比滤纸,替换成解冻好的颗粒物样品滤纸,样品附着面向入射光,测量颗粒物样品的光学密度 $OD_{ip}(\lambda)$ 。

7.4.2 非色素颗粒物样品制作与光学密度测量

7.4.2.1 非色素颗粒物样品制作——甲醇提取法

非色素颗粒物样品的制作步骤如下：

- 用盐酸浸泡聚碳酸酯滤纸 15 min,再用水清洗浸泡好的滤纸三次；
- 将浸泡好的聚碳酸酯滤纸固定在抽滤装置上,过滤足够的海水作为备用海水；
- 将按 7.4.1 步骤测量过光学密度的颗粒物样品滤纸和参比滤纸分别放回到抽滤装置上；
- 靠近过滤器边缘向滤纸上缓慢倒入 5 mL~10 mL 甲醇(5.3),静置 1 min；
- 过滤掉甲醇。靠近过滤器边缘再次向滤纸上缓慢倒入 10 mL~15 mL 甲醇,静置 1 h；
- 过滤掉甲醇。用少量甲醇沿着过滤器边缘冲洗滤纸两次,用 20 mL 7.4.2.1. b)得到的备用海水冲洗滤纸三次,得到非色素颗粒物样品滤纸。

7.4.2.2 非色素颗粒物的光学密度测量

非色素颗粒物光学密度的测量步骤与颗粒物光学密度的测量步骤相同,将 7.4.1 中的颗粒物样品滤纸换成非色素颗粒物样品滤纸即可。

7.4.3 黄色物质光学密度测量

7.4.3.1 黄色物质样品光学密度测量的操作步骤如下：

- 接通实验室电源,启动分光光度计,预热 30 min；
- 启动分光光度计操作软件,设置测量参数；
- 测量空气对空气的光学密度光谱,谱线应平直,噪声应低于 $\pm 0.000\ 5$ ；
- 将 10 cm 的比色皿盛满水,放入分光光度计的参比光路和样品光路,校正分光光度计,得到的光学密度光谱谱线应平直,在整个测量波长范围内应低于 $\pm 0.000\ 5$ ；
- 将样品光路中比色皿里的水倒掉,用 7.3.3.1. b)得到的参比水冲洗比色皿三次,装满参比水,测量参比水相对于水的光学密度 $OD_{\text{w}}(\lambda)$ ；
- 将样品光路中比色皿里的参比水倒掉,用 7.3.3.1 得到的黄色物质样品溶液冲洗比色皿三次,在比色皿中装满黄色物质样品溶液,测量样品的光学密度 $OD_{\text{s}}(\lambda)$ 。

7.4.3.2 现场只将海水样品保存,应从液氮生物容器中取出样品,放入恒温水浴箱中,恢复至室温。按照 7.3.3.1 a)~c)步骤处理海水样品,得到黄色物质样品溶液。按照 7.4.3.1a)~f)测量黄色物质样品溶液的光谱吸收系数。

7.4.4 注意事项

分光光度法测量海水中颗粒物和黄色物质光谱吸收系数的注意事项如下：

- 操作前将手清洗干净,不应用手直接触摸样品,以免污染样品；
- 在测量颗粒度和非色素颗粒物光谱吸收系数时,滤纸在分光光度计中的位置应保持纹理方向一致；
- 在颗粒物测量的过程中,随着时间推移,参比滤纸会变干,应定期在滤纸背面滴入备用海水,以保持参比滤纸适当的水合性；
- 甲醇提取色素时应避免直接用甲醇冲洗样品,防止颗粒分布不均；
- 比色皿事先应在盐酸中浸泡,并用水彻底清洗,使用前应擦干光学透光面,确定其已干净,且没有气泡；
- 用于测量的样品应至少是比色皿体积的四分之三以上；
- 黄色物质样品溶液与参比水应保持相同的温度；
- 测量过程中,每隔 1 h~2 h 应检查一次仪器的基线；
- 如因特殊情况需要重新启动或设置分光光度计时,应重新扫描基线。

8 数据处理

8.1 光谱吸收系数计算

8.1.1 颗粒物光谱吸收系数计算

颗粒物光谱吸收系数计算公式如下：

$$a_p(\lambda) = \frac{230.3A_f}{\beta V_f} \{ [OD_{fp}(\lambda) - OD_{bf}(\lambda)] - OD_{null,p} \} \dots\dots\dots (2)$$

$$\beta = \{ C_1 + C_2 [OD_{fp}(\lambda) - OD_{null,p}] \}^{-1} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

- $a_p(\lambda)$ ——颗粒物光谱吸收系数,单位为每米(m⁻¹)；
- A_f ——滤纸上富集有颗粒物的滤纸面积,单位为平方厘米(cm²)；
- β ——光程放大校正因子；
- V_f ——过滤的水样体积,单位为毫升(mL)；
- $OD_{fp}(\lambda)$ ——样品滤纸的光学密度；
- $OD_{bf}(\lambda)$ ——参比滤纸的光学密度；
- $OD_{null,p}$ ——在近红外波段颗粒物吸收系数的残余校正,一般取 790 nm~800 nm 范围内 $OD_{fp}(\lambda)$ 的平均值；
- $C_1、C_2$ ——光程放大因子的经验系数,其值可根据实际情况参考相关值,参见附录 C。

8.1.2 非色素颗粒物光谱吸收系数计算

非色素颗粒物光谱吸收系数 $a_d(\lambda)$ 的计算公式与颗粒物光谱吸收系数计算公式相同,将式中的 $OD_{fp}(\lambda)$ 和 $OD_{null,p}$ 替换成 7.4.2.2 中得到的 $OD_{fd}(\lambda)$ 和 $OD_{null,d}$ 。

8.1.3 黄色物质光谱吸收系数计算

黄色物质光谱吸收系数计算公式如下：

$$a_g(\lambda) = \frac{2.303}{l} \{ [OD_s(\lambda) - OD_{bs}(\lambda)] - OD_{null,g} \} \dots\dots\dots (4)$$

式中：

- $a_g(\lambda)$ ——黄色物质光谱吸收系数,单位为每米(m⁻¹)；
- l ——比色皿的长度(通常为 0.1 m),单位为米(m)；
- $OD_s(\lambda)$ ——黄色物质相对于水的光学密度；
- $OD_{bs}(\lambda)$ ——参比水相对于水的光学密度；
- $OD_{null,g}$ ——在长波段可见光或近红外波段黄色物质吸收系数的残余校正,清洁水体取 590 nm~600 nm 范围内 $OD_s(\lambda)$ 和 $OD_{bs}(\lambda)$ 差值的平均值,浑浊水体取 690 nm~700 nm 范围内 $OD_s(\lambda)$ 和 $OD_{bs}(\lambda)$ 差值的平均值。

8.2 测量不确定度评定

每个站位采集一个或多个平行样,每航次至少应有 30% 的站位采集平行样,计算光谱吸收系数测量的相对标准差 RSD。

计算公式如下：

$$RSD = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}}{\bar{x}} \times 100\% \dots\dots\dots (5)$$

式中：

- n ——平行样个数；

x ——吸收系数测量值,单位为每米(m^{-1});

\bar{x} ——吸收系数测量平均值,单位为每米(m^{-1})。

用 RSD_p 、 RSD_d 和 RSD_g 分别表示颗粒物光谱吸收系数、非色素颗粒物光谱吸收系数和黄色物质光谱吸收系数的相对标准差。

9 试验报告

海水中颗粒物和黄色物质光谱吸收系数测量的试验报告应包括以下内容:

- a) 使用的标准,应包括发布或出版年号;
- b) 试验结果,包括各单次试验结果和它们的平均值,按第 7 章的规定计算;
- c) 与规定的分析步骤的差异;
- d) 在试验中观察到的异常现象;
- e) 试验日期。

附 录 A
(规范性附录)
海水中颗粒物样品采集表

海水中颗粒物样品采集表见表 A.1。

表 A.1 海水中颗粒物样品采集表

第 页 共 页

航次 _____ 海区 _____ 实验船 _____

站位	日期	时间	经度	纬度	水层深度 m	过滤体积 V_f mL	富集有颗粒物的 滤纸面积 A_f cm^2	标签号	操作者	备注

记录者 _____ 校对者 _____ 复校者 _____

附 录 B
(规范性附录)
海水中黄色物质样品采集表

海水中黄色物质样品采集表见表 B.1。

表 B.1 海水中黄色物质样品采集表

第 页 共 页

航次 _____ 海区 _____ 实验船 _____

站位	日期	时间	经度	纬度	水层深度 m	标签号	操作者	备注

记录者 _____ 校对者 _____ 复校者 _____

附录 C
(资料性附录)

光程放大校正因子计算经验系数

光程放大校正因子计算经验系数见表 C. 1。

表 C. 1 光程放大效应校正因子计算经验系数

正交函数 (Quadratic Functions)	颗粒类型 (Particle Type)	C ₁	C ₂
Mitcehl (1990)	混合培养物 (Mixed Cultures)	0.392	0.655
Cleveland 和 Weidemann (1993)	混合培养物 (Mixed Cultures)	0.378	0.523
Moore 等 (1995)	<i>Prochlorococcus marinus</i>	0.291	0.051
Moore 等 (1995)	<i>Thalassiosira weissflogii</i>	0.299	0.746
Moore 等 (1995)	<i>Synechococcus</i> WH8103	0.304	0.450
Tassan 和 Ferrari (1995)	<i>Scenedesmus obliquus</i>	0.406	0.519
Nelson 等 (1998)	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	0.437	0.022
Nelson 等 (1998)	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	0.294	0.587
Nelson 等 (1998)	<i>Synechococcus</i> WH7803	0.277	0.000
幂函数 (Power Functions)			
Mitchell 和 Kiefer (1988a)	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	0.540	-0.467
Bricaud 和 Stramski (1990)	Field samples; <i>D. tertiolecta</i> Cultures of Mitchell & Kiefer(1988a)	1.630	-0.220
Kahru 和 Mitchell (1998)	Mitchell(1990) data	1.220	-0.254

参 考 文 献

- [1] GB/T 12763.1—2007 海洋调查规范 第1部分:总则.
 - [2] GB/T 12763.2—2007 海洋调查规范 第2部分:海洋水文观测.
 - [3] GB/T 12763.7—2007 海洋调查规范 第7部分:海洋调查资料交换.
 - [4] JJF 1135—2005 化学分析测量不确定度评定.
 - [5] GB 3102.6—1993 光及有关电磁辐射的量和单位.
 - [6] Mitchell B G, et al. Determination of spectral absorption coefficients of particles, dissolved material and phytoplankton for discrete water samples. In: Ocean Optics Protocols for Satellite Ocean Color Sensor Validation. NASA/TM-2000-209966, Greenbelt, Maryland, Goddard Space Flight Centre, 125-153.
 - [7] 崔清晨. 海洋化学词典[M]. 北京:海洋出版社, 1993.
-