

附件 7

《水质 联苯胺的测定 高效液相色谱法
(征求意见稿)》
编制说明

《水质 联苯胺的测定 高效液相色谱法》

标准编制组

二〇一八年五月

项目名称：水质 联苯胺的测定 高效液相色谱法

项目统一编号：2011-12

项目承担单位：青岛市环境监测中心站

编制组主要成员：谭丕功、于彦彬、张丽丽、房贤文

标准所技术管理负责人：张虞、雷晶

环境监测司项目负责人：张宗祥、李江

目 录

1	项目背景.....	1
1.1	任务来源.....	1
1.2	工作过程.....	1
2	标准制订的必要性分析.....	2
2.1	联苯胺的理化性质及环境危害.....	2
2.2	相关环保标准和环保工作的需要.....	3
3	国内外相关分析方法研究.....	3
3.1	主要国家、地区及国际组织相关标准分析方法.....	3
3.2	国内相关分析标准.....	4
3.3	分析方法研究进展.....	5
3.4	与本方法标准的关系.....	7
4	标准制订的基本原则和技术路线.....	7
4.1	标准制订的基本原则.....	7
4.2	标准制定的技术路线.....	7
5	方法研究报告.....	8
5.1	方法研究的目标.....	8
5.2	方法原理.....	9
5.3	主要试剂和材料.....	9
5.4	仪器和设备.....	10
5.5	样品.....	10
5.6	分析步骤.....	24
5.7	结果计算与表示.....	29
5.8	方法的适用性.....	30
5.9	质量控制与质量保证.....	34
6	方法验证.....	35
6.1	方法验证方案.....	35
6.2	方法验证过程.....	36
6.3	方法验证结论.....	36
7	与开题报告的差异说明.....	37
8	参考文献.....	37
附一	方法验证报告.....	40

《水质 联苯胺的测定 高效液相色谱法》编制说明

1 项目背景

1.1 任务来源

2011年3月，国家环境保护部办公厅发布了《关于开展2011年度国家环境保护标准制修订项目工作的通知》（环办函〔2011〕312号），《水质 联苯胺的测定 气相色谱-质谱法》（项目统一编号2011-12）标准制订项目由青岛市环境监测中心站承担。

1.2 工作过程

1.2.1 成立标准编制小组，查询国内外相关标准和文献资料

青岛市环境监测中心站接到任务后，立即成立标准编制组，标准编制组根据制修订项目计划要求，查阅和研究了国内外相关标准以及相关分析方法文献，在相关试验和资料的基础上，编写了开题论证报告和标准草案。

1.2.2 第一次标准开题论证会

2012年7月在青岛召开了标准的开题论证会，论证委员会听取了标准主编单位所作的标准开题论证报告和标准初稿内容介绍，通过了该标准的开题论证。提出了以下具体修改意见和建议：

- （1）进一步进行文献调研，注意与相关标准的衔接；
- （2）根据条件实验确定前处理方法（液液萃取、固相萃取、样品净化）的适用范围；
- （3）按照《环境监测 分析方法标准制订技术导则》（HJ/T 168）的要求开展实验和标准的编制工作。

标准编制组根据开题论证会的意见，系统研究了液液萃取和固相萃取两种前处理方法对水质样品处理后，用气相色谱质谱法（GC/MS）测定联苯胺。大量的研究数据表明，使用GC/MS测定联苯胺方法重现性差，灵敏度满足不了地表水环境质量标准的要求。因此标准编制组放弃了原来的技术路线，研究了液相色谱荧光检测法测定水中联苯胺的可行性。

1.2.3 第二次标准开题论证会

2016年6月在北京召开了标准的第二次开题论证会，论证委员会听取了标准主编单位所作的标准开题论证报告和标准初稿内容介绍，提出了以下具体修改意见和建议：

- （1）根据项目组的前期大量实验结果，气相色谱-质谱法测定水中联苯胺存在目标物稳定性差、回收率低以及灵敏度无法达到地表水质量标准要求等问题，建议改变方法技术路线，名称修改为《水质 联苯胺的测定 液相色谱法》。

- （2）更改后方法的检出限及测定下限应满足我国相关环境质量标准要求。

- （3）方法验证需采用具有代表性的染整、染料等工业废水。

标准编制组根据论证会的意见，进一步开展了方法的实验研究，确定了方法的技术指

标。

1.2.4 方法验证

2017年3月~2017年5月，标准编制组根据《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010）的要求，选择了辽宁北方环境检测技术有限公司、农业部农产品质量安全监督检验测试中心（青岛）、青岛市华测检测技术有限公司、国家城市供水水质监测网青岛监测站、山东省环境监测中心站、威海市环境保护监测站6家有资质的实验室进行方法的验证，并进行了数据的汇总和统计分析工作。

1.2.5 编写征求意见稿和编制说明

2017年7月~2017年10月，标准编制组根据实验研究结果、实验室间方法验证结果，在总结分析国内外相关标准的基础上，完成了《水质 联苯胺的测定 液相色谱法》的征求意见稿及编制说明的编写。

1.2.6 征求意见稿技术审查会

2018年1月24日，由环境保护部环境监测司组织在北京召开了征求意见稿技术审查会，专家组通过了本标准的技术审查。同时提出具体修改意见和建议如下：

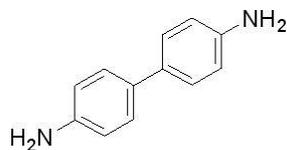
- (1) 建议标准题目改为《水质 联苯胺的测定 高效液相色谱法》；
- (2) 编制说明补充与开题报告的差异；技术路线中说明不采用液液萃取的理由；补充浓缩试样保存时间确定依据；
- (3) 标准文本进一步完善方法原理、悬浮物的干扰、试剂和材料、样品保存的文字表述。
- (4) 根据《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168）和《环境保护标准编制技术指南》（HJ 565）的要求，进一步进行编辑性修改。

编制组根据专家的意见，进一步对文本进行了修改。

2 标准制订的必要性分析

2.1 联苯胺的理化性质及环境危害

联苯胺（Benzidine）即4,4'-二氨基联苯，分子式为 $(C_6H_4NH_2)_2$ ，CAS编号92-87-5。联苯胺是白色或浅粉色结晶性粉末，在空气中颜色逐渐加深，商品呈褐色或深紫褐色，熔点为127.5~128.7℃，沸点（常压）：400~401℃，饱和蒸气压（128.7℃）：98.64 kPa，不溶于冷水，易溶于热水、甲醇、乙醇、乙醚等极性溶剂。联苯胺是联苯的衍生物之一，不能在自然界中自然产生。在工业中联苯胺是由硝基苯还原，生成氢化偶氮苯，再经重排反应制得。其结构简式为：



联苯胺曾是染料合成的重要中间体，它与亚硝酸发生重氮化反应生成重氮盐，此盐与芳香胺或酚进行偶联反应后可以合成超过250多种染料，但由于它的毒性很强，现已改用其他毒性较小的原料替代。联苯胺及其盐都是致癌的物质，固体及蒸汽都很容易通过皮肤进入体内，引起接触性皮炎，刺激黏膜，损害肝和肾脏，且会造成膀胱癌和胰腺癌。据报道在联苯胺操作工人中膀胱肿瘤发病率很高，吸入浓度为 18 mg/m^3 的联苯胺持续13年可导致发生癌症。联苯胺被国际癌症研究中心（IARC）和欧共体委员会列为第一类致癌物，具有强烈的致癌作用。联苯胺可经呼吸道、胃肠道、皮肤进入人体，与正常代谢过程释放的物质混合在一起，并发生还原反应形成或疑致癌芳香胺，再和DNA上的亲核点结合成共价键，就成了人体病变的诱发因素，从而诱发癌症或引起过敏。对皮肤可引起接触性皮炎，对粘膜有刺激作用；长期接触可引起出血性膀胱炎，膀胱复发性乳头状瘤和膀胱癌。

1994年7月15日，德国政府颁发了“禁止生产和使用以联苯胺及其衍生物为代表的至少118种染料”的法令。根据欧盟第76/769/EEC号指令：2003年9月11日前，欧盟成员国应实行禁令，禁止销售含有一种或多种被禁芳族胺的偶氮染料。

我国也于2005年1月1日正式实施了国家强制性标准《国家纺织产品基本安全技术规范》（GB 18401-2003），将联苯胺列为第一类对人体有致癌性的芳香胺，规定纺织产品还原条件下染料中不允许检出。

由于联苯胺的强烈致癌性，我国早已明文禁止生产，但因用联苯胺制造的染料其染料色谱齐全、易生产、价格低廉，且不易被其他染料替代而屡禁不止。

2.2 相关环保标准和环保工作的需要

目前我国只有在《地表水环境质量标准》（GB 3838-2002）表3集中式生活饮用水地表水源地特定项目标准限值中规定了联苯胺的标准值为 0.0002 mg/L ，尚未颁布有关污水中联苯胺的相关排放标准。

国外，美国制定了水中联苯胺的标准限值。依照美国法规（CFRUS·40(129), 285, 1981）规定，从现有的或新建的联苯胺生产企业排入通航水域的生产废水、洗涤水和雨水等，联苯胺的浓度不得超过 $10 \text{ }\mu\text{g/L}$ （整个月中每个工作日的平均值），或 $50 \text{ }\mu\text{g/L}$ （任一工作日取样结果）。

3 国内外相关分析方法研究

3.1 主要国家、地区及国际组织相关标准分析方法

美国环保局（EPA）先后共发布了EPA605^[1]、EPA625^[2]、EPA553^[3]、EPA8325^[4]和EPA8270^[5]五个方法标准，其中EPA553和EPA8235两个方法完全一样。这些方法中涉及联苯胺的测定方法主要有气相色谱-质谱法和高效液相色谱法。EPA625用于测定市政和工业废水中的半挥发性有机物，二氯甲烷萃取，气相色谱-质谱法分析；EPA8270C用于测定水、固体废弃物中半挥发性有机物，二氯甲烷萃取，气相色谱-质谱法分析；而EPA553和EPA605均采用高效液相色谱法测定水中的联苯胺，只是EPA605前处理采用氯仿萃取后用硫酸反萃取。EPA553使用两种前处理方法，一种是用二氯甲烷液液萃取，另一种是用 C_{18} 固相萃取柱进行固相萃取。

欧盟及其他国家和地区的检测方法主要是针对皮革、纺织品等产品中有害偶氮染料（包括联苯胺）的测定。具体情况见表1。

表1 国外测定联苯胺的标准分析及文献资料

方法编号	测定方法	前处理方法	萃取体积 (L)	方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)	精密度 RSD (%)	样品保存条件
EPA553 EPA8325	LC/MS	DCM萃取, pH=7	1	2.5	89.6	3.3	4°C保存, 7 d内 萃取, 30 d内分 析。
		在0.01 M醋 酸铵条件, C ₁₈ 萃取	1	5.3	53.2	13.7	
EPA605	LC/电化 学检测器	TCM萃取	1	0.08	18.2~ 140		4°C保存, 7 d内 萃取, 7 d内分 析, 避光保存。
EPA625	GC/MS	DCM萃取	1	44	没有数据	没有数 据	
EPA8270	GC/MS	DCM萃取	1	没有数据	没有数据	不重复 的色谱 性能	

*DCM-二氯甲烷, TCM-三氯甲烷。

从上表可知, EPA 发布的测定联苯胺的标准主要是液液萃取法, 使用的分析方法有 GC/MS、HPLC 和 LC/MS, EPA8270D 特别标注联苯胺为不可重复的色谱行为 (Nonproducibile chromatographic performance), 即方法的重现性较差, 我们的实验结果也证实了这个结论。因此 EPA8270D 和 EPA625 没有给出回收率的数据。

3.2 国内相关分析标准

目前国内测定水中联苯胺的方法只有《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002) 中推荐的《水和废水标准检验法》(第15版) 中的气相色谱法, 但该方法的检出限为0.0002 mg/L, 与GB 3838-2002的限值相同。该方法为1978年美国公共卫生协会 (American Public Health Association) 出版的《Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater》的翻译版, 原版已于2011年更新至第21版。

环境保护部正在制定的与联苯胺有关的标准有《水质 苯胺类的测定 液相色谱法》和《水质 苯胺类化合物的测定 液相色谱-三重四极杆质谱法》两个标准。《水质 苯胺类的测定 液相色谱法》使用紫外检测器, 当取样量为1 L时, 方法检出限为0.2 $\mu\text{g/L}$ ~0.6 $\mu\text{g/L}$, 满足不了地表水联苯胺检测的要求。《水质 苯胺类化合物的测定 液相色谱-三重四极杆质谱法》直接进样时, 联苯胺的方法检出限为0.2 $\mu\text{g/L}$, 固相萃取富集100 ml样品浓缩至2 ml时, 方法检出限为0.007 $\mu\text{g/L}$, 能够满足地表水联苯胺检测的要求, 但仪器昂贵, 普及性较差。

3.3 分析方法研究进展

国内外研究水中联苯胺的分析方法主要有荧光分光光度法、气相色谱法、气相色谱-质谱法、液相色谱法、液相色谱-质谱法、离子色谱-安培检测法等。相关文献汇总详见表2。

表2 国内测定联苯胺分析及文献资料

序号	论文题目	样品预处理	分析方法	主要性能参数		参考文献
				方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)	
1	UPLC-MS 测定环境水中联苯胺	直接进样	UPLC-MSMS	0.08	89.9~103.8	[5]
2	超高压液相色谱荧光检测法快速测定水中痕量苯胺与联苯胺	直接进样	HPLC	0.024	90~99	[6]
3	地表水中挥发性有机物的固相萃取 GC-MS 方法研究	固相萃取	GC-MS	0.02~0.17	4.0~14.8	[7]
4	地表水中致癌芳香胺的高效液相色谱-串联质谱直接测定方法	直接进样	UHPLC-MS/MS	0.01~2	84.6~106.8	[8]
5	高效液相色谱-串联质谱法同时测定水中丙烯酰胺、苯胺和联苯胺	直接进样	UPLC-MS/MS	0.03	92.8~106	[9]
6	直接进样液相色谱-质谱法测定地表水中的联苯胺	直接进样	HPLC-MS	0.09	95.8~124	[10]
7	自动固相萃取-高效液相色谱法测定地表水中痕量联苯胺	固相萃取	HPLC	0.01	95.8	[11]
8	固相萃取地表水中痕量联苯胺及 HPLC-MS 测定	固相萃取	HPLC-MS	0.001	72.0~94.0	[12]
9	混合型固相萃取/超高压液相色谱法测定废水中苯胺类化合物	混合型固相萃取	UPLC	0.1~0.5	52~101	[13]
10	固相萃取-高效液相色谱法同时测定饮用水中苯胺和联苯胺	混合型固相萃取	HPLC	0.1	97.6~102	[14]
11	液相色谱法测定地表水中苯胺、联苯胺	液液萃取	HPLC	0.002	66.0~70.3	[15]
12	超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定水中的苯胺及联苯胺	直接进样	HPLC-MS	0.2	84.5~86.5	[16]
13	饮用水源中痕量联苯胺的检测方法	固相萃取	HPLC	0.008	80.2~102.5	[17]

序号	论文题目	样品预处理	分析方法	主要性能参数		参考文献
				方法检出限 (µg/L)	回收率 (%)	
14	液相色谱-串联质谱法测定水中14种苯胺类化合物	直接进样	HPLC-MS	0.08	83.6~125	[18]
15	在线固相萃取液质联用法测定饮用水源中的痕量联苯胺	在线固相萃取	HPLC-MS	0.0008	85~104	[19]
16	在线固相萃取-液质联用法测定地下水中痕量苯胺和联苯胺	在线固相萃取	HPLC-MS	0.0002	85~98	[20]
17	双柱串联-超高效液相色谱-质谱法检测水中的4种胺类物质	直接进样	HPLC-MS-MS	0.2	81.5~103.7	[21]
18	超高压液相色谱/质谱联用法测定地表水特定污染物	直接进样	UPLC-MS	0.13	106	[22]
19	超高压液相色谱荧光检测法快速测定水中痕量苯胺与联苯胺	直接进样	UPLC	0.024	98~106	[23]
20	水中致癌芳香胺的固相萃取-气质分析方法研究	固相萃取	GC-MS	0.36	80.6~100	[24]
21	超高效液相色谱-三重四级杆质谱联用对水中4'4'-二氨基联苯的测定研究	直接进样	UPLC	0.005	70.0~73.5	[25]
22	高效液相色谱-串联质谱同时测定水中13种有机污染物	直接进样	HPLC-MS	0.03	83.8~105	[26]
23	液液萃取-气相色谱-质谱法同时测定饮用水中的酞酸酯、百菌清和联苯胺	液液萃取	GC-MS	1.0	92.4~97.4	[27]
24	梯度淋洗离子色谱-安培检测测定苯胺类化合物	直接进样	离子色谱-安培检测法	21	100±1	[28]

由于联苯胺本身不稳定，容易氧化损失，而采用气相色谱法和气相色谱质谱法又必须经过样品前处理，方法稳定性差，不能满足地表水环境质量标准的要求。尽管联苯胺在液相色谱的稳定性较好，但紫外检测器的灵敏度较差，需要大体积浓缩，并且选择性差，因此也满足不了地表水的要求。最理想的方法是用 UPLC 和 HPLC/MS/MS 测定联苯胺，但由于所用的仪器价格昂贵，现还不是通用仪器。另外 UPLC-荧光法直接进样其灵敏度也能满足要求，但 UPLC 也不是通用的仪器。相比之下，液相色谱-荧光法尽管灵敏度比 UPLC-荧光法和 UPLC/MS/MS 稍低，但仪器的通用性好，荧光检测器的选择性好，直接进样其检出限刚好与地表水的限值相等，做地表水样品只需富集较少的水样就能满足要求。具体见表 3。

表3 不同仪器方法测定联苯胺的比较

序号	仪器	富集体积 (L)	检出限 (µg/L)	仪器的通用性	能否满足标准要求	方法的稳定性
1	GC/MS	1.0	0.30	通用	否	不稳定
2	HPLC-紫外	1.0	0.30	通用	否	稳定
3	UPLC-紫外	0.2	0.13	不通用	否	稳定
4	UPLC-荧光	直接进样	0.024	不通用	是	稳定
5	HPLC-荧光	直接进样 (50 µl)	0.20	通用	是	稳定
6	UPLC/MS/MS	直接进样	0.03	不通用	是	稳定

3.4 与本方法标准的关系

本方法采用实验室比较通用的液相色谱仪（配有荧光检测器）对水中联苯胺进行测定，目前国内外还没有颁布过采用该方法测定水中联苯胺的标准方法。本方法主要根据国内发表的文献资料、固相萃取柱的研究成果和标准编制组对前处理方法和仪器分析条件进行的系统研究，制定出灵敏度高、方法稳定性好的分析方法标准。

4 标准制订的基本原则和技术路线

4.1 标准制订的基本原则

本方法制修订过程中严格遵守《环境监测 分析方法标准制定技术导则》（HJ 168-2010）。以下为本标准制修订的基本原则：

（1）本标准的编制原则是既参考国外最新和应用最广的方法技术，又考虑国内现有监测机构的监测能力和实际情况，方法的检出限和测定范围满足《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002)等相关环保标准和环保工作的要求。

（2）制定的方法准确可靠，各项方法特性指标满足或严于 EPA 8270D、EPA605 和 EPA553 方法要求。

（3）方法具有一定普遍适用性，所用试剂价格合理，相关仪器设备国内运用较广泛，验证仪器覆盖市面上主流仪器设备，易于推广使用。

4.2 标准制定的技术路线

目前采用固相萃取-液相色谱法测定水中联苯胺的方法仅有文献报道，而且多采用直接进样方式，联苯胺检出限一般在0.03~0.2 µg/L之间。在我国《地表水环境质量标准》（GB 3838-2002）中联苯胺的标准限值是0.2 µg/L。采用直接进样时，由于灵敏度达不到联苯胺标准限值的要求，因此需要富集。对于复杂的废水样品（如工业废水进口），直接进样分析时基质干扰很大。如陈勇等^[20]采用直接进样液相色谱-质谱法测定水中的联苯胺，地表水样品

的回收率均大于70%，而生活污水和工业废水样品的加标回收率为33.0%~68.4%；故对于此类废水，需要进行净化处理。常用的前处理方法包括液液萃取和固相萃取，在处理废水样品时，液液萃取富集后还需要进一步净化处理，并且之前做的联苯胺的回收率低，仅在50%左右，而固相萃取种类较多，一些固相萃取柱集富集和净化为一体。因此，本方法拟采用固相萃取的前处理方式。本方法研究编制技术路线，见图1。

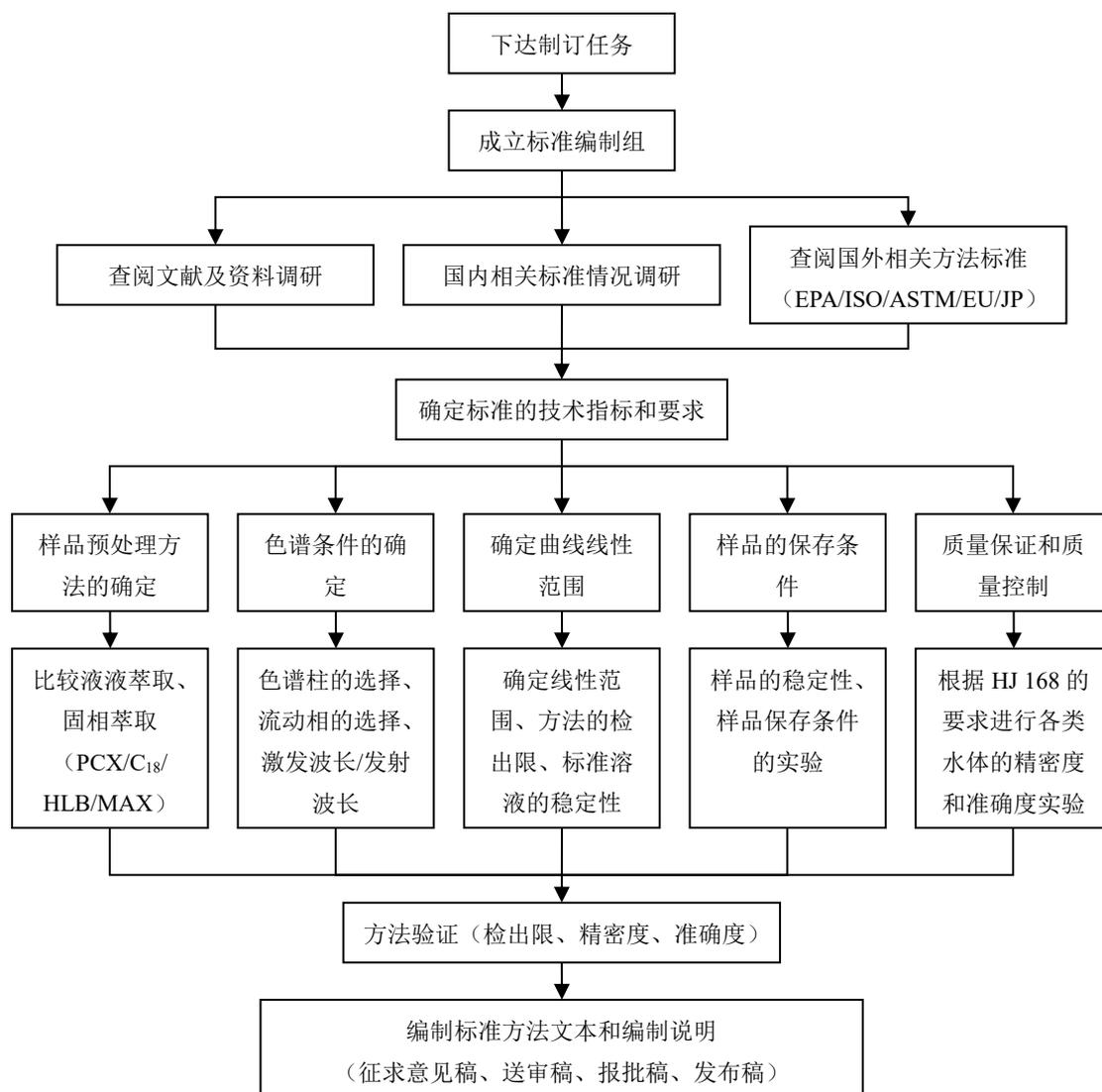


图 1 方法研究技术路线图

5 方法研究报告

5.1 方法研究的目标

由于荧光法的选择性强，能发荧光的化合物是有限的，而联苯胺的环境限值又特别的低，目前是环境监测的难点，因此本标准的目标化合物只选择联苯胺。尽管地下水、生活污水和

工业废水尚未有相关的限值标准，但为使方法具有超前性，本标准也希望将适用范围扩展到地表水、地下水、生活污水和工业废水，将分别选取有代表性的实际水样进行验证实验，确定适用性。

目前只有《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002)有联苯胺的环境限值(0.0002 mg/L)，因此本标准的主要目标是满足地表水环境质量标准。根据一般监测方法与排放标准或环境质量标准的关系，建立的联苯胺方法标准其方法的检出限应低于0.02 μg/L。

5.2 方法原理

当样品通过固相萃取柱时，水中的联苯胺被混合型阳离子交换固相萃取柱吸附，然后用3%的乙酸将联苯胺锁定在固相萃取柱上，再用甲醇淋洗去除非锁定的杂质，最后用5%氯化甲醇进行洗脱，洗脱液浓缩过滤后，用具有荧光检测器的液相色谱分离检测。根据保留时间定性，外标法定量。

5.3 主要试剂和材料

(1) 标准贮备液： $\rho=1000$ mg/L。

由于联苯胺具有强致癌性，并且容易氧化，环境保护部标准样品研究所已生产甲醇中盐酸联苯胺标准溶液，该标准溶液的保质期为5年，因此本标准推荐直接购买联苯胺的标准溶液。

(2) 标准使用液： $\rho=1.00$ mg/L

将浓度为1.00 mg/L的联苯胺标准使用液在-10℃以下冷冻、避光保存30 d、60 d、90 d，联苯胺的回收率分为105%、102%和98.0%，降解不明显，故标准溶液的存放时间为3个月。另外，联苯胺具有见光分解的特性，图2为联苯胺用黑色袋子包裹后放置10 min与不避光放置10 min后响应值的变化。由此可见，联苯胺应该避光保存。

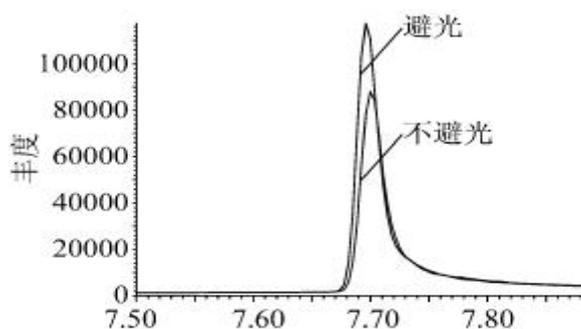


图2 光照对联苯胺测定的影响

(3) 硫代硫酸钠溶液(4 mg/ml)：为了研究方便，本标准在研究阶段使用配制的硫代硫酸钠溶液，准确称取0.8 g的硫代硫酸钠用蒸馏水溶解，并定容至200 ml容量瓶中，混匀。此溶液为临用现配。但由于硫代硫酸钠溶液不稳定，在实际采样后，可直接加入固体试剂。

(4) 5%氯化甲醇：准确量取25 ml优级纯氨水于500 ml的容量瓶中，用色谱纯甲醇定容至刻度，混匀。

(5) 3%乙酸水溶液：准确量取6 ml分析纯乙酸于200 ml的容量瓶中，用纯水定容至刻度，

混匀。

(6) 10%甲醇溶液：量取 10 ml 色谱纯甲醇于 100 ml 的容量瓶中，用纯水定容至刻度，混匀。

(7) Cleanert-PCX 混合型阳离子交换固相萃取柱：150 mg/6 ml，天津博纳艾杰尔科技有限公司。

(8) Cleanert- SCX 固相萃取柱：500 mg/6 ml，天津博纳艾杰尔科技有限公司。

(9) HLB 固相萃取柱：500 mg/6 ml，上海博势生物有限公司。

(10) ODS C₁₈ 固相萃取柱：1000 mg/6 ml，天津博纳艾杰尔科技有限公司。

(11) Cleanert-NH₂ 固相萃取柱：500 mg/6 ml，天津博纳艾杰尔科技有限公司。

(12) 聚四氟乙烯微孔滤膜（PTFE）：0.22 mm，天津博纳艾杰尔科技有限公司。

(13) 微孔过滤膜：0.45μm/50 mm，津腾公司。

5.4 仪器和设备

(1) 液相色谱仪：由于本标准使用荧光检测器，因此要求液相色谱仪带荧光检测器。

(2) 色谱柱：STPAK C₁₈-ES，4.6 mm I.D.×150 mm，5 μm，由于本标准只测定联苯胺，并且使用荧光检测器，因此一般通用的 C₁₈ 柱就能满足要求。

5.5 样品

5.5.1 样品的保存

5.5.1.1 崂山水库水质样品加标联苯胺的保存实验

崂山水库为青岛市的主要饮用水源地之一，每年的饮用水源地监测时，联苯胺为必测项目之一。取三份崂山水库水样，分别加硫代硫酸钠溶液，使水样中硫代硫酸钠的浓度为 80 mg/L，然后分别加联苯胺标准溶液，三份水样中联苯胺的浓度分别为 1.00 μg/L、20.0 μg/L 和 100 μg/L，在 0℃~4℃ 下冷藏放置不同时间，联苯胺的回收率随保存时间的变化见表 4。

表 4 地表水中联苯胺的随保存时间变化情况

水样放置时间	加标回收率 (%)		
	1.00 μg/L	20.0 μg/L	100 μg/L
2016-11-10(1 d)	100	100	100
2016-11-11 (2 d)	98.6	99.9	98.6
2016-11-14 (5 d)	97.4	99.5	97.1
2016-11-18 (9 d)	93.2	99.6	97.1
2016-11-23 (14 d)	89.9	99.1	97.0
2016-11-24 (15 d)	82.8	93.8	96.2
2016-11-25 (16 d)	81.3	88.4	96.0

水样放置时间	加标回收率 (%)		
	1.00 µg/L	20.0 µg/L	100 µg/L
2016-11-28 (19 d)	77.7	87.2	94.5
2016-11-30 (21d)	77.6	82.4	91.5

由表4可见，对于浓度为1.00µg/L的联苯胺，放置5 d，其回收率可达97.4%，放置9 d，回收率在93.2%以上，100 µg/L的联苯胺放置21 d，其回收率仍在90%以上，考虑到地表水环境质量标准联苯胺浓度为0.2 µg/L，样品可以保存5 d。另外，《水质 苯胺类的测定 液相色谱-三重四极杆质谱法》编制组对含有联苯胺的苯胺类样品也进行了保存时间的实验研究，他们在地表水中加联苯胺使水样中联苯胺的浓度为5.00 µg/L，放置7 d，回收率可达98%，两个编制组实验结果是一致的。

5.5.1.2 污水处理厂出口废水样品加标联苯胺的保存实验

李村河污水处理厂为青岛市的主要城市污水处理厂之一。取三份污水处理厂出口水样，其中两份加入硫代硫酸钠溶液，使水样中硫代硫酸钠的浓度为80 mg/L，一份样品不加硫代硫酸钠。然后分别加联苯胺标准溶液，两份水样中联苯胺的浓度分别为5.00 µg/L和20.0 µg/L，在0°C~4°C下冷藏放置不同时间，联苯胺的回收率随保存时间的变化见表5。

表5 污水处理厂出口废水联苯胺的浓度随保存时间变化情况

存放天数 (天)	加标回收率 (%)		
	5.00 µg/L	5.00 µg/L*	20.0 µg/L
0	100	100	100
1	97.2	/	96.2
2	96.3	/	95.0
3	97.8	/	98.7
4	96.8	61.4	98.7
5	95.6	/	98.3
6	95.1	/	98.0
7	88.6	53.0	94.2
9	74.2	/	85.6
12	63.8	/	72.8

*为未加硫代硫酸钠样品

从表5可见，加硫代硫酸钠的样品存放6 d，其回收率均在95%以上，但不加硫代硫酸钠的样品放置4 d，联苯胺的回收率只有61.4%。

5.5.1.3 印染废水联苯胺的保存实验

编制组从某印染厂污水处理厂采集废水样品，污水处理厂入口可以检出联苯胺，出口联苯胺的浓度低于方法检出限。编制组取印染厂污水处理厂出口废水，向水样中加硫代硫酸钠，使水样中硫代硫酸钠的浓度为80 mg/L，然后加入联苯胺，使水样中联苯胺的浓度为5.00 µg/L，在0℃~4℃下冷藏放置不同时间，联苯胺的回收率随保存时间的变化见表6。由表6可知，印染废水放置7 d时，其回收率在90%以上。

表6 印染废水处理厂出口废水联苯胺的浓度随保存时间变化情况

存放天数 (d)	加标回收率 (%)
0	100
1	98.1
2	96.9
3	96.5
4	96.0
5	94.2
6	93.7
7	91.8
9	85.2
12	70.4

注：加标浓度为 5.00 µg/L

5.5.1.4 结论

根据以上实验结果，本标准规定，采集联苯胺水样时，采样容器使用250 ml聚四氟乙烯内衬密封盖的棕色玻璃瓶或细磨口试剂瓶，水样满瓶采集，采样后应立即加入硫代硫酸钠，每100 ml样品中需要加入8 mg硫代硫酸钠。样品必须在4℃以下冷藏密封避光保存，水样可保存5 d。EPA605 要求样品采集后7 d内萃取完毕，本实验的保存方法要严于EPA605。

5.5.2 试样的制备

5.5.2.1 液液萃取条件的优化

(1) 萃取溶剂的选择

选择了常用的五种有机溶剂对联苯胺的萃取效率进行了实验，结果见表 7，从表中可见二氯甲烷的萃取效率最高，回收率达到 62.5%，而环己烷和正己烷的萃取回收率只有 3%。因此，后续的实验均选用二氯甲烷做萃取剂。

表7 萃取水中联苯胺溶剂的选择

溶剂名称	二氯甲烷	三氯甲烷	乙酸乙酯	正己烷	环己烷
回收率 (%)	62.5	46.2	8.9	3	3

注：联苯胺加标浓度 0.01 mg/L。有机溶剂按 1000 ml 水样每次用 50 ml 萃取三次。

(2) 水样 pH 值的影响

由于联苯胺显弱碱性，水样的 pH 值对联苯胺萃取效率的影响见表 8，碱性条件下联苯胺的回收率较好，在 pH 值为 11 左右时回收率最高，低浓度联苯胺的回收率明显低于高浓度联苯胺的浓度回收率。

表8 pH对联苯胺萃取效率的影响

加标浓度 0.01 mg/L	pH 值	2.0	4.3	6.9	9.0	10.0	11.0	11.5
	回收率 (%)	4	26	59.4	62.5	66.0	70.6	67.9
加标浓度 0.0051 mg/L	pH 值	7.0	9.2	10.6	11.1	11.3	11.5	—
	回收率 (%)	30.7	39.6	50.0	65.5	56.3	53.7	—

(3) 加入还原剂对测定结果的影响

由于联苯胺萃取过程中易氧化分解，向水样中添加还原剂亚硫酸钠，每 1000 ml 水样添加 5 g 亚硫酸钠，实验结果表明：水样中加入亚硫酸钠能适当提高联苯胺的回收率，对低浓度的水样作用更为明显（添加连二亚硫酸钠也有类似效果），见表 9。

表9 还原剂对联苯胺萃取效果的影响

联苯胺的浓度 (mg/L)	0.020		0.002		0.002	
亚硫酸钠加入量 (g)	0	0.5%	0	5%	0	5%
联苯胺的回收率 (%)	76.8	82.6	66.5	78.2	52.8	61.8

(4) 液液萃取方法精密度和准确度

液液萃取测定水中联苯胺的回收率与联苯胺的浓度有很大的关系,使用液液萃取测定水中联苯胺的回收率见表 10。由表 10 可见,联苯胺的浓度越高,回收率越大。对于浓度在地表水限值为 0.0002 mg/L 的联苯胺,萃取的回收率只有 30%~40%。

表10 不同浓度联苯胺的回收率

加标浓度 (mg/L)	0.0002		0.002		0.02	
回收率 (%)	40	30	60	60	60	80

由于联苯胺本身不稳定,受水中溶解氧、空气中氧的氧化影响以及见光分解的影响,是液液萃取法测定水中联苯胺的精密度非常差,即使是一个简单的操作步骤(例如氮吹过程),也经常会出现两个平行样间的较大差异。对于液液萃取全过程来说,难以控制影响联苯胺测定的各种因素,标准编制组曾对浓度为 0.0001 mg/L 的 8 个加标水样进行测定,结果最好的变异系数 RSD 为 25%。如果对于复杂的样品,萃取后再加上净化步骤,那么方法的精密度会更差。

综合分析上述的测定结果,并与已建立的固相萃取的方法比较,最后放弃液液萃取的前处理方法。

5.5.2.2 固相萃取的条件优化

(1) 固相萃取柱的选择

当上样体积为 100 ml 时,分别考察了 Cleanert-PCX 混合型阳离子交换固相萃取柱、Cleanert-SCX 固相萃取柱、HLB 固相萃取柱、ODS C₁₈ 固相萃取柱、Cleanert-NH₂ 固相萃取柱的萃取效果。在这五种固相萃取柱中,C₁₈ 柱属于非极性的固相萃取柱,适合萃取非极性化合物;HLB 是由 N-乙炔吡咯烷酮和亲脂性的二乙烯基苯聚合而成的反相吸附剂,适合萃取极性和非极性的化合物;PCX 为离子型丙磺酸键合的 SPE 柱,适用于弱阳离子化合物的提取;SCX 以硅胶为基质的强阳离子交换吸附剂,常用来萃取带正电的碱性化合物;氨基 SPE 柱作为弱阴离子交换剂,可以吸附强阴离子化合物。五种萃取柱均采用 3%乙酸锁定联苯胺,10%甲醇清洗,洗脱液均选择 7 ml 5%氨水甲醇。实验结果表明,对于联苯胺,C₁₈ 柱和 HLB 柱的回收率分别为 27.5%和 19.2%,SCX 柱和 PCX 柱的回收率分别为 97%和 105%。NH₂ 柱属于阴离子交换柱,适合分析非极性和阴离子(酸性)化合物,对于弱碱性化合物联苯胺,不能被 NH₂ 柱吸附。PCX 是填料键合了中等极性的羧酸基团,属于弱阳离子交换型的固相萃取柱,以阳离子交换混合机理的水可浸润型聚合物为基质的萃取柱。提供双重保留模式:即离子交换与反相保留。填料在 pH 为 0~14.0 范围内都很稳定,且具有很大的结合容量。Cleanert SCX 是以高纯球形硅胶为基质的强阳离子交换萃取柱,键合有磺酸官能团。PCX 与 SCX 相比具有吸附容量大,吸附速度快的特点,因此,选择 PCX 混合型阳离子交换固相萃取柱。该种类型的萃取柱除天津博纳安杰尔之外,还有美国 Waters 公司的 Oasis MCX 和日本岛津公司 WondaSep MCX,上海安普公司的 CNWBOND WCX。PCX 萃取柱有多种规格,适合水样富集的 PCX 150 mg/6 ml,PCX 200 mg/6 ml、PCX 500 mg/6 ml。

(2) 上样速度的选择

对于 150 mg/6 ml PCX 阳离子交换柱，当上样体积为 100 ml、水样中联苯胺加标浓度为 0.02 mg/L 时，上样速度分别为 0.5 ml/min、1.0 ml/min、1.5 ml/min、2.0 ml/min、3.0 ml/min、4.0 ml/min、5.0 ml/min (PCX 柱要求上样速度不超过 5 ml/min) 时，联苯胺的回收率见图 3。图 3 的结果表明，上样流速在 1~4 ml/min 范围内均能保证联苯胺被完全吸附，本方法选择 2~3 ml/min 为 PCX 固相萃取柱的上样流速。

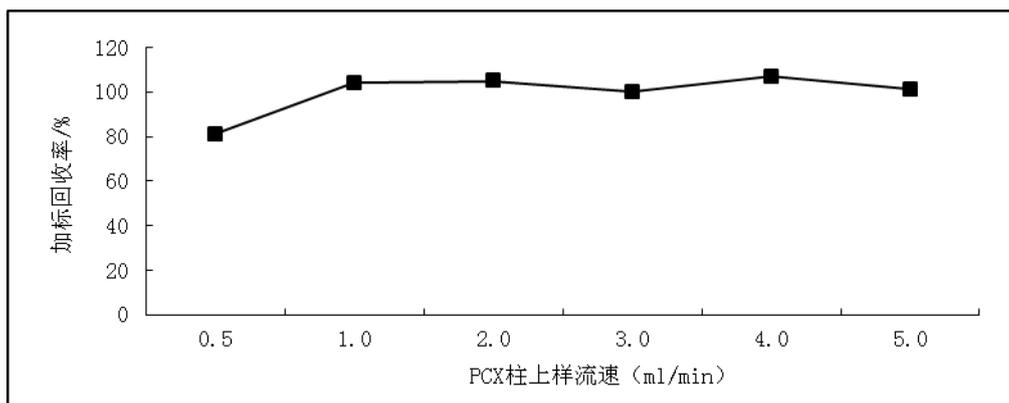


图 3 PCX 柱上样速度对联苯胺回收率的影响

(3) 上样体积的选择

考察了 150 mg/6 ml PCX 阳离子交换柱对相同浓度的不同水样体积中的联苯胺测定的影响，测定结果见图 4。实验结果表明，对相同浓度水样，水样体积在 50 ml 至 400 ml 时，联苯胺的回收率在 98.9%~111% 范围内；当水样体积为 500 ml 时，联苯胺的回收率为 75.9%，表明目标化合物随着水样的加入而不能被完全吸附。因此，从方法灵敏度及分析时间等多方面综合考虑，水样上样体积确定为 150 ml。

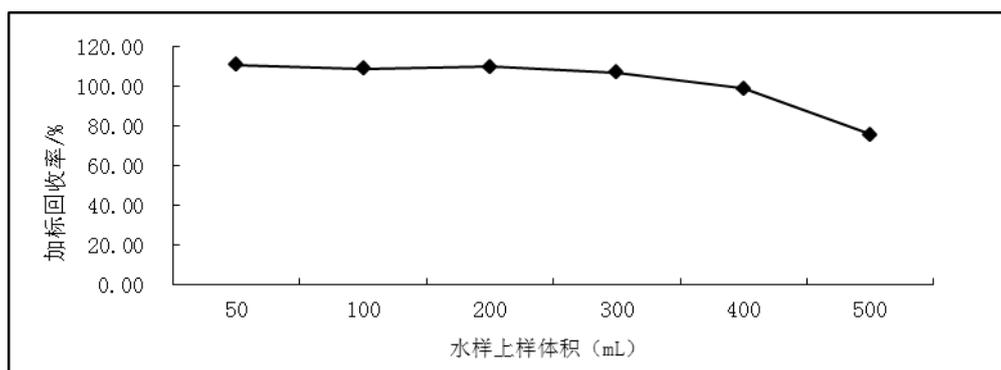


图 4 PCX 柱上样体积对联苯胺回收率的影响

(4) 将联苯胺锁定在 PCX 柱条件的优化

由于 PCX 具有富集及净化双重功能，当 PCX 柱富集水样后，首先用淋洗液将除联苯胺等阳离子物质外的其他杂质淋洗下来，而联苯胺保留在 PCX 柱上。研究表明，目前主要使用的锁定物质为乙酸。图 5 为不加锁定剂时用不同比例的甲醇水淋洗 PCX 柱时，联苯胺的

回收率。结果表明，当不用 3%乙酸水锁定联苯胺时，随着甲醇体积分数的增加，联苯胺的回收率逐渐降低。因此，在淋洗除杂之前必须进行锁定联苯胺，防止淋洗杂质的同时联苯胺的损失。

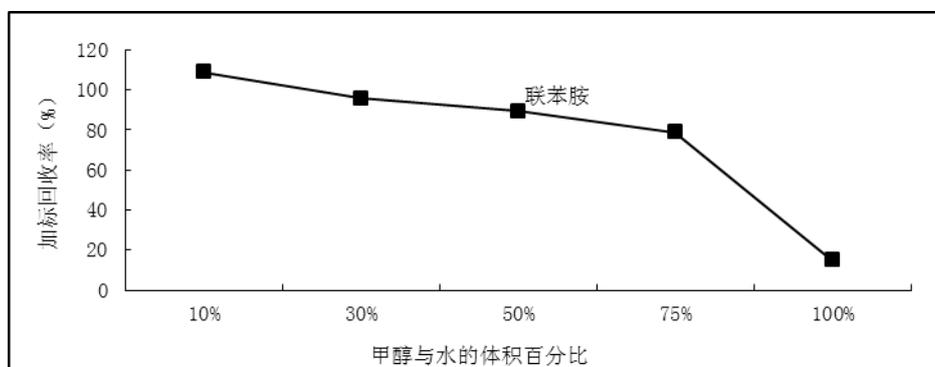


图 5 不用乙酸锁定时不同比例的甲醇水淋洗后联苯胺回收率

标准编制组考察了淋洗体积为 5 ml 时，浓度为 3%乙酸、甲酸、盐酸、硫酸、磷酸锁定联苯胺的效果，见图 6。结果显示，除 3%磷酸锁定联苯胺的效果差外，其他四种酸锁定联苯胺后，联苯胺的回收率均在 100%附近，且没有显著差异。为了和流动相（乙酸铵）一致，本方法选择 3%乙酸水溶液锁定联苯胺。

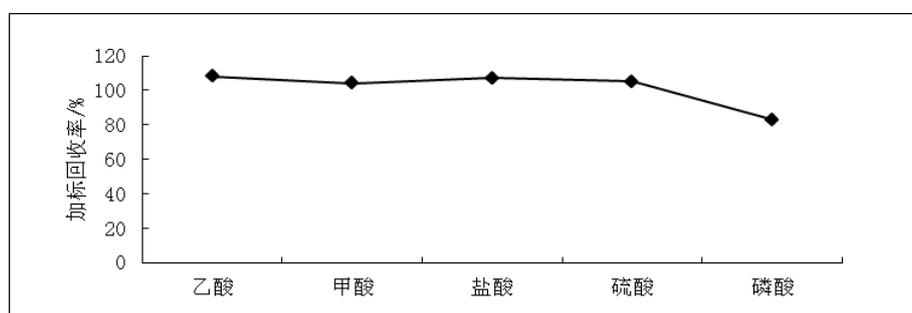


图 6 用不同性质的酸锁定对联苯胺回收率的影响

(5) 淋洗条件的选择

考察了用 3%乙酸锁定联苯胺后，用 4 ml 体积分数分别为 10%、20%、30%、50%、75%、100%的甲醇-水溶液淋洗 PCX 柱时联苯胺的回收率，结果见图 8。结果表明：用 10%~100% 甲醇淋洗后联苯胺的回收率均在 100%左右，由此可见，改变淋洗液甲醇的浓度，并不会将联苯胺淋洗下来。

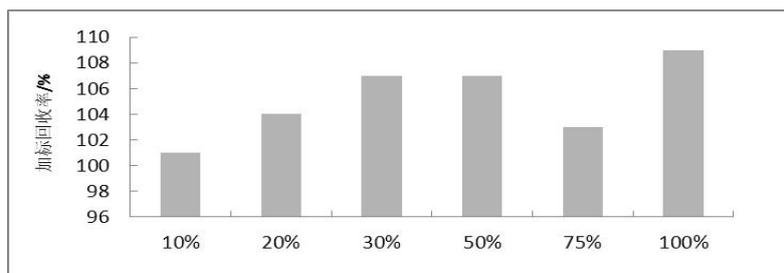


图 7 不同体积分数的甲醇水对联苯胺回收率的影响

对于生活污水和印染废水的水样，由于水样中杂质多，基质复杂，本实验考察了用不同体积分数的甲醇-水（10%、20%、30%、50%、75%、100%）淋洗富集生活污水及印染废水的 PCX 固相萃取柱（水样加标浓度为 $1 \mu\text{g/L}$ ），结果见图 8~图 10。结果表明：增加甲醇的体积分数，不会影响联苯胺的回收率，但纯甲醇作为淋洗液除去杂质的效果最好，显著降低基质干扰。因此，本标准选择纯甲醇作为淋洗液去除基体干扰。

以青岛海泊河污水处理厂入口废水为研究对象，考察甲醇为淋洗液时，淋洗液体积为 2 ml、4 ml、6 ml、8 ml、10 ml 时，杂质的干扰情况，见图 11~图 13。当甲醇体积从 2 ml 增至 8 ml，杂质峰的响应值逐渐降低，增加甲醇的体积在到 8~10 ml 时，变化不大。因此本方法选择用 8 ml 的甲醇做淋洗液。

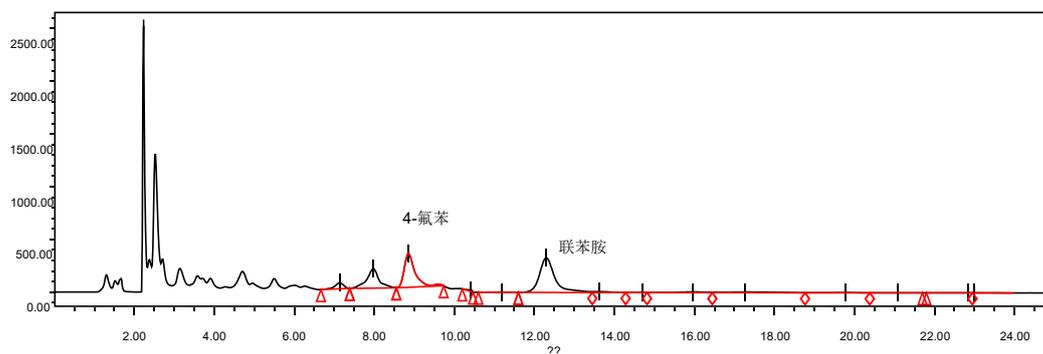


图 8 10%的甲醇-水淋洗后的色谱图

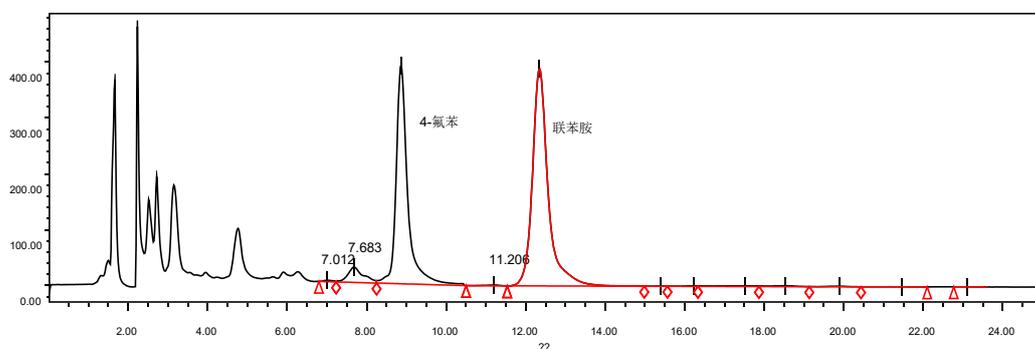


图 9 50%的甲醇-水淋洗后的色谱图

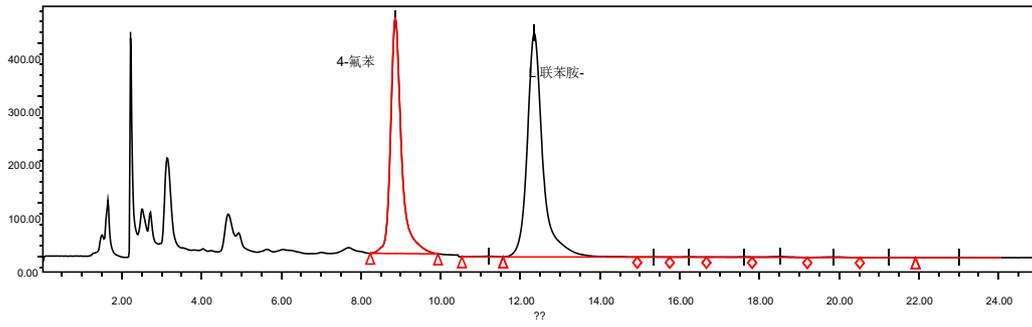


图 10 纯甲醇淋洗后的色谱图

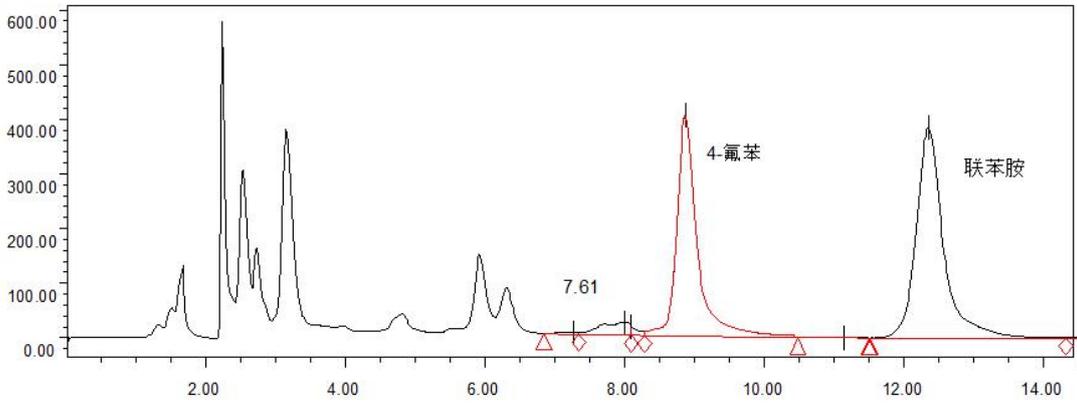


图 11 2 ml 甲醇淋洗的色谱图 (联苯胺浓度: 13.3 $\mu\text{g/L}$)

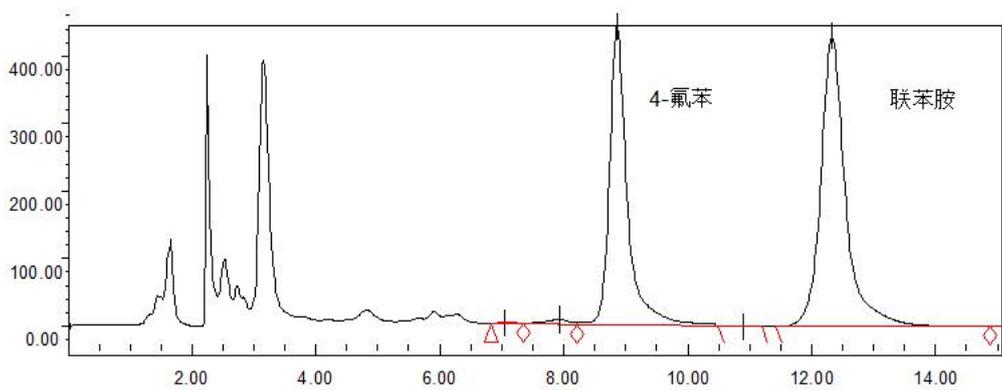


图 12 8 ml 甲醇淋洗的色谱图 (联苯胺浓度: 13.3 $\mu\text{g/L}$)

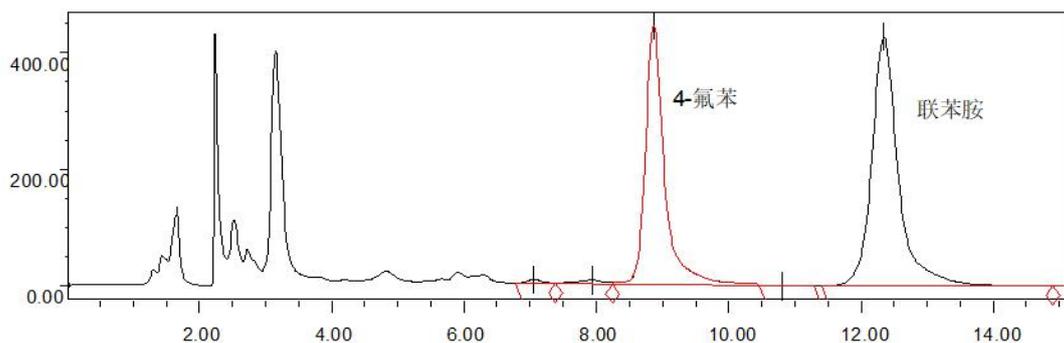


图 13 10 ml 甲醇淋洗的色谱图（联苯胺浓度：13.3 $\mu\text{g/L}$ ）

（6）洗脱条件的选择

由于联苯胺为有机碱类，酸度系数 pK_a 在 2~10 之间，所以选择氨水-甲醇的混合溶液为洗脱溶剂。本实验考察了用 7 ml 体积分数分别为 1%、2%、5%、7%、10% 的氨水甲醇混合溶液进行洗脱时，氨水的含量对联苯胺回收率的影响，结果如图 14。结果表明，含 2%、5%、7% 和 10% 氨水的甲醇洗脱溶剂洗脱联苯胺的回收率明显高于含 1%。综合考虑洗脱效率和以后浓缩情况，选择 5% 氨水-甲醇作为最佳洗脱溶剂。

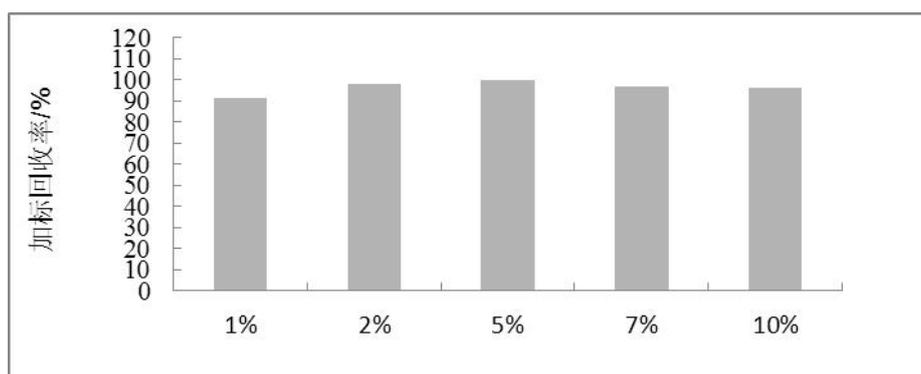


图 14 PCX 柱洗脱液中甲醇与氨水比例对联苯胺回收率的影响

为考察不同体积洗脱剂对联苯胺测定的影响，研究了用 2.0 ml、4 ml、6 ml、8 ml、10 ml、12 ml 体积分数为 5% 氨水甲醇混合溶液进行洗脱时，联苯胺的回收率，如图 15。由图 15 可见，联苯胺的回收率随着洗脱体积的增加而逐渐增大，当洗脱剂用量大于 6 ml 时，洗脱效果不再改变，考虑到节省溶剂和减少氮吹时间，故本方法选择 7.0 ml 5% 氨水-甲醇溶液为 PCX 固相萃取柱的洗脱液体积。

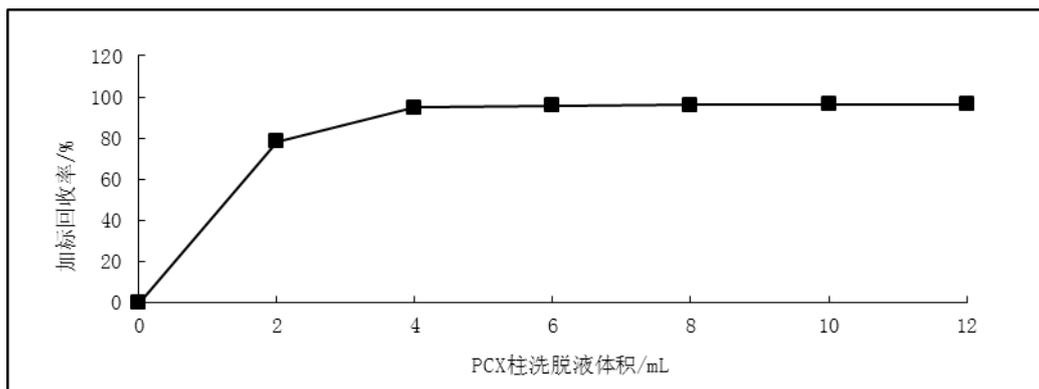


图 15 PCX 柱洗脱液体积对联苯胺回收率的影响

(7) 洗脱液氮吹温度的选择

在 7 ml 5%氨水甲醇溶液中加入 2.0 μg 联苯胺，混匀后于 50 $^{\circ}\text{C}$ 、55 $^{\circ}\text{C}$ 、60 $^{\circ}\text{C}$ 、65 $^{\circ}\text{C}$ 下氮吹浓缩至 2 ml，测定各水浴温度下联苯胺的回收率，见图 16。在 4 种氮吹温度条件下，联苯胺的回收率在 100%~120%之间，本方法选择 60 $^{\circ}\text{C}$ 作为氮吹浓缩温度。

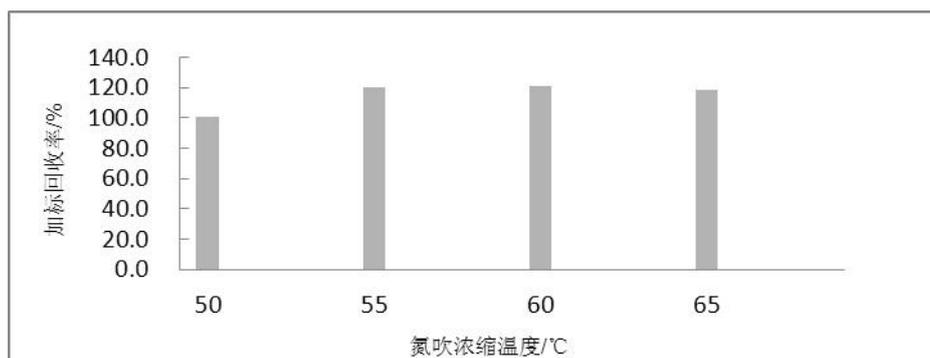


图 16 氮吹浓缩温度对联苯胺回收率的影响

(8) 洗脱液的存放时间

用PCX萃取柱萃取污水处理厂出口废水加标联苯胺浓度为3.75 $\mu\text{g/L}$ 、15.0 $\mu\text{g/L}$ 、75.0 $\mu\text{g/L}$ 的废水样品，然后用5%氨水-甲醇作为洗脱液进行洗脱，洗脱液在0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 下冷藏放置25 d，测定结果见表11，由表11可知，联苯胺洗脱液在存放4 d内变化不大，随后有所降解。故最终选择洗脱液的存放时间为4 d。

表11 洗脱液放置时间对联苯胺测定的影响

洗脱液放置时间 (d)	联苯胺的回收率 (%)		
	3.75 $\mu\text{g/L}$	15.0 $\mu\text{g/L}$	75.0 $\mu\text{g/L}$
0	100	100	100
1	92.9	87.3	96.0
4	89.1	86.0	88.8

洗脱液放置时间 (d)	联苯胺的回收率 (%)		
	3.75 µg/L	15.0 µg/L	75.0 µg/L
6	78.5	79.6	80.5
11	65.7	78.5	80.1
14	52.0	76.8	79.1
25	50.5	74.5	78.9

(9) 水样 pH 对测定结果的影响

为了考察水样 pH 值对 PCX 萃取柱富集联苯胺的影响, 准确量取 150 ml 超纯水若干份, 分别加标联苯胺浓度为 0.100 µg/L。用乙酸和氨水调节水样 pH 值, 水样 pH 值对联苯胺的测定结果的影响见表 12。在 pH 为 6.0~10.0 范围内, 联苯胺的回收率在 84%~95% 之间; 在 pH 为 3.08~5.0 范围内, 联苯胺回收率在 55%~68% 之间。因此, 对于 pH 较低的水样, 应该用氨水调节水样的 pH 在 6~10 之间。

表 12 水样 pH 值对联苯胺测定结果的影响

水样 pH 值	联苯胺回收率 (%)
3.08	55
4.11	57
5.02	68
5.96	91
7.41	84
8.13	84
9.38	89
10.03	95
10.86	62

(10) 水样中悬浮物对联苯胺测定的影响

水样中悬浮物含量对联苯胺测定结果有两方面的影响。一是悬浮物堵塞固相萃取柱, 影响富集速度; 二是悬浮物对联苯胺有吸附作用, 导致测定结果偏低。为考察悬浮物对测定结果的影响, 取一定量的含悬浮物的生活污水水样, 用蒸馏水稀释至不同的浓度, 取各稀释样 100 ml 加入联苯胺标准于室温放置一晚上。

1) 用不同材质的滤膜过滤对测定结果的影响

分别比较用 0.45 μm 聚四氟乙烯滤膜、0.45 μm 醋酸纤维滤膜和不过滤直接富集对生活污水和印染废水测定结果的影响见表 13。

表13 不同材质滤膜过滤废水对测定结果的影响

废水样品的来源	悬浮物含量	联苯胺回收率 (%)		
		不过滤	0.45 μm 聚四氟乙烯滤膜过滤	0.45 μm 醋酸纤维滤膜过滤
团岛污水处理厂出口废水	6.5 mg/L	89.7	/	/
印染废水处理厂出口废水	37.3 mg/L	69.8	64.7	2.5
李村河污水处理厂出口废水	8.0 mg/L	/	89.5	44.5
娄山河污水处理厂出口废水	5.5 mg/L	/	93.5	44.3
纯水加标水样	—	94.2	92.9	/

注：准确量取 150 ml 水样，加入 12 mg 硫代硫酸钠，加标联苯胺浓度为 0.1 μg/L，加标样品放置 6 h 后用 PCX 固相萃取柱进行富集。

由表 13 的数据，可以得到以下结论：使用 0.45 μm 聚四氟乙烯滤膜过滤明显比 0.45 μm 醋酸纤维滤膜过滤的效果要好；高浓度的颗粒物对测定结果有明显的影响，使测定结果偏低；0.45 μm 聚四氟乙烯滤膜过滤对联苯胺本身没有影响。

2) 不同浓度悬浮物对联苯胺测定结果的影响

根据表 13 的结果，编制组又详细考察了印染废水中不同浓度的悬浮物对测定结果的影响，见表 14。由表 14 的数据可知，水样中悬浮物越高，联苯胺的测定值越低，水样中悬浮物的浓度在 12 mg/L 时，基本不影响测定值，此时是否过滤对测定结果影响不大。进一步证实用 0.45 μm 聚四氟乙烯滤膜过滤不会对联苯胺本身有影响。

表14 印染废水中不同浓度悬浮物对联苯胺测定结果的影响

悬浮物浓度 (mg/L)	联苯胺回收率 (%)	
	0.45 μm 聚四氟乙烯滤膜	不过滤
12.5	90.6	93.6
18.8	71.7	74.0
25.0	69.8	67.6
30.0	64.0	69.4
37.3	62.0	59.9

3) 通过调整不同浓度悬浮物水样酸度, 过滤后对联苯胺测定结果的影响

由于联苯胺属于碱性化合物, 如果将水样的 pH 调低, 联苯胺将会以联苯胺盐的形式存在, 一般情况下, 悬浮物对盐的吸附作用小于对化合物的吸附。为此, 研究了将含悬浮物浓度为 37.5 mg/L 的印染废水调节不同的酸度, 经 0.45 μm 聚四氟乙烯滤膜过滤后, 再将过滤后的水样调到合适酸度进行富集, 测定结果见表 15。

表15 调节水样的酸度过滤后悬浮物对测定结果的影响

过滤前调节水样 pH 值	过滤后调节的 pH	联苯胺回收率 (%)
2.38	8.33	94.0
2.39	8.00	93.3
3.08	8.01	92.1
3.09	8.65	94.0
3.97	8.92	88.0
4.00	9.30	86.2
4.94	8.60	85.4
5.04	8.34	81.5

由表 15 的数据可见, 当水样的 pH 值调到 3 以下, 经 0.45 μm 聚四氟乙烯滤膜过滤后, 再将水样的酸度调到 pH 为 8 左右时, 含悬浮物浓度为 37.5 mg/L 的印染废水联苯胺的回收率达到 92.1%~94.0%。

(11) 硫代硫酸钠的影响

联苯胺性质不稳定, 容易被水中的溶解氧和水中的余氯氧化。硫代硫酸钠具有强烈的还原性, 能迅速还原溶解氧和余氯, 从而消除对联苯胺的影响。目前有多个方法为消除水样中余氯的影响, 向水样中加入硫代硫酸钠。《水质 苯胺类化合物的测定 气相色谱-质谱法》(HJ 822-2017) 规定: 样品采集后立即加入氢氧化钠或硫酸溶液, 调节 pH 值在 6~8, 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏保存, 如水样中有余氯, 每 1000 ml 样品中加入 80 mg 硫代硫酸钠。EPA8131 和 EPA605 规定, 水样采集后用氢氧化钠或硫酸调节样品 pH 为 6~8, 如果有余氯存在, 样品中每毫克余氯需要加入 35 mg 硫代硫酸钠去除。但编制组的研究发现, 即使水中没有余氯, 由于溶解氧氧化联苯胺, 也造成联苯胺的损失。

本标准考察了在自来水中加入 0 ml、1.0 ml、2.0 ml、3.0 ml、4.0 ml、5.0 ml 和 6.0 ml 的 4 mg/ml 硫代硫酸钠, 经固相萃取前处理后, 联苯胺的回收率见图 17。实验表明, 水样中不加硫代硫酸钠时, 联苯胺回收率很低。当向水样中加入硫代硫酸钠 1~5 ml 时, 即水样中硫代硫酸钠的浓度为 26.7~133 mg/L 时, 联苯胺回收率在 95.8%~97.6%, 当加入 6 ml 时回收率降低。故选择每 100 ml 水样中加入 2 ml 4 mg/ml 硫代硫酸钠, 即水样中硫代硫酸

钠的浓度为 80 mg/L。由于硫代硫酸钠溶液不稳定，需要临用现配，操作不便。因此，标准文本给出向水样直接加固体，每 500 ml 样品加入 40 mg 的方式保存水样。

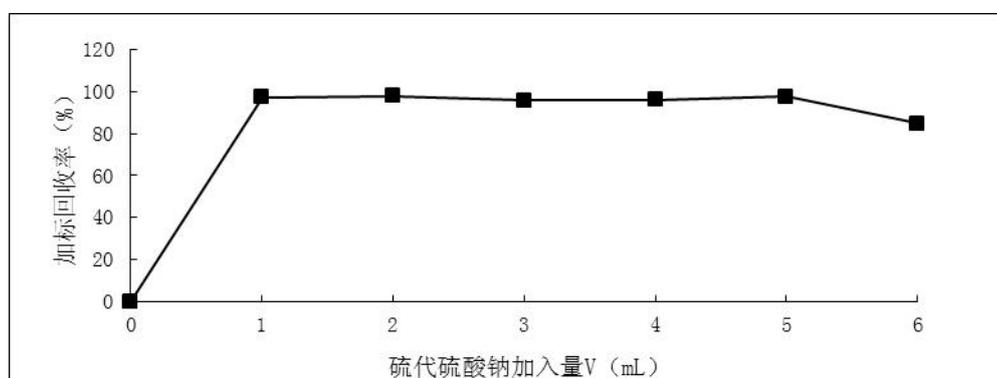


图 17 硫代硫酸钠加入量对联苯胺回收率的影响

综上所述，本标准样品的前处理步骤确定为：准确量取 150 ml 水样，加入硫代硫酸钠，使水样硫代硫酸钠的浓度为 80 mg/L，用盐酸调水样 $\text{pH} \leq 3.0$ ，水样过 $0.45 \mu\text{m}$ 的聚四氟乙烯滤膜后置于 250 ml 锥形瓶中，以约 2 ml/min 的流速通过预先用 5 ml 甲醇和 5 ml 纯水活化的阳离子交换固相萃取柱，水样完全富集后，加入 5 ml 3% 的乙酸水溶液，再加入 8 ml 纯甲醇淋洗萃取柱。然后用真空泵抽干萃取柱中的残留水分，再用 7 ml 5% 的氯化甲醇洗脱萃取柱，收集洗脱液，将洗脱液移入 60°C 氮吹仪水浴上，以合适的流速氮吹浓缩至 1.0 ml，再用纯水定容到 2 ml，混匀后经 $0.45 \mu\text{m}$ 的聚四氟乙烯滤膜过滤，待测。

5.6 分析步骤

5.6.1 液相色谱分离条件的优化

5.6.1.1 联苯胺的激发波长和发射波长的确定

对联苯胺的标准溶液进行激发光谱和发射光谱扫描。激发光谱和发射光谱谱图见图 18。由图 18 可知，联苯胺的发射波长为 395 nm，激发波长在 220 nm、292 nm 和 255 nm 处亦各有 1 峰，其中，220 nm 处的是瑞利峰，不能作为分析波长，292 nm 处的激发能量最大。为此本标准选择激发波长 (Ex) 为 292 nm，荧光波长 (Em) 为 395 nm。

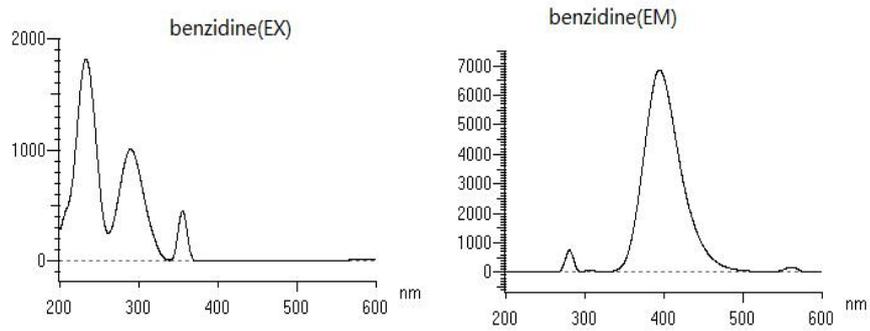


图 18 联苯胺的激发光谱和发射光谱谱图

5.6.1.2 流动相的选择

联苯胺为弱碱性有机化合物，流动相的组成对联苯胺的响应强度有较大的影响，王超等^[7]曾用乙腈-水（25:75）作为流动相，并且水中含有 0.05 mol/L 的乙酸铵缓冲溶液，以液相色谱分离荧光检测测定联苯胺；葛璇等^[23]用甲醇-水梯度洗脱，以二极管阵列检测器分析测定联苯胺；陈勇等^[11]以乙腈-水做流动相，水中含有 0.1%的乙酸和 10 mmol/L 的乙酸铵，以液相色谱质谱法测定联苯胺。本实验比较了乙腈-水、甲醇-水、乙腈-水和甲醇-水（水中各含有 0.01 mol/L 的乙酸铵缓冲溶液）四种流动相下联苯胺的响应强度图 19~图 20。结果表明，在用乙腈-水和甲醇-水为流动相时，联苯胺的峰形较宽，灵敏度低；在乙腈-水和甲醇-水（水中含有 0.01 mol/L 的乙酸铵缓冲溶液）流动相体系下，联苯胺的峰形良好，用甲醇-水（水中含有 0.01 mol/L 乙酸铵）为流动相时联苯胺的灵敏度比乙腈-水（20:80）（水中含有 0.01 mol/L 的乙酸铵）为流动相时的灵敏度低，故选择乙腈-水（20:80）为流动相。

水中如果含有高浓度乙酸铵会降低色谱柱的使用寿命，为此考察了水中含 0.001 mol/L、0.002 mol/L、0.005 mol/L、0.01 mol/L、0.025 mol/L、0.0375 mol/L、0.05 mol/L 乙酸铵做流动相时联苯胺的响应强度，结果见图 21。从图中可以看出，水中加入乙酸铵后可以提高联苯胺的响应值，当乙酸铵浓度高于 0.001 mol/L 后，联苯胺的响应值变化不大。综合考虑色谱柱的使用寿命和荧光强度，选用 0.01 mol/L 的乙酸铵。最后选用乙腈-水（20:80）（水中含有 0.01 mol/L 的乙酸铵）为流动相，等度保持 15 min。

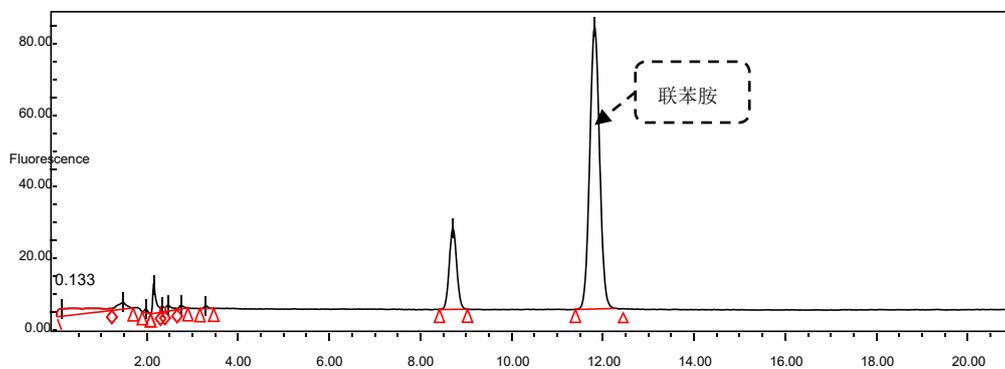


图 19 用乙腈-水（含乙酸铵）做流动相时联苯胺的色谱图

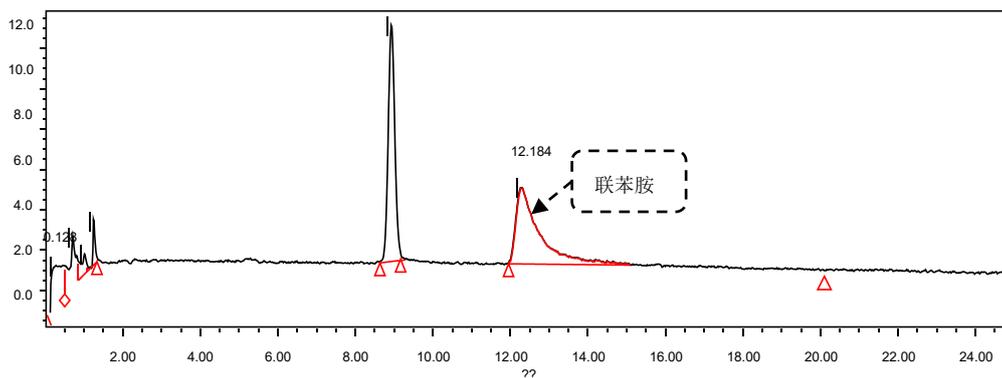


图 20 用乙腈-水（不含乙酸铵）做流动相时联苯胺的色谱图

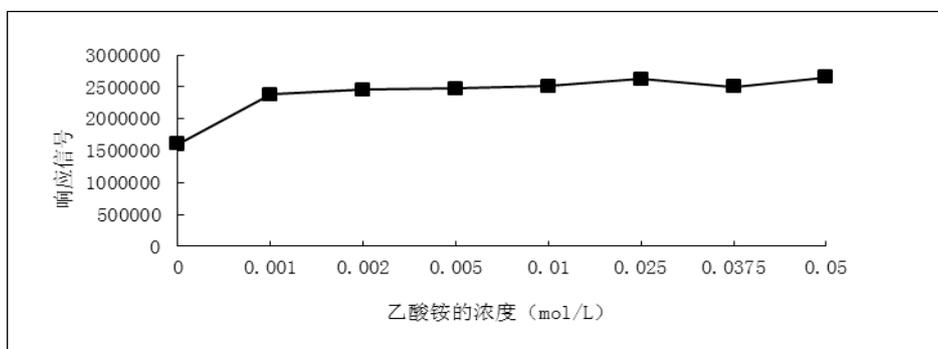


图 21 水中含有不同浓度乙酸铵的流动相联苯胺响应值

5.6.1.3 柱温的选择

考察了柱温为 30℃、35℃、40℃、45℃下联苯胺的色谱峰及响应情况。结果发现，随着柱温的升高，联苯胺的响应信号受柱温的影响不明显。考虑到温度高时会降低色谱柱的寿命（在温度 < 40℃ 时色谱柱达到最佳使用寿命）和色谱柱性能，本实验选择柱温为 40℃。

5.6.1.4 配制标准溶液的溶剂的选择

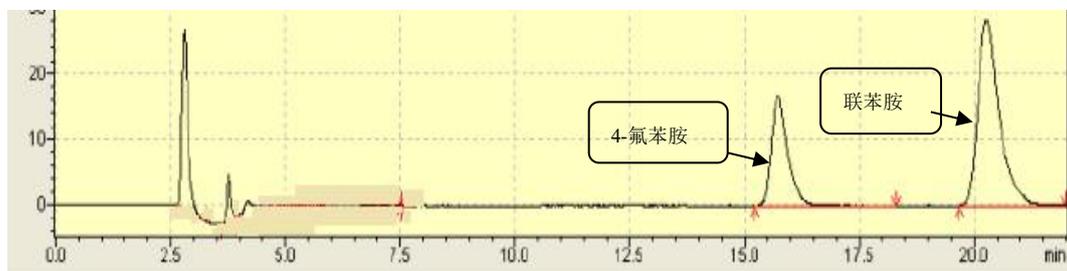
实验过程中发现配制标准溶液使用的溶剂对色谱峰形影响很大，分别用体积分数为 0%、20%、25%、40%、50%、67%、100% 甲醇与超纯水配制的 100 μg/L 的混合标准溶液，在上述色谱条件下进行检测，结果表明，100% 甲醇作溶剂时，峰形拖尾，用体积分数在 25%~50% 之间甲醇-水为溶剂时，联苯胺的峰形对称且尖锐，而 50% 的甲醇-水为溶剂时，联苯胺响应信号最强。故选择 50% 甲醇水作为配制溶剂。

5.6.2 其他苯胺类化合物的干扰情况

为考察其他苯胺类化合物在建立的色谱条件下是否对联苯胺有干扰，分别考察了 1-萘胺、2-萘胺、4-氟苯胺、苯胺、邻硝基苯胺、间硝基苯胺、对硝基苯胺、2,4-二硝基苯胺的

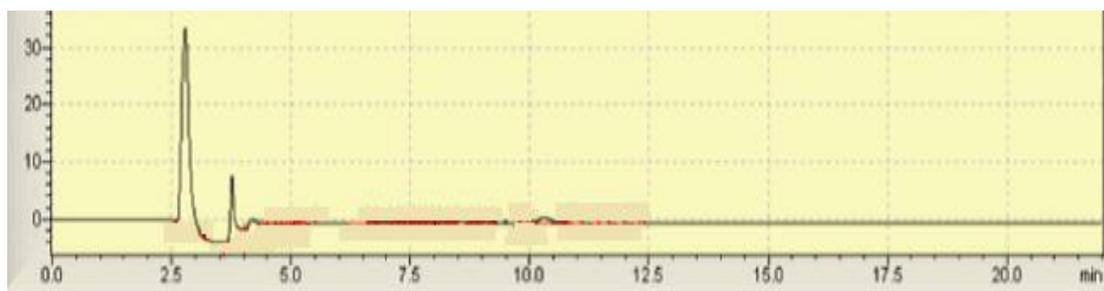
干扰情况，这几种胺类化合物苯胺、4-氟苯胺、1-萘胺和 2-萘胺均能产生荧光，结果见图 23-25。

由图 22~图 24 可见，在联苯胺的色谱条件及荧光检测条件下，其他几种胺类化合物均不对联苯胺产生干扰。



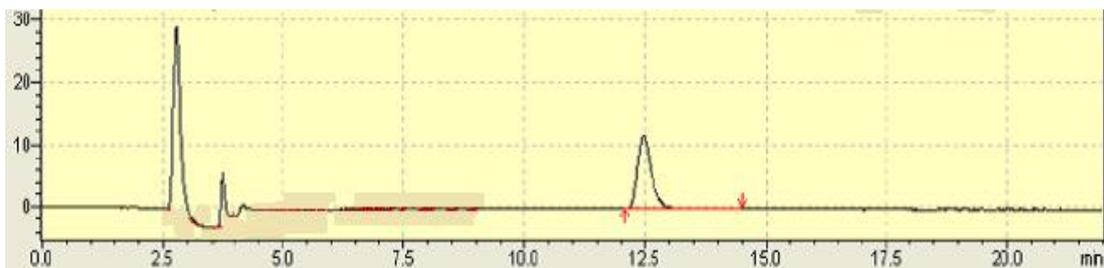
注：Ex=292 nm，Em=399 nm，联苯胺浓度为 0.1 mg/L，4-氟苯胺浓度为 0.2 mg/L。

图 22 联苯胺和 4-氟苯胺的色谱图



注：Ex=292 nm，Em=399 nm，1-萘胺和 2-萘胺的浓度均为 1.00 mg/L。

图 23 1-萘胺和 2-萘胺的色谱图



注：Ex=292 nm，Em=399 nm，5 种苯胺浓度均为 1.00 mg/L。

图 24 苯胺、邻硝基苯胺、间硝基苯胺、对硝基苯胺和 2,4-二硝基苯胺混标的色谱图

5.6.3 标准曲线的绘制

取一定量联苯胺标准使用液，用甲醇水(1+1)配制质量浓度分别为 2.00 $\mu\text{g/L}$ 、5.00 $\mu\text{g/L}$ 、10.0 $\mu\text{g/L}$ 、20.0 $\mu\text{g/L}$ 、50.0 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、200 $\mu\text{g/L}$ 的标准系列，此系列浓度相当于水样中联苯胺的浓度为 0.027 $\mu\text{g/L}$ 、0.067 $\mu\text{g/L}$ 、0.133 $\mu\text{g/L}$ 、0.267 $\mu\text{g/L}$ 、0.667 $\mu\text{g/L}$ 、1.33 $\mu\text{g/L}$ 和 2.66 $\mu\text{g/L}$ ，联苯胺的回归方程为 $Y=8.19 \times 10^2 X + 8.88 \times 10^2$ ，相关系数 $R^2=0.9997$ ，编制组进

一步做了 20.0 µg/L、50.0 µg/L、100 µg/L、200 µg/L、400 µg/L、500 µg/L，线性方程为 $Y=8.63 \times 10^3 X + 7.81 \times 10^2$ ，相关系数 $R^2=0.9991$ ，即浓度为 2.00 µg/L~500 µg/L 均成线性关系。我国目前只有地表水有联苯胺的限值为 0.2 µg/L，考虑到目前方法的线性范围一般为 100 倍关系，因此确定联苯胺线性范围 2.00~200 µg/L。

5.6.4 方法检出限

根据 HJ 168-2010 的要求，采用空白水加标的方式进行方法检出限的测定。编制组在 7 份 150 ml 水样中加标联苯胺标准溶液的浓度为 0.010 µg/L，用 PCX 阳离子交换柱进行固相萃取，经全过程分析，数据结果见表 16。从平均值与检出限的比值结果看，空白加标为 0.010 µg/L 符合做方法检出限的要求。

表16 检出限计算结果（取样体积150 ml，n=7）

平行样号		试样（空白加标 0.010 µg/L）
测定结果 (µg/L)	1	0.0073
	2	0.0071
	3	0.0067
	4	0.0061
	5	0.0073
	6	0.0061
	7	0.0063
平均值 \bar{x} (µg/L)		0.0067
标准偏差 s (µg/L)		0.00055
t 值		3.143
方法检出限 (µg/L)		0.002
测定下限 (µg/L)		0.008
平均值/检出限		3.9

5.6.5 精密度和准确度

分别对含联苯胺浓度为 0.050 µg/L、0.200 µg/L、1.00 µg/L 空白加标水样进行了精密度测试（见表 17），每个浓度水平配制 7 份平行样品。从表中可以看出，不同浓度的空白加标水样，测定结果的相对标准偏差为 2.1%~5.3%，平均加标回收率为 93.6%~102%。

表17 空白加标测定的精密度和准确度数据

平行号		空白水加标		
		0.050 $\mu\text{g/L}$	0.200 $\mu\text{g/L}$	1.00 $\mu\text{g/L}$
测定值 ($\mu\text{g/L}$)	1	0.050	0.205	0.956
	2	0.049	0.194	0.953
	3	0.050	0.188	0.897
	4	0.052	0.209	0.941
	5	0.050	0.184	0.937
	6	0.051	0.194	0.932
	7	0.052	0.182	0.938
平均值 ($\mu\text{g/L}$)		0.051	0.194	0.936
相对标准偏差 (%)		2.2	5.3	2.1
平均加标回收率 (%)		102	97.0	93.6

5.7 结果计算与表示

5.7.1 标准色谱图

在本标准规定的色谱条件下，联苯胺的标准色谱图见图 25。

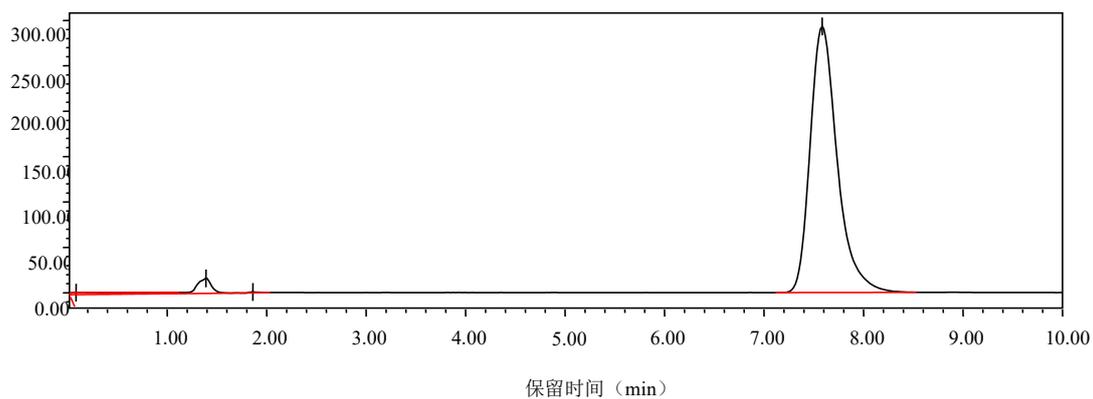


图 25 联苯胺的标准色谱图 ($\rho = 50.0 \mu\text{g/L}$)

5.7.2 定性分析

由于本方法使用荧光检测器，方法的选择性好，根据联苯胺的保留时间定性准确度很高。

如果需要进一步的确认，从仪器的灵敏度和方法的定性能力上，只有液相色谱三重四级串联质谱能满足条件。因此，本标准定性部分为：根据样品中目标物与标准系列中目标物的保留时间进行定性，必要时可采用液相色谱串联四级杆质谱定性。

5.7.3 定量分析

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

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

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的联苯胺的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

V_1 ——试样定容体积，ml；

V ——取样体积，ml。

f ——稀释倍数。

5.7.4 结果表示

经验证，本标准的方法检出限为 $0.006 \mu\text{g/L}$ ，因此当测定结果大于等于 $1 \mu\text{g/L}$ 时，数据保留三位有效数字；当测定结果小于 $1 \mu\text{g/L}$ 时，保留到小数点后第三位。

5.8 方法的适用性

按照上述建立的分析方法，分别进行崂山水库水样、海泊河污水处理厂出口废水、某染料厂废水和染整企业废水进行加标，按照本方法规定的操作进行测定，加标回收率见表18~表24。崂山水库是青岛的补充水源地，属于国控监测断面饮用水源地，每年进行两次联苯胺的监测，一般COD小于 10 mg/L ，氨氮小于 0.2 mg/L ；海泊河污水处理厂是青岛的主要城市生活污水处理厂之一，废水COD入口在 $700 \sim 800 \text{ mg/L}$ 之间，出口在 20 mg/L ，氨氮入口在 30 mg/L ，出口在 1.0 mg/L ，悬浮物入口在 $250 \sim 500 \text{ mg/L}$ 之间，出口在 4 mg/L 左右。

表18 地表水加标样测定精密度和准确度数据

添加浓度 ($\mu\text{g/L}$)		0.050	0.200	1.00
测定值 ($\mu\text{g/L}$)	1	0.044	0.174	0.804
	2	0.050	0.157	0.769
	3	0.045	0.175	0.736
	4	0.047	0.202	0.734
	5	0.049	0.178	0.746
	6	0.047	0.170	0.732
	7	0.046	0.178	0.740

添加浓度 (µg/L)	0.050	0.200	1.00
平均值 (µg/L)	0.047	0.176	0.752
加标回收率 (%)	93.7	88.1	75.2
相对标准偏差 (%)	4.5	7.6	3.5

表19 海泊河污水处理厂出口污水加标样测定精密度和准确度数据

添加浓度 (µg/L)		0.050	0.200	1.00
测定值 (µg/L)	1	0.042	0.178	0.878
	2	0.044	0.189	0.896
	3	0.040	0.172	0.955
	4	0.041	0.188	0.934
	5	0.047	0.174	0.901
	6	0.044	0.185	0.936
	7	0.047	0.178	0.901
平均值 (µg/L)		0.044	0.181	0.914
加标回收率 (%)		87.4	90.3	91.4
相对标准偏差 (%)		6.2	3.7	3.0

表20 海泊河污水处理厂入口污水过滤后加标样测定精密度和准确度数据

添加浓度 (µg/L)		0.050	0.200	1.00
测定值 (µg/L)	1	0.055	0.203	0.956
	2	0.050	0.205	0.953
	3	0.048	0.204	0.897
	4	0.050	0.196	0.941
	5	0.049	0.195	0.937
	6	0.051	0.205	0.932

添加浓度 (µg/L)		0.050	0.200	1.00
	7	0.050	0.201	0.938
平均值 (µg/L)		0.050	0.201	0.936
加标回收率 (%)		101	101	93.6
相对标准偏差 (%)		4.4	2.1	2.1

表21 青岛某染整企业1处理前废水加标样测定精密度和准确度数据

平行号		水样测定值	加标后测定值
测定值 (µg/L)	1	0.536	1.007
	2	0.584	0.985
	3	0.560	0.993
	4	0.564	1.018
	5	0.596	0.994
	6	0.532	0.989
平均值 (µg/L)		0.563	1.00
加标浓度 (µg/L)		0.500	
加标回收率 (%)		87.2	
相对标准偏差 (%)		4.5	1.2

表22 青岛某染整企业2处理前废水加标样测定精密度和准确度数据

平行号		水样测定值	加标后测定值
测定值 (µg/L)	1	0.021	0.523
	2	0.018	0.490
	3	0.022	0.503
	4	0.021	0.519
	5	0.018	0.489

平行号	水样测定值	加标后测定值
6	0.021	0.492
平均值 (μg/L)	0.020	0.503
加标浓度 (μg/L)	0.500	
加标回收率 (%)	96.6	
相对标准偏差 (%)	8.5	3.0

表23 青岛某染整企业2处理后废水加标样测定精密度和准确度数据

平行号	水样测定值	加标后测定值	
测定值 (μg/L)	1	0.000	0.489
	2	0.000	0.495
	3	0.000	0.506
	4	0.000	0.482
	5	0.000	0.495
	6	0.000	0.486
平均值 (μg/L)	/	0.492	
加标浓度 (μg/L)	0.500		
加标回收率 (%)	98.4		
相对标准偏差 (%)	/	1.7	

表24 青岛某染料企业废水加标样测定精密度和准确度数据

平行号	水样测定值	加标后测定值	
测定值 (μg/L)	1	0.334	0.756
	2	0.328	0.684
	3	0.312	0.706
	4	0.326	0.756

平行号	水样测定值	加标后测定值
5	0.320	0.766
6	0.324	0.693
平均值 (μg/L)	0.324	0.727
加标浓度 (μg/L)	0.500	
加标回收率 (%)	80.6	
相对标准偏差 (%)	2.3	4.6

由表 18~24 的数据可见, 无论是地表水、污水处理厂的废水还是工业废水, 水样中联苯胺的浓度在 1.00 μg/L 以下, 其回收率在 75.2%~102%之间, 分析结果的相对标准偏差在 1.2%~7.6%之间。由于从有机分析的角度, 地下水与水源地的地表水没有多大差别。因此, 本方法适合地表水、地下水、生活污水和工业废水中联苯胺的测定。

5.9 质量控制与质量保证

5.9.1 空白试验

实验证明, 一般情况下, 在空白试验中联苯胺是检不出的, 参照根据我国目前颁布的同类监测方法标准对空白的要求, 每 20 个样品或每批次 (少于 20 个样品) 应至少做一个实验室空白, 空白中联苯胺测定结果应低于方法检出限。

5.9.2 初始校准

用 HPLC 测定联苯胺时, 6 个实验室曲线的相关系数在 0.9995~0.9999 之间, 我国没有对色谱法测定有机物的线性回归方程的相关系数做过规定, EPA 8000 系列规定用于定量分析时, $r \geq 0.99$ 。因此本标准结合 EPA 的要求和实验数据, 确定曲线的相关系数 ≥ 0.999 。

5.9.3 中间浓度检验

EPA 8000 系列标准规定, 作为一般规则, 每 12 h 应该对曲线进行中间浓度检验, 中间浓度的测定值与曲线的值相对偏差低于 15%时, 曲线才有效。本标准由于每个样品测定的时间在 10 分钟以内, 考虑到科学性和效率, 规定每 20 个样品或每批次 (少于 20 个) 应进行一次校准曲线中间浓度的检验, 中间浓度的测定值与曲线的值相对偏差应 $\leq 15\%$, 否则应建立新的校准曲线。

5.9.4 平行样

根据《地表水和污水监测技术规范》(HJ/T 91-2002)要求, 每批样品均须分析 10%的平行双样, 因此要求每 10 个样品或每批次 (少于 10 个样品) 应带一个平行样。EPA 要求平行样的相对偏差在 20%以内, 本标准验证的结果表明, 6 个实验室对三种水样测定的最大值与最

少值的偏差在 1.9%~11%之间，参照验证结果和 EPA 的要求和本标准测定的浓度水平，确定平行样的相对偏差≤20%。

5.9.5 基体加标

本标准对 3 类水质样品进行加标的实验结果表明，加标回收率为 73.9%~98.4%之间，其中所有样品，只有一个实验室在地表水低浓度加标回收率在 73.9%，其余均在 80%以上，EPA 8000 系列标准要求基体加标的回收率应控制在 70%~130%。本标准完全能满足要求。根据 EPA 的要求及标准的验证数据，确定每 20 个样品或每批次（少于 20 个）应进行一个空白加标样和基体加标样的分析，基体加标回收率应控制在 70%~120%。

6 方法验证

6.1 方法验证方案

6.1.1 验证单位及验证人员

表 25 列出了参与方法验证的实验室、验证人员的基本情况。

表25 参与方法验证的实验室、验证人员的基本情况

编号	验证单位	验证人员	验证人员 职称	参加分析 工作年限
1	山东省环境监测中心站	郭文建	工程师	3
2	农业部农产品质量安全监督检验 测试中心（青岛）	张荣	高级工程师	20
3	青岛市华测检测技术有限公司	阎蕾	工程师	9
		杨杰	助理工程师	2
		邢燕燕	工程师	7
4	辽宁北方环境检测技术有限公司	许闻浩	实验分析师	9
5	威海市环境保护监测站	褚琳琳	助理工程师	3
		王桦林	助理工程师	4
6	国家城市供水水质监测网青岛监 测站	杨泽芳	高级工程师	23
		潘慧慧	助理工程师	2
		梁玉	助理工程师	1

6.1.2 方法的验证方案

本标准验证过程中样品的富集和建立校准曲线严格按照标准文本中试样制备和校准曲线的建立部分的要求进行。

(1) 方法检出限验证

准确量取 150 ml 空白纯水样置于 7 个 250 ml 锥形瓶中，分别加入 4 mg/ml 的硫代硫酸钠溶液 3 ml，混匀，然后向水样中加入 100 µg/L 联苯胺标准溶液 45 µl（联苯胺浓度为 0.03 µg/L 或 0.01 µg/L），震荡使其充分溶解。然后按样品的富集步骤富集加标的空白水样。

最后用标准曲线计算测定值，计算 7 次测定值的标准偏差 S，方法检出限 MDL=S×3.143。

(2) 精密度和准确度的验证

(a) 地表水（各验证单位可以取当地地表水水样）加标的验证

先取两份 150 ml 地表水水样，然后按照实验步骤进行水样的富集，测定水样中联苯胺的浓度。

各取 150 ml 地表水 6 份，分别加入联苯胺（4.0 ng、40 ng 和 160 ng），水样中联苯胺的浓度为 0.027 µg/L、0.267 µg/L 和 1.06 µg/L，然后按照实验步骤进行水样的富集，测定地表水加标后的浓度。

(b) 生活污水（各验证单位可以取当地的污水处理厂出口废水）

先取两份 150 ml 污水处理厂出口废水水样，然后按照实验步骤进行水样的富集，测定水样中联苯胺的浓度。

各取 150 ml 污水处理厂出口废水 6 份，分别加入联苯胺 40 ng，使水样浓度为 0.267 µg/L，然后按照实验步骤进行水样的富集。

(c) 工业废水

所有验证单位使用的工业废水均来自于青岛某染料生产企业污水处理厂入口的废水，先测定 6 次废水中联苯胺的浓度，如果浓度超出曲线线性范围，应适当的稀释到线性范围内，再平行测定 6 次，然后按照水样的浓度加标联苯胺，加标后联苯胺的浓度为水样浓度 1 倍，然后按照实验步骤进行水样的富集。

6.2 方法验证过程

a) 筛选有资质的 6 个验证单位，向验证单位提供方法草案、验证方案、标准溶液和验证报告格式。验证单位按照方法草案准备实验用品，在规定时间内完成验证实验并反馈验证结果报告。在方法验证前，编制组对参加验证的操作人员进行了培训。提供方法验证过程中所用的试剂和材料、仪器和设备及分析步骤应符合方法相关要求。

b) 验证数据的收集、确认、汇总和统计。

6.3 方法验证结论

(1) 验证过程中 6 个验证实验室未报告异常值的情况。

(2) 6 个实验室对联苯胺的方法检出限进行了测定，联苯胺的方法检出限为 0.006 µg/L，测定下限为 0.024 µg/L。

(3) 6 个实验室对地表水加标联苯胺浓度为 0.027 µg/L、0.267 µg/L、1.07 µg/L 的样品

进行了6次重复测定：实验室内相对标准偏差分别为1.9%~7.2%、1.7%~7.5%和1.7%~6.3%，实验室间相对标准偏差分别为8.8%、5.5%和7.5%，重复性限分别为0.003 μg/L，0.032 μg/L，0.108 μg/L，再现性限分别为0.006 μg/L，0.047 μg/L，0.225 μg/L。

6个实验室分别对加标后含联苯胺浓度为0.267 μg/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%~6.6%；实验室间相对标准偏差为6.6%；重复性限为0.038 μg/L；再现性限为0.057 μg/L。

6个实验室分别对含有联苯胺平均浓度为0.462 μg/L的工业废水样品及加标0.500 μg/L的加标废水样品进行了6次重复测定：实验室内相对标准偏差为1.4%~7.0%和1.1%~5.3%；实验室间相对标准偏差为8.1%和4.5%；重复性限为0.062 μg/L和0.095 μg/L；再现性限为0.118 μg/L和0.145 μg/L。

(4) 6个实验室对地表水加标联苯胺浓度为0.027 μg/L、0.267 μg/L、1.07 μg/L的样品进行了分析测定：加标回收率分别为73.9%~95.1%、80.6%~98.4%和84.0%~97.0%；加标回收率最终值为88.0%±15.8%、88.2%±12.4%和91.0%±10.0%。

6个实验室分别对加标后含联苯胺化合物浓度为0.267 μg/L的生活污水样品进行了分析测定：加标回收率为83.8%~100%；加标回收率最终值为90.3%±11.2%。

6个实验室对含联苯胺平均浓度0.462 μg/L的工业废水样品加标0.500 μg/L进行了分析测定：加标回收率为86.6%~102%；加标回收率最终值为93.7%±10.6%。

(5) 方法各项特性指标达到预期要求。

7 与开题报告的差异说明

本标准进行过两次开题，第一次开题的题目是《水质 联苯胺的测定 气相色谱-质谱法》，本标准目前已完全变更了第一次的技术路线，将气相色谱质谱法改为液相色谱法。主要是由于气相色谱质谱法方法灵敏度达不到地表水环境质量标准的要求，另外由于联苯胺在色谱进样口不稳定，导致方法的精密度差。

本标准与第二次开题的内容完全一致，题目由《水质 联苯胺的测定 液相色谱法》改为《水质 联苯胺的测定 高效液相色谱法》。并进一步实验了悬浮物干扰及消除的方法，进一步开展了具有代表性的染整、染料等工业废水准确度的实验研究。

8 参考文献

- [1] EPA Method 605. Methods for organic chemical analysis of municipal and industrial waste water—benzidiens[S].
- [2] EPA Method 625. Methods for organic chemical analysis of municipal and industrial waste water-base/neutrals and acids[S].
- [3] EPA Method 553. Determination of benzidiens and nitrogen-containing pesticides in water by liquid-liquid extraction of liquid-solid extraction and reverse phase high performance liquid chromatography/particle beam/mass spectrometry[S].

- [4] EPA Method 8270C. Semivolatile organic compounds by gas chromatography /mass spectrometry (GC /MS) [S].
- [5] 申玲玲, 等. UHPLC-MSMS 测定环境水中的联苯胺[J].环境化学, 2013, 32(4): 717-718.
- [6] 王超, 等. 超高压液相色谱荧光检测法快速测定水中痕量苯胺与联苯胺[J]. 分析测试学报, 2013, 32(1): 32-37.
- [7] 叶伟红, 等. 地表水中半挥发性有机物的固相萃取 GC-MS 方法研究[J].中国环境监测, 2010, 26(4): 40-44.
- [8] 温裕云, 等. 地表水中致癌芳香胺的高效液相色谱-串联质谱直接测定方法[J]. 环境化学, 2014, 33(4): 670-675.
- [9] 熊杰, 等.高效液相色谱-串联质谱法同时测定水中丙烯酰胺、苯胺和联苯胺[J]. 分析化学, 2014, 42(1): 93-98.
- [10] 陈勇, 等. 直接进样液相色谱-质谱法测定地表水中的联苯胺[J]. 化学研究与应用, 2013, 25(12): 1742-1745.
- [11]李逸, 等. 自动固相萃取-高效液相色谱法测定地表水中痕量联苯胺[J]. 环境化学,2013, 32(9): 1807-1808.
- [12]杨秋红, 等.固相萃取地表水中痕量联苯胺及 HPLC-MS 测定[J]. 化学研究与应用,2011, 23(1): 102-106.
- [13] 王超, 等. 混合型固相萃取/超高压液相色谱法测定废水中苯胺类化合物. 分析测试学报, 2013, 32(12): 1415-1420.
- [14] 张丽, 等. 固相萃取-高效液相色谱法同时测定饮用水中苯胺和联苯胺[J]. 环境监测管理与技术, 2013, 25(5): 41-43.
- [15] 吕鹏, 等.液相色谱测定地表水中苯胺、联苯胺[J]. 中国西部科技, 2011, 10(19): 10-11.
- [16] 顾海东, 尹燕敏, 秦宏兵. 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定水中的苯胺及联苯胺[J], 环境监控与预警, 2012, 4(1): 24-26
- [17] 何立志, 等. 饮用水源中痕量联苯胺的检测方法[J]. 中国环境监测, 2012, 28(4): 98-100.
- [18] 赵云芝, 等. 液相色谱-串联质谱法测定水中 14 种苯胺类化合物[J]. 色谱, 2015, 33(5): 508-513.
- [19] 张雁, 等.在线固相萃取液质联用法测定饮用水源中的痕量联苯胺[J]. 环境工程学报, 2016, 10(8): 4590-4594.
- [20] 张雁, 等.在线固相萃取-液质联用法测定地下水中痕量苯胺和联苯胺[J]. 分析试验室, 2015, 34(5): 541-544.
- [21]朱丽波, 等.双柱串联-超高效液相色谱-质谱法检测水中的 4 种胺类物质[J]. 分析化学, 2013, 41(4): 594-597.
- [22] 刘浩, 等.超高压液相色谱/质谱联用法测定地表水特定污染物[J]. 环境监测管理与技术, 2014, 26(2): 39-41.
- [23] 王超, 等. 超高压液相色谱荧光检测法快速测定水中痕量苯胺与联苯胺[J]. 分析测试

学报, 2013, 32 (1): 32-37.

[24] 叶伟红, 等. 水中致癌芳香胺的固相萃取-气质分析方法研究[J]. 质谱学报, 2011, 32 (1): 55-60.

[25] 赵峥, 等. 超高效液相色谱-三重四级杆质谱联用对水中 4'4'-二氨基联苯的测定研究[J]. 地下水, 2015, 37 (1): 160-162.

[26] 罗碧容, 等. 高效液相色谱-串联质谱同时测定水中 13 种有机污染物[J]. 色谱, 2015, 33 (7): 740-745.

[27] 易睿, 等. 液液萃取-气相色谱-质谱法同时测定饮用水中的酞酸酯、百菌清和联苯胺[J]. 环境监控与预警, 2014, 6 (2): 21-24.

[28] 朱岩, 等. 梯度淋洗离子色谱-安培检测测定苯胺类化合物[J]. 分析化学, 2002, 30 (7): 774-778.

附一

方法验证报告

方法名称： 水质 联苯胺的测定 高效液相色谱法

项目承担单位： 青岛市环境监测中心站和青岛理工大学

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

项目负责人及职称： 谭丕功 研究员

通讯地址： 青岛市延安一路 39 号

电话： 0532-82869261

报告编写人及职称： 房贤文 工程师

报告日期： 2017 年 8 月

1 原始测试数据

1.1 实验室基本情况

按照《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010)的规定,组织6家有资质的实验室进行对《水质 联苯胺的测定 高效液相色谱法》进行方法验证,其中实验室1为辽宁北方环境检测技术有限公司,实验室2为农业部农产品质量安全监督检验测试中心(青岛),实验室3为青岛市华测检测技术有限公司,实验室4为国家城市供水水质监测网青岛监测站,实验室5山东省环境监测中心站,实验室6为威海市环境保护监测站。

表 1-1 参加验证的人员情况登记表

编号	单位	姓名	性别	年龄	职务或职称	所学专业	工作年限
1	辽宁北方环境检测技术有限公司	许闻浩	男	31	—	生物技术	2008.07
2	农业部农产品质量安全监督检验测试中心(青岛)	张荣	女	42	工程师	分析化学	2003.07.
3	青岛市华测检测技术有限公司	阎蕾	女	35	中级工程师	环境监测	2007.03
		邢燕燕	女	31	中级工程师	化学	2010.07
		杨杰	男	29	助理工程师	农业资源利用	2015.06
		李凯超	男	28	助理工程师	环境工程	2015.02
4	国家城市供水水质监测网青岛监测站	杨泽芳	男	47	高级工程师	工业分析	1994
		潘慧慧	女	29	助理工程师	海洋化学	2015
		梁玉	男	27	助理工程师	物理化学	2017
5	山东省环境监测中心站	郭文建	男	32	工程师	分析化学	2012.07.
6	威海市环境保护监测站	褚琳琳	女	28	科员	物理化学	2014.12
		王桦林	男	29	科员	应用化学	2013.09

表 1-2 使用仪器情况登记表

验证实验室	仪器名称	规格型号	仪器出厂编号	性能状况
辽宁北方环境检测技术有限公司	高效液相色谱仪	岛津 LC-20A	RF-20A (L20494800480)	良好
	有机样品浓缩仪	TurboVap II	TV1348N20187	良好
农业部农产品质量安全监督	液相色谱仪	Waters 2475	A02475-322N	良好

验证实验室	仪器名称	规格型号	仪器出厂编号	性能状况
检验检测中心（青岛）	氮吹仪	OA-SYS 5085	53142	良好
	固相萃取仪	SUPELCO		良好
青岛市华测检测技术有限公司	纯水机	VPK-2-40L	TTE20150979	良好
	液相色谱仪	LC-20AT	TTE20160881	良好
	氮吹仪	DCY-125D	ATTELQD00015	良好
国家城市供水水质监测网青岛监测站	液相色谱仪	Agilent 1290	DEBAN01441-DEAB V00667	良好
山东省环境监测中心站	液相色谱仪	Agilent1260	Y00089	良好
	氮吹仪	Biotage		良好
	固相萃取仪	SUPELCO		良好
威海市环境保护监测站	液相色谱仪	LC-20AT	228-45001-38	良好
	氮吹仪	OA-SYS	53263	良好
	纯水机	Milli-Q	F2pa02599BC	良好
	固相萃取仪	SUPELCO		良好

表 1-3 使用试剂及溶剂登记表

名称	厂家、规格	纯化处理方法	备注
乙腈	Dikmapure, 4 L	色谱纯	辽宁北方环境检测技术有限公司
甲醇	Dikmapure, 4 L	色谱纯	
乙酸铵	国药集团化学试剂有限公司, 500 g	优级纯	
冰乙酸	国药集团化学试剂有限公司, 500 ml	分析纯	
硫代硫酸钠	国药集团化学试剂有限公司, 500 g	分析纯	
氨水	天津富宇精细化工有限公司, 500 ml	优级纯	
乙腈	Fisher Chemical, 4 L	色谱纯	农业部农产品质量安全监督检验测试中心（青岛）
乙酸铵	ROE SCIENTIFIC, 500 g	色谱纯	
甲醇	TEDIA, 4 L	色谱纯	

名称	厂家、规格	纯化处理方法	备注
冰乙酸	天津博迪化工股份有限公司, 500 ml	分析纯	
硫代硫酸钠	济南试剂总厂, 500 g	分析纯	
超纯水	广州屈臣氏食品饮料有限公司, 4 L		
乙腈	Fisher Chemical, 4 L	色谱纯	青岛市华测检测技术有限公司
甲醇	韩国德山药业, 4 L	色谱纯	
硫代硫酸钠	天津博迪化工股份有限公司	分析纯	
乙酸	国药集团化学试剂有限公司	分析纯	
氨水	天津市科密欧化学试剂有限公司	优级纯	
乙酸铵	天津市科密欧化学试剂有限公司	优级纯	国家城市供水水质监测网青岛监测站
甲醇	美国恩科化学, 4 L	色谱纯	
乙腈	美国天地有限公司, 4 L	色谱纯	
乙酸铵	天津市科密欧化学试剂有限公司	优级纯	
氨水	国药化学试剂有限公司	分析纯	
硫代硫酸钠	天津市恒兴化学试剂有限公司	分析纯	山东省环境监测中心站
乙酸	南京化学试剂一厂, 500 ml,	分析纯	
乙腈	Fisher Chemical, 4 L	色谱纯	
乙酸铵	ROE SCIENTIFIC, 500 g	色谱纯	
甲醇	默克, 4 L	色谱纯	
冰乙酸	天津博迪化工股份有限公司, 500 ml	分析纯	威海市环境保护监测站
硫代硫酸钠	济南试剂总厂, 500 g	分析纯	
乙腈	TEDIA, 4 L	色谱纯	
甲醇	百灵威化学, 4 L	色谱纯	
乙酸铵	科密欧试剂, 500 g	分析纯	
冰乙酸	天津博迪化工, 500 ml	分析纯	
硫代硫酸钠	济南试剂总厂, 500 g	分析纯	

1.2 方法检出限、测定下限测试数据

表 1-4 检出限、测定下限测试数据表

验证单位：辽宁北方环境检测技术有限公司

测试日期：2017-05

平行样品编号		联苯胺测定结果
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	0.027
	2	0.026
	3	0.027
	4	0.028
	5	0.027
	6	0.024
	7	0.025
平均值 \bar{x}_1 ($\mu\text{g/L}$)		0.026
标准偏差 S_1 ($\mu\text{g/L}$)		0.0014
t 值		3.143
方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)		0.005
测定下限 ($\mu\text{g/L}$)		0.020
平均值/检出限		6.1

表 1-5 检出限、测定下限测试数据表

验证单位：农业部农产品质量安全监督检验测试中心(青岛)

测试日期：2017-02

平行样品编号		联苯胺测定结果
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	0.025
	2	0.022
	3	0.024
	4	0.021
	5	0.020

平行样品编号		联苯胺测定结果
	6	0.022
	7	0.023
平均值 \bar{x}_2 ($\mu\text{g/L}$)		0.022
标准偏差 S_2 ($\mu\text{g/L}$)		0.0017
t 值		3.143
方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)		0.006
测定下限 ($\mu\text{g/L}$)		0.024
平均值/检出限		4.2

表 1-6 检出限、测定下限测试数据表

验证单位：青岛市华测检测技术有限公司

测试日期： 2017-03

平行样品编号		联苯胺测定结果
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	0.028
	2	0.024
	3	0.027
	4	0.024
	5	0.024
	6	0.028
	7	0.027
平均值 \bar{x}_3 ($\mu\text{g/L}$)		0.026
标准偏差 S_3 ($\mu\text{g/L}$)		0.0017
t 值		3.143
方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)		0.006
测定下限 ($\mu\text{g/L}$)		0.024
平均值/检出限		4.9

表 1-7 检出限、测定下限测试数据表

验证单位：国家城市供水水质监测网青岛监测站

测试日期： 2017-06

平行样品编号		联苯胺测定结果
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	0.027
	2	0.029
	3	0.029
	4	0.025
	5	0.025
	6	0.026
	7	0.025
平均值 \bar{x}_4 ($\mu\text{g/L}$)		0.027
标准偏差 S_4 ($\mu\text{g/L}$)		0.0018
t 值		3.143
方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)		0.006
测定下限 ($\mu\text{g/L}$)		0.024
平均值/检出限		4.7

表 1-8 检出限、测定下限测试数据表

验证单位：山东省环境监测中心站

测试日期： 2017-04

平行样品编号		联苯胺测定结果
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	0.018
	2	0.018
	3	0.021
	4	0.019
	5	0.019

	6	0.017
	7	0.019
平均值 \bar{x}_5 ($\mu\text{g/L}$)		0.019
标准偏差 S_5 ($\mu\text{g/L}$)		0.0012
t 值		3.143
方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)		0.004
测定下限 ($\mu\text{g/L}$)		0.016
平均值/检出限		4.8

表 1-9 检出限、测定下限测试数据表

验证单位：威海市环境保护监测站

测试日期：2017-05

平行样品编号	联苯胺测定结果	
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	0.018
	2	0.020
	3	0.018
	4	0.018
	5	0.016
	6	0.017
	7	0.016
平均值 \bar{x}_6 ($\mu\text{g/L}$)		0.018
标准偏差 S_6 ($\mu\text{g/L}$)		0.0014
t 值		3.143
方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)		0.005
测定下限 ($\mu\text{g/L}$)		0.020
平均值/检出限		4.0

1.3 方法精密度测试数据

6个实验室对地表水、生活污水和工业废水3种水质加标样品进行精密度测试。3种水质样品加标6次重复测定的平均值、标准偏差、相对标准偏差结果见表1-10~表1-15。

表1-10 联苯胺实际样品精密度测试数据表

验证单位：辽宁北方环境检测技术有限公司

测试日期：2017-05

平行样品编号		地表水			生活污水	工业废水	
		0.027 µg/L	0.267 µg/L	1.07 µg/L	0.267 µg/L	0.514 µg/L	0.991 µg/L
测定结果 (µg/L)	1	0.026	0.243	0.959	0.253	0.502	0.959
	2	0.025	0.222	0.928	0.257	0.491	0.942
	3	0.022	0.228	0.999	0.278	0.555	1.05
	4	0.025	0.232	0.905	0.255	0.543	0.933
	5	0.027	0.243	0.951	0.282	0.503	1.02
	6	0.027	0.229	0.973	0.292	0.488	1.04
平均值 \bar{x}_i (µg/L)		0.025	0.233	0.953	0.270	0.514	0.991
标准偏差 S_i (µg/L)		0.002	0.009	0.033	0.017	0.028	0.052
RSD (%)		7.2	3.7	3.5	6.1	5.5	5.2
注：地表水为沈阳市小河流域水样，生活污水为塑料生产企业污水出口污水							

表1-11 联苯胺实际样品精密度测试数据表

验证单位：农业部农产品质量安全监督检验测试中心(青岛)

测试日期：2017-02

平行样品编号		地表水			生活污水	工业废水	
		0.027 µg/L	0.267 µg/L	1.07 µg/L	0.267 µg/L	0.464 µg/L	0.916 µg/L
测定结果 (µg/L)	1	0.024	0.241	0.934	0.227	0.471	0.970
	2	0.025	0.224	0.890	0.236	0.468	0.885
	3	0.025	0.242	0.846	0.224	0.469	0.903
	4	0.025	0.269	0.913	0.246	0.455	0.898
	5	0.025	0.245	0.912	0.232	0.452	0.914

平行样品编号		地表水			生活污水	工业废水	
		0.027 µg/L	0.267 µg/L	1.07 µg/L	0.267 µg/L	0.464 µg/L	0.916 µg/L
	6	0.025	0.237	0.898	0.224	0.471	0.925
平均值 \bar{x}_2 (µg/L)		0.025	0.243	0.899	0.232	0.464	0.916
标准偏差 S_2 (µg/L)		0.001	0.015	0.030	0.009	0.009	0.030
RSD (%)		2.5	6.1	3.3	3.7	1.8	3.3

注：地表水为崂山水库水样，生活污水为青岛海泊河污水处理厂出口污水

表 1-12 联苯胺实际样品精密度测试数据表

验证单位：青岛市华测检测技术有限公司

测试日期：2017-03

平行样品编号		地表水			生活污水	工业废水	
		0.027 µg/L	0.267 µg/L	1.07 µg/L	0.267 µg/L	0.442 µg/L	0.923 µg/L
测定结果 (µg/L)	1	0.022	0.217	1.05	0.249	0.445	0.844
	2	0.022	0.221	1.04	0.229	0.443	0.954
	3	0.023	0.231	1.02	0.218	0.421	0.925
	4	0.022	0.226	1.06	0.215	0.457	1.02
	5	0.022	0.223	1.02	0.218	0.400	0.973
	6	0.023	0.226	1.02	0.217	0.484	0.919
平均值 \bar{x}_3 (µg/L)		0.022	0.224	1.04	0.224	0.442	0.923
标准偏差 S_3 (µg/L)		0.0004	0.005	0.018	0.013	0.029	0.049
RSD (%)		1.9	2.2	1.7	5.8	6.6	5.3

注：地表水为烟台市罗家屯河水样，生活污水为威海市张村镇污水处理厂出口污水

表 1-13 联苯胺实际样品精密度测试数据表

验证单位：国家城市供水水质监测网青岛监测站

测试日期：2017-06

平行样品编号		地表水			生活污水	工业废水	
		0.027 µg/L	0.267 µg/L	1.07 µg/L	0.267 µg/L	0.449 µg/L	0.959 µg/L
测定结果	1	0.024	0.230	0.940	0.232	0.447	0.954

平行样品编号		地表水			生活污水	工业废水	
		0.027 µg/L	0.267 µg/L	1.07 µg/L	0.267 µg/L	0.449 µg/L	0.959 µg/L
(µg/L)	2	0.025	0.235	0.940	0.245	0.432	0.975
	3	0.025	0.233	0.920	0.271	0.500	0.966
	4	0.024	0.240	1.03	0.262	0.428	0.961
	5	0.025	0.232	1.00	0.238	0.415	0.944
	6	0.026	0.239	0.990	0.240	0.470	0.955
平均值 \bar{x}_4 (µg/L)		0.025	0.235	0.970	0.248	0.449	0.959
标准偏差 S_4 (µg/L)		0.0006	0.004	0.043	0.015	0.031	0.011
RSD (%)		2.4	1.7	4.4	6.1	7.0	1.1
注：地表水为崂山水库水样，生活污水为青岛海泊河污水处理厂出口污水							

表 1-14 联苯胺实际样品精密度测试数据表

验证单位：山东省环境监测中心站

测试日期：2017-04

平行样品编号		地表水			生活污水	工业废水	
		0.027 µg/L	0.267 µg/L	1.07 µg/L	0.267 µg/L	0.409 µg/L	0.868 µg/L
测定结果 (µg/L)	1	0.019	0.263	1.02	0.226	0.412	0.893
	2	0.021	0.239	1.09	0.252	0.423	0.848
	3	0.022	0.295	1.10	0.243	0.391	0.872
	4	0.019	0.245	0.920	0.232	0.398	0.859
	5	0.020	0.265	1.04	0.271	0.404	0.843
	6	0.019	0.269	1.06	0.238	0.428	0.891
平均值 \bar{x}_5 (µg/L)		0.020	0.263	1.04	0.244	0.409	0.868
标准偏差 S_5 (µg/L)		0.001	0.020	0.065	0.016	0.014	0.021
RSD (%)		6.3	7.5	6.3	6.6	3.5	2.5
注：地表水为山东省环保厅附近地表水，生活污水为济南光大水务一场处理口出口污水							

表 1-15 联苯胺实际样品精密度测试数据表

验证单位：威海市环境保护监测站

测试日期：2017-05

平行样品编号		地表水			生活污水	工业废水	
		0.027 µg/L	0.267 µg/L	1.07 µg/L	0.267 µg/L	0.491 µg/L	0.924 µg/L
测定结果 (µg/L)	1	0.023	0.243	0.869	0.251	0.480	0.922
	2	0.024	0.233	0.843	0.231	0.492	0.913
	3	0.023	0.224	0.847	0.232	0.493	0.917
	4	0.023	0.239	0.903	0.231	0.488	0.961
	5	0.024	0.238	0.851	0.232	0.496	0.919
	6	0.025	0.242	0.866	0.241	0.499	0.913
平均值 \bar{x}_6 (µg/L)		0.024	0.237	0.863	0.236	0.491	0.924
标准偏差 S_6 (µg/L)		0.001	0.007	0.022	0.008	0.007	0.018
RSD (%)		2.9	3.0	2.6	3.4	1.4	2.0
注：地表水为威海市地表水国控断面水样，生活污水为威海经区污水处理厂出口污水							

1.4 方法准确度测试数据

3 种水质样品方法的准确度测试结果见表 1-16~表 1-21。

表 1-16 联苯胺实际样品准确度测试数据表

验证单位：辽宁北方环境检测技术有限公司

测试日期：2017-05

平行号		地表水				生活污水		工业废水	
		样品	加标样品 1	加标样品 2	加标样品 3	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 (µg/L)	1	ND	0.026	0.243	0.959	0.000	0.253	0.502	0.959
	2	ND	0.025	0.222	0.928	0.000	0.257	0.491	0.942
	3	ND	0.022	0.228	0.999	0.000	0.278	0.555	1.05
	4	ND	0.025	0.232	0.905	0.000	0.255	0.543	0.933
	5	ND	0.027	0.243	0.951	0.000	0.282	0.503	1.02
	6	ND	0.027	0.229	0.973	0.000	0.292	0.488	1.04

平行号	地表水				生活污水		工业废水	
	样品	加标样品 1	加标样品 2	加标样品 3	样品	加标样品	样品	加标样品
平均值 \bar{x}_1 ($\mu\text{g/L}$)	ND	0.025	0.233	0.953	0.000	0.270	0.514	0.991
加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	—	0.027	0.267	1.07	—	0.267	—	0.500
加标回收率 P(%)	—	95.1	87.2	89.0	—	100	—	95.3

表 1-17 联苯胺实际样品准确度测试数据表

验证单位:农业部农产品质量安全监督检验测试中心(青岛)

测试日期: 2017-06

平行号	地表水				生活污水		工业废水		
	样品	加标样品 1	加标样品 2	加标样品 3	样品	加标样品	样品	加标样品	
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	0.024	0.241	0.934	0.000	0.227	0.471	0.970
	2	ND	0.025	0.224	0.890	0.000	0.236	0.468	0.885
	3	ND	0.025	0.242	0.846	0.000	0.224	0.469	0.903
	4	ND	0.025	0.269	0.913	0.000	0.246	0.455	0.898
	5	ND	0.025	0.245	0.912	0.000	0.232	0.452	0.914
	6	ND	0.025	0.237	0.898	0.000	0.224	0.471	0.925
平均值 \bar{x}_2 ($\mu\text{g/L}$)	ND	0.025	0.243	0.899	0.000	0.232	0.464	0.916	
加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	—	0.027	0.267	1.07	—	0.267	—	0.500	
加标回收率 P(%)	—	93.0	91.0	84.0	—	86.7	—	90.4	

表 1-18 联苯胺实际样品准确度测试数据表

验证单位:青岛市华测检测技术有限公司

测试日期: 2017-05

平行号	地表水				生活污水		工业废水		
	样品	加标样品 1	加标样品 2	加标样品 3	样品	加标样品	样品	加标样品	
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	0.022	0.217	1.05	0.000	0.249	0.445	0.844
	2	ND	0.022	0.221	1.04	0.000	0.229	0.443	0.954
	3	ND	0.023	0.231	1.02	0.000	0.218	0.421	0.925
	4	ND	0.022	0.226	1.06	0.000	0.215	0.457	1.02

平行号		地表水				生活污水		工业废水	
		样品	加标样品 1	加标样品 2	加标样品 3	样品	加标样品	样品	加标样品
	5	ND	0.022	0.223	1.02	0.000	0.218	0.400	0.973
	6	ND	0.023	0.226	1.02	0.000	0.217	0.484	0.919
平均值 \bar{x}_3 (μg/L)		ND	0.022	0.224	1.04	0.000	0.224	0.442	0.923
加标浓度 (μg/L)		—	0.027	0.267	1.07	—	0.267	—	0.500
加标回收率 P(%)		—	84.1	83.9	96.7	—	83.8	—	96.2

表 1-19 联苯胺实际样品准确度测试数据表

验证单位：国家城市供水水质监测网青岛监测站

测试日期：2017-06

平行号		地表水				生活污水		工业废水	
		样品	加标样品 1	加标样品 2	加标样品 3	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 (μg/L)	1	ND	0.024	0.230	0.940	0.000	0.232	0.447	0.954
	2	ND	0.025	0.235	0.940	0.000	0.245	0.432	0.975
	3	ND	0.025	0.233	0.920	0.000	0.271	0.500	0.966
	4	ND	0.024	0.240	1.03	0.000	0.262	0.428	0.961
	5	ND	0.025	0.232	1.00	0.000	0.238	0.415	0.944
	6	ND	0.026	0.239	0.990	0.000	0.240	0.470	0.955
平均值 \bar{x}_4 (μg/L)		ND	0.025	0.235	0.970	0.000	0.248	0.449	0.959
加标浓度 (μg/L)		—	0.027	0.267	1.07	—	0.267	—	0.500
加标回收率 P(%)		—	92.8	88.0	90.7	—	91.5	—	102

表 1-20 联苯胺实际样品准确度测试数据表

验证单位：山东省环境监测中心站

测试日期：2017-06

平行号		地表水				生活污水		工业废水	
		样品	加标样品 1	加标样品 2	加标样品 3	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 (μg/L)	1	ND	0.019	0.263	1.02	0.000	0.226	0.412	0.893
	2	ND	0.021	0.239	1.09	0.000	0.252	0.423	0.848

平行号		地表水				生活污水		工业废水	
		样品	加标样品 1	加标样品 2	加标样品 3	样品	加标样品	样品	加标样品
	3	ND	0.022	0.295	1.10	0.000	0.243	0.391	0.872
	4	ND	0.019	0.245	0.920	0.000	0.232	0.398	0.859
	5	ND	0.020	0.265	1.04	0.000	0.271	0.404	0.843
	6	ND	0.019	0.269	1.06	0.000	0.238	0.428	0.891
平均值 \bar{x}_5 ($\mu\text{g/L}$)		ND	0.020	0.263	1.04	0.000	0.244	0.409	0.868
加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)		—	0.027	0.267	1.07	—	0.267	—	0.500
加标回收率 P(%)		—	73.9	98.4	97.0	—	91.3	—	91.7

表 1-21 联苯胺实际样品准确度测试数据表

验证单位：威海市环境保护监测站

测试日期：2017-05

平行号		地表水				生活污水		工业废水	
		样品	加标样品 1	加标样品 2	加标样品 3	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	ND	0.023	0.243	0.869	0.000	0.251	0.480	0.922
	2	ND	0.024	0.233	0.843	0.000	0.231	0.492	0.913
	3	ND	0.023	0.224	0.847	0.000	0.232	0.493	0.917
	4	ND	0.023	0.239	0.903	0.000	0.231	0.488	0.961
	5	ND	0.024	0.238	0.851	0.000	0.232	0.496	0.919
	6	ND	0.025	0.242	0.866	0.000	0.241	0.499	0.913
平均值 \bar{x}_6 ($\mu\text{g/L}$)		ND	0.024	0.237	0.863	0.000	0.236	0.491	0.924
加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)		—	0.027	0.267	1.07	—	0.267	—	0.500
加标回收率 P(%)		—	89.3	80.6	88.7	—	88.5	—	86.6

2 方法验证数据汇总

2.1 方法检测限、测定下限汇总

表 2-1 方法检出限、测定下限汇总表

实验室号	检出限 (μg/L)	测定下限 (μg/L)
1	0.005	0.020
2	0.006	0.024
3	0.006	0.024
4	0.006	0.024
5	0.004	0.016
6	0.005	0.020
本实验室	0.002	0.008
最终结果	0.006	0.024

6 个验证实验室和本实验室分别对 7 个空白加标样品进行测定，联苯胺的方法检出限均为 0.006 μg/L，测定下限均为 0.024 μg/L。

2.2 方法精密度数据汇总

表 2-2 地表水加标的方法精密度测试数据汇总表

实验室号	0.027 μg/L			0.267 μg/L			1.07 μg/L		
	\bar{x}_i (μg/L)	S_i (μg/L)	RSD_i (%)	\bar{x}_i (μg/L)	S_i (μg/L)	RSD_i (%)	\bar{x}_i (μg/L)	S_i (μg/L)	RSD_i (%)
1	0.025	0.002	7.2	0.233	0.009	3.7	0.953	0.033	3.5
2	0.025	0.001	2.5	0.243	0.015	6.1	0.899	0.030	3.3
3	0.022	0.0004	1.9	0.224	0.005	2.2	1.04	0.018	1.7
4	0.025	0.0006	2.4	0.235	0.004	1.7	0.970	0.043	4.4
5	0.020	0.001	6.3	0.263	0.020	7.5	1.04	0.065	6.3
6	0.024	0.001	2.9	0.237	0.007	3.0	0.863	0.022	2.6
\bar{x} (μg/L)	0.024			0.239			0.961		
S' (μg/L)	0.002			0.013			0.072		

实验室号	0.027 $\mu\text{g/L}$			0.267 $\mu\text{g/L}$			1.07 $\mu\text{g/L}$		
	\bar{x}_i ($\mu\text{g/L}$)	S_i ($\mu\text{g/L}$)	RSD_i (%)	\bar{x}_i ($\mu\text{g/L}$)	S_i ($\mu\text{g/L}$)	RSD_i (%)	\bar{x}_i ($\mu\text{g/L}$)	S_i ($\mu\text{g/L}$)	RSD_i (%)
RSD' (%)	8.8			5.5			7.5		
重复性限 r ($\mu\text{g/L}$)	0.003			0.032			0.108		
再现性限 R ($\mu\text{g/L}$)	0.006			0.047			0.225		

6个实验室分别对含联苯胺化合物浓度为 0.027 $\mu\text{g/L}$ 、0.267 $\mu\text{g/L}$ 、1.07 $\mu\text{g/L}$ 的地表水样品进行了精密度的测定，实验室内相对标准偏差为：1.9%~7.2%，1.7%~7.5%，1.7%~6.3%，实验室间相对标准偏差分别为：8.8%，5.5%，7.5%，重复性限 r 分别为：0.003 $\mu\text{g/L}$ ，0.032 $\mu\text{g/L}$ ，0.108 $\mu\text{g/L}$ ，再现性限 R 分别为：0.006 $\mu\text{g/L}$ ，0.047 $\mu\text{g/L}$ ，0.225 $\mu\text{g/L}$ 。

表 2-3 实际样品的方法精密度测试数据汇总表

实验室号	生活污水加标 0.267 $\mu\text{g/L}$			工业废水样品			工业废水加标 0.500 $\mu\text{g/L}$		
	\bar{x}_i ($\mu\text{g/L}$)	S_i ($\mu\text{g/L}$)	RSD_i (%)	\bar{x}_i ($\mu\text{g/L}$)	S_i ($\mu\text{g/L}$)	RSD_i (%)	\bar{x}_i ($\mu\text{g/L}$)	S_i ($\mu\text{g/L}$)	RSD_i (%)
1	0.270	0.017	6.1	0.514	0.028	5.5	0.991	0.052	5.2
2	0.232	0.009	3.7	0.464	0.009	1.8	0.916	0.030	3.3
3	0.224	0.013	5.8	0.442	0.029	6.6	0.923	0.049	5.3
4	0.248	0.015	6.1	0.449	0.031	7.0	0.959	0.011	1.1
5	0.244	0.016	6.6	0.409	0.014	3.5	0.868	0.021	2.5
6	0.236	0.008	3.4	0.491	0.007	1.4	0.924	0.018	2.0
\bar{x} ($\mu\text{g/L}$)	0.242			0.462			0.930		
S' ($\mu\text{g/L}$)	0.016			0.037			0.042		
RSD' (%)	6.6			8.1			4.5		
重复性限 r ($\mu\text{g/L}$)	0.038			0.062			0.095		
再现性限 R ($\mu\text{g/L}$)	0.057			0.118			0.145		

6个实验室分别对加标后含联苯胺化合物浓度为 0.267 $\mu\text{g/L}$ 的生活污水样品进行了精密度的测定：联苯胺的实验室内相对标准偏差为：3.4%~6.6%；实验室间相对标准偏差为：6.6%；重复性限 r 为：0.038 $\mu\text{g/L}$ ；再现性限 R 为：0.057 $\mu\text{g/L}$ 。

6个实验室分别对含有联苯胺浓度为 0.462 $\mu\text{g/L}$ 的工业废水样品进行了精密度的测定，实验室内相对标准偏差为：1.4%~7.0%，实验室间相对标准偏差为：8.1%，重复性限 r 为：

0.062 μg/L，再现性限 R 为：0.118 μg/L。

6 个实验室分别对含有联苯胺浓度为 0.460 μg/L 的工业废水样品分别加标 0.500 μg/L 进行了精密度的测定，实验室内相对标准偏差为：1.1%~5.3%，实验室间相对标准偏差为：4.5%，重复性限 r 为：0.095 μg/L，再现性限 R 为：0.145 μg/L。

2.3 方法准确度数据汇总

表 2-4 实际样品加标测试数据汇总表

实验室号	地表水			生活污水	工业废水
	0.027 μg/L P_i (%)	0.267 μg/L P_i (%)	1.07 μg/L P_i (%)	0.267 μg/L P_i (%)	0.500 μg/L P_i (%)
1	95.1	87.2	89.0	100	95.3
2	93.0	91.0	84.0	86.7	90.4
3	84.1	83.9	96.7	83.8	96.2
4	92.8	88.0	90.7	91.5	102
5	73.9	98.4	97.0	91.3	91.7
6	89.3	80.6	88.7	88.5	86.6
\bar{P} (%)	88.0	88.2	91.0	90.3	93.7
$S_{\bar{P}}$ (%)	7.9	6.2	5.0	5.6	5.3
$\bar{P} \pm 2S_{\bar{P}}$ (%)	88.0±15.8	88.2±12.4	91.0±10.0	90.3±11.2	93.7±10.6

地表水样品加标浓度为 0.027 μg/L、0.267 μg/L、1.07 μg/L 时，6 个实验室联苯胺化合物的加标回收率范围分别为：73.9%~95.1%，80.6%~98.4%，84.0%~97.0%；平均加标回收率范围分别为：88.0%~91.0%。生活污水加标浓度为 0.267 μg/L 时，6 个实验室联苯胺化合物的加标回收率范围分别为：83.8%~100%，平均加标回收率为：90.3%。对含联苯胺 0.460 μg/L 的工业废水加标浓度为 0.500 μg/L 时，6 个实验室联苯胺的加标回收率范围分别为：86.6%~102%，平均加标回收率为：93.7%。

3 方法验证结论

验证过程中 6 家验证实验室未报告异常值的情况。

6 家验证实验室和本实验室分别对 7 个空白加标样品进行测定，联苯胺的方法检出限为 0.006 μg/L，测定下限均为 0.024 μg/L。

6 个实验室对地表水加标联苯胺浓度为 0.027 μg/L、0.267 μg/L 和 1.07 μg/L 的样品进行了 6 次重复测定：实验室内相对标准偏差分别为 1.9%~7.2%、1.7%~7.5%和 1.7%~6.3%；

实验室间相对标准偏差分别为 8.8%、5.5%和 7.5%；重复性限分别为 0.003 $\mu\text{g/L}$ 、0.032 $\mu\text{g/L}$ 和 0.108 $\mu\text{g/L}$ ；再现性限分别为 0.006 $\mu\text{g/L}$ 、0.047 $\mu\text{g/L}$ 和 0.225 $\mu\text{g/L}$ 。

6 个实验室分别对加标后含联苯胺浓度为 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%~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 个实验室分别对含有联苯胺平均浓度为 0.462 $\mu\text{g/L}$ 的工业废水样品进行了精密度的测定：实验室内相对标准偏差为 1.4%~7.0%；实验室间相对标准偏差为 8.1%；重复性限为 0.062 $\mu\text{g/L}$ ；再现性限为 0.118 $\mu\text{g/L}$ 。

6 个实验室对含联苯胺平均浓度 0.460 $\mu\text{g/L}$ 的工业废水样品分别加标 0.500 $\mu\text{g/L}$ 进行了 6 次重复测定：实验室内相对标准偏差为 1.1%~5.3%；实验室间相对标准偏差为 4.5%；重复性限为 0.095 $\mu\text{g/L}$ ；再现性限 R 为 0.145 $\mu\text{g/L}$ 。

6 个实验室对地表水加标联苯胺浓度为 0.027 $\mu\text{g/L}$ 、0.267 $\mu\text{g/L}$ 和 1.07 $\mu\text{g/L}$ 的样品进行了分析测定：加标回收率分别为 73.9%~95.1%、80.6%~98.4%和 84.0%~97.0%；平均加标回收率范围分别为 88.0%~91.0%；加标回收率最终值为平均加标回收率范围分别为 88.0% \pm 15.8%~91.0% \pm 10.0%、88.2% \pm 12.4%和 91.0% \pm 10.0%。

6 个实验室分别对加标后含联苯胺化合物浓度为 0.267 $\mu\text{g/L}$ 的生活污水样品进行了分析测定：加标回收率分别为 83.8%~100%；平均加标回收率为 90.3%；加标回收率最终值为 90.3% \pm 11.2%。

6 个实验室对含联苯胺浓度 0.462 $\mu\text{g/L}$ 的工业废水样品分别加标 0.500 $\mu\text{g/L}$ 进行了加标分析测定：联苯胺的加标回收率分别为 86.6%~102%；平均加标回收率为 93.7%；加标回收率最终值为 93.7% \pm 10.6%。

方法各项特性指标达到预期要求。
