A cta Scientiae Circum stantiae

马军,杨晶晶,赵吉. 2009 ABTS 显色分光光度法测定水中微量高锰酸钾 [J].环境科学学报, 29(3): 668-672

M a J Yang J J Zhao J 2009. Spectrophotometric determination of trace KM nO_4 in water with 2, 2'-azino—bis(3-ethylbenzothiazoline—6-sulfonate) [J]. A cta Scientiae Circum stantiae 29(3): 668 - 672

ABTS显色分光光度法测定水中微量高锰酸钾

马军^{1,*},杨晶晶¹,赵吉²

1 哈尔滨工业大学,城市水资源开发利用(北方)国家工程研究中心,城市水资源与水环境国家重点实验室,哈尔滨 150090
2 东北电力大学应用化学系,吉林 132012
收稿日期: 2008-05-09
录用日期: 2009-01-12

摘要: 基于 KM nO₄与 2, 2'-联氮一双-(3-乙基苯并噻唑啉 - 6磺酸)(ABTS)反应产生的绿色自由基在 415 nm 处有最大吸收值, 建立了一种利用分光光度计测定水中低浓度 KM nO₄(0~4 66 μ m of L⁻¹)的方法. 在 pH = 2 1、ABTS过量(28 4 μ m of L⁻¹)的条件下, KM nO₄与 ABTS反应 的化学计量关系为 1:5 产生的绿色自由基能够稳定存在, 其在波长 415 nm 处的摩尔吸收系数为 ε =(3.34±0 04) × 10⁴ L mo⁺¹ cm⁻¹. 该方 法对高锰酸钾的检测限(置信区间 90%)为 0.01 μ m of L⁻¹(1 6 μ g L⁻¹, 以 KM nO₄计).

关键词: 高锰酸钾; ABTS 水处理; 分光光度法

文章编号: 0253-2468 (2009) 03-668-05 中图分类号: X 830. 2 文献标识码: A

Spectrophotom etric determ ination of trace KM nO_4 in water with 2, 2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)

MA Jun^{1*} , YANG Jingjing¹, ZHAO J_1^2

1 National Engineering Research Center of Urban Water Resources, State Key Laboratory of Urban Water Resources and Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090

2 Department of Applied Chemistry, Northeast Dianli University, Jilin 132012

Received 9 M ay 2008 accepted 12 January 2009

A bstract A new method for the determ ination of concentrations $(0 \sim 4.66 \,\mu$ mol L⁻¹) of permanganate in water was established. The method is based on the reaction of permanganate with ABTS, 2, 2 - az ino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate), which forms a green radical cation (ABTS'+) that can be measured spectrophotometrically at a wavelength of 415 nm. The reaction between permanganate and ABTS has a stoichimetry of 1:5 in excess ABTS (28.4 μ mol L⁻¹). The absorbance at 415 nm has a good linear relationship with permanganate (0~ 4.66 μ mol L⁻¹) in phosphate buffered solution (pH = 2.1), with a molar absorptivity, $\varepsilon = (3.34\pm0.04) \times 10^4$ L mol⁻¹ cm⁻¹. A detection limit of about 0.01 μ mol⁻¹ of KM nO₄ (1.6 μ g L⁻¹ as KMnO₄) can be achieved with a 5 cm optical path with a 90% confidence interval

Keywords potassium permanganate, ABTS, water treatment spectrophotometric method

1 引言 (Introduction)

作为一种环境友好的氧化剂, KM nO₄被广泛地 应用于水处理过程的氧化、混凝、杀菌当中 (M oyers *et al*, 1985).研究结果表明, KM nO₄不仅可以通过 氧化氯代烯烃 (如 PCE, TCE, DCEs)脱氯修复地下 水体 (Huang *et al*, 2001),而且可以有效地抑制地 表水中藻类的繁殖 (L iang *et al*, 2008).实验证明, KM nO₄还能够有效地去除蓝藻产生的藻毒素 (M a

尽管 KM nO₄在水处理中的应用潜力很大,但只 有少数方法能够测定水中的 KM nO₄浓度.高浓度的 KM nO₄可以通过草酸钠滴定法来确定,但耗时长.在 波长 525 nm 处直接读取吸光度值这一方法被广泛 地用于测定水中 KM nO₄浓度,它虽然简便,但其摩

作者简介:马军(1962-),男,教授(博士), E-mail majun_hi@ 163 com; * 通讯作者(责任作者)

Biography MA Jun (1962–), mak, professor (Ph.D.), E-mail majun h @ 163 con; * Corresponding author © 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserve

et al, 1996), 对藻类代谢产物的嗅味也有良好的 去除作用 (Dietrich *et al*, 1995). 同时, KM nO₄用作 氧化剂和助凝剂能够降低 THM s前体物浓度 (M a *et al*, 1996).

基金项目:教育部科技创新重大项目培育基金资助项目 (No. 705013) Supported by the M in istry of Education of China (No. 705013)

尔吸收系数较低 (2300 L[•] g⁻¹ m⁻¹), 最低检测限高 (采用 5 m 比 色 皿 测 定, 0. 36 μ mol[•] L⁻¹) (R ichards 1930). 国内有报道关于利用 KM nO₄与偶 氮胂的 褪 色反 应 测 定 其 浓度 的 方法 (万 昆等, 2005), 其检测限可以达到 0. 18 μ mol[•] L⁻¹, 但必须 在硫酸介质中反应.

本文试图基于 KM nO₄与 ABTS(2, 2'-联氮一双-(3乙基苯并噻唑啉-6磺酸))的反应建立一种操 作简便、高灵敏度、低检测限的测定水中 KM nO₄的 方法. ABTS 是一种 过氧 化氢 酶的 底物, ABTS/ ABTS^{+*} 的氧化还原电位为 0 68 V, 容易发生电子转 移, 生成稳定的绿色自由基 ABTS^{+*}, 如图 1所示 (Scott *et al*, 1993). 食品工业中利用氧化产生的 ABTS^{+*} 的褪色反应测定果蔬中酚类化合物的抗氧 化能力(Nenad is *et al*, 2004 朱玉昌等, 2005). 而 ABTS 已 经 被用于 过氧 羧酸 (Pinkemell *et al*, 1997)、氯和溴的种属(Pinkemell *et al*, 2000)以及 高铁的测定(Lee *et al*, 2005a), 并且 ABTS法测定 高铁已经被成功用于高铁氧化酚类物质的动力学 研究(Lee *et al*, 2005b).



图 1 ABTS以及其电子氧化产物 ABTS⁺

Fig 1 ABTS and its one-electron oxidation product, ABTS'+

2 实验材料与方法 (Materials and methods)

21 实验材料及仪器

超纯水来自 M illiQ 系统. 除特别说明外, 所有 试剂均为分析纯. 将 0 13 g ABTS 铵盐溶于 100 mL 超纯水中形成 2 37 mm of L⁻¹浓度的 ABTS储备液, 在 4 ℃条件下储存, 当储备液吸光度值较高时(波 长 415 nm, 在 5 cm 比色皿中吸光度为 0 02), 需重 新配置. pH = 2 1磷酸缓冲液(0 2 mol L⁻¹)由 13.465 g N ₄H₂PO₄和 7.8 mL H₃PO₄ (85%)溶于 1 L 超纯水制得.3.2 g KM nO₄溶于 1 L蒸馏水中并煮沸 2 h以充分去除还原性物质,得到 KM nO₄储备液;工 作液使用时进行稀释,在 525 nm 波长下吸光度标定 KM nO₄浓度.自由氯溶液采用次氯酸钠配制 (10%),其浓度用碘量法确定.

利用 UV-752型分光光度计 (山东高密产)测定 ABTS法吸光度 (采用 1或 5 cm 石英比色皿). 用校 准过的 PB-10 pH 计 (德国赛多利斯)控制 pH.

22 以天然水体为本底的测定

采用 2种不同来源的天然水体评价 ABTS法在 天然水中测定 KM nO₄浓度的可行性,两种水经过孔 径为 0 45 μm 的醋酸纤维膜过滤后在 4℃条件下 冷藏.

23 实验过程

ABTS法测定 KM nO4的步骤如下: 将 5 mL磷酸 缓冲液 (pH = 2 1, 0 2 m ol L⁻¹)和 0 3 mL ABTS 溶 液 (2 37 mm ol L⁻¹) 加入到 25 mL 比色管中, 然后 加入 KM nO4溶液振荡、定容至 25 mL ABTS绿色自 由基产生后用适当的石英比色皿 (1或 5 cm)在 415 nm 波长进行测定 (反应迅速, 充分混合后立即生成 稳定的绿色自由基, 可以马上测定), 并进行空白校 正. KM nO4浓度可以通过比尔-郎伯定律从 415 m 波长下的吸光度计算得出:

[KM nO₄] = $\Delta A_1^{415} V_{\text{final}} / (\varepsilon W_{\text{sample}})$ (1) 其中, ΔA_1^{415} 为 415nm 波长处经过校准的样品吸光 度; *l*为比色皿光程, cm; ε 为摩尔吸收系数, ((3. 34 ±0.04) × 10⁴ L• mol⁻¹ cm⁻¹); *V*_{final}为定容后的体 积, mL; *V*_{sample}为加入 KM nO₄的体积, mL.

ABTS和 KM nO₄反应标准曲线绘制: 向一系列 含有缓冲液和 ABTS的 25 mL比色管中加入不同量 的 KM nO₄,在 415 nm 波长处测定吸光度. KM nO₄浓 度 (0~4 66 μ m of L⁻¹)通过在 525 nm 波长处测定 其吸光度而得到,浓度低于 0 36 μ m of L⁻¹时不能 准确测定,通过工作液吸光度及其稀释倍数确定.

ABTS⁺在 415 nm 波长处的摩尔吸收系数通过 碘离子催化 ABTS和氯的反应确定. 研究表明, 1 mol C1 与 2 mol ABTS 反 应 产 生 2 mol ABTS⁺ (Pinkernell *et al*, 2000).

天然水体中 KM nO₄浓度的测定:向 1 L天然水 里加入 50 mL $_{\rm PH}$ = 2 1的磷酸缓冲液和过量的 50 mL ABTS溶液搅拌 4 h 然后将 KM nO₄按比例投加 到 25 mL充满上述溶液的比色管中

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.ne

3 实验结果(Results)

3.1 ABTS⁺的吸收光谱

图 2显示了 ABTS与不同剂量 KM nO₄反应后的 吸收光谱. ABTS⁺自由基有 4个最大吸收峰(415 m, 650 m, 732 nm, 820 nm),这与其他研究者的结 果一致(Scott *et al*, 1993, Pinkemell *et al*, 1997; Lee *et al*, 2005a). 由于 ABTS⁺在 415 m 波长处 的吸光度最大,因此,本文采用 415 nm 处的吸光度 值. 吸收曲线的形状和 最大吸收波长 λ_{max} 不随 KM nO₄剂量变化而改变.





Fig 2 Absorption spectra of the ABTS reagent after reaction with different concentrations of KM nO_4

32 灵敏度和精确度

321 纯水中ABTS法测定 KMnO4的标准曲线

图 3表明, ABTS⁺的吸光度随着 KM nO₄浓度增加而 增大. KM nO₄在 2个浓度范围内 (0~0 46 $\mu_{mol} L^{-1}$, 0~ 4 66 $\mu_{mol} L^{-1}$)的所有标准曲线都 为线性 $(R^2 > 0.99, n = 24$ 条), 并且其斜率几乎相同 (偏差小于 2%).因为 ABTS在 415 m 波长处有自 吸收 (≈ 0 004 cm⁻¹), 标准曲线在空白校正后经过 原点. 每摩尔浓度 KM nO4在 415 nm 处引起的吸光 度变化为 (16 60 ±0 03) × 10⁴ L• mol⁻¹, 其灵 敏度高.且置信区间为 90% 的检测限为 0 01 $\mu_{mol} L^{-1} KM nO_4 (1.6 \mu_g L^{-1}, 以 KM nO_4 +). 与偶$ 氮胂测定 KM nO₄浓度的方法相比,不仅灵敏度高出 7倍多,检测限也低了一个数量级(万昆等, 2005). 3 2 2 以天然水体为本底 KM nO4浓度的测定 与 纯水相比, 天然水体中含有天然有机物以及各种无 机离子,而其中的一些物质还具有一定的氧化还原 能力,可能会干扰 ABTS法的测定.因此,为了考察



图 3 ABTS法测定 KM nO₄的标准曲线

Fig 3 Standard curves for the ABTS method

水中杂质对 ABTS 法的影响,采用 2种不同天然水 体来进行评价. 2种天然水体分别是来自于北京某 净水厂进水(地表水和地下水的混合)和松花江原 水,其基本水质指标如表 1所示.

表 1 两种天然水体的水质参数

Table 1 Water quality index of two natural waters			
水样	DOC / (mg L ⁻¹)	碱度 /(mg L ⁻¹ , 以 CaCO ₃ 计)	pH 值
北京某净水 厂进水	6 58	175	8.19
松花江原水	6 77	82	7.88

在 2种不同来源的天然水 (某净水厂进水和松 花江原水)中,用 ABTS法测定 KM nO4的标准曲线与 在超纯水中的标准曲线进行对比,如图 4a和图 4b 所示.由图可知,尽管在天然水中水样的空白值较 高,但其斜率与超纯水中的数值相同.这一结果表 明,天然水体对 ABTS法测定 KM nO4基本没有影响, 但由于水中存在的一些氧化性物质与 ABTS反应, 导致空白值较高.从图 4还可以看出,松花江原水的 空白吸光度明显比北京某净水厂进水高,这意味着

29卷

松花江原水中含有的氧化性物质比北京某净水厂 进水更多一些.



图 4 两种天然水体中 ABTS法测定 KM nO₄



3 3 ABTS^{·+}产生的化学计量关系

ABTS 法的化学计量关系 (Δ [ABTS⁺]/ Δ[KM nO₄])可以由该方法的灵敏度(ΔA⁴¹⁵/ Δ[KM nO₄] = 16 6×10⁴ cm⁻¹)除以ABTS⁺在415 m 波长处的摩尔吸收系数(ΔA⁴¹⁵/Δ[ABTS⁺] = $\epsilon_{ABTS^{++,415 m}$)获得.而ABTS⁺在415 nm波长处的摩 尔吸收系数可以通过氯和ABTS反应产生已知浓度 的ABTS⁺⁺计算得出(Pinkernell *et al*, 2000).在本 文中经过计算得到 $\epsilon_{ABTS^{++,415 nm}} = (3 34 \pm 0 04) ×$ 10⁴ L[•] mol⁻¹• cm⁻¹,这与报道的在 pH 为 0, 波长为 417 nm 条件下测得的摩尔吸收系数(3 47 ± 0 04) × 10⁴ L• mol⁻¹• cm⁻¹的结果相似(Scott *et al*, 1993).}

由于 KM nO₄在不同的 pH 条件下被还原后生成 的产物不同,转移的电子数目也不同,从而会影响 ABTS和 KM nO₄的化学计量数,故需要在 pH = 2~7 的条件下进行试验,以确定 ABTS法适用范围,从图 5可以看出, 当 μ H 在 2~ 4之间变化时化学计量关 系为 ABTS: KM $nO_4 = 5$: 1; 这是由于在 μ H 不大于 4 的条件下, KM nO_4 转移 5个电子变成 M n^{2+} , 如反应 (2)所示. 但是, 当 μ H 处于 4~ 7之间时化学计量关 系略小于 4 这是因为此时不仅会发生反应 (2), 还 会发生 KM nO_4 转移 3个电子变成 M nO_2 的反应 (反 应 (3)) (Damm *et al*, 2002), 正是因为反应 (2)和 (3)都会发生, 才导致其化学计量数略小于 4 另外, 由于生成的新生态的 M nO_2 具有很强的吸附能力 (张立珠等, 2006), 它会吸附 ABTS⁺⁺ 导致吸光度随 着时间的延长不断降低, 从而不利于 KM nO_4 浓度的 准确测定. 因此, ABTS 法测定 KM nO_4 浓度的最佳 μ H 值范围为 2~ 4

 $KM nO_4 + 5ABTS \stackrel{\rightarrow}{} M n^{2+} + 5ABTS^{+}$ (2)

KM $nO_4 + 3ABTS \stackrel{\rightarrow}{} M nO_2 + 3ABTS \stackrel{+}{} (3)$



图 5 pH对 KM nO₄-ABTS反应化学计量关系的影响

F ig 5 S to ich iom et ric factor for KM nO4–A BTS reaction as a function of pH

3.4 ABTS^{**}的稳定性

在超纯水中 $_{\rm PH} = 2$ 1条件下 KM nO₄ (0 52 μ m of L⁻¹)产生的 ABTS⁺很稳定,在 10h时间内吸 光度的衰褪小于 5%,这与报道中在 $_{\rm PH} = 4$ 3条件 下高铁产生的 ABTS⁺的稳定性一致 (Lee *et al*, 2005a). 本实验进一步检测 ABTS⁺在两种天然水 中的稳定性,结果如图 6所示 (以松花江水和北京 某净水厂进水为本底时 KM nO₄投量分别为 3 0 μ m of L⁻¹和 0 48 μ m of L⁻¹). 结果显示, pH = 2 1 条件下 ABTS⁺在波长 415 nm 处吸光度 2 h后在松 花江原水和北京某净水厂进水中分别降低 0 46% 和 3 4%. 尽管 ABTS⁺在天然水体中不如在超纯水 中稳定,但仍有充足的时间进行准确测定.

"TO 194-2012" China Academic Fournal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net





4 结论 (Conclusions)

基于 KM nO₄与 ABTS反应在 415 m 处产生稳 定的绿色自由基,建立了一种新的测定水中 KM nO₄ 的方法,其特点如下: ①检测浓度低,在 0 01~4 66 μ m of L⁻¹之间有良好的线性关系;灵敏度高,每摩 尔 KM nO₄在 415 m 处产生的吸光度变化为(16 60 ±0 03) × 10⁴ L⁻ m of ¹ m⁻¹. ②该方法操作简单,耗 时少,并且在 rH < 4时不受 KM nO₄浓度及水体的影 响,容易在实验室内执行. ③ABTS 可以稳定存在, 至少能够储存 1 个月. 其产生的 ABTS⁺在超纯水 和天然水中都能稳定存在,给检测者留以充足的时 间进行测定.

责任作者简介:马军(1962一),教育部"长江学者奖励计划" 特聘教授,哈尔滨工业大学博士生导师.

参考文献 (References):

- Damm J H, Hardacre C, Kalin R M, *et al.* 2002 Kinetics of the oxidation of methyl-tert-butyl ether (MTBE) by potassium permanganate[J]. Water Res. 36 3638-3646
- Dietrich A M, Hoehn R C, Dufresne L C, et al 1995 Oxidation of odorous and nonodorous algal metabolites by permanganate, chlorine, and chlorine dioxide [J]. Water SciTechnol 31(11): 223-228
- Huang K C, Hoag G E, Chheda P, et al. 2001 Oxidation of chlorinated ethenes by potassium permanganate a kinetics study [J]. J Hazard Mater, B87 155-169

- Lee Y, Yoon J Y, von Gunten U. 2005a Spectrophotometric determination of ferrate (Fe(VI)) in water by ABTS[J]. Water Res 39 1946–1953
- Lee Y, Yoon J Y, von Gunten U. 2005b K inetics of the oxidation of phenols and phenolic endocrine disruptors during water treatment with ferrate (Fe (VI)) [J]. Envrion Sci Technol 39 8978-8984
- Liang H, Yang Y L, Gong W J et al 2008. Effect of pretreatment by permanganate/chlorine on algae fouling control for ultrafiltration (UF) membrane system [J]. Desalination, 222(5): 74-80
- Ma J Graham N. 1996. Controlling the formation of chloroform by permanganate preoxidation-destruction of precursor [J]. Water SRT-Aqua, 45(6): 308-309
- Moyers Betty, Wu Jy S 1985. Removal of organic precursors by permanganate oxidation and alum coagulation [J]. Water Res 19 (3): 209-314
- N enadis N, W ang L F, Tsin idou M, et al. 2004 Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS⁺⁺ assay[J]. Agric Food Chem, 52: 4669-4673
- Pinkemell U, L ke H J Karst U. 1997. Selective photometric determination of peroxy-carboxylic acids in the presence of hydrogen peroxide [J]. Analyst 122 567-571
- PinkemellU, Nowack B, Gallard H, et al. 2000 M ethods for the photometric determination of reactive brom ine and chlorine species with ABTS[J]. Water Res 34(18): 4343-4350
- Richards M B. 1930. Colorin etric determination of manganese in biological material [J]. Analyst 55: 554
- Rodr guez E M, A cero J I, Spoof L, et al. 2008 Oxidation of MC-LR and RR with chlorine and potassium permanganate Toxicity of the reaction products [J]. Water Res 43 1744-1752
- Scott S I, Chen W J Espenson B A, et al. 1993. Spectroscopic parameters, electrode potentials, acid ionization constants, and electron exchange rates of the 2, 2'-azino-bis (3ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) radicals and ions[J]. J Phys Chem, 97(25): 6710-6714
- 万昆,陆茜. 2005. 高灵敏分光光度法测定微量锰 (VII) [J]. 江汉 大学学报, 31(1): 32-33
- Wan K, Lu Q. 2005 Study on high sensitive spectrophotometric determ ination of micromanganese (VII) [J]. Journal of Jianghan University(Natural Science), 33(1)32-33 (in Chinese)
- 张立珠,马军,陈忠林,等. 2006 水溶液中新生态 M nO₂对苯酚的 吸附作用 [J]. 化工学报, 57(12): 2959-2963
- Zhang L Z, M a J Chen Z L, et al. 2006. Adsorption of phenolby M nO₂ formed in situ [J]. Journal of Chem ical Industry and Engineering (China), 57(12): 2959-2963 (in Chinese)
- 朱玉昌, 焦必宁. 2005 ABTS法体外测定果蔬类总抗氧化能力的研 究进展 [J]. 食品与发酵工业, 31(8): 77-80
- Zhu Y C, Jiao B N. 2005. Research progress on ABTS assay in determ ination of TAA in fruits and vegetables in vitro [J]. Food and Ferm entation Industries 31(8): 77-80 (in Chinese)