

中华人民共和国国家环境保护标准

HJ 1014-2019

水质 联苯胺的测定 高效液相色谱法

**Water quality—Determination of benzidine
—High performance liquid chromatography**

(发布稿)

本电子版为发布稿。请以中国环境出版集团出版的正式标准文本为准。

2019-04-13 发布

2019-09-01 实施

生态环境部 发布

目 次

前 言.....	ii
1 适用范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 方法原理.....	1
4 试剂和材料.....	1
5 仪器和设备.....	2
6 样品.....	3
7 分析步骤.....	4
8 结果计算与表示.....	4
9 精密度和准确度.....	5
10 质量保证和质量控制.....	6
11 废物处理.....	6

前 言

为贯彻《中华人民共和国环境保护法》和《中华人民共和国水污染防治法》，保护生态环境，保障人体健康，规范水中联苯胺的测定方法，制定本标准。

本标准规定了测定地表水、地下水、生活污水和工业废水中联苯胺的高效液相色谱法。

本标准首次发布。

本标准由生态环境部生态环境监测司、法规与标准司组织制订。

本标准起草单位：青岛市环境监测中心站。

本标准验证单位：山东省环境监测中心站、农业农村部农产品质量安全监督检验测试中心（青岛）、威海市环境保护监测站、辽宁北方环境检测技术有限公司、青岛华测检测技术有限公司和国家城市供水水质监测网青岛监测站。

本标准生态环境部 2019 年 4 月 13 日批准。

本标准自 2019 年 9 月 1 日起实施。

本标准由生态环境部解释。

水质 联苯胺的测定 高效液相色谱法

警告：实验中使用的有机溶剂具有一定的毒性和挥发性，标准物质具有强致癌性，试剂配制和样品前处理过程应在通风橱内进行，操作时应按要求佩戴防护器具，避免接触皮肤和衣物。

1 适用范围

本标准规定了测定水中联苯胺的高效液相色谱法。

本标准适用于地表水、地下水、生活污水和工业废水中联苯胺的测定。

当取样体积为 150 ml，试样定容体积为 2.0 ml，进样体积为 40 μ l 时，方法检出限为 0.006 μ g/L，测定下限为 0.024 μ g/L。

2 规范性引用文件

本标准引用了下列文件或其中的条款。凡是不注日期的引用文件，其有效版本适用于本标准。

HJ/T 91 地表水和污水监测技术规范

HJ/T 164 地下水环境监测技术规范

3 方法原理

样品通过阳离子交换固相萃取柱，联苯胺被吸附，用乙酸溶液将联苯胺锁定在固相萃取柱上，用甲醇淋洗除去杂质，再用氨水甲醇溶液进行洗脱，洗脱液浓缩定容后，用具有荧光检测器的高效液相色谱分离检测。根据保留时间定性，外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有说明，分析时均使用符合国家标准和分析纯试剂，实验用水为不含有机物的纯水。

- 4.1 盐酸： ρ (HCl) =1.19 g/ml。
- 4.2 冰醋酸： ρ (CH₃COOH) =1.05 g/ml。
- 4.3 氨水： ρ (NH₃·H₂O) =0.91 g/ml，优级纯。
- 4.4 氢氧化钠 (NaOH)。
- 4.5 硫代硫酸钠 (Na₂S₂O₃)。
- 4.6 乙酸铵(CH₃COONH₄)：色谱纯。
- 4.7 联苯胺： $w \geq 99.6\%$ 。

4.8 甲醇 (CH₃OH)：液相色谱纯。

4.9 乙醇 (CH₃CH₂OH)。

4.10 乙腈 (CH₃CN)：液相色谱纯。

4.11 盐酸溶液：1+1。

4.12 甲醇水溶液：1+1。

4.13 乙酸铵溶液： $c(\text{CH}_3\text{COONH}_4) = 0.01 \text{ mol/L}$ 。

称取 0.77 g 乙酸铵 (4.6)，用水溶解后，稀释定容至 1 L。

4.14 乙酸溶液：3+97。

量取 3 ml 冰醋酸 (4.2) 和 97 ml 水，混匀后备用。

4.15 氢氧化钠溶液： $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/L}$ 。

称取 4 g 氢氧化钠 (4.4)，用水溶解后，稀释至 100 ml。

4.16 氨水甲醇溶液：5+95。

量取 5 ml 氨水 (4.3) 和 95 ml 甲醇 (4.8)，混匀后备用。

4.17 联苯胺标准贮备液： $\rho = 1000 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 。

称取 0.050 g (精确到 0.1 mg) 联苯胺 (4.7) 于 50 ml 棕色容量瓶中，用甲醇 (4.8) 溶解并稀释定容至标线，转移至内衬聚四氟乙烯垫的螺口棕色试剂瓶中保存。此溶液在 4℃ 以下冷藏、避光可保存 1 年。也可直接购买市售有证标准溶液。

4.18 联苯胺标准中间液： $\rho = 100 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 。

准确移取 1.00 ml 联苯胺标准贮备液 (4.17) 于 10 ml 棕色容量瓶中，用甲醇 (4.8) 稀释定容至标线。此溶液在 4℃ 以下冷藏、避光可保存 1 年。

4.19 联苯胺标准使用液 I： $\rho = 10.0 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 。

准确移取 1.00 ml 联苯胺标准中间液 (4.18) 于 10 ml 棕色容量瓶中，用甲醇水溶液 (4.12) 稀释定容至标线。此溶液在 4℃ 以下冷藏、避光可保存 3 个月。使用前，应放至室温并混匀。

4.20 联苯胺标准使用液 II： $\rho = 1.00 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 。

准确移取 1.00 ml 联苯胺标准使用液 I (4.19) 于 10 ml 棕色容量瓶中，用甲醇水溶液 (4.12) 稀释定容至标线。临用现配。

4.21 固相萃取柱：混合型阳离子交换固相萃取柱，填料为苯磺酸化的聚苯乙烯-二乙烯基苯树脂，150 mg/6 ml，或其他等效萃取柱。

4.22 滤膜：0.45 μm 聚四氟乙烯滤膜。

4.23 氮气：纯度 $\geq 99.99\%$ 。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪：具荧光检测器。

5.2 色谱柱：填料粒径为 5 μm ，柱长 15 cm，内径 4.6 mm 的 C₁₈ 反相色谱柱，或其他等效色谱柱。

5.3 样品瓶：500 ml 具磨口塞的棕色细口玻璃瓶或带聚四氟乙烯衬垫的棕色螺纹口玻璃瓶。

5.4 微量注射器：10 μl 、50 μl 和 100 μl 。

- 5.5 氮吹仪。
- 5.6 超声波清洗仪：输出功率在 180 W 以上，工作频率为 40 kHz。
- 5.7 固相萃取装置。
- 5.8 一般实验室常用仪器和设备。

6 样品

6.1 样品采集和保存

按照 HJ/T 91 和 HJ/T 164 的相关规定进行样品的采集。采样前，向样品瓶（5.3）中加入硫代硫酸钠（4.5），每 500 ml 样品加入 40 mg。采样时，应使样品充满采样瓶，不留液上空间。如果样品的 pH 不在 6~9 之间，用盐酸溶液（4.11）或氢氧化钠溶液（4.15）调节 pH 至 6~9。采集的样品应在 4℃ 以下冷藏、避光保存，5 d 内萃取。萃取后的洗脱液在 4℃ 以下冷藏、避光保存，4 d 内分析完毕。

6.2 试样的制备

6.2.1 固相萃取柱的活化

将固相萃取柱（4.21）固定在固相萃取装置（5.7）上，先用 5 ml 甲醇（4.8）以约 2 ml/min 的流速通过固相萃取柱，在填料暴露于空气之前，向柱上加 5 ml 水，待水剩约 2 ml 时，停止活化。

6.2.2 富集、净化与浓缩

量取 150 ml 样品置于 250 ml 锥形瓶中，以约 2 ml/min 的流速通过活化后的固相萃取柱（6.2.1），样品完全富集后，加入 5 ml 乙酸溶液（4.14），待乙酸溶液完全流出后，加入 8 ml 甲醇（4.8）淋洗，待甲醇完全流出后，继续用真空泵抽吸 5 min。用 7 ml 氨水甲醇溶液（4.16）洗脱，洗脱液收集到浓缩瓶中。然后将浓缩瓶置于氮吹仪（5.5）上，在 60℃ 浓缩至 1 ml，再用水定容至 2.0 ml，混匀后经滤膜（4.22）过滤到棕色样品瓶中，待测。

注：对于悬浮物浓度超过 12 mg/L 的样品，可先将样品用盐酸溶液（4.11）调节 pH 至 3 左右，用超声波清洗仪（5.6）超声 10 min，用经过乙醇（4.9）浸润的滤膜（4.22）过滤。滤液用氢氧化钠溶液（4.15）调节 pH 至 6~9，再进行固相萃取。

6.3 空白试样的制备

用实验用水代替样品，按照与试样的制备（6.2）相同步骤进行空白试样的制备。

7 分析步骤

7.1 色谱参考条件

流动相 A: 乙腈 (4.10), 流动相 B: 乙酸铵溶液 (4.13); 洗脱程序为等度洗脱, 流动相 A/流动相 B=20/80 (V/V), 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 40°C; 激发波长: 292 nm, 检测波长: 395 nm; 进样体积: 40.0 μ l。

7.2 校准曲线的建立

分别取适量的联苯胺标准使用液 I (4.19) 或联苯胺标准使用液 II (4.20), 用甲醇水溶液 (4.12) 稀释, 制备至少 5 个浓度点的标准系列, 联苯胺的质量浓度分别为 2.00 μ g/L、5.00 μ g/L、10.0 μ g/L、50.0 μ g/L、100 μ g/L、200 μ g/L (此为参考浓度)。按照色谱参考条件 (7.1), 由低浓度到高浓度依次对标准系列溶液进样, 以联苯胺的质量浓度 (μ g/L) 为横坐标, 对应的色谱峰面积或峰高为纵坐标, 建立校准曲线。

7.3 试样的测定

按照与校准曲线的建立 (7.2) 相同的条件进行试样 (6.2.2) 的测定。

7.4 空白试验

按照与试样的测定 (7.3) 相同的条件进行空白试样 (6.3) 的测定。

8 结果计算与表示

8.1 定性分析

根据样品中目标化合物与标准系列中目标化合物的保留时间进行定性, 可采用不同波长下的荧光强度比辅助定性, 必要时用高效液相色谱-三重四极杆质谱法进行确认。

在本标准推荐的色谱参考条件 (7.1) 下, 联苯胺的标准色谱图见图 1。

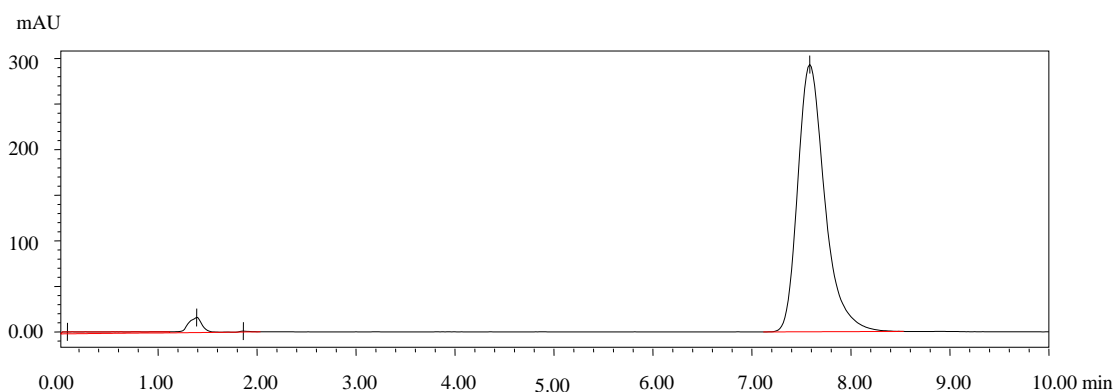


图 1 联苯胺标准色谱图 ($\rho = 50.0 \mu\text{g/L}$)

8.2 定量分析

样品中联苯胺的质量浓度 ρ ($\mu\text{g/L}$)，按照公式 (1) 进行计算：

$$\rho = \frac{\rho_1 \times V_1 \times D}{V} \quad (1)$$

式中： ρ ——样品中联苯胺的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

ρ_1 ——由校准曲线得到的试样中联苯胺的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

V_1 ——试样定容体积，ml；

V ——取样体积，ml；

D ——稀释倍数。

8.3 结果表示

当测定结果小于 $1 \mu\text{g/L}$ 时，保留小数点后三位；当测定结果大于等于 $1 \mu\text{g/L}$ 时，保留三位有效数字。

9 精密度和准确度

9.1 精密度

6 家实验室对联苯胺加标浓度为 $0.027 \mu\text{g/L}$ 、 $0.267 \mu\text{g/L}$ 和 $1.06 \mu\text{g/L}$ 的地表水样品进行了 6 次重复测定：实验室内相对标准偏差分别为 $1.9\% \sim 7.2\%$ 、 $1.7\% \sim 7.5\%$ 和 $1.7\% \sim 6.3\%$ ；实验室间相对标准偏差分别为 8.8% 、 5.5% 和 7.5% ；重复性限为 $0.003 \mu\text{g/L}$ 、 $0.032 \mu\text{g/L}$ 和 $0.11 \mu\text{g/L}$ ；再现性限为 $0.006 \mu\text{g/L}$ 、 $0.047 \mu\text{g/L}$ 和 $0.23 \mu\text{g/L}$ 。

6 家实验室对联苯胺加标浓度为 $0.267 \mu\text{g/L}$ 的生活污水样品进行了 6 次重复测定：实验室内相对标准偏差为 $3.4\% \sim 6.6\%$ ；实验室间相对标准偏差为 6.6% ；重复性限为 $0.038 \mu\text{g/L}$ ；再现性限为 $0.057 \mu\text{g/L}$ 。

6 家实验室对含联苯胺平均浓度为 $0.462 \mu\text{g/L}$ ，加标浓度为 $0.500 \mu\text{g/L}$ 的工业废水样品进行了加标前后的 6 次重复测定：实验室内相对标准偏差分别为 $1.4\% \sim 7.0\%$ 和 $1.1\% \sim 5.3\%$ ；实验室间相对标准偏差分别为 8.1% 和 4.5% ；重复性限为 $0.062 \mu\text{g/L}$ 和 $0.095 \mu\text{g/L}$ ；再现性限为 $0.12 \mu\text{g/L}$ 和 $0.15 \mu\text{g/L}$ 。

9.2 准确度

6 家实验室对联苯胺加标浓度为 $0.027 \mu\text{g/L}$ 、 $0.267 \mu\text{g/L}$ 和 $1.06 \mu\text{g/L}$ 的地表水样品进行了 6 次重复加标分析测定：加标回收率范围分别为 $73.9\% \sim 95.1\%$ 、 $80.6\% \sim 98.4\%$ 和 $84.0\% \sim 97.0\%$ ；加标回收率最终值为 $88.0\% \pm 15.8\%$ 、 $88.2\% \pm 12.4\%$ 和 $91.0\% \pm 10.0\%$ 。

6 家实验室对联苯胺加标浓度为 $0.267 \mu\text{g/L}$ 的生活污水样品进行了 6 次重复加标分析测定：加标回收率范围为 $83.8\% \sim 100\%$ ；加标回收率最终值为 $90.3\% \pm 11.2\%$ 。

6 家实验室对含联苯胺平均浓度为 $0.462 \mu\text{g/L}$ ，加标浓度为 $0.500 \mu\text{g/L}$ 的工业废水样品

进行了 6 次重复加标分析测定：加标回收率范围为 86.6%~102%；加标回收率最终值为 93.7%±10.6%。

10 质量保证和质量控制

10.1 空白试验

每 20 个样品或每批次（≤20 个样品/批）应至少做一个实验室空白，测定结果应低于方法检出限。

10.2 校准

校准曲线的相关系数应 ≥ 0.999 。每 20 个样品或每批次（≤20 个样品/批）应测定一个校准曲线中间浓度点的标准溶液，测定结果与曲线该点浓度的相对误差应在 $\pm 15\%$ 之内。

10.3 平行样

每 20 个样品或每批次（≤20 个样品/批）应至少测定一个平行样，平行样的相对偏差应 $\leq 20\%$ 。

10.4 基体加标

每 20 个样品或每批次（≤20 个样品/批）应至少测定一个基体加标样品，加标回收率应在 70%~120%之间。

11 废物处理

实验中产生的有机废液应分类收集、集中保管，并做好相应标识，委托有资质的单位进行处理。
