ABTS 分光光度法测定水中微量二溴海因中的有效溴

盛 平[1],蒲韵竹[2],黄 鑫[2],高乃云[3]

(1.第二军医大学长征医院,上海 200003;2.上海大学环境与化学工程学院,上海 200444;3.同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室,上海 200092)

摘 要 为检测水中低浓度二溴海因(DBDMH),基于有效溴与2,2′-连氮-双(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)(ABTS)在pH=2条件下产生绿色稳定存在的ABTS·+自由基的原理,使用ABTS显色分光光度法在405 nm测定二溴海因中的有效溴。该方法在0.08~1.61 mg/L有效溴范围内线性良好,最低检测限为0.02 mg/L。二溴海因水解产生的氨氮对测定影响很小。

关键词 二溴海因 2,2′-连氮-双(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)(ABTS) 有效溴 水处理

中图分类号:X830.2 **文献标识码**:A **文章编号**:1009-0177(2010)06-0072-04

Determination of Available Bromine of Trace Dibromohydantoin (DBDMH) in Water by ABTS Spectrophotometry

Sheng Ping[1], Pu Yunzhu[2], Huang Xin[2], Gao Naiyun[3]

(1. Changzheng Hospital, The Second Military Medical University, Shanghai 200003, China;

2. School of Environment and Chemical Engineering, Shanghai University, Shanghai 200444, China;

3. State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract For determination of low level of dibromohydantoin (DBDMH) in water, 2,2′-azobis(3-ethylbenzothiazole-6-sulfonaic acid) (ABTS) spectrophotometric method was used to detect available bromine in DBDMH under wavelength of 405 nm. The method is based on the reaction of available bromine with ABTS when pH is 2, which forms a stable green radical ($ABTS^{\cdot+}$). A good linear relationship with available bromine on range of 0.08~1.61 mg/L can be achieved, and the limit of detection is 0.02 mg/L. The effect of ammonia produced by the hydrolysis of DBDMH can be ignored.

Key words dibromohydantoin(DBDMH) 2,2′-azobis(3-ethylbenzothiazole-6-sulfonaic acid)(ABTS) available bromine water treatment

1,3-二溴-5,5-二甲基海因简称二溴海因 (1,3-dibromo-5,5-dimethylhydantoin,DBDMH)是广谱、高效的缓释消毒剂,其杀菌效率是常规含氯消毒剂的40倍以上[1]。在冷却水处理、游泳池用水净化、医院用品消毒等方面均获得了广泛的应用。

由于海因类消毒剂本身的不稳定性,直接检测的报道较少。陈强等[2]通过检测消毒剂中的二甲基海因进而换算得到消毒剂含量。也有用化学发光法直接测定海因类消毒剂,检测限较低[3]。而且化学发光法对仪器要求较高,同时消毒剂水解产生的有效氯和有效溴都会引起化学发光,对体系有一定的干扰。另一种方法是以碘量法为代表的检测消毒剂水解产生的有效溴或有效氯浓度。本文中有效溴包括游离溴HBrO,以及游离溴与少量NH_3反应形成的溴胺(以+1价溴计)。但碘量法在25 mg/L有效溴以下时误差较大,目测比色法改进后检测限仍高于1 mg/L[4],不适用于测定普通游泳池水中低浓度的消毒剂残留。

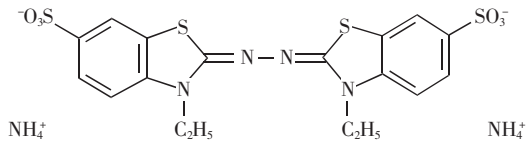
ABTS (2,2-联氮-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸))已被用于检测饮用水中的次溴酸、高锰酸钾等氧化性物质[5-6]。其测定原理是在pH=2时,ABTS与氧化剂反应,ABTS被氧化形成较为稳定的绿色自由基(图1所示),并通过分光光度法进行准确测定。本文以传统碘量法作对比,首次探讨采用ABTS显色分光光度法对二溴海因中有效溴(以+1价溴计)进行测定。

[收稿日期] 2010-05-07

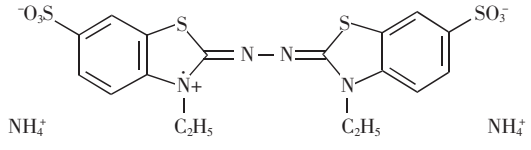
[基金项目] 国家科技重大专项资助(2008ZX07421-002);国家自然科学基金(50908138)

[作者简介] 盛 平(1980-),女,助理研究员,研究方向为生物化学检测技术。电话:021-81885689;

E-mail:shengping2005@yahoo.com.cn。



ABTS



ABTS·$^+$

图 1 ABTS 及其氧化自由基(ABTS·)

Fig.1 ABTS and Oxygen Radical

1 试验材料与方法

1.1 试验材料与仪器

使用试剂均为分析纯。各试剂储备液均用超纯水(Milli-Q)配制。ABTS(2,2-azinobis(3-ethylben-zothiazoline)-6-sulfonic acid-diammonium salt)购自上海申工。商用二溴海因消毒片(上海钟磊环保科技有限公司)研磨成粉末,密封待测。ABTS显色分光光度测定使用 HACH 双波长紫外-可见分光光度计(DR2800)。使用万通研究级离子色谱仪测定溴酸根离子和溴离子,METROSEP A SUPP 5-250 色谱柱,100 μL 进样量,抑制电导检测,3.2 mmol/L Na_2CO_3/1.0 mmol/L $NaHCO_3$ 淋洗液,流速 0.7 mL/min。溴酸根离子和溴离子的检测限分别为 5 μg/L 和 2 μg/L。

1.2 试验过程

1.2.1 HBrO 存储液的配制、标定与杂质(溴酸根、溴离子)

HBrO 存储液配制具体方法如下:冰浴中使用 $AgNO_3$ 溶液滴定红棕色溴水,直至无色,过滤,冷藏待用。其反应方程式:

$$Br_2+AgNO_3+H_2O\rightarrow AgBr\downarrow+BrO^-+NO_3^-+2H^+ \quad (1)$$

在 300 nm、400 nm、500 nm 下测定 HBrO 存储液吸光度,依据摩尔吸光系数分别为 $\varepsilon(Br_2)_{300}$=9.0 $mol^{-1}\cdot L\cdot cm^{-1}$、$\varepsilon(Br_2)_{400}$=172 $mol^{-1}\cdot L\cdot cm^{-1}$、$\varepsilon(Br_2)_{500}$=37.3 $mol^{-1}\cdot L\cdot cm^{-1}$;$\varepsilon(HBrO)_{300}$=43.4 $mol^{-1}\cdot L\cdot cm^{-1}$、$\varepsilon(HBrO)_{400}$=4.0 $mol^{-1}\cdot L\cdot cm^{-1}$、$\varepsilon(HBrO)_{500}$=0.27 $mol^{-1}\cdot L\cdot cm^{-1}$ 标定纯次溴酸溶液[7-8]。标定显示新配制的 HBrO 存储液中 Br_2 未超过 3 %。

通过离子色谱进行溴酸根和溴离子分析,结果表明新配制的 HBrO 溶液中含有少量的溴酸根和溴离子(总量未超过 10%),每日试验的 HBrO 均为新鲜配制。

1.2.2 碘量法测定二溴海因中的有效溴

强酸条件下(pH<2),DBDMH 释放有效溴完全,KI 与有效溴反应,生成单质碘。单质碘通过硫代硫酸钠滴定定量,进而换算得到有效溴含量。

$$2KI+Br_2\rightarrow 2KBr+I_2 \quad (2)$$

$$I_2+2Na_2S_2O_3\rightarrow 2NaI+Na_2S_4O_6 \quad (3)$$

参照文献[9]中的碘量法测定有效溴含量:称取 0.150 4 g 二溴海因粉末、2 g KI 加入碘量瓶,加入 125 mL 蒸馏水,充分振荡直至完全溶解。加 2 mol/L 硫酸溶液 20 mL,置暗处 5 min;用硫代硫酸钠标准溶液(浓度为 C,mol/L)滴定至淡黄色,加入淀粉指示剂继续滴定至蓝色消失,记录耗用的硫代硫酸钠标准溶液的体积 V_1(mL),同时做空白试验,记录硫代硫酸钠标准溶液耗用体积 V_2(mL)。根据 1 mol 有效溴消耗 2 mol 硫代硫酸钠的计量关系,按式 1 计算样品的有效溴含量。

$$TAB(\text{total available bromine, g/L})=(V_1-V_2)\times10^{-3}\times C\times0.5\times79.9 \quad (4)$$

1.2.3 ABTS 法测定次溴酸、溴胺、二溴海因中的有效溴

理论上 1 mol +1 价溴(次溴酸或溴胺)在酸性条件下与 2 mol ABTS 反应形成 2 mol 氧化自由基,自由基溶液显绿色,405 nm 处摩尔吸光度为 31 600 $mol^{-1}\cdot L\cdot cm^{-1}$。

$$HBrO+2ABTS+H^+\rightarrow Br^-+2ABTS\cdot^++H_2O \quad (5)$$

$$NH_2Br+2ABTS+2H^+\rightarrow Br^-+2ABTS\cdot^++NH_4^+ \quad (6)$$

$$NHBr_2+4ABTS+3H^+\rightarrow 2Br^-+4ABTS\cdot^++NH_4^+ \quad (7)$$

$$NH_2Br+6ABTS+4H^+\rightarrow 3Br^-+6ABTS\cdot^++NH_4^+ \quad (8)$$

参照文献[5]中的方法,将 HBrO 存储液按不同倍数稀释,取 10 mL HBrO 溶液、1 mL 硫酸(0.05 mol/L)和 1 mL(1 g/L)的 ABTS 加入到 25 mL 的比色管中,用纯水稀释至 25 mL,放置 1 min,测定 405 nm 处吸光度值。

将用碘量法标定的二溴海因存储液逐级稀释,用 ABTS 方法进行测定。

2 结果

2.1 ABTS 分析方法的建立

在 0.08~1.61 mg/L 有效溴范围内绘制 ABTS 方法标准曲线(如图 2 所示),回归方程为 A=1.243C-0.085,R^2=0.998。重复 7 次,各标线线性良好(R^2>0.99,

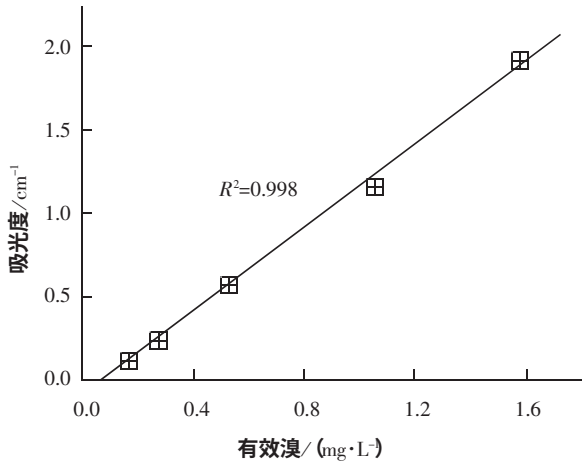


图 2　次溴酸的标准曲线

Fig.2　Calibration Curve of HBrO

SD<0.03)，斜率几乎相同(k=1.24±0.02 L·mg·cm⁻¹)。

取标定过的次溴酸溶液逐级稀释至 0.16 mg/L 和 1.58 mg/L，平行测定 5 次，计算相对标准偏差分别为 2.75 %和 1.34 %，如表 1 所示。

表 1　平行试验结果

Tab.1　Results of Parallel Determination

吸光度 /cm⁻¹	计算浓度 /(mg·L⁻¹)	平均值	RSD /%
0.141	0.181	0.18	2.75
0.132	0.174		
0.138	0.179		
0.138	0.179		
0.149	0.188		
1.875	1.576	1.60	1.34
1.876	1.577		
1.928	1.619		
1.914	1.608		
1.928	1.619		

参照美国环保署方法计算检测限(MDL)。检测两组每组 7 个低浓度样品，根据空白均值和 3.14 倍标准偏差(99 %置信度)计算检测限 0.02 mg/L。

取经标定的次溴酸存储液 0.5 mL 放入 25 mL 比色管，显色测定，按标曲回归计算浓度。再分别加入 0.5 mL，1.0 mL 和 2.0 mL 存储液后测定，计算回收率(如表 2)。

2.2　与碘量法的对比

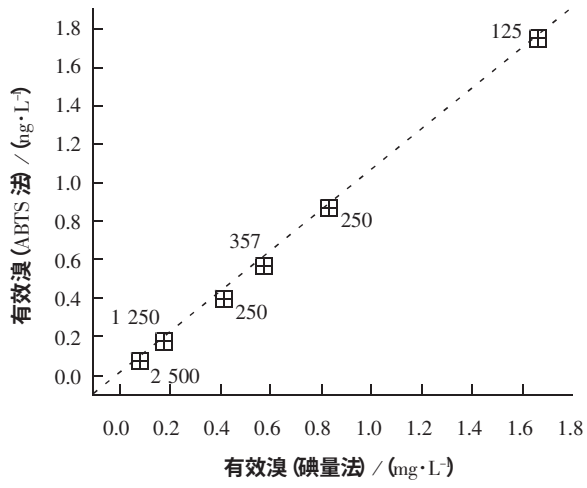
配制 DBDMH 存储液(1 040.2 mg/L)，碘量法测定其有效溴含量为 19.9 %(207 mg/L)。稀释不同倍数后使用 ABTS 方法测定其有效溴的值。DBDMH 在 405 nm 处有较高的空白吸收值(0.010~0.018 cm⁻¹)，高于纯次溴酸溶液的空白值(0.008±0.002 cm⁻¹)。可能源于消毒剂中其它成分，扣除空白后测定不受影响。图 3 显示，按照有效溴浓度稀释至 0.15~2 mg/L 范围内，即可通过 ABTS 方法测定，稀释倍数对于浓度测定值的影响不大。

表 2　回收率试验结果

Tab.2　Results of Recovery Experiments

存储液 /(mg·L⁻¹)	加入量 /mL	换算浓度 /(mg·L⁻¹)	原有浓度 /(mg·L⁻¹)	测定值 /(mg·L⁻¹)	回收率 /%
13.1	0.5	0.26		0.55	111.5
	1	0.52	0.26	0.76	96.2
	2	1.05		1.3	99

注：n=3



注：图中数字为 DBDMH 存储液的稀释倍数，C_0=207 mg/L(以+1 价溴计)

图 3　稀释倍数对 ABTS 方法测定 DBDMH 的影响

Fig.3　Effect of Dilution Factor on Determination of DBDMH by ABTS Method

称取不同质量的 DBDMH 粉末，溶解后用碘量法测定有效溴含量。稀释后使用 ABTS 方法测定其中的有效溴，结果见表 3。从中可见，两种方法的结果相差不大(最大相对误差绝对值小于 15 %)，造成某些点误差大的原因主要来源于测定值过低(稀释过多导致)。因此用 ABTS 测定二溴海因中的有效溴是可行的。

对同一消毒剂粉末，分别采用碘量法和 ABTS 方法测定其有效溴相对含量(如表 4)。经 t 检验无显著性差异(99 %置信度)。

普通游泳池消毒剂使用量在 5 mg/L 以下。而 ABTS 显色法在低浓度范围内(0.24~2.11 mg/L，以有效溴计)线性良好，适合作为游泳池二溴海因消毒

表 3 两种 DBDMH 测定方法的比较

Tab.3 Comparison Results of Two Methods for DBDHM Determination

编号	碘量法		ABTS 法	
	浓度 /(mg·L⁻¹)	稀释倍数	浓度 /(mg·L⁻¹)	浓度 /(mg·L⁻¹)
1	69.19	2 500	0.03	0.03
		500	0.14	0.16
2	140.78	2 500	0.06	0.06
		500	0.28	0.25
3	206.46	2 500	0.08	0.09
		500	0.41	0.46
4	270.70	2 500	0.11	0.11
		500	0.54	0.60
5	405.09	2 500	0.16	0.18
		500	0.81	0.88
6	679.63	2 500	0.27	0.31
		500	1.36	1.38

注 碘量法和 ABTS 方法均以有效溴计算

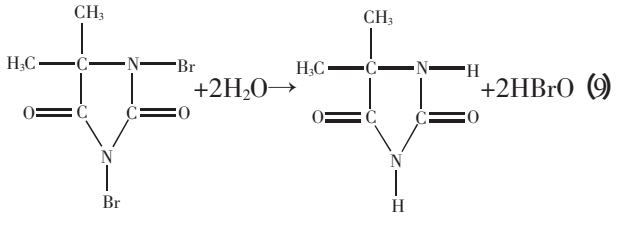
表 4 二溴海因片剂中有效溴含量

Tab.4 Available Bromine in DBDMH Pills

碘量法/%	25.77	25.80	25.90	26.07	25.80
ABTS/%	24.39	25.99	24.76	25.29	24.77

剂残留的检测方法。

DBDMH 在水中易水解，产生次溴酸和海因（DMH）。海因在光照和溶解氧的作用下分解生成 CO_2 和 NH_3。



然而静置试验表明 DBDMH 在自衰退过程中氨氮的量始终很低。10 mg/L DBDMH 溶液（有效溴 2 mg/L）在室温下静置 120 h 后氨氮产生量仍小于 0.2 mg/L。这说明溶液中 HBrO 相对于 NH_3 过量，一旦产生则迅速反应生成溴胺。由于在 pH=2 条件下各溴胺中的+1 价溴与 ABTS 的反应计量系数始终是 1:2（式 5、6、7、8）。因此，使用 ABTS 方法，二甲基海因释放的 NH_3 对有效溴的测定影响很小。

试验表明，在纯水基质 pH 约为 2 的条件下，DBDMH（20 μmol/L）产生的 $ABTS^{\cdot+}$ 很稳定，5 h 时间内吸光度的衰褪小于 3 %。与文献[6]报道的稳定性一致。因此可现场取水样显色反应，避免了长途运输水样过程中消毒剂的衰减问题，保存一段时间后再行测定也不影响精度。

3 结论

碘量法对照试验表明，ABTS 分光光度法可准确测量水中低浓度的二溴海因，在 0.08~1.61 mg/L 有效溴范围内线性良好，检测限低（0.01 mg/L）。ABTS 方法操作步骤简单，显色时间长，不易褪色，可作为游泳池消毒剂残留的可靠检测方法。

参考文献

[1] 姜霞,李月平,郭金铭,等.二溴海因消毒剂消毒性能的试验研究[J].中国消毒学杂志, 2005,22(4):422-424.

[2] 陈强,李清禄,李建生,等. 复方溴氯海因消毒剂中二甲基海因含量的高效液相色谱法测定[J].福建农林大学学报,2004,35(3):354-356.

[3] 饶志明,林雪涵,张旺华.化学发光法测定水中 1-溴-3-氯-5,5-二甲基海因[J].光谱实验室,2001,18(11):807-810.

[4] 马玉林,王荷生,陈继平.二溴海因对医疗污水消毒后用比色法测定有效溴残留量[J].中国卫生检验杂志,2006,16(6):693,714.

[5] Ulrich Pinkernell, Bernd Nowack, Hervea Gallard, *et al*. Methods for the photometric determination of reactive bromine and chlorine species with ABTS[J]. Water Research, 2000, 34(18):4343-4350.

[6] 马军,杨晶晶,赵吉.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,2009,29(3):668-672.

[7] Nazafarin Lahoutifard, Philippe Lagrange, Janine Lagrange, *et al*. Kinetics and Mechanism of Nitrite Oxidation by HBrO / BrO^- in Atmospheric Water and Comparison with Oxidation by HClO / ClO^-[J]. Physical Chemistry A, 2002, 106:11891-11896.

[8] Atchara Sirimungkala, Horst-Dieter Fo1rsterling, Vladimir Dlask. Bromination Reactions Important in the Mechanism of the Belousov-Zhabotinsky System[J]. Physical Chemistry A,1999,103:1038-1043.

[9] 徐丽君.二溴海因水基制剂研制[D].无锡:江南大学,2008.

珍惜水资源 保护水环境