

水中挥发性 N-亚硝胺的超痕量分析

—活性炭富集、GLC-FID 和 ECD 测定法—

陈 祖 辉*

(北京市环境保护科学研究所)

N-亚硝胺的测定,迄今无常规方法可鉴。适于水质研究的方法,目前还少见。我们从广泛应用的气相色谱 (GLC) 分析技术中,采用电子捕获 (ECD) 和氢焰 (FID) 法作为基本测试手段^[1-6],同时配合紫外光照法^[3]。为使方法达到超痕量范围,对活性炭富集法作了探讨;对吸附、解吸条件作了规定;对预处理技术中的一些方法也作了相应的试验。

一、实验方法

1. 活性炭吸附—脱附

在理想的色谱系统和操作条件下, FID 的测定下限近于 1 毫微克单个亚硝胺。ECD 测定氧化衍生后所得产物硝胺,可提高灵敏度约 2 个数量级。欲使方法扩展到毫微克/升(原始样品)水平,必须对通常以微克/升为限度的方法,突破 10^4 倍的浓缩技术。

在广泛实验的基础上,发现活性炭是高效的吸附剂。以水样最大体积的吸附试验为例,起始浓度 0.2 ppb 的 DMNA、DENA 及 DPNA, 吸附效率都达到了 80% 以上。

对活性炭的粒度、温度、接触时间、活化(净化)和吸附进行了试验,以选择最佳操作参数。在柱型吸附条件下,采用 14 毫米(外径) × 20 厘米长的柱,发现参数要求不是很苛刻的,如 40—60、60—80、80—100 目粒度,活性炭量最小 3 克,自然流速 2—4 滴/秒, 10—35℃, 有机物(乙酸乙酯) 100 毫克/升,对含 2 ppm 的 DMNA、DENA 和 DPNA 三种

亚硝胺的蒸馏水、轻污染河水和高硬度自来水进行试验,各吸附回收都可达 90% 以上。吸附容量,以 DMNA 接近饱和吸附时的亚硝胺水溶液的最大体积 6000 毫升计算,DMNA 为 6 毫克/克炭, DENA 和 DPNA 则更高。

活性炭的活化和净化不仅影响吸附效果,也影响样品色谱图的清晰度,因为在制取和存放过程中活性炭本身及其吸附作用都有可能使其包含多种有机杂质。采用溶剂 (CS_2 和 CH_2Cl_2) 浸泡或索氏抽提,再加高温 (400℃) 通氮活化的方法,证明效果良好。净化后的炭粒用蒸馏水更换 2—3 次煮沸,存放在水中可长久保持活性和纯净。

湿炭脱附法中,针对不同溶质选择溶剂是一个重要问题。常规 CCE 方法的溶剂 ($CHCl_3$ 、乙醇等) 不适于本法对亚硝胺的浓缩(沸点过高)及 ECD 测定(亲电子物干扰)。采用对 N-亚硝胺亲和力强的、易挥发浓缩的 CH_2Cl_2 或吸附热很高(解吸能力强)的 CS_2 ,并辅以无水 Na_2SO_4 脱水,用索氏抽提法或煮沸回流法都可得到满意的解吸效果。

2. 碱性和酸性蒸馏

由于 N-亚硝胺的挥发性,样品可通过碱性(前)、酸性(后)相继蒸馏而使与酸性(前)及碱性(后)有机干扰物和不挥发物分离。含溶解性有机物较高的样品,蒸馏处理可安排在炭吸附之前,而一般地面水和净水,则在取得小量的炭脱附液再作蒸馏更方便。

* 部分试验由丁庭华同志合作完成。

考虑到水样中可能同时存在仲氨和亚硝酸盐(经酸催化生成相应的N-亚硝胺),故碱性蒸馏宜安排在先。酸性条件下有报告认为

亚硝胺较不稳定并可能有付反应。我们以有机酸提供H⁺,在三种蒸馏法中,均未发现回收率有显著波动,见表1。

表1 三种蒸馏法的回收率(%)比较

方法	水汽蒸馏①		直接蒸馏②		连续加样直接蒸馏③			
起始浓度	0.5 ppm		0.5 ppm		0.5 ppm			0.01 ppm⑤
酸或碱浓度	NaOH 0.2 N	酒石酸 0.2 N	NaOH 0.2 N	酒石酸 0.2 N	NaOH 0.2 N	酒石酸 0.2 N	第一步0.2N NaOH④ 第二步0.2 N 酒石酸	NaOH 0.2 N
NaCl(%)	40 20 0	40 20 0	20	20	40 30 20 0	40 30 20 0	30	20
DMNA	94 86 56	97 97	96	96	100 96 90 78	100 98 92 74	85	71
DENA	99 96 90	98 98	100	100	100 100 98 92	102 99 97 90	95	93

注:以GDX-501 + Chromosorb 101 (1:1 80/100目)2米×3毫米内径玻璃柱FID测定。柱温:180℃,载气N₂流量:60毫升/分。①按起始浓度以电渗析水配水样500毫升,蒸馏接收500毫升。②水样体积1500毫升,收集蒸馏液750毫升。③水样体积2000毫升,取1000毫升加入蒸馏瓶(按此体积投入NaOH和NaCl),蒸馏开始后逐滴追加余下的1000毫升水样,接收蒸馏液1000毫升。④同③,分两步蒸馏,每步接收原体积1/2的蒸馏液。⑤水样4000毫升,蒸馏接收2000毫升,然后作活性炭吸附-脱附,K-D浓缩转至2.0毫升CS₂。

盐析效应对回收率的提高是显著的^[7]。可在蒸馏(浓缩)至原样体积之半时,得到满意的结果(表1)。

本工作所试三种方法效果都接近。

3. 溶剂萃取

蒸馏处理后使亚硝胺从水相转至溶剂相,CH₂Cl₂是一理想萃取剂(分配系数大、沸点低)^[2,7]。为提高水溶性大的亚硝胺(DMNA)的分配系数,萃取时加入NaCl达饱和或K₂CO₃至20%,即利用盐析萃取效应,可以显著改进回收率^[7]。利用碱性(20% K₂CO₃)萃取和酸性(3 NHCl)洗提^[8],可以进一步排除酸、碱有机干扰物。蒸馏不易去除的中性干扰物可用正-戊烷对馏液萃取。

4. 活性氧化铝柱的净化

以活性氧化铝柱的选择性吸附-洗脱^[4-6]代替蒸馏、萃取。本工作中主要用于ECD测定前的氧化反应液处理以排除可能产生的次生杂质,或用于对亚硝胺特异性更好的氮-专性检定器测定法^[3,8]。对本工作中易受干扰的FID测定,在样品组分较复杂时,效果较蒸馏、萃取法差。柱净化法的方便之处,还在于不论亚硝胺或氧化后的硝胺(ECD)样

品,均可用相同柱子和方法^[4,5]。

5. 蒸发(K-D)浓缩

各步萃取和脱附及洗脱得到的溶剂相,都需经蒸发浓缩,以达到色谱分析的灵敏度要求,或得到柱净化和氧化处理的小体积残液。

由于简单亚硝胺易挥发,通常认为浓缩处理对回收率有明显影响。我们试验比较,认为图1中的装置效果较好。样品不易暴沸上冲且操作简便。沸石要求起沸力好,体积尽可能小,用耐火砖材料效果

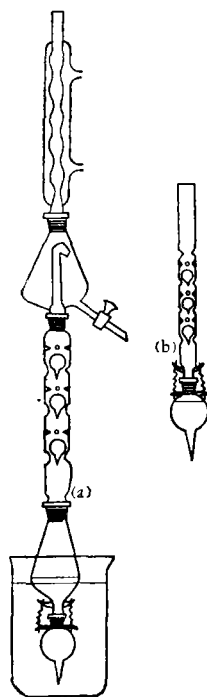


图1 K-D 蒸发浓缩装置

理想。蒸发时热源可用恒温水浴或红外灯。浓缩至后期,控制水溶液面在烧瓶中溶剂液面稍下方,当体积减至4—5毫升时,移开水浴,从三球塔上方加入转移用溶剂7—10毫升,然后改用图1(b)的小型三球塔,继续蒸馏至稍低于预定体积。

试验证明,利用沸点差异或共沸作用的溶剂转移法,即在FID测定时由 CH_2Cl_2 相转至 CS_2 相或水相,ECD测定时由乙醚或 CH_2Cl_2 相转至己烷相,对于减弱溶剂峰的掩盖,改进色谱图的清晰度,都有显著的效果。

6. 鉴定和定量

利用色谱保留值定性,仅对C—H键灵敏而不具元素(或基团)特异性的FID,阳性可靠性是很低的。如果平行地对氧化后的硝胺(具亲电子 $>\text{N}-\text{NO}_2$ 基团)用具基团特异性的ECD作交叉鉴定,则大大提高了阳性可靠性及灵敏度。作FID的另一平行分析,即将样品作紫外光照处理,利用紫外线对N-亚硝胺特异性光解作用^[3](选择性峰值消去法)则可进一步提高测定结果的阳性可靠性。

FID测定经浓缩转移的 CS_2 样品,进样10微升,在约1毫微克的测定下限下,20升水样经 5×10^3 倍的浓缩,则最低可测至0.05 ppb 单个亚硝胺的原始样品浓度(回收率以50%计)。在我们工作中测定至100 ppt 的浓度范围。

水样实测证明,以0.2 ppb 为起始浓度的DMNA、DENA 和 DPNA 的加标运河水20升,按图2 流程操作,将未经紫外光照的(a)与紫外光照的(b)作色谱比较,见图3。(a)份用于计算回收率,(b)份亚硝胺保留位置上的谱峰已全部消失。

ECD测定时每次注入试样2—10微升,测定低限可以达到约0.05毫微克DMN- NO_2 和DEN- NO_2 。ECD测定的必要条件是样品的氧化和接着的柱净化。

7. 色谱填料的选择

对13% FFAP、13% PEG-20M、5% QF

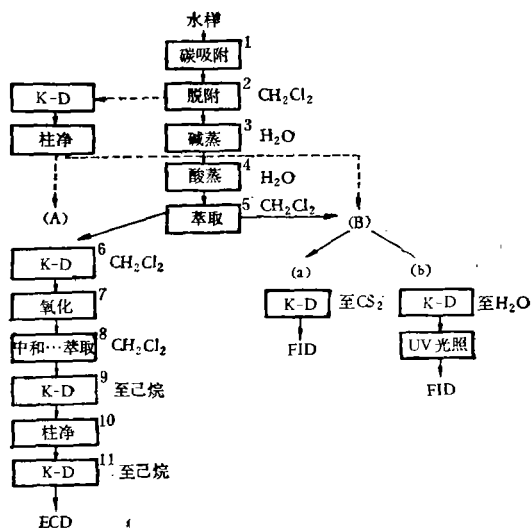


图2 操作流程

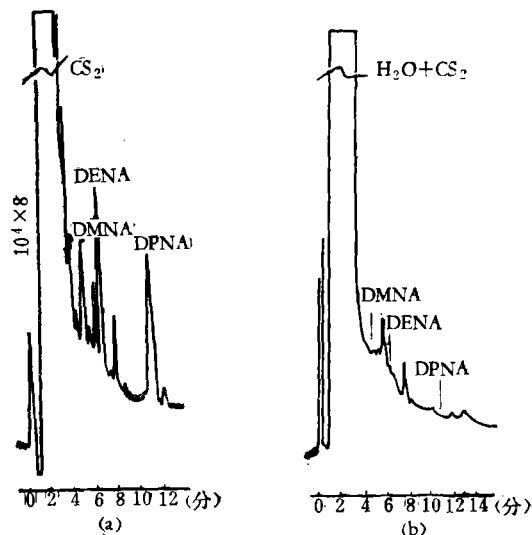


图3 运河水样色谱图

- (a) 回收率试验结果
- (b) 同一样品紫外光照后的结果

-1 和 5% Versamid 900 分别涂于 Chromosorb W (AW-DMCS) 80/100 目担体进行分析比较,FFAP 相分离效率最好,柱子使用寿命最长(一年未见失效)。PEG-20 M 相次之。此两相适于有机溶剂样品的FID和ECD分析,而不适于高灵敏度下的水相的FID直接分析(水峰掩盖)。

在作蒸馏和活性炭吸附等过程的条件试

验时,应采用进水样的方式作 FID 测定。所以,我们对疏水性高分子微球担体也作了试验,认为 GDX-501 + Chromosorb 101 (80/100 目,1:1 混合)这种填料分离效率较为理想。但有机高分子相的共同缺点是操作温度要求高(接近 200℃),载气流量大,老化时间长。

二、实验操作

1. 设备和试剂

K-D 蒸发浓缩器^[9]、水汽蒸馏器(过热式)^[9]、层析柱(14 毫米外径、20 厘米长)、索氏抽提器(60 毫升、具陶瓷或玻璃纤维滤筒)、紫外灯(15 瓦盘式杀菌灯)、石英玻璃管(4 毫升)。

气相色谱仪:(日) GC-5A,带 FID 及 ECD。

色谱柱: 13% FFAP 和 13% PEG-20 M 分别涂于 Chromosorb W (AW-DMCS) 80/100 目。固定相以旋转蒸发器涂布,紧密装填于 3 毫米(内径)×3 米长玻璃柱,220℃ 下老化 40 小时。

活性炭:分析纯、60—80 目,索氏器中分别以 CS₂ 和 CH₂Cl₂ 抽提 12 小时,400℃ 通 N₂ 活化 3 小时,保存于蒸馏水。

溶剂: CH₂Cl₂、CS₂、乙醚、己烷均为分析纯。浓缩 100 倍,相应色谱系统检查纯度,如出现干扰杂峰,则应以精馏重蒸处理。

K₂CO₃ (或 Na₂CO₃)、NaCl、NaOH、酒石酸均为分析纯。三氟乙酸:分析纯重蒸后使用。

H₂O₂: 50%,由 30% 分析纯品在 50℃ 以下减压增浓到原体积之半,冰箱存放。

活性氧化铝:层析用、碱性(活度 II)和中性(活度 III)两种,用乙醚+己烷(1:1)淋洗,自然干燥后 220℃ 烘焙 3 小时,干燥器中冷却后,每 100 克按下述比例加水平衡过夜:碱性 3 克;中性 6 克。

沸石:白色耐火砖、击碎后筛取 40—60

目。

N-亚硝胺标样: DMNA,沸点 149℃/755 毫米汞柱; DENA,沸点 172—173℃/774 毫米汞柱。以上由南京土壤研究所提供。DPNA 按宇野法^[10]并参考 Sander^[11]的报告以 98% 纯度的二正丙胺转化合成,将乙醚萃取液减压浓缩制得,未经纯度检验。

2. 操作步骤

按图 2,取 20 升水样以虹吸法每秒 3 滴的速度流过炭柱(2—4 克),吹出炭层,60℃ 下烘干(过夜)后放入索氏抽提器中,以 60 毫升 CH₂Cl₂ 水浴回流 4—6 小时。将脱附液定量转至水汽蒸馏器的蒸馏瓶(500 毫升)中,加蒸馏水 200 毫升、NaCl 40 克、NaOH 约 2 克、沸石数粒,加上三球塔(a),先在微温下蒸除 CH₂Cl₂。然后移至过热(约 150℃)水汽流,以 200 毫升蒸馏瓶收集馏液约 100 毫升。在此馏液中加入 NaCl 20 克、酒石酸 1.5 克、沸石数粒,在常压下蒸馏,用 100 毫升分液漏斗收集馏液至约 50 毫升时停止蒸馏。在此馏液中加 K₂CO₃ 10 克,以 20 毫升 CH₂Cl₂ 萃取(共三次),合并萃取液,在 60℃ 水浴上稍加蒸馏后定容至 50 毫升,将该萃取液分成 A、B 两等份。

A 份于 K-D 浓缩器中,在 50℃ 水浴中浓缩至约 5 毫升,自三球塔上方加入 2—3 毫升己烷,继续浓缩至 3—4 毫升。将浓缩液以少量己烷淋洗转移至 50 毫升锥形瓶,加入 50% H₂O₂ 4 毫升和三氟乙酸 5 毫升氧化过夜。将氧化液在冰水冷却下一边振荡一边缓慢加入 20% K₂CO₃ 调至 pH 10—11。再将此液转至 100 毫升分液漏斗,以 20 毫升 CH₂Cl₂ 萃取(共三次),合并萃取液通过 10 克无水 Na₂SO₄ 脱水,在 K-D 浓缩器中在 55—60℃ 水浴上浓缩至约 1—2 毫升。

准备底部堵以玻璃棉的层析柱一根,加入含 1% 乙醚的己烷溶液,再将平衡好的氧化铝(各 3 克)和 2 克无水 Na₂SO₄ 依次加入柱中,用 50 毫升 1% 乙醚的己烷溶液,以 1—2

滴/秒流速淋洗,待溶剂将过吸附层顶部时,加入 70 毫升乙醚以 1—2 滴/秒流速洗脱柱子。洗脱液收集至 K-D 浓缩管,加沸石后在 45℃ 水浴上浓缩至约 2 毫升,自三球塔上方加入约 1 毫升己烷,升温继续浓缩至 0.5 毫升,备作 ECD 测定。同法以 1 ppm 的亚硝酸胺(混合)己烷标准溶液 1 毫升作氧化、中和、浓缩和柱净化处理的平行样,在相同色谱条件下与样品 A 份对照测定。氧化铝柱以 30 毫升 1% 乙醚的己烷溶液淋洗复原。

B 份样品分成 a、b 两等份、a 份经 K-D 浓缩转移到 2.0 毫升 CS_2 中作 FID 测定。b 份经 K-D 浓缩至约 5 毫升后,加入 2.0 毫升 H_2O , 60℃ 水浴上毛细管通 N_2 驱除 CH_2Cl_2 后即取部分 H_2O 溶液至石英玻璃小管,用紫外灯在相距约 10 厘米处照射约 60 分钟,备作 FID 对照。

三、结果和讨论

1. 用大容量活性炭柱过滤的电渗析净水和自来水 20 升配成 0.1 和 0.4 ppb 的三种简单 N-亚硝酸胺的水样,按本法操作,以 FID 和 ECD 测定,所得回收率列于表 2。对若干种地面水测定证明,在 0.05 ppb (FID) 和 1 ppt (ECD) 的低限下未有 DMNA、DENA 和 DPNA 色谱峰发现。内地某火箭燃料试验场试车污水中测出有 0.2 ppm 的 DMNA。北京某类似试验场附近的井水中检出有大约 0.05—0.2 ppb 的 DMNA 可疑峰。京密河水中加入至 10 ppm 的二乙胺和 $NaNO_2$, 调 pH 至 4, 在 20℃ 下避光静置一周后,以本法测出水样中约 2 ppb 的 DENA, 反应产率达 0.02%。空白对照样未有测出。因此,本方法可应用于考察水体中亚硝酸胺的生成和动态变化。

2. 根据表 2 回收率判断,如果将活性炭柱的容量扩大,沿用泵式连续采样法^[1]将有可能提高浓缩倍数从而可相应提高方法的检测灵敏度。

表 2 本方法所得总回收率(%平均值)

方法	按图 2 流程 (FID)	按图 2 流程 (ECD)
配水	电渗析水经日光曝晒	电渗析水经活性炭
体积(升)	20	20
始浓度(ppb)	0.4	0.1
加入标样量	2 ppm 水溶液 4 毫升	2 ppm 水溶液 1 毫升
DMNA	49(3)	42(3)
NENA	82(3)	84(3)
DPNA	75(3)	79(3)

注: 括号中为试验次数

受较重有机污染的水样,因吸附容量的限制,所以应将富集操作安排在蒸馏之后。方法亦可改进为对污泥、作物、厩肥等可作水浸渍处理的样品中超痕量 N-亚硝酸胺的测定。

3. 本文仅对致癌性较强、迄今检出率较高的三种挥发性 N-亚硝酸胺的回收率作了观测。它们属于最简单的烷基亚硝酸胺,水溶性相对较大、分子较小。从活性炭的一般吸附规律(分子链长、特别是环状分子、水溶性较低者吸附性更强)可以判断活性炭对其它亚硝酸胺的吸附效率。

4. 由于亚硝酸胺的光敏性和挥发性,操作时应避免直接光照射。试验证明,2—10 ppm 的三种亚硝酸胺的水溶液在棕色瓶中,室温下存放一年,浓度降低 1/3。100 瓦白炽灯下 2 小时,2 ppm 水溶液的损失,DMNA 14%, DENA 8%。紫外灯(360 毫微米)下 20 分钟,水溶液的亚硝酸胺全部光解。但不含水的 CH_2Cl_2 和 CS_2 溶液中的亚硝酸胺无明显影响。因此,光解应以水的存在为条件。

参 考 文 献

- [1] Bogovski, P., Walker, E. A., N-Nitroso Compounds in the Environment, IARC Scientific Publication, No. 9, Lyon, 1974.
- [2] Bogovski, P. et al., N-Nitroso Compounds, Analysis and Formations, IRAC Scientific

- Publications, No. 3, Lyon, 1973.
- [3] Fiddler, W., *Toxicology and Applied Pharmacology*, **31**, 325 (1975).
- [4] Castegnaro, M. et al., *Analyst*, **99**, 156 (1974).
- [5] Castegnaro, M. et al., *Analyst*, **100**, 817 (1975).
- [6] Telling, G. M., *J. of Chromatography*, **78**, 79 (1972).
- [7] International Symposium on Identification

- and Measurement of Environmental Pollutants, 1971, Ottawa, Ontario, Canada, p. 190.
- [8] Sen, N. P., *Analyst*, **97**, 216 (1972).
- [9] Dure, G. et al., *Wasser und Abwasserforschung*, **8**, 20 (1975).
- [10] 宇野豊三、山本正康, 分析化学(日), **15**, 956 (1966).
- [11] Middleton, J. *American Water Work Association*, **54**, 223 (1962).

水中 ppt 级有机氯农药 分析方法的初步研究*

竺安 常理文 吴新杰 杨金汔 贺玉珍

(中国科学院化学研究所)

在环境污染分析中,一般对污染物的检测灵敏度要求达到 ppm (10^{-6}) 至 ppb (10^{-9}) 级.但为要弄清污染程度,就要测定环境本底值.这些测定要求检测极限达到 ppt(10^{-12})^[注1]级或更低的数值^[1].这样,就要求分析方法比一般的污染分析法有一个质的飞跃.

进行这种 ppt 级的超痕量分析,困难很大.因为要测定的污染物在试剂中,在玻璃器皿壁上,在蒸馏水里,在大气中都存在着.我们曾测出市售蒸馏水中含有 α -666 9.5 ppt, γ -666 3.8 ppt.对实验室空气的粗略测定,发现有 α -666 11 ppt, γ -666 5 ppt,这类分析要求在超净实验室内进行.我们一时还没有这个条件,采取较简易的方法,初步建立了水中 ppt 级滴滴涕和六六六类农药的分析方法.

一、超痕量分析的几个关键问题

为了使分析方法总的空白值达到 ppt 级以下,必须反复纯化试剂,彻底清洗玻璃器皿,以消除环境污染带来的干扰.

1. 玻璃器皿的清洗

分析及纯化所用的一切玻璃器皿,都必须彻底清洗.我们经过多次试验,并参考了文献报导^[2],确定了如下的清洗步骤:①用洗衣粉溶液刷洗;②自来水冲净;③热的铬酸洗液洗;④自来水冲净;⑤蒸馏水洗四次;⑥在烘箱中加热至 300℃,维持 2 小时.对于已经洗净后又使用过的器皿,则在抽余油^[注2]中用超声波清洗 3 次,每次 2 分钟^[注3].在放置中要注意防尘,凡是放置时间过长的,都要在使用前用抽余油荡洗二至三次.

2. 蒸馏水的制备

一般的蒸馏水都含有几到几十 ppt 的 α -666 和 γ -666,所以必须进一步净化.取本所生产的二次蒸馏水 1.5 升,放在 2 升容量的磨口蒸馏器中,加入 0.15 克高锰酸钾,

* 新疆生物土壤研究所宋群、孟嘉琳和本所陈邦钦、王春兰、卞则梁同志参加了部分工作.

[注 1] 水中有机氯的含量以毫克/升为单位,空气中有机氯的含量以毫克/米³为单位,本文中统称为 ppt(10^{-12}).

[注 2] 抽余油是在炼油过程的铂重整以后将芳烃抽提掉之后余下的轻馏分油,沸程 60—75℃.

[注 3] 本文中所用的蒸馏水、抽余油等试剂都是经过本实验室纯化,其滴滴涕、六六六的残留值都在 ppt 级.