

附件 4

HJ

中华人民共和国国家环境保护标准

HJ □□□-20□□

水质 苯胺类化合物的测定
液液萃取/液相色谱法

Water quality—Determination of aniline and selected derivatives
—Liquid liquid extraction / Liquid chromatography spectrometry

(征求意见稿)

201□-□□-□□发布

201□-□□-□□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 干扰和消除.....	1
5 试剂和材料.....	1
6 仪器和设备.....	2
7 样品.....	2
8 分析步骤.....	3
9 结果计算与表示.....	5
10 精密度和准确度.....	6
11 质量保证和质量控制.....	7
12 废物处理.....	7
附录 A（规范性附录）方法检出限和测定下限.....	8
附录 B（资料性附录）方法的精密度和准确度.....	9

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》，保护环境，保障人体健康，规范水环境中苯胺类化合物的测定方法，制定本标准。

本标准规定了测定水中苯胺类化合物的液液萃取/液相色谱法。

本标准的附录A规范性附录，附录B为资料性附录。

本标准首次发布。

本标准由生态环境部环境监测司和科技标准司组织制订。

本标准起草单位：国家环境分析测试中心。

本标准验证单位：湖南省环境监测中心站、工业和信息化部电子第五研究所、湖北省环境监测中心站、株洲市环境监测中心站、湘潭市环境保护监测站和珠江流域水环境监测中心。

本标准生态环境部20□□年□□月□□日批准。

本标准自20□□年□□月□□日起实施。

本标准由生态环境部解释。

水质 苯胺类化合物的测定 液液萃取/液相色谱法

警告：苯胺类化合物属于有毒有机物，实验中使用的有机溶剂具有较强的挥发性。样品前处理过程应在通风柜中进行，操作时应按规定要求佩戴防护器具，避免接触皮肤和衣物。

1 适用范围

本标准规定了测定水中苯胺类化合物的液液萃取/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苯胺、3-硝基苯胺、4-硝基苯胺、3-氯苯胺、4-氯苯胺、2,4-二硝基苯胺、2,6-二氯-4-硝基苯胺和联苯胺等 8 种苯胺类化合物的测定。

当采样体积为 1.00 L，定容体积为 1.0 ml，进样体积为 5 μ l 时，方法检出限为 0.3 μ g/L~0.7 μ g/L，测定下限为 1.2 μ g/L~2.8 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

在碱性条件（pH 约为 11~12）下，用二氯甲烷萃取水中苯胺类化合物，脱水、浓缩转化溶剂为乙腈，定容后经 C_{18} 液相色谱柱分离，二极管阵列检测器（DAD）或多通道紫外检测器检测，根据保留时间定性，外标法定量。

4 干扰和消除

水中可能有酚类或其他物质干扰测定，碱性条件下萃取。

5 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，实验用水为实验用水。

5.1 乙腈（ CH_3CN ）：液相色谱级。

5.2 甲醇（ CH_3OH ）：液相色谱级。

5.3 二氯甲烷（ CH_2Cl_2 ）：农残级。

5.4 抗坏血酸（ $C_6H_8O_6$ ）。

5.5 苯胺类化合物标准溶液： $\rho=10.0$ mg/ml。

包括苯胺、3-硝基苯胺、4-硝基苯胺、3-氯苯胺、4-氯苯胺、2,4-二硝基苯胺、2,6-二氯-4-硝基苯胺和联苯胺。可用标准物质制备，用乙腈（5.1）溶解，0~4℃避光保存或参照制造商的产品说明。也可使用市售有证标准溶液，保存时间参见标准溶液证书的相关说明。

5.6 氯化钠（NaCl）：使用前 400℃下灼烧 4 h。

5.7 无水硫酸钠（Na₂SO₄）：使用前 400℃下灼烧 4 h。

5.8 苯胺类化合物标准使用液：ρ=1.00 mg/ml。

将苯胺类化合物标准溶液（5.5）用乙腈（5.1）稀释。标准使用液于 0~4℃避光保存，可保存一个月。

5.9 乙酸铵（CH₃COONH₄）-乙酸（CH₃COOH）缓冲溶液：0.01 mol/L。

称取乙酸铵 0.77 g，溶解于 1000 ml 实验用水中，加入 1.0 ml 乙酸，0.22 μm 滤膜（5.12）过滤，使用前配制。

5.10 氢氧化钠溶液：ρ（NaOH）=1.0 mol/L。

称取 40.0 g 氢氧化钠溶于水中，定容至 1000 ml。

5.11 氮气：纯度 ≥99.99%。

5.12 滤膜：0.22 μm（聚四氟乙烯或其他材质等效滤膜）。

6 仪器和设备

6.1 采样瓶：具塞棕色玻璃瓶，≥1 L。

6.2 液相色谱仪：配有二极管阵列检测器（DAD）或多通道紫外检测器。

6.3 色谱柱：填料为十八烷基硅烷键合硅胶（ODS），粒径 3.5 μm，柱长 150 mm，内径 4.6 mm 的反相色谱柱或其他性能相近的色谱柱。

6.4 浓缩装置：氮吹仪或旋转蒸发仪等性能相当的设备。

6.5 分液漏斗：2 L，配聚四氟乙烯活塞。

6.6 一般实验室常用仪器和设备。

7 样品

7.1 样品采集和保存

参照 HJ/T 91 和 HJ/T 164 的相关规定采集和保存样品。用预先洗涤干净、干燥、并提前加入抗坏血酸保护剂（5.4）的棕色玻璃瓶（6.1）采集样品，水样满瓶采集。每升水加入 80 mg 抗坏血酸，于 0~4℃避光保存，可保存 7 d。

7.2 试样的制备

7.2.1 萃取

准确量取样品 1.00 L，转移至分液漏斗（6.5）中。加入 30 g 氯化钠（5.6），用氢氧化钠溶液（5.10）调节 pH 值为 11~12，摇匀水样。加入 60 ml 二氯甲烷（5.3），振摇，放出气体，再振摇萃取 5~10 min，静置 10 min 以上，至有机相与水相充分分离，收集有机相。

重复萃取水相 1~2 次，合并有机相。有机相经适量无水硫酸钠（5.7）脱水，并用少量二氯甲烷（5.3）洗涤无水硫酸钠，收集合并有机相萃取液。

注 1：为避免萃取时出现乳化现象，可在调整 pH 值为碱性后过滤去除水中的颗粒物、悬浮物等，滤膜使用 10 ml 甲醇（5.2）超声萃取后与萃取液合并，若依然发生乳化，则采用搅动、离心、冷冻或用玻璃棉过滤等方法破乳。

注 2：用二氯甲烷萃取时注意放气。

7.2.2 浓缩

将脱水干燥后的萃取液（7.2.1）转移至浓缩瓶，用浓缩装置（6.4）在 35 °C 以下浓缩。当萃取液浓缩至 0.5~1 ml 时，加入 10 ml 乙腈（5.1），继续浓缩至 0.5~1 ml，重复加入乙腈（5.1）并浓缩 1~2 次，确保二氯甲烷充分去除，样品溶液定容 1.0 ml。使用 0.22 μm 滤膜（5.12）过滤后待测。

注 1：浓缩过程中溶剂量不得少于 0.5 ml，否则苯胺损失较大。

注 2：萃取液如果不能及时进行测定，应在 0~4°C 下避光保存，可保存 30d。

7.3 空白试样的制备

用实验用水代替样品，按照与试样的制备（7.2）相同的步骤进行实验室空白试样的制备。

8 分析步骤

8.1 色谱分析参考条件

柱温：35 °C。

流动相：甲醇（5.2，A 相），乙酸铵-乙酸缓冲溶液（5.9，B 相），梯度洗脱程序见表 1。

进样体积：5 μl。

检测波长：234 nm、282 nm、360 nm，详见表 2。

流速：0.6 ml/min。

表 1 液相色谱流动相梯度洗脱程序

时间/min	A%	B%
0	30	70
4	30	70
7	50	50
11	50	50
12	90	10
15	90	10
16	30	70
20	30	70

表 2 苯胺类化合物定量波长

目标物	苯胺	4-硝基苯胺	联苯胺	3-硝基苯胺	4-氯苯胺	3-氯苯胺	2,4-二硝基苯胺	2,6-二氯-4-硝基苯胺
检测波长 (nm)	234	360	282	234	234	234	360	360

8.2 仪器性能检查

参照仪器使用说明书,按照规定的时间和频次对液相色谱仪灵敏度和稳定性等性能进行检查,确保仪器处于最佳状态。

8.3 校准

8.3.1 工作曲线的制备

制备至少 5 个浓度点的工作曲线。在 6 个分液漏斗 (6.4) 中分别加入 1.0 L 实验用水,依次加入苯胺类化合物标准使用液 (5.8) 2.00、5.00、10.0、20.0、50.0 和 100 μL , 摇匀水样,依据 (7.2) 步骤制备工作曲线样品。从低浓度到高浓度依次对工作曲线进样分析,分析条件见 8.1。

表 3 工作曲线的制备 (参考浓度)

工作曲线系列	浓度 1	浓度 2	浓度 3	浓度 4	浓度 5	浓度 6
样品浓度/ $\mu\text{g/L}$	2.00	5.00	10.0	20.0	50.0	100
绝对质量/ μg	2.00	5.00	10.0	20.0	50.0	100

8.3.2 工作曲线的建立

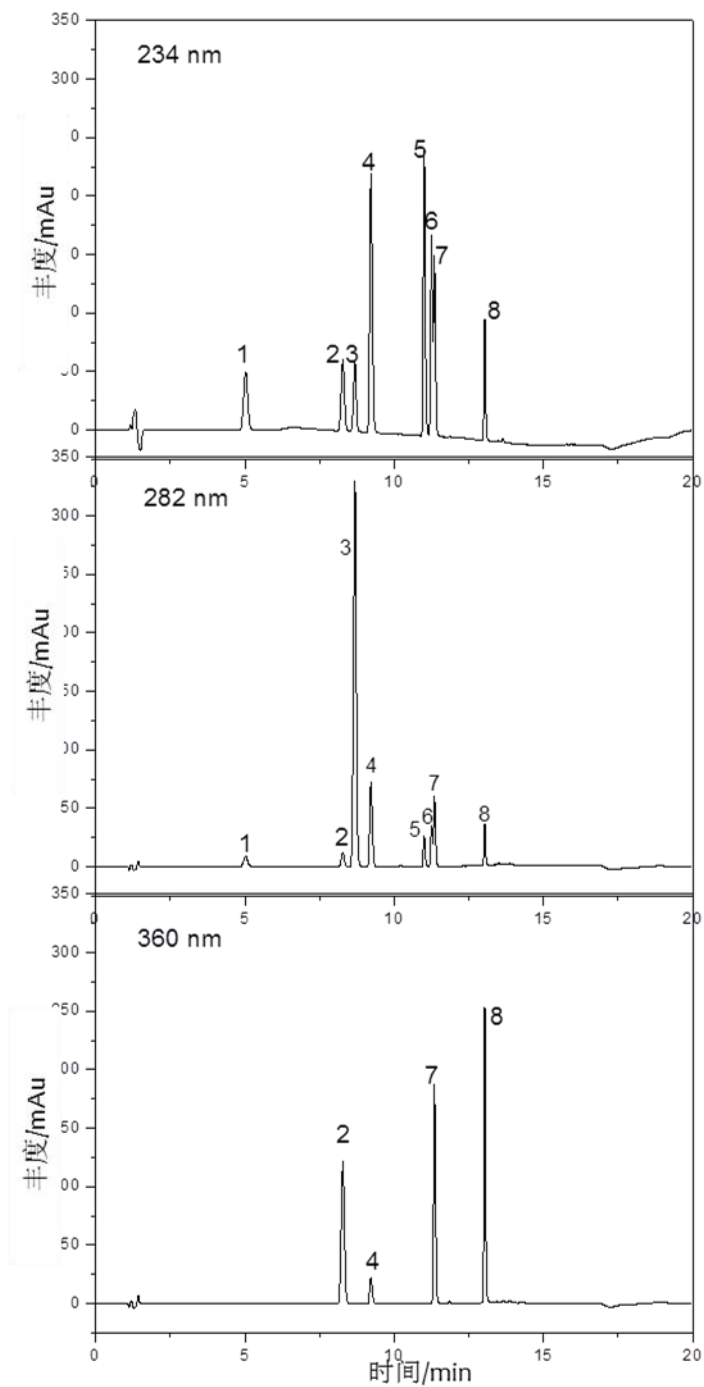
按照仪器分析参考条件 (8.1),由低浓度到高浓度依次进行测定。以工作曲线中目标组分的质量浓度为横坐标,以其对应的峰面积 (或峰高) 为纵坐标,建立工作曲线。苯胺类化合物标准色谱图见图 1。

8.4 试样测定

按照与工作曲线建立 (8.3) 相同的步骤进行试样 (7.2) 的测定。

8.5 空白试验

按照与试样测定 (8.4) 相同的步骤进行 (实验室) 空白试样 (7.3) 的测定。



1—苯胺、2—4-硝基苯胺、3—联苯胺、4—3-硝基苯胺、5—4-氯苯胺、6—3-氯苯胺、7—2,4-二硝基苯胺、8—2,6-二氯-4-硝基苯胺

图 1 苯胺类化合物液相色谱图

9 结果计算与表示

9.1 结果计算

样品中某苯胺类化合物的浓度，按照公式（1）进行计算：

$$C_x = \frac{\rho_x}{V} \times f \quad (1)$$

式中： C_x ——水样中某苯胺类化合物 x 的浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

ρ_x ——目标物定量绝对质量， μg ；

V ——水样体积， ml ；

f ——稀释倍数。

9.2 结果表示

当测定结果小于 $10.0 \mu\text{g/L}$ 时，保留至小数点后一位；当测定结果大于等于 $10.0 \mu\text{g/L}$ 时，保留三位有效数字。

10 精密度和准确度

10.1 精密度

六家实验室对含对苯胺类化合物浓度为 $2.0 \mu\text{g/L}$ 、 $40.0 \mu\text{g/L}$ 和 $80.0 \mu\text{g/L}$ 的统一样品进行了 6 次重复测定。实验室内相对标准偏差分别为 $1.3\% \sim 11.8\%$ 、 $0.7\% \sim 3.4\%$ 、 $0.3\% \sim 4.7\%$ ；实验室间相对标准偏差分别为 $0.3\% \sim 12.5\%$ 、 $0.5\% \sim 7.2\%$ 、 $0.6\% \sim 6.8\%$ ；重复性限为 $0.1 \mu\text{g/L} \sim 0.2 \mu\text{g/L}$ 、 $1.2 \mu\text{g/L} \sim 3.4 \mu\text{g/L}$ 和 $2.9 \mu\text{g/L} \sim 7.3 \mu\text{g/L}$ ；再现性限为 $1.0 \mu\text{g/L} \sim 1.9 \mu\text{g/L}$ 、 $2.1 \mu\text{g/L} \sim 11.3 \mu\text{g/L}$ 、 $5.8 \mu\text{g/L} \sim 12.6 \mu\text{g/L}$ 。精密度结果参见附录 B。

10.2 准确度

六家实验室对地下水、地表水、生活污水和工业废水的实际样品进行了加标分析测定，加标量分别为 $2.0 \mu\text{g/L}$ 、 $40.0 \mu\text{g/L}$ 、 $80.0 \mu\text{g/L}$ 和 $80.0 \mu\text{g/L}$ 。加标回收率分别为 $62.5\% \sim 130\%$ 、 $100\% \sim 107\%$ 、 $93.1\% \sim 102\%$ 和 $95.8\% \sim 106\%$ 。加标回收率最终值为： $63.4\% \pm 46.9\% \sim 121\% \pm 41.0\%$ 、 $99.5\% \pm 9.2\% \sim 106\% \pm 10.7\%$ 、 $92.2\% \pm 5.0\% \sim 101\% \pm 6.0\%$ 。准确度结果参见附录 B。

11 质量保证和质量控制

11.1 每批样品（不多于 20 个样品/批）应至少做一个实验室空白实验，所有空白测试结果中的目标化合物浓度应小于方法检出限。

11.2 工作曲线的相关系数应 ≥ 0.990 。每测定 20 个样品测定一个工作曲线中间点浓度的标准溶液，测定值与工作曲线该点浓度的相对误差应 $\leq 20\%$ 。

11.3 每批样品（不多于 20 个样品/批）需分析一个平行样。当测定结果为 10 倍检出限以内（包括 10 倍检出限），测定结果的相对偏差应 $\leq 50\%$ ；当测定结果大于 10 倍检出限，测定结果的相对偏差应 $\leq 30\%$ 。

11.4 每批样品（不多于 20 个样品/批）需分析一个加标样品。当加标量为 10 倍检出限以内（包括 10 倍检出限）时，加标回收率应在 50%~150%之间；当加标量大于 10 倍检出限时，加标回收率应在 70%~130%之间。

12 废物处理

实验中产生的废液应集中收集，并做好相应标识，委托有资质的单位进行处理。

附录 A
(规范性附录)
方法检出限和测定下限

表 A.1 方法检出限和测定下限

单位: $\mu\text{g/L}$

序号	名称	化合物英文全称	CAS 号	方法检出限	测定下限
1	苯胺	Aniline	62-53-3	0.4	1.6
2	3-硝基苯胺	3-Nitroaniline	1817-73-8	0.3	1.2
3	4-氯苯胺	4-Chloroaniline	95-51-2	0.6	2.4
4	3-氯苯胺	3-Chloroaniline	108-42-9	0.4	1.6
5	联苯胺	Benzine	106-40-1	0.3	1.2
6	4-硝基苯胺	4-Nitroaniline	99-29-6	0.3	1.2
7	2,4-二硝基苯胺	2,4-Dinitroaniline	121-87-9	0.4	1.6
8	2,6-二氯-4-硝基苯胺	2,6-Dichloro-4-nitroaniline	3531-19-9	0.4	1.6

附录 B
(资料性附录)
方法的精密度和准确度

表 B.1 精密度汇总表

序号	化合物名称	加标水平/ ($\mu\text{g/L}$)	总均值/ ($\mu\text{g/L}$)	实验室内标准 偏差/(%)	实验室间相对标 准偏差/(%)	重复性限 r /($\mu\text{g/L}$)	再现性限 R /($\mu\text{g/L}$)
1	苯胺	2.0	1.2	0.4~11.7	33	0.15	1.23
		40.0	38.1	0.5~1.9	3.0	1.31	3.43
		80.0	81.1	0.6~2.2	2.6	3.14	6.28
2	3-硝基 苯胺	2.0	2.7	0.3~2.9	17	0.13	1.47
		40.0	38.2	0.5~3.5	4.0	1.87	4.53
		80.0	82.6	0.9~3.2	4.2	4.50	10.2
3	4-氯苯 胺	2.0	2.0	0.7~9.9	16	0.25	0.98
		40.0	40.4	0.4~3.0	2.3	1.60	2.78
		80.0	86.3	0.8~2.8	2.4	4.10	6.04
4	3-氯苯 胺	2.0	2.0	0.9~5.7	21	0.18	1.34
		40.0	39.9	0.6~7.2	4.9	3.41	5.77
		80.0	85.2	0.8~6.8	4.5	7.35	11.2
5	联苯胺	2.0	2.3	1.1~6.2	28	0.18	2.06
		40.0	33.2	1.1~4.3	5.5	2.45	5.50
		80.0	79.1	0.8~3.2	2.9	4.72	6.60
6	4-硝基 苯胺	2.0	2.7	0.3~3.2	16	0.14	1.37
		40.0	37.4	0.7~3.5	2.0	1.75	2.09
		80.0	80.3	0.8~3.1	2.8	4.43	6.48
7	2,4-二硝 基苯胺	2.0	2.8	0.3~3.6	15	0.15	1.27
		40.0	39.0	0.8~4.0	3.4	1.96	3.88
		80.0	82.9	0.8~3.2	3.2	4.57	7.85
8	2,6-二氯 -4-硝基 苯胺	2.0	2.8	0.3~3.9	13	0.20	1.10
		40.0	38.6	0.8~2.6	9.7	1.40	11.3
		80.0	83.1	0.8~3.1	5.1	4.5	12.6

表 B.2 准确度汇总表

序号	化合物名称	加标水平/($\mu\text{g/L}$)	回收率范围/(%)	加标回收率最终值/(%)
1	苯胺	2.0	16.4~113	63.4 \pm 46.9
		40.0	80.2~106	102 \pm 9.6
		80.0	87.7~101	92.2 \pm 5.0
2	3-硝基苯胺	2.0	56.9~148	103 \pm 63.9
		40.0	82.0~107	99.5 \pm 9.2
		80.0	91.1~99.3	96.3 \pm 2.7
3	4-氯苯胺	2.0	94.5~148	118 \pm 42.1
		40.0	92.5~106	99.8 \pm 6.1
		80.0	91.3~99.3	96.3 \pm 3.0
4	3-氯苯胺	2.0	80.0~152	119 \pm 51.1
		40.0	94.3~112	104 \pm 7.5
		80.0	93.5~107	101 \pm 6.0
5	联苯胺	2.0	81.5~123	106 \pm 26.8
		40.0	89.2~126	106 \pm 10.7
		80.0	96.6~106	101 \pm 3.9
6	4-硝基苯胺	2.0	83.0~138	108 \pm 35.5
		40.0	89.5~123	104 \pm 11.3
		80.0	89.4~106	101 \pm 8.7
7	2,4-二硝基苯胺	2.0	98.9~152	121 \pm 41.0
		40.0	94.8~108	102 \pm 6.4
		80.0	94.1~106	99.6 \pm 4.5
8	2,6-二氯-4-硝基苯胺	2.0	96.2~151	121 \pm 39.8
		40.0	94.0~107	101 \pm 6.5
		80.0	94.9~104	100 \pm 3.4