

利用绿色碳点-流动注射荧光法 测定环境水中化学需氧量

张徐燕¹, 张蓉¹, 李乔惠², 李永生^{1*}

(1. 四川大学化学工程学院, 四川 成都 610065; 2. 南京农业大学工学院, 江苏 南京 210031)

摘要: 为了达到快速、在线监测水质指标化学需氧量(COD)的目的,首次以废弃物核桃绿皮为碳源、乙二胺为氮源,水热法制备得到绿色碳点,并利用紫外可见光谱、荧光光谱及透射电镜对碳点进行了表征。基于高锰酸根内滤光效应及氧化作用猝灭碳点荧光的机理,建立了流动注射荧光猝灭法快速、自动测定水样中COD的方法。在最佳条件下,测定COD的线性范围为0.5~80 mg/L,检出限为0.15 mg/L,Cl⁻质量浓度至10 000 mg/L时不干扰测定。最后,采用该方法测定了几种环境水样的COD,结果与国标法一致。

关键词: 绿色碳点; 荧光法; 流动注射分析; 化学需氧量; 环境水

中图分类号: O657.3; X832

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2023)04-0237-05

DOI: 10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2023.04.045

Determination of COD in environmental water by green carbon dots-flow injection fluorescence method

ZHANG Xu-yan¹, ZHANG Rong¹, LI Qiao-hui², LI Yong-sheng^{1*}

(1. School of Chemical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China;

2. College of Engineering, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210031, China)

Abstract: In order to monitor chemical oxygen demand (COD) rapidly and online, green carbon dots are prepared via hydrothermal method using walnut green husk as carbon source and ethylenediamine as nitrogen source. The prepared carbon dots are characterized by ultraviolet-visible, fluorescence and transmission electron microscopy. Based on the internal filter effect of permanganate and the mechanism of carbon dots fluorescence quenching by oxidation, a fast and automatic method for the determination of COD in water samples by flow injection fluorescence quenching is established. Under the optimal conditions, the linear range for the determination of COD is 0.5–80 mg·L⁻¹, and the detection limit is 0.15 mg·L⁻¹. Cl⁻ with a mass concentration of 10 000 mg·L⁻¹ does not interfere the determination. This method is applied to determine COD in several environmental water samples, and the results obtained are consistent with those by China's national standard method.

Key words: green carbon dots; fluorescent method; flow injection analysis; COD; environmental water

化学需氧量(COD)与水体被污染程度密切相关,是水质监测的关键参数之一^[1]。因此,准确检测COD值对水污染的综合防治有重要的意义。目前测定COD的常用方法有分光光度法^[2-3]、电化学法^[4]、化学发光法^[5-7]等,但是均面临设备及试剂成本高、操作复杂等问题。Yao等^[6]采用KMnO₄-戊二醛化学发光体系间接测定水体中COD; Cristina等^[7]利用CdTe量子点-鲁米诺发光系统测定水样中COD;但所用的戊二醛、CdTe试剂皆有毒性,对环境造成污染。因此,亟需建立一种简便、环境友好的快速检测COD的方法。

碳点(CDs)是一种尺寸小于10 nm的荧光纳米材料^[8],因具有制备成本低、水溶性好、毒性小等优

点,已被广泛应用于分析化学、生物成像和光催化等领域^[9-11]。另外,以生物质废弃物^[12-13]制备CDs不仅能丰富CDs原料,还能有效解决环境污染和废物再利用等问题。因此,笔者在乙二胺^[14]的辅助下,利用废弃的核桃外层绿皮^[15](俗称青龙衣)制备得到高荧光的CDs,并结合流动注射技术^[16-18],建立了一种快速、准确、环境友好的自动化监测天然水中COD的方法。

1 试剂与仪器

1.1 实验试剂

葡萄糖,分析纯;高锰酸钾,分析纯;六水氯化铁、五水硫酸铜、氯化汞、氯化钡、硫酸镁、硫酸锌、氯

收稿日期:2022-05-02;修回日期:2023-02-22

作者简介:张徐燕(1996-),女,硕士生;李永生(1958-),男,博士,教授,主要从事化学分析自动化与在线监测,通讯联系人,lysgxf2005@qq.com。

化镉、硝酸钴、氯化铅、氯化钾、碘化钾、溴化钾、硝酸钠、亚硝酸钠、硫氰酸钾、重铬酸钾、高氯酸钾,分析纯;浓硫酸,分析纯;乙二胺,质量分数 99%,核桃青龙衣来自四川省成都市武侯区。

1.2 实验仪器

FIACompact-Module 流动注射分析仪,德国吉天公司生产;RF-5301PC 荧光光度计,日本岛津公司生产;UV-1800PC 分光光度计,上海傲艺公司生产;JEM-2100 Plus 透射电子显微镜,日本电子株式会社生产;DZF-6020 型真空干燥箱,上海琅玕公司生产;25 mL 聚四氟乙烯高压反应釜,西安莫吉娜公司生产。

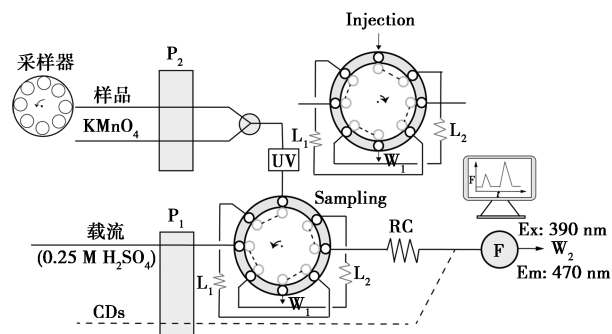
2 实验方法

2.1 青龙衣/乙二胺-碳点的制备与纯化

将 2.5 g 青龙衣与 12 mL 2 mol/L 的乙二胺溶液混合,随后将该混合溶液转移至 25 mL 的聚四氟乙烯反应釜中,并在 180℃ 下反应 6 h 得到棕色溶液。用 0.22 μm 微孔滤膜过滤该溶液,收集得到的滤液即为青龙衣/乙二胺-碳点(WE-CDs),记该 WE-CDs 浓度为 100%,储存于 4℃ 的冰箱中。

2.2 流动注射荧光法测定 COD

测定 COD 的系统如图 1 所示。具体的操作过程是:首先,转动采样阀置于“Sampling”位置时,2 台流速为 1.5 mL/min 的蠕动泵(P₁、P₂)同时运行,160 mg/L KMnO₄ 试剂以及样品(sample)被泵送入 UV 反应器内进行消解,消解后的样品充满定量环 1(L₁),多余的液体从 W₁ 排废;0.25 mol/L 的 H₂SO₄ 载流流过样品定量环 2(L₂),经过内径 1 mm、20 cm 长的反应盘管(RC)及荧光检测器,从 W₂ 排废,该检测器给出单独 0.1% WE-CDs 的空白信号(F₀)。



RC—反应盘管;L₁—60 μL 样品定量环;L₂—160 μL 样品定量环;

UV—紫外反应器;W—排废;P—蠕动泵;F—荧光检测器

图 1 流动注射荧光法测定 COD 系统

随后,转动该阀转于“Injection”位置时,载流推动 L₁ 中的样品塞进入 RC 反应检测后,从 W₂ 流出,检测器给出与样品相关的响应信号(F₁)。与此同时,第 2 个样品进入定量环 2(L₂),当该阀转回系统的“Sampling”时,载流将从定量环 L₂ 注入的样品塞 2 推入 RC 中反应及检测,该检测器给出第 2 个样品的信号(F₂)。利用 WE-CDs 荧光的猝灭程度($\Delta F_{L1} = F_1 - F_0$; $\Delta F_{L2} = F_2 - F_0$)定量 COD。另外,由于 L₁、L₂ 体积分别为 60、160 μL,所以本系统可进行高低浓度 COD 的同时测定。

2.3 实际水样的收集与处理

实际水样收集自四川大学校内江安河水、实验室自来水和天然气研究院提供的几种废水。获得的水样通过 0.22 μm 滤膜过滤得到滤液,并置于 4℃ 恒温冰箱中备用。

3 结果与讨论

3.1 WE-CDs 的重现性

本实验将新鲜青龙衣保存在 -20℃ 冰箱中,取不同储存时间的青龙衣在相同条件下合成 WE-CDs 后稀释至 0.1% 用荧光仪进行检测荧光强度,由表 1 数据知,不同储存时间的青龙衣合成的碳点重现性良好。

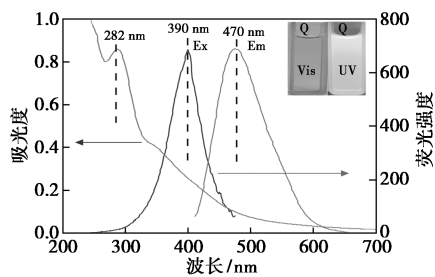
表 1 WE-CDs 的重现性

存放时间/月	F	误差/%
0	755	
1	750	0.67
3	743	1.58
6	735	2.64
9	722	4.37

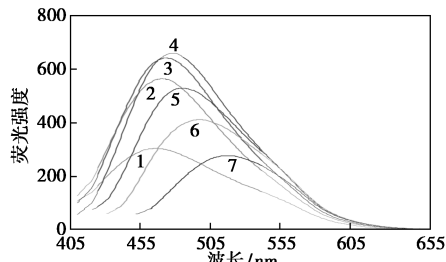
3.2 WE-CDs 的表征

由图 2(a) 可知,WE-CDs 在自然光线下呈透明的黄色,而在 365 nm 的紫外灯照射下呈亮蓝色荧光。随后对该 WE-CDs 进行光谱表征,如图 2(a) 所示,该 CDs 在 282 nm 处有特征吸收峰,源于 n-π* 跃迁;在 390 nm 的激发下能在 470 nm 处发射最强的荧光。因此,在下文的检测中,选用激发波长(E_x)、发射波长(E_m)分别为 390、470 nm。

图 2(b) 表明,当激发波长从 360 nm 增大至 440 nm,该 CDs 发射波长发生明显红移,表现出激发依赖性,这归因于 WE-CDs 粒径分布不均^[19]。



(a) WE-CDs 的分子光谱图

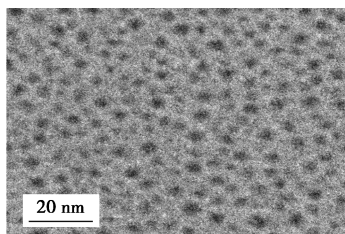


1—360 nm; 2—380 nm; 3—390 nm; 4—400 nm; 5—410 nm;
6—420 nm; 7—440 nm

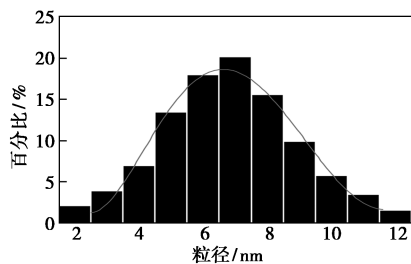
(b) 不同激发波长下 WE-CDs 的荧光光谱图

图 2 WE-CDs 的分子光谱

图 3 的 TEM 表征图表明,该 CDs 在水中呈均匀分散的球形,平均粒径约为 7 nm。



(a) 形貌



(b) 粒径分布

图 3 WE-CDs 的透射电子显微镜图和粒径分布

3.3 WE-CDs 检测 KMnO_4 的原理

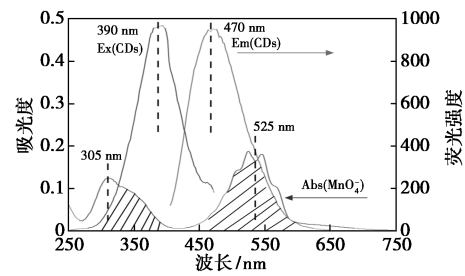
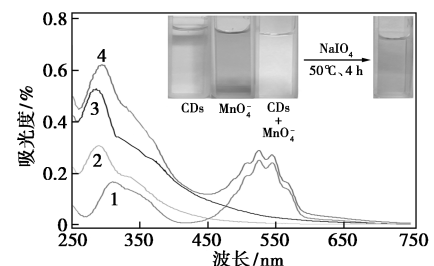
考察了常见离子 (80 $\mu\text{mol/L}$) 对 WE-CDs 荧光强度的影响。由表 2 可知,常见金属离子和阴离子均不影响 WE-CDs 的荧光强度;具有氧化性的阴离子 (MnO_4^- 、 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 、 NO_2^-) 对 CDs 均有猝灭效应,但 MnO_4^- 对 WE-CDs 荧光猝灭程度最大。因此,可采

用高锰酸盐指数法测定 COD。

表 2 常见离子对 CDs 荧光的影响

离子	空白	Fe^{3+}	Cu^{2+}	Hg^{2+}	Mn^{2+}	Zn^{2+}	Cd^{2+}
F	759	719	745	740	741	729	730
ΔF	—	40	14	19	18	30	29
离子	Pb^{2+}	Al^{3+}	Mg^{2+}	$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$	HCO_3^-	SCN^-	MnO_4^-
F	740	730	735	455	749	755	200
ΔF	19	29	24	304	10	4	559
离子	NO_2^-	NO_3^-	ClO_4^-	F^-	I^-		
F	540	700	730	752	745		
ΔF	219	59	29	7	14		

随后,研究了 KMnO_4 猝灭 WE-CDs 荧光的反应机理。荧光内滤效应,指当荧光体浓度较大或与其他吸光物质共存时,由于荧光体或其他吸光物质对于激发光或发射光的吸收而导致荧光减弱的现象^[20-21]。如图 4(a) 所示, KMnO_4 在 305 nm 和 525 nm 处有特征吸收峰,特征吸收峰均与 WE-CDs 的激发波长 (390 nm) 和发射波长 (470 nm) 有重叠。因此,根据内滤光效应的定义可知, KMnO_4 猝灭 WE-CDs 荧光是源于 KMnO_4 对 WE-CDs 内滤光效应。

(a) CDs 和 MnO_4^- 的分子光谱图

1— MnO_4^- ; 2—CDs; 3—CDs+ MnO_4^- ; 4—CDs 叠加 MnO_4^-

(b) CDs 和 MnO_4^- 的吸收光谱图图 4 CDs 与 MnO_4^- 的作用机理

此外,由于 KMnO_4 是强氧化性物质,考察了 KMnO_4 对 WE-CDs 的氧化作用。如图 4(b) 的紫

外-可见光谱结果可知,WE-CDs 与 KMnO_4 混合液的特征吸收峰在 280 nm,表明了 WE-CDs 与 KMnO_4 发生了反应,使得 KMnO_4 在 525 nm 处的吸收峰消失。为了进一步考察 KMnO_4 对 WE-CDs 是否存在氧化作用,对 KMnO_4 的还原性产物 Mn^{2+} 进行了监测。结果如图 4(b)插图所示, KMnO_4 呈紫红色,在加入 WE-CDs 后变为无色,随后在该混合液中加入 NaIO_4 ,溶液颜色恢复为紫红色。这表明有 Mn^{2+} 产生,而该 Mn^{2+} 能够被 NaIO_4 氧化成 KMnO_4 ,由此证明 KMnO_4 与 WE-CDs 发生了氧化作用。因此, KMnO_4 猝灭 WE-CDs 荧光是由内滤光效应和氧化作用导致的。

3.4 测定条件优化

3.4.1 WE-CDs 的体积分数

以 0.25 mol/L 硫酸为载流,200 mg/L KMnO_4 为试剂,纯水为测试样品,在流动注射系统中,考察不同体积分数 WE-CDs (0.05%、0.1%、0.25%、0.5%、0.75%) 的荧光强度。结果表明,随着 WE-CDs 体积分数的增加均呈现先增加后减小的趋势。因此,为得到最大荧光强度的 WE-CDs,WE-CDs 体积分数确定为 0.1%。

3.4.2 KMnO_4 的浓度

以 0.25 mol/L 硫酸为载流,0.1% WE-CDs 为试剂,纯水为测试样品,在流动注射系统中,考察不同 KMnO_4 浓度(28、50、100、160、220、280 mg/L)对 WE-CDs 荧光的影响。结果表明,随着 KMnO_4 浓度增加,荧光猝灭程度先增加后不变,当 KMnO_4 浓度为 160 mg/L 时 WE-CDs 猝灭程度不再变化。所以, KMnO_4 浓度选定为 160 mg/L。

3.4.3 进样体积的影响

以 0.25 mol/L 硫酸为载流,160 mg/L KMnO_4 、0.1% WE-CDs 为试剂,纯水为测试样品,在流动注射系统中,固定定量环 L_1 为 60 μL ,考察了 L_2 的体积(90、120、160、210、270 μL)对 WE-CDs 荧光的影响。结果表明,在 90~270 μL 范围内,进样体积增加, ΔF 先增加后不变,最终选定 L_1 体积为 60 μL , L_2 的体积为 160 μL 。

3.4.4 反应盘管的影响

以 0.25 mol/L 硫酸为载流,160 mg/L KMnO_4 、0.1% WE-CDs 为试剂,定量环 L_1 、 L_2 体积分别为 60、160 μL ,纯水为测试样品,在流动注射系统中,考察该反应盘管长度(20、40、60、80、100 cm)对 WE-CDs 荧光的影响。结果表明,反应盘管长度增加对

荧光值影响不大,为节约分析时间和降低分析成本,故选择反应盘管为 20 cm。

3.5 COD 测定的线性范围、检出限

配制一系列不同浓度的 COD 标准溶液(1 g 葡萄糖等于 1.067 g COD),在最佳条件下考察 COD 与荧光猝灭程度的相关性。结果表明,在 $L_1 = 60 \mu\text{L}$ 时,荧光猝灭程度与 COD 值线性关系良好($\Delta F_{60} = 7.3c + 1.7$, $r = 0.9973$),检测范围为 1~80 mg/L,检出限($D = 3S/K$, $S = 0.8$, $K = 7.3$)为 0.33 mg/L;同样地,在 $L_2 = 160 \mu\text{L}$ 时,线性关系良好($\Delta F_{160} = 10.6c - 6.17$, $r = 0.9983$),检测范围为 0.5~40 mg/L,检出限($D = 3S/K$, $S = 0.53$, $K = 10.6$)为 0.15 mg/L。

3.6 氯离子的干扰

在测定 COD 时, Cl^- 是主要干扰物质^[22]。原因在于水中 Cl^- 在酸性条件下易被氧化,导致 COD 值产生正误差。在最佳反应条件下,在流动注射系统中将 20 mg/L COD 溶液与不同含量 Cl^- 混合,检测荧光强度的变化。结果如表 3 所示,在不加入其他掩蔽剂的条件下,10 g/L Cl^- 依旧对 COD 测定无影响,相对误差(RSD)均小于 5%,表明本方法的抗干扰能力强。

表 3 Cl^- 浓度对测定的影响

COD/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	Cl^- / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$F_{60 \mu\text{L}}$	误差 _{60 μL} / %	$F_{160 \mu\text{L}}$	误差 _{160 μL} / %
20	0	495		264	
20	50	500	1.01	271	2.65
20	100	498	0.61	265	0.38
20	500	499	0.81	269	1.89
20	1000	507	2.42	270	3.41
20	5000	510	3.03	274	3.78
20	10000	511	3.23	277	4.92

3.7 水样的测定

测定了实际水样中 COD 含量,并以高锰酸盐指数国标法^[23]为对照法。由表 4 的结果可知, P 值(0.06)大于 0.05,表明 2 种方法无显著性差异,证明本方法具有较高的准确性和实用性。

4 结论

以废弃物核桃绿皮为碳源,乙二胺为氮源合成了氮掺杂的绿色 CDs,利用 KMnO_4 对该 CDs 荧光灵敏猝灭的现象,建立了一种快速测定 COD 的流动注

表4 2种方法测定结果对比

样品	本法 ^①				国标法 ^②			
	$F_0(\pm SD)$	$F(\pm SD)$	ΔF	COD/(mg·L ⁻¹)	$A_0(\pm SD)$	$A(\pm SD)$	ΔA	COD/(mg·L ⁻¹)
自来水		247(+0.02)	4	0.96		1.82(+0.019)	0.16	1.22
江安河水		315(-0.02)	72	7.31		1.43(-0.014)	0.54	7.44
大竹分厂上游河水		301(-0.02)	58	5.99		1.49(-0.011)	0.48	6.51
大竹分厂下游河水	243(+0.01)	311(-0.01)	68	6.98	1.97(-0.003)	1.45(+0.015)	0.52	7.16
引进分厂废水		380(-0.01)	137	13.47		1.06(+0.014)	0.91	13.34
保险池废水		449(+0.02)	206	19.96		0.64(-0.006)	1.33	20.25
水解酸化池水		461(+0.02)	218	21.04		0.55(+0.008)	1.42	21.60

注:① $\Delta F=10.63c-6.17(0.5\sim 40\text{ mg/L})$;② $\Delta A=0.062c+0.08(1\sim 30\text{ mg/L})$ 。

射荧光碳点新方法。该方法优点是消解时间短、灵敏度高、抗干扰能力强、能同时在线监测高低浓度的COD样品。本方法可用于天然水中COD测定及大批量样品的快速监测。

参考文献

- [1] 国家环保局.水和废水检测分析方法[M].3版.北京:中国环境科学出版社,1989:354-363.
- [2] Chai Y, Ding H, Zhang Z, et al. Study on photocatalytic oxidation for determination of the low chemical oxygen demand using a nano-TiO₂-Ce(SO₄)₂ coexisted system[J]. Talanta, 2006, 68: 610-615.
- [3] Li J, Tao T, Li X, et al. A spectrophotometric method for determination of chemical oxygen demand using home-made reagents[J]. Desalination, 2009, 239: 139-145.
- [4] Lee K, Ishikawa T, McNiven S, et al. Chemical oxygen demand sensor employing a thin layer electrochemical cell[J]. Analytica Chimica Acta, 1999, 386: 211-220.
- [5] Zhao Y, Zhou J, Song Y, et al. An environment-friendly device for rapid determination of chemical oxygen demand in waters based on ozone-induced chemiluminescence technology[J]. Analytical Methods, 2019, 11: 177-1714.
- [6] Yao H, Wu B, Qu H, et al. A high throughput chemiluminescence method for determination of chemical oxygen demand in waters[J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 633: 76-80.
- [7] Cristina I, Silvestre C, Frigerio C, et al. Quantum dots assisted photocatalysis for the chemiluminometric determination of chemical oxygen demand using a single interface flow system[J]. Analytica Chimica Acta, 2011, 699: 193-197.
- [8] Xu X, Ray R, Gu Y, et al. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments[J]. Journal of the American Chemical Society, 2004, 126: 12736-12737.
- [9] Dehghani A, Ardekani S, Hassan M, et al. Collagen derived carbon quantum dots for cell imaging in 3D scaffolds via two-photon spectroscopy[J]. Carbon, 2018, 131: 238-245.
- [10] Long R, Tang C, Li T, et al. Dual-emissive carbon dots for dual-channel ratiometric fluorometric determination of pH and mercury ion and intracellular imaging[J]. Microchimica Acta, 2020, 187: 307.
- [11] Zhao F, Rong Y, Wan J, et al. High photocatalytic performance of carbon quantum dots/TNTs composites for enhanced photogenerated charges separation under visible light[J]. Catalysis Today, 2018, 315: 162-170.
- [12] Ma X, Dong Y, Sun H, et al. Highly fluorescent carbon dots from peanut shells as potential probes for copper ion: The optimization and analysis of the synthetic process[J]. Materials Today Chemistry, 2017, 5: 1-10.
- [13] Thongsai N, Tanawannapong N, Praneerad J, et al. Real-time detection of alcohol vapors and volatile organic compounds via optical electronic nose using carbon dots prepared from rice husk and density functional theory calculation[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2019, 560: 278-287.
- [14] Li Z, Zhang Y, Niu Q, et al. A fluorescence probe based on the nitrogen-doped carbon dots prepared from orange juice for detecting Hg²⁺ in water[J]. Journal of Luminescence, 2017, 187: 274-280.
- [15] 赵岩, 刘淑萍, 吕朝霞. 核桃青皮的化学成分与综合利用[J]. 农产品加工, 2008, (11): 66-68.
- [16] Gao X, Li Y, Karube I. Flow injection spectrophotometric determination of sulfated bile acids in urine with immobilized enzyme reactors using water soluble tetrazolium blue-5[J]. Analytica Chimica Acta, 2001, 443: 257-264.
- [17] Smith J, Hinson-Smith V. Flow injection analysis: Quietly pushing ahead[J]. Analytical Chemistry, 2002, 74: 385A-388A.
- [18] Li Y, Zhou L, Zhang H, et al. A negative-pressure flow-injection micro-electrode system for rapid and simultaneous determination of four electrolytes in human serums[J]. Analytical Sciences, 2012, 28: 781-787.
- [19] Pan L, Sun S, Zhang A, et al. Truly fluorescent excitation-dependent carbon dots and their applications in multicolor cellular imaging and multidimensional sensing[J]. Advanced Materials, 2015, 27(47): 7782-7787.
- [20] 谢勇, 韩明杰, 徐钰豪, 等. 荧光内滤效应在环境检测领域的应用[J]. 化学进展, 2021, 33(8): 1450-1460.
- [21] Zhang G, Zhang X, Luo Y, et al. A flow injection fluorescence "turn-on" sensor for the determination of metformin hydrochloride based on the inner filter effect of nitrogen-doped carbon dots/gold nanoparticles double-probe[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2021, 250: 119384.
- [22] Miller G, Brayton S, Boyles W. Chemical oxygen demand analysis of wastewater using trivalent manganese oxidant with chloride removal by sodium bismuthate pretreatment[J]. Water Environment Research, 2001, 73: 63-71.
- [23] 国家市场监督管理总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 15456—2019. 工业循环冷却水中化学需氧量(COD)的测定高锰酸盐指数法[S]. ■