

色氨酸与消毒剂反应形成三卤甲烷的光谱分析

黄鑫¹, 吴雪飞¹, 高乃云^{2*}, 卢宁³

1. 上海大学环境与化学工程学院, 上海 200444
2. 同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092
3. 上海城市水资源开发利用国家工程中心有限公司, 上海 200082

摘要 使用荧光光谱和紫外光谱分析消毒剂(自由氯, 自由溴)和色氨酸的反应及消毒副产物三卤甲烷的产生特性。实验表明: 消毒剂反应降低了色氨酸荧光强度和 FRI 值(fluorescence region integration), 二者线性相关。消毒剂中自由溴比例增加, 荧光团 FRI 降低, UV_{280} 值降低, UV_{254} 值增加。THMs 中溴代产物比例也随自由溴比例单调增加, 而 THMs 总量没有呈现相似的变化规律。反映出和自由氯相比, 自由溴取代性更强而氧化性更弱。自由溴单独和色氨酸反应时, FRI 与 $CHBr_3$ 产生量线性相关。加入 NH_3 后, 消毒剂性质改变使得线性被破坏。

关键词 色氨酸; 三卤甲烷; 三维荧光光谱; 自由溴; 消毒

中图分类号: TU991 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2012)09-2464-05

引言

水中有机物与消毒剂发生不完全反应, 产生具有“三致”作用的消毒副产物(disinfection by-product, DBP), 是水处理研究的持续热点^[1]。水中溴离子能被消毒剂氯化成具有取代和氧化活性的自由溴, 改变消毒剂的组成, 产生具有更大遗传毒性的消毒副产物^[2,3]。而现有研究多停留于溴离子的作用分析, 对自由溴与有机物的反应机制缺乏深入研究。

含氮有机物作为消毒副产物前体物逐渐受到重视。氨基酸是水体中含氮有机物的典型代表, 浓度范围大约是 $50 \sim 1\,000 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[4]。色氨酸广泛出现在海水、废水、微污染源水等各种水体中, 并且具有较高的三卤甲烷生成势(formation potential)^[5]。本工作选择色氨酸作为反应物, 分析消毒剂自由溴与色氨酸反应的荧光、紫外光谱特征, 消毒副产物三卤甲烷的产生量及组成, 开展初步理论分析。研究结果有助于更好的理解消毒副产物产生机制及提出控制措施, 为水处理中含氮有机物溴化反应的光谱表征提供一定参考。

1 实验部分

实验使用色氨酸(生化试剂, 上海国药集团), 高纯度自

由氯钠溶液(Alfa Aesar Co. Ltd., USA), 有效氯质量分数为 12%~15%。自由溴存储液配制方法: 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^[6]。每日试验的自由溴为新配, Br_2 未超过 3%。

消毒副产物生成潜能实验: 聚四氟乙烯内盖密封安培瓶中装入色氨酸溶液($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ pH 7.0 磷酸盐缓冲), 加入消毒剂自由溴或自由氯后于 25°C 避光反应 24 h。反应后立即取出 1 mL 测定三维荧光光谱(excitation emission matrix, EEM), 剩余溶液用作紫外吸收、消毒剂和三卤甲烷分析。空白试验排除自由溴、自由氯和磷酸盐溶液对荧光光谱的干扰。

N,N-二乙基-对-苯二胺(DPD)分光光度法测定自由氯和自由溴。EEMs 测定使用 Cary Eclipse 荧光分光光度计(瓦里安公司, 美国)测量, 1 cm 比色皿, λ_{ex} : $200 \sim 400 \text{ nm}$, 间隔 5 nm ; λ_{em} : $250 \sim 550 \text{ nm}$, 间隔 2 nm 。间隔若干样扫描一次去离子水, 通过水的 Raman 峰考察仪器稳定性。四种 THMs ($CHCl_3$, $CHBrCl_2$, $CHClBr_2$, $CHBr_3$)的萃取和升温程序参照 USEPA Method 551.1 使用 GC-ECD(Agilent 6890N), DB-5($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \text{ mm}$)分离柱, 检测限为 $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右。

收稿日期: 2012-03-22, 修订日期: 2012-06-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(50908138; 50878163), 上海市重点学科三期项目(S30109), 污染控制与资源化研究国家重点实验室开放课题(PCRRF11007)资助

作者简介: 黄鑫, 1980 年生, 上海大学环境与化学工程学院副教授 e-mail: huangxin_china@163.com

* 通讯联系人 e-mail: gaonaiyun@sina.com

2 结果与讨论

2.1 色氨酸的荧光特征值

近年来三维荧光光谱(excitation emission matrix, EEM)在水处理中的应用逐渐增多,为消毒副产物前体物的研究提供了新的手段^[7]。图1为实验配制的 $15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 色氨酸溶液的三维荧光图,该溶液下 COD_{Mn} 测定值为 $4.51 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,接近微污染的地表水源水。图中清晰的显示出2个峰值是 Ex/Em 220 nm/356 nm(925.3 A. U.)和 Ex/Em 280 nm/356 nm(580.7 A. U.),依据 Coble^[8] 提出分类法分别命名为 T1 和 T2。一级瑞利散射基本无干扰。

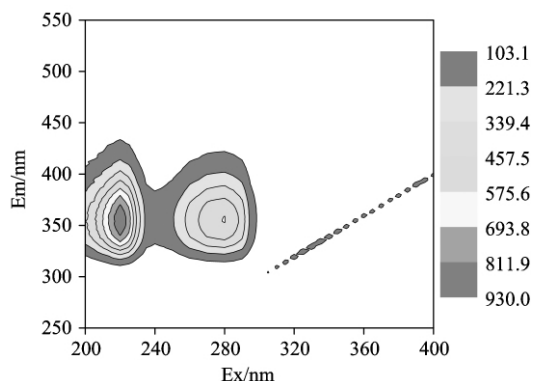


Fig 1 Excitation emission matrix of tryptophan solution ($15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{COD}_{\text{Mn}} 4.51 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)

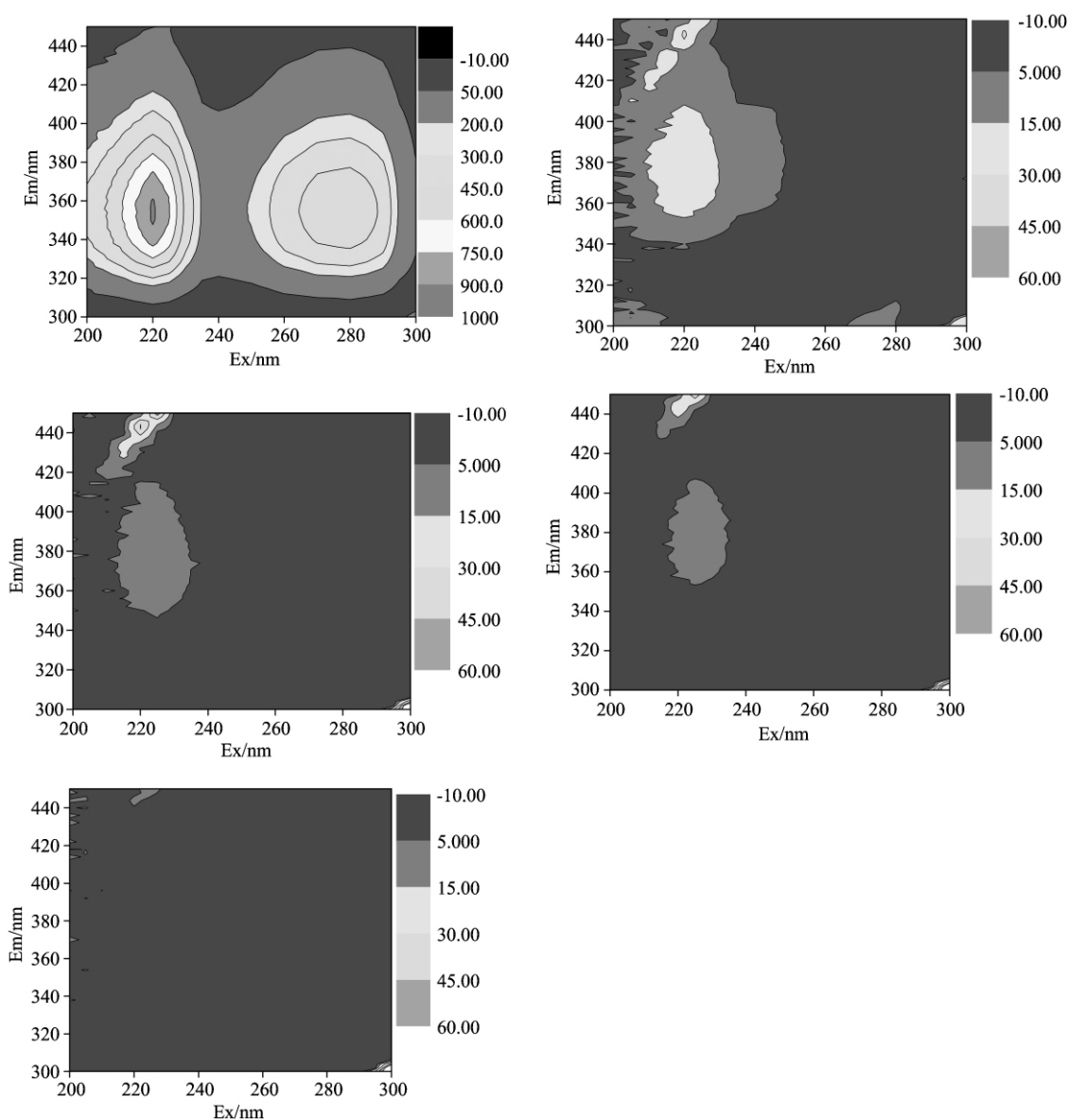


Fig 2 EEM of tryptophan solutions after bromine and/or chlorine disinfection

(a): $15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ tryptophan; (b): $0.28 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HOCl; (c): $0.21 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HOCl, $0.07 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HOBr;
(d): $0.14 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HOCl, $0.14 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HOBr; (e): $0.07 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HOCl, $0.14 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HOBr

2.2 色氨酸同消毒剂反应的光谱分析

图 2 中总消毒剂用量为 $0.28 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 反应 24 h 后总消毒剂残余量 $0.12 \sim 0.16 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 相当于 $8.52 \sim 11.36 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cl}_2$ 。符合消毒副产物生成潜能实验(uniform formation conditions, UFC)中消毒剂过量的条件要求^[9]。

为便于分析, 截取 Ex 200~300nm, Em 300~450 nm 区域。图 2 可见随着自由溴比例的增大, 24 h 反应后溶液的残余荧光团越小。最后一组实验 $0.28 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{HOBr}$ 的结果和图 2(e) 相似, 已无明显荧光峰值。文献认为自由溴的取代性显著高于自由氯^[10]。推测加入自由溴后显著提高了色氨酸苯环上的取代反应, 从而削弱了荧光值。

进一步选取指标量化荧光光谱的变化。水处理常见 EEM 特征值有 $\lambda_{\text{em}0.5}$ 和荧光指数 FI, 荧光区域体积(fluorescence region integration, FRI, $\text{A} \cdot \text{U} \cdot \text{nm}^2$)等^[11], 前两种指标 λ_{ex} 为 320 nm, 在此显然并不适用。选择 FRI 和峰值作为 EEM 特征值。图 3 为加入不同浓度消毒剂反应 24 h 后, 水样 EEM 中 T1 和 T2 峰的峰高与 FRI 值的比例关系。可以看到, T1 和 T2 峰的 FRI 值与峰高都有较好的线性关系($R^2 > 0.97$), 但由于实验结果中 T2 峰高较小, 易产生误差, 因此选择 FRI 值作为荧光特征值。T1 和 T2 峰的斜率相近, 因为其峰值降低来自同一荧光团被破坏。

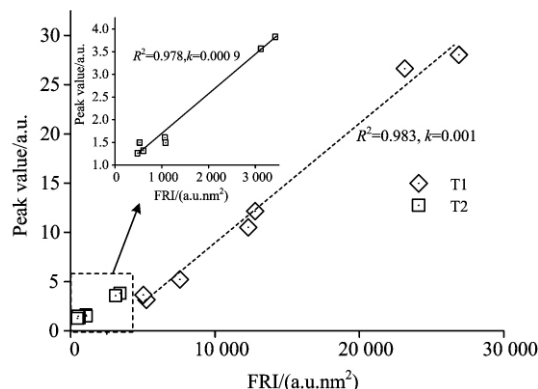


Fig 3 Correlation between FRI and peak value of EEM

随自由溴比例增加 T1 和 T2 峰的 FRI 值相应降低, 说明自由溴的溴代反应速率高于自由氯的氯代反应。图 4 可见, 尽管消毒剂组成不同, 色氨酸 2 个峰面积的比值却呈现一定的线性相关, 只在数值较小时($< 7500 \text{ A} \cdot \text{U} \cdot \text{nm}^2$)线性不佳。再次表明这两种消毒剂破坏色氨酸的主要机制是相似的。

紫外吸光度, 如 UV_{254} , UV_{272} 和 $\text{SUVA}(\text{UV}_{254} \text{ 与有机碳比值})$, 可以间接反映水中有机物的结构特征, 是 DBP 前体物预测模型的常用指标^[12]。因此通过紫外吸收光谱进一步分析色氨酸氯/溴化过程。图 5 可见, UV_{280} 左右的峰高经过消毒剂反应后明显降低。 UV_{254} 仅当 $0.28 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{HOCl}$ 时相比空白略有降低($0.054 \rightarrow 0.048$), 此后随消毒剂中 HOBr 比例的增加, UV_{254} 逐渐增加。 UV_{280} 处吸收与 T2 荧光峰相对应, UV_{254} 主要反映化合物结构中的不饱和键。 UV_{280} 和 UV_{254} 这种此消彼长的态势反映了消毒剂通过取代反应破坏了荧光团结构的同时, 又通过氧化作用产生了存在紫外吸收

的小分子物质。自由溴氧化性弱于自由氯, 所以对色氨酸分子结构的破坏不及自由氯, 残留了较多物质在 254 nm 处产生吸收。这与文献结论一致^[13]。 UV_{200} 也随自由溴比例的增加而增加, 但主要原因可能是自由溴被还原产生的 Br^- 在 200 nm 处有最大吸收^[14]。

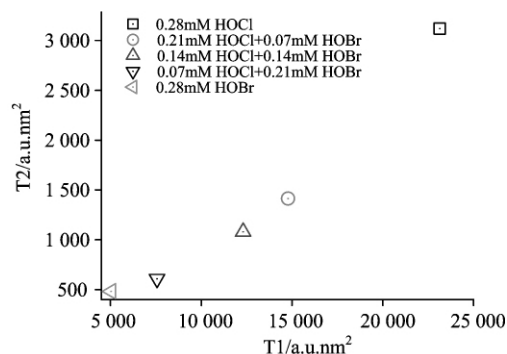


Fig 4 Correlation between T1 and T2 (FRI values)

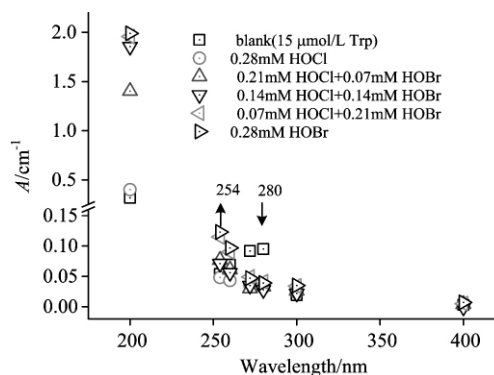


Fig 5 UV spectrum of tryptophan solutions after bromine and/or chlorine disinfection

2.3 THMs 和 EEM 特征值相关性

随着自由溴比例增大, CHCl_3 比例迅速压缩, 而 CHBrCl_2 和 CHBr_2Cl 比例增长, 最终的积累产物为 CHBr_3 。这与荧光团的缩小(图 2), UV 值的变化(图 5)具有相似的单向变化规律。消毒剂全部为自由溴时 CHBr_3 占绝大多数(91.3%)。从 THMs 总量上看, $0.14 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 自由溴 + $0.14 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 自由氯和 $0.07 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 自由溴 + $0.21 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 自由氯 2 组最高。值得一提的是, $0.28 \text{ mmol} \cdot$

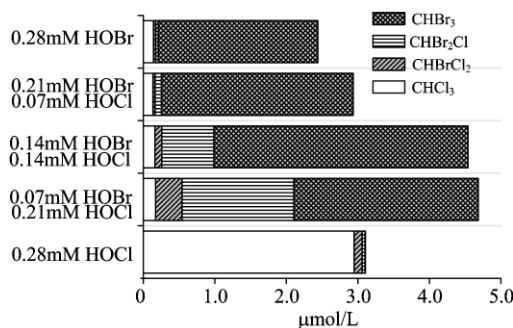


Fig 6 THMs of tryptophan solutions after bromine and/or chlorine disinfection

L^{-1} 自由氯的 THMs 产量略高于 $0.28 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 自由溴。

因此 THMs 的产量变化又与荧光团的变化不完全相同。THMs 为 1 个碳原子小分子化合物, 它的产量取决于消毒剂氧化性和取代性的综合。氧化性有利于消毒剂将色氨酸分子团破坏为小分子碎片, 而取代性则有利于有机物碳链上的氢被 Cl 或 Br 原子取代。所以, 当水源水中存在溴离子时, 改变了消毒剂的组成比例, 也改变了荧光淬灭规律。

为进一步分析荧光特征值作为消毒副产物预测指标的可

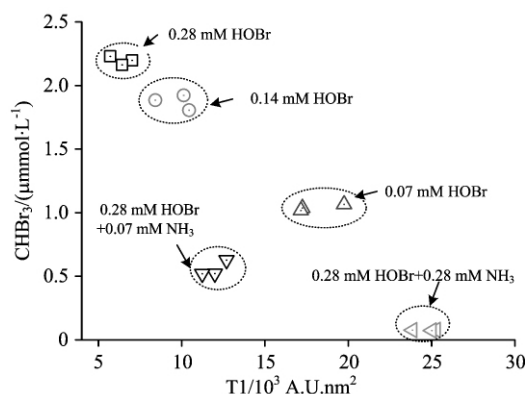


Fig 7 CHBr₃ of tryptophan solutions after bromine and/or bromamine disinfection

行性。通过实验分析自由溴消毒后残余 T1 峰的 FRI 值与 CHBr₃ 产生量的关联。图 7 中每组实验重复三次。可以看到, 自由溴投加量越大, CHBr₃ 的产量越高, 残余的荧光团越小, 两者具有一定的线性。而当水中加入氨后, 自由溴反应生成溴胺类化合物, 使得氧化/取代活性降低, 导致残余荧光团增大和三溴甲烷产生量的下降。这与文献中溴胺不易产生三卤甲烷的结论相同^[13]。因此, 氨氮改变了原有消毒剂的特性, 也破坏了荧光团 FRI 与消毒副产物产量之间的线性关系。

3 结 论

通过荧光光谱和紫外光谱的联合分析, 从机制上探讨了消毒剂和色氨酸的反应及副产物三卤甲烷的产生。

荧光光谱分析消毒剂可能主要通过取代反应降低了色氨酸荧光区域的 FRI 值, 而 UV 光谱则反映出消毒剂将色氨酸大分子打碎成小分子的信息。说明光谱分析是一种可靠的分析手段。

三卤甲烷产量是消毒剂氧化性和取代性的综合。单一消毒剂时, 荧光特征值可以作为副产物预测的手段, 但当消毒剂特性改变时, 则原有的线性关系也发生改变。这点在使用光谱学特征指标预测副产物时必须予以考虑。

References

- [1] Shah A D, Mitch W A. Environ. Sci. Technol., 2012, 46(1): 119.
- [2] HUANG Xin, MEI Hong, GAO Nai-yun, et al(黄鑫, 梅红, 高乃云, 等). Journal of Tongji University(同济大学学报), 2011, 39(2): 1827.
- [3] Roux J L, Gallard H, Croue J P. Environ. Sci. Technol., 2012, 46(3): 1581.
- [4] Xu B, Li D P, Li W, et al. Water Research, 2010, 44(18): 5376.
- [5] CHU Wen-hai, GAO Nai-yun, ZHAO Shi-jia, et al(楚文海, 高乃云, 赵世嘉, 等). Acta Chimica Sinica(化学学报), 2009, 67(21): 2505.
- [6] Lahoutifard N, Lagrange P, Lagrange J, et al. Physical Chemistry A, 2002, 106(21): 11891.
- [7] Bridgeman J, Bierzoza M, Baker A. Rev. Environ. Sci. Biotechnol., 2011, 10(3): 277.
- [8] Coble P G. Marine Chemistry, 1996, 51(4): 325.
- [9] Metz D H, Meyer M, Dotson A, et al. Water Research, 2011, 45(13): 3969.
- [10] Zhang H, Susan A A. Water Research, 2012, 46(8): 2665.
- [11] Wu H Y, Zhou Z Y, Zhang Y X, et al. Bioresource Technology, 2012, 110: 174.
- [12] Chen B Y, Westerhoff P. Water Research, 2010, 44(13): 3755.
- [13] Hua G, Reckhow D A, Kim J. Environ. Sci. Technol., 2006, 40(9): 3050.
- [14] Phillip N H, Grten E, Diyamandolu E. Ozone: Science & Engineering, 2006, 28(4): 217.

Spectral Analysis of Formation of Trihalomethanes during Reaction of Tryptophan with Disinfectants

HUANG Xin¹, WU Xue-fei¹, GAO Nai-yun^{2*}, LU Ning³

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

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

3. Shanghai Engineering Research Center of Urban Water Resources, Shanghai 200082, China

Abstract UV and fluorescence spectra were applied to analyze the characteristics of reaction of disinfectants (free chlorine, free bromine) with tryptophan, as well as the formation of disinfection byproduct-trihalomethanes (THMs). The results show that disinfecting reaction decrease both the intensity and FRI (fluorescence region integration) of tryptophan. A linear relationship was found between the two indexes. Increasing the ratio of free bromine led to a lowering of FRI, a decrease in UV_{280} and an increase in UV_{254} . Bromine-substitution ratio of THMs also went up with increasing the ratio of free bromine, whereas the total THMs concentration didn't follow such mono-increase pattern. Those phenomena are mainly due to a higher substitution but a lower oxidation capacity of free bromine, when compared with free chlorine. A linear relationship between FRI and $CHBr_3$ concentration was found using free bromine alone, which did not exist by dosing ammonia to change the characteristic of disinfectant.

Keywords Tryptophan; Trihalomethanes; Excitation emission matrix; Free bromine; Disinfection

(Received Mar. 22, 2012; accepted Jun. 20, 2012)

* Corresponding author