

荧光光谱法在生化需氧量测量中的应用综述

孙若飞

核工业北京化工冶金研究院, 北京 101100

DOI: 10.61369/SSSD.2025030020

摘 要 : 生化需氧量 (BOD) 是一项检验水质的重要指标。随着全球人口增加, 如何保证居民的饮用水安全已经成提上了政府管理的重要议程。传统的化学溶氧法由于时效的弊端, 已经逐渐被其他方法替代。大量实验表明, 水体荧光光谱的 T 荧光峰与 BOD5 有着强相关性。实验人员针对该结论, 在实际水域中使用荧光光谱法进行试验, 发现荧光光谱法测量 BOD5 切实可行。本文将对荧光光谱法做出简要介绍, 举例说明三维荧光光谱法与同步荧光光谱法测量 BOD5 的可行性, 给出一些改良性方案以供参考。并且对荧光光谱法测量 BOD5 的优势与缺陷进行归纳总结, 以预测今后的发展方向。

关 键 词 : 生化需氧量; 三维荧光光谱; 同步荧光光谱; 水质

Overview of the Application of Fluorescence Spectroscopy in Biochemical Oxygen Demand Measurement

Sun Ruofei

Beijing Research Institute of Chemical Engineering and Metallurgy, Beijing 101100

Abstract : Biochemical oxygen demand (BOD) is an important indicator for testing water quality. As the global population increases, how to ensure the safety of drinking water for residents has become an important agenda for government management. The traditional chemical dissolved oxygen method has been gradually replaced by other methods due to the disadvantages of aging. A large number of experiments have shown that the T fluorescence peak of the water fluorescence spectrum has a strong correlation with BOD5. In response to this conclusion, the experimenters used fluorescence spectroscopy to conduct experiments in actual waters and found that it is feasible to measure BOD5 by fluorescence spectroscopy. This article will give a brief introduction to fluorescence spectroscopy, illustrate the feasibility of three-dimensional fluorescence spectroscopy and simultaneous fluorescence spectroscopy to measure BOD5, and give some improved solutions for reference. In addition, the advantages and disadvantages of measuring BOD5 by fluorescence spectroscopy are summarized to predict the future development direction.

Keywords : biochemical oxygen demand; three-dimensional fluorescence spectroscopy; simultaneous fluorescence spectroscopy; water quality

一、绪论

(一) 引言

生化需氧量 (BOD) 的最初应用可以追溯到 1908 年, 英国皇家河流污染委员会使用生物测量方法测得“生化需氧量” (BOD) 作为标定河流有机污染程度的指标。由于英国河水从河流源头到河口的最长时间为 5 天, 就以该时间为周期测量 BOD5 参数。到了 1936 年, 美国公共卫生协会标准方法委员会采用了该参数作为评估化学品和有害物质生物降解性的参考指标。该参数一般指在一定温度下 (通常为 20℃) 经过固定的培养周期 (通常为 5 天, 即 BOD5) 所测得的样品 (如水或污泥) 中的微生物降解有机物所消耗的氧气量与系统体积的比值。BOD5 反映了水体可被生物降解的有机污染程度, 在实际应用中通常使用 mgO_2/L 为单位。其一般应用在以下三个方面:

(1) 作为判断废水排放和废物处理程序是否符合现行法规的指标。

(2) 污水处理厂使用 BOD5 和 COD (化学需氧量) 的比值来表示水中可生物降解部分。

(3) COD/BOD5 比值可以作为确定特定地点所需污水处理厂规模的指标。

BOD 的传统测量方法的主要缺点是其实现所需的时间 (5 天)。现代环境监测要求具有实时性, 传统的 BOD5 方法的延迟性并不能满足要求。而且, 就 BOD5 方法本身来说, 重金属等有毒物质的存在也可能会抑制细菌对有机物的氧化过程, 导致测量结果不准确。近年以来, 气候问题所导致的降雨模式的不确定性以及世界人口的不断增加, 导致许多城市地区的水资源供应压力不断加大, 由水资源供应量导致的水质卫生问题屡见不鲜。传统的 BOD5 测试方法已经明显无法满足现代供水快速实时的要求。其他的化学测试, 比如化学需氧量 (COD) 和总有机碳 (TOC) 测试, 虽然比 BOD 测试更快速, 但没有区分“可生物降解”和“不可生物降解”的有机物。因此, 市面上以不同原理为支撑的快速 BOD 测试方法开始出现。荧光光谱法作为一种潜在的能够实现实

时监测的技术受到了人们的关注。许多实验都表明 BOD 与 T 荧光峰值具有相关性，并以此进行了更深层次的研究。

（二）国内外研究现状

2000 年，Baker 在前人对 BOD5 与 T 荧光峰的相关性的实验室理论上，使用了单位荧光矩阵对实际水域开展了 BOD5 对比分析。得出了类富里酸和色氨酸的荧光峰表现与 BOD5 有较强相关性表现的结论。自此之后，荧光光谱法测 BOD 得到了高度重视和快速发展。

目前荧光光谱法在国内也已经成为了测试水质的常见方法。但大部分只使用光度计对水体荧光进行分析，并没有达到实时监测的效果。戴源等在扬州市域进行了水质参数与荧光光谱峰值强度相关性的实验，得出的结论与 Hudson 等基本一致。^[1]

在国外，利用荧光技术与其它技术相结合的实时监测平台已经实现了商用，由 ZAPS 公司开发的 LiquiD Station 平台目前比较常见。

二、荧光光谱法概述

（一）三维荧光光谱法

三维荧光光谱法（EEM）记录并分析分子的荧光性质以荧光峰强度判断分子类型。大多数分子在室温下都处于基态，当其受到光（如紫外线）照时，会从基态跃迁到激发态。但分子在激发态并不稳定，很快就会回到基态，这个过程通常伴随着能量损失，剩余的能量会以荧光形式释放^[2-3]。物质的荧光性质能够反映物质的分子结构，一般来说，分子结构中有芳香环或多个共轭双键的有机化合物更容易发出荧光。物质的荧光强度与激发光波长、发射光波长有关。二维荧光光谱方法中，固定其中之一不变，改变另一个波长并扫描，得到一元函数变化关系。而三维荧光光谱记录的是二者同时发生变化时的荧光强度变化量，所得结果为激发发射矩阵^[4-5]。

三维荧光光谱测定的结果一般使用以下三种分析方法：

（1）峰值拾取法

荧光峰指荧光强度最大的点，荧光峰强度会与样品浓度呈线性关系。常见的荧光峰强度及其对应物质种类见表 2.1。

表 2.1 常见的荧光峰强度及其对应物质种类^[4]

峰	λ_{ex}/nm	λ_{em}/nm	可能物质	
B	275	310	类酪氨酸	
A	260	380~460	紫外类腐殖酸	
M	290~310	370~420	海洋腐殖酸	
C	320~360	420~480	可见腐殖酸	
D	390	509	短波土壤富里酸	
E	455	521	长波土壤富里酸	
N	280	370	浮游植物类相关	
T	T ₁	275	340	长波类色氨酸
	T ₂	225~237	340~381	短波类色氨酸

（2）荧光区域积分法

荧光区域积分法是一种在峰值拾取法基础上发展出来的方法。该分析方法是指计算三维光谱中特定激发、发射光谱区间决

定的区域的积分荧光强度。区域积分法较峰值拾取法更容易针对各个区域进行标准化计算处理，这在实际应用中更容易得到该荧光区域的标准化体积。大部分水体样本的同一区域中的物质性质相似，更容易进行分析处理。

（3）平行因子分析法

峰值拾取法和荧光区域积分法都会因为相似组分产生光谱重叠效应而存在荧光峰重叠的问题。针对同一区域存在多组分的检测条件，引入了平行因子分析法。该方法基于三线性分解理论和交替最小二乘法，使残差平方和达到最小，使每个分量成为具有相似荧光团的物质这样能够让每个荧光组分的特征更加明显，有利于荧光组分的分离。平行因子分析法的最大缺陷就是容易受组分数的影响，如果参数选择不准确，结果就会出现较大偏差。目前已经出现了多种校正算法如交替三线性分解法、自加权交替三线性分解算法和交替惩罚三线性分解算法来解决这一缺陷^[6]。

（二）同步光谱法

同步荧光光谱法的独特之处在于，它通过同步扫描激发和发射波长，并保持两者之间固定的波长差或能量差。当这个波长差或能量差恰好等于分析物的斯托克斯位移时，该分析物就能产生最大强度的同步荧光信号。

根据扫描方式的不同，同步荧光光谱法主要分为：

（1）恒波长同步荧光法

这是最常用的一种，保持激发波长和发射波长之间固定的波长间隔（ $\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{ex} = \text{常数}$ ）。选择合适的 $\Delta\lambda$ 对光谱形状、带宽和信号强度至关重要。

（2）恒能量同步荧光法

保持激发波长和发射波长之间恒定的能量差。这种方法在克服拉曼散射、提高分析灵敏度方面有独特优势，尤其适用于多环芳烃的鉴别和测定。

三、荧光光谱法测试表现

（一）三维荧光光谱法测试表现

Baker 在 2000 年首次使用了三维激光激发-发射矩阵法（EEM）对污水处理厂对英格兰东北部的部分河流的影响进行了分析。得到了类富里酸和色氨酸的荧光强度表现与污水影响有着强对应关系的结论，同时对 EEM 在 BOD 等水质指标的测量中的应用做出了展望。

Hudson 等在一年间对英格兰西南部进行了 13 次分采样，每次采集 25 个污水以及地表水样品。使用 10% 的 HCl 溶液处理后进行 BOD5 分析，并在 BOD5 分析开始的 48 小时内对样品进行荧光分析。

荧光分析实验使用了三维荧光光谱法，激发和发射狭缝宽度设为 5nm 分别在 200~400nm 和 280~500nm 波长下以 5nm 的间隔进行扫描。实验得到的三维荧光光谱图显示，T 荧光峰有两个发射峰，分别记为 T1 和 T2（T1 $\lambda_{ex/em}$ 280/350nm，T2 $\lambda_{ex/em}$ 215~220/340nm），T2 荧光强度始终大于 T1，污水样本中 T 峰强度大于地表水。相对于 C 峰和 A 峰，T1 峰和 T2 峰与 BOD5 的相关性更强（r 分别为 0.906 和 0.848），且 T1 峰与

BOD5的相关性始终最强。

Hudson 等认为，T 峰与 BOD5 的强相关性来源于微生物可利用的有机组分（类富里酸和色氨酸），这与 Baker 的研究结论一致。

（二）同步荧光光谱法测试表现

Hur 和 Kong 针对首尔中浪溪、清溪川、安阳溪三条河流进行采样分析。选择了共五处采样站点，包括：污水处理厂出水口站点、上游不受出水影响的站点、出水与河流的混合点、以及受出水直接影响的站点（位于污水处理厂出水口站点下游500m）。

实验使用了固定波长荧光光谱法。激发和发射狭缝分别设定为10nm和10nm。保持固定波长差值（ $\Delta\lambda = 75\text{nm}$ ）记录激发波长在200~600nm之间的同步荧光光谱。

针对未进行处理的原始样品的试验结果表明，在正常荧光光谱中，污水样品以及受污水影响的样品在230nm、283nm和350nm处表现为荧光峰。之前的实验表明，230nm和283nm处的荧光峰对应类蛋白质荧光区域，而350nm处的荧光峰则与类富里酸荧光区域相似。

Hur 和 Kong 进一步分析了一阶导数荧光峰类蛋白荧光峰估算 BOD 的相关性表现。试验结果表明，类酪氨酸荧光强度可能不适合作为 BOD 的估算指标，而类色氨酸荧光强度与 BOD 估算相关性较高，这与 Hudson 等得出的结论一致。得出了同步荧光光谱中283~245nm处的相对荧光强度为最佳 BOD 估算指标的结论。

四、荧光光谱法改良方法及应用展望

（一）地理加权回归

Hudson 等为了进一步分析荧光在地表水质分析中的应用的可行性，使用了地理加权回归（GWR）方法绘制了 T1 荧光峰与 BOD5 之间的关系图。设置带宽为14km²，通过模型 $BOD = a(x,y) + b(x,y) * T_1 + error$ （其中 (x,y) 为地理位置，误差为正态分布误差项）来确定采样点与各个方向距离为14km的其他采样点之间的参数关系。

（二）线性支持向量算法

不同于 Hudson 等使用线性回归分析算法，戴源等提出了使用线性支持向量算法训练预测模型。戴源等在2016年1月到2019年8月间对扬州市内122个地表水监测点长期采样并进行了三维荧光以及水质分析。

戴源等将数据进行预处理后合为7601维向量，将该向量作为算法的输入，以各水质指标的化学分析结果作为算法目标值，使用 LIBLINEAR 工具包建立 L2 正则 L2 误差支持向量回归模型^[7]。最终得到 BOD5 的三维荧光预测值与化学分析值的相关系数为0.90并且通过了的显著性水平检验。

使用水质指标的预测结果对水体的水质等级进行判断，其中对黑臭水体判断正确率达86%，对 III 类~重度黑臭水体的分类准确率达60%^[8]。使用线性支持向量算法建立预测模型具有较高的决定系数和较低的均方根误差。模型预测值与化学分析值的相关性如图4.3所示。

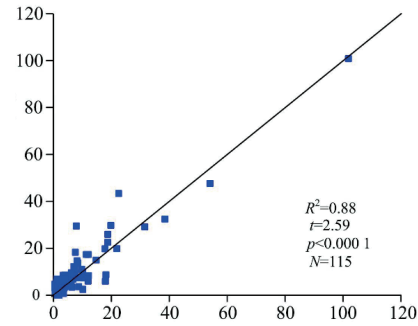


图4.1 模型预测值与化学分析值的相关性^[1]

（三）多传感器集成改良

Khamis 等提出了一种使用光度计、电导率传感器、浊度传感器、以及热敏电阻集成的 BOD5 检测仪器。于2019~2020年间在英国中西部的三个取样点进行采样测试。

Khamis 等证明了这种集成式光学监测平台可以在一定范围内调度使用，且精度有所保证。

（四）应用展望

作为一种快速、方便的 BOD5 检测方法，荧光光谱法避开了传统化学溶氧法测量 BOD5 的时间跨度长的缺点，使检测结果更有时效性，能够对水质污染做出及时反应。荧光光谱法不仅能够测量 BOD5，利用其他荧光峰的线性关系，也可以测量其他水质参数，例如 COD、TN 等。

虽然荧光光谱法测量 BOD5 具有上述优点，但建立荧光峰强度与 BOD5 线性关系的模型需要以大量实际数据为基础进行训练与校正。这也导致了其无法在不同水域之间自由切换使用，使用前必须对其进行校正^[9-10]。本文所述的使用其他传感器与光度计进行集成可能为一种较好的解决办法。

此外，目前的硬件设备的计算速度已经可以满足要求，今后实时监测水质的仪器也必将成为主流，如何使用荧光光谱实现水质的实时监测也将是一个重要的方向。

参考文献

- [1] 戴源，谢继征，袁静，等. 三维荧光光谱技术结合线性支持向量算法在水体有机污染监测中的应用 [J]. 光谱学与光谱分析, 2021, 41(9): 2839.
- [2] 张毅. 长江入海口段水质荧光指纹特征及污染源研究 [D]. 苏州科技大学, 2022.
- [3] 李兆阳, 张浩, 李诚, 等. 电化学氧化法处理污水厂二级出水研究 [J]. 天津城建大学学报, 2024, 30(01): 45-51.
- [4] 汪之睿, 于静洁, 王少坡, 等. 三维荧光技术在水环境监测中的应用研究进展 [J]. 化工环保, 2020, 40(2): 125-130.
- [5] 赵楠, 马鑫. 原子荧光光谱法在水环境污染检测中的应用 [J]. 生态与资源, 2025, (02): 16-18.
- [6] 李元娜. 多维校正方法及在植物激素与农药定量分析中的应用研究 [D]. 湖南大学, 2011.
- [7] 曹志俊, 徐丹, 邵钰茹, 等. 同步荧光光谱法在环境有机污染物分析中的应用研究综述 [J]. 中国石油和化工标准与质量, 2020, 40(18): 146-147.
- [8] 陈伟, 吴海龙, 王童, 等. 三维荧光结合化学计量学用于白木的产地溯源 [J]. 光谱学与光谱分析, 2022, 42(09): 2875-2883.
- [9] 戴睿, 文长风, 杨丽. 原子荧光法在测定水体中砷的应用研究及发展 [J]. 能源与环保, 2021, 43(06): 44-49. DOI: 10.19389/j.cnki.1003-0506.2021.06.008.
- [10] 张娜娜, 刘振军, 孙瑞平. 基于原子荧光光谱法的高灵敏度重金属离子检测方法 [J]. 当代化工研究, 2025, (06): 52-54.