

ICS 03.220
S 90
备案号: 62034-2019

DB21

辽宁省地方标准

DB21/T 3110—2019

水质 丙烯酰胺的测定
高效液相色谱-质谱法

DB21

2019-02-28 发布

2019-03-28 实施

辽宁省市场监督管理局 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则起草。

本标准附录A为资料性附录。

本部分由大连市质量技术监督局提出。

本标准由辽宁省生态环境厅归口。

本标准主要起草单位：大连市生态环境事务服务中心。

本标准主要起草人：付晓燕、李振国、刘景泰、包艳英、徐辉、张倩、李翔宇、苏静、孙鹏、李玉璞、李强。

本标准于2019年2月28日首次发布。



水质 丙烯酰胺的测定 高效液相色谱-质谱法

警告：实验中所使用的甲醇、丙烯酰胺属于有毒有机物，实验操作时应避免接触皮肤和衣物，溶液配制过程应在通风橱内进行。

1 适用范围

本标准规定了测定水中丙烯酰胺的高效液相色谱-质谱法。

本标准适用于饮用水、地表水、地下水、工业废水和生活污水中丙烯酰胺的测定。

当进样体积为10 μl 时，本方法的检出限为0.1 $\mu\text{g/L}$ ，测定范围为0.4 $\mu\text{g/L}$ ~100 $\mu\text{g/L}$ 。

2 规范性引用文件

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

GB/T 5750.2 生活饮用水标准检验方法 水样的采集与保存

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

水样过滤后直接进样，水中丙烯酰胺经液相色谱仪分离后，用串联质谱仪在多反应监测（MRM）条件下测定，根据保留时间和特征离子对定性，内标法定量。

4 试剂

除非另有说明，分析时均使用符合国家标准的优级纯试剂，实验用水为高纯水。

4.1 甲醇（ CH_3OH ），色谱纯。

4.2 甲酸（ HCOOH ）。

4.3 标准溶液

4.3.1 丙烯酰胺标准贮备液： ρ （ $\text{CH}_2=\text{CHCONH}_2$ ）=100.0 mg/L。

购买有证标准溶液，溶剂为水，贮备液在4℃冷藏避光保存或参照制造商的产品说明保存。

4.3.2 丙烯酰胺标准使用液： ρ （ $\text{CH}_2=\text{CHCONH}_2$ ）=1.0 mg/L。

将丙烯酰胺标准贮备溶液（4.3.1）用水稀释至1.0 mg/L，此溶液于4℃冷藏避光保存，可保存10 d。

4.3.3 内标贮备液： ρ （丙烯酰胺- ^{13}C ）=100 mg/L。

购买有证标准溶液。溶剂为水，内标贮备液于4℃冷藏避光保存或参照制造商的产品说明保存。

4.3.4 内标使用液： ρ （丙烯酰胺- ^{13}C ）=1.0 mg/L。

将内标贮备液（4.3.3）用水稀释至1.0 mg/L，内标使用液于4℃冷藏避光保存，可保存10 d。

4.4 滤膜：针式水相过滤器，孔径0.22 μm ，玻璃纤维滤膜、亲水性聚丙烯滤膜或其它等效材质。

4.5 甲酸溶液：1+1000

4.6 氮气：纯度 $\geq 99.9\%$ 。

5 仪器和设备

除非另有说明，分析时均使用符合国家标准A级玻璃量器。

- 5.1 高效液相色谱/质谱仪：配有电喷雾离子化源（ESI），三重四极杆质谱或具有同等功能质谱。
- 5.2 色谱柱：填料为三键键和C₁₈，粒径1.8 μm，柱长50 mm，内径2.1 mm，或其他等效色谱柱。
- 5.3 棕色样品瓶：2.0 ml。
- 5.4 采样瓶：40 ml棕色玻璃瓶，螺旋盖（具聚四氟乙烯涂层的密封垫）。
- 5.5 微量注射器：10 μl、50 μl、100 μl、1 ml。
- 5.6 一般实验室常用仪器和设备。

6 样品

6.1 样品采集与保存

按照GB/T 5750.2、HJ/T 91和HJ/T 164的相关规定进行样品的采集。

采集样品时，向样品瓶（5.4）中加入甲酸40 μl，然后采集样品至满瓶，盖盖摇匀。水样4℃以下冷藏避光保存，48 h内完成分析。

6.2 试样制备

水样恢复至室温，经滤膜（4.4）过滤，取中段过滤后水样1.0 ml，置于棕色样品瓶（5.3）中，加入内标使用液（4.3.4）10.0 μl，混匀待测。

6.3 空白试样的制备

用实验用水代替样品按照试样的制备（6.2）相同操作步骤，制备空白试样。

7 分析步骤

7.1 仪器参考条件

7.1.1 液相色谱仪参考条件

流动相：流动相A为甲醇（4.1），流动相B为甲酸溶液（4.5），线性梯度洗脱程序见表1。

柱温：30℃；

进样体积：10 μl；

流速：0.2 ml/min；

表1 液相色谱流动相线性梯度洗脱程序

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	3	97
1.5	3	97
2.5	90	10
3.5	90	10

4	3	97
6	3	97

7.1.2 质谱仪参考条件

正离子模式 (ESI⁺)，离子化电压：3500 V，离子源温度：120℃，检测方式为多反应监测 (MRM)，具体条件见表2。

注：对于不同质谱仪器，参数可能存在差异，测定前应将质谱参数优化到最佳。

表2 目标化合物的多反应监测条件

目标化合物	检测离子对 (m/z)	驻留时间 (ms)	锥孔电压 (V)	碰撞电压 (V)
丙烯酰胺	71.8→54.9*	30	30	15
	71.8→27.2	30	30	19
丙烯酰胺- ¹³ C	72.9→55.9*	30	30	18

注：带*的为定量离子对

7.2 校准

7.2.1 校准曲线的建立

取一定量丙烯酰胺标准使用液 (4.3.2) 于甲酸 (4.5) 水溶液中，制备6个浓度点的标准系列，丙烯酰胺的质量浓度分别为0.4 μg/L、1.0 μg/L、5.0 μg/L、10.0 μg/L、50.0 μg/L和100 μg/L，每毫升标准系列溶液中加入10.0 μl内标使用液 (4.3.4)，使内标的质量浓度为10.0 μg/L，贮存在棕色样品瓶 (5.3) 中。

将标准系列溶液按浓度由低到高的顺序依次进样，以标准系列溶液中丙烯酰胺的质量浓度为横坐标，丙烯酰胺的峰面积 (或峰高) 与内标物的峰面积 (或峰高) 比值和内标物浓度的乘积为纵坐标，绘制标准曲线。或者按照公式 (1) 和 (2) 计算丙烯酰胺的平均相对响应因子 \overline{RRF} 。

$$RRF_i = \frac{A_i}{A_{is}} \times \frac{\rho_{is}}{\rho_i} \quad (1)$$

$$\overline{RRF} = \frac{\sum_{i=1}^n RRF_i}{n} \quad (2)$$

RRF_i ——标准系列中第 i 点丙烯酰胺的相对响应因子，无量纲；

A_i ——标准系列中第 i 点丙烯酰胺定量离子的峰面积 (或峰高)；

A_{is} ——标准系列中第 i 点丙烯酰胺相对应内标定量离子的峰面积 (或峰高)；

ρ_{is} ——标准系列中内标的浓度，μg/L；

ρ_i ——标准系列中第 i 点丙烯酰胺的质量浓度，μg/L；

\overline{RRF} ——目标物的平均相对响应因子，无量纲；

n——标准系列点数。

7.2.2 标准样品谱图

丙烯酰胺和内标物的总离子流图和质谱图，见图1和图2。

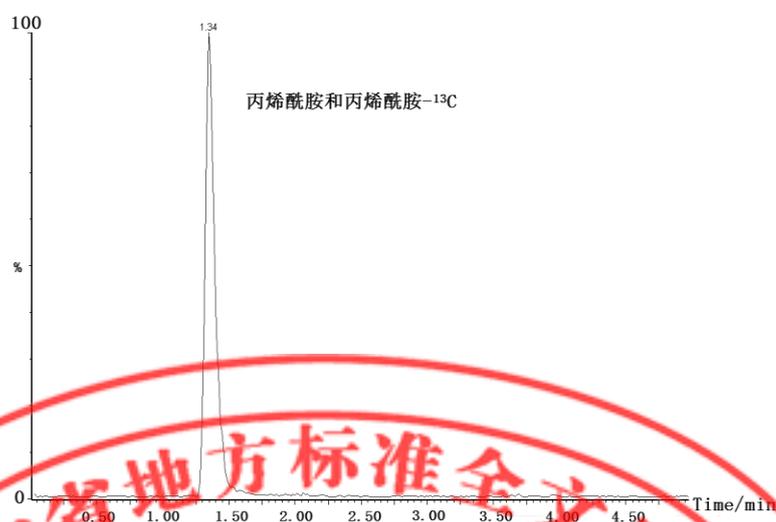


图1 丙烯酰胺和内标物的总离子流图

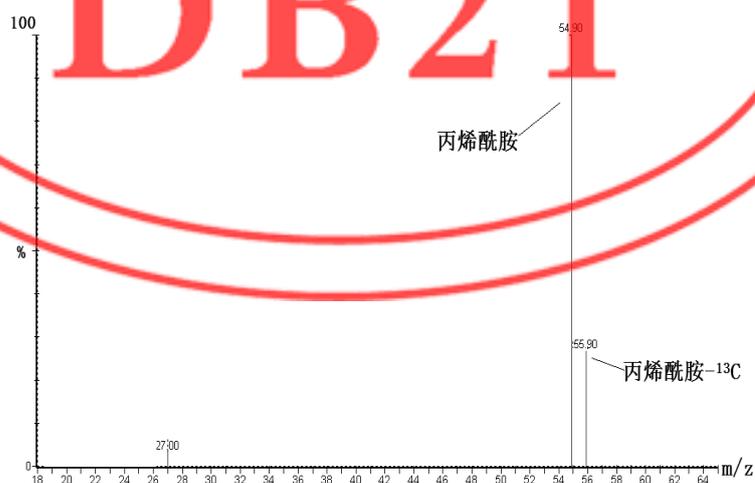


图2 丙烯酰胺和内标物的质谱图

7.3 测定

7.3.1 试样测定

按照与校准曲线的建立（7.2.1）相同的步骤进行试样（6.2）的测定。

注：若样品中丙烯酰胺浓度过高，超出校准曲线范围，应稀释后测定，采用甲酸（4.5）水溶液进行稀释。

7.3.2 空白试验

按照与试样测定（7.3.1）相同的步骤进行空白试样（6.3）的测定。

8 结果计算与表示

8.1 丙烯酰胺的定性分析

按照表2中确定的丙烯酰胺的母离子和子离子进行检测，在相同实验条件下，试样中丙烯酰胺的保留时间与标准样品中丙烯酰胺的保留时间相对偏差的绝对值应小于2.5%；且待测样品中定性离子的相对丰度（ K_{sam} ）与浓度接近的标准溶液中对应的定性离子相对丰度（ K_{std} ）进行比较，所得偏差在表3规定的最大允许偏差范围内，则可判定为样品中存在丙烯酰胺。

$$K_{sam} = \frac{A_2}{A_1} \times 100\% \quad (1)$$

式中： K_{sam} ——样品中丙烯酰胺定性离子的相对丰度，%；

A_2 ——样品中丙烯酰胺定性离子的峰面积（或峰高）；

A_1 ——样品中丙烯酰胺定量离子的峰面积（或峰高）。

$$K_{std} = \frac{A_{std2}}{A_{std1}} \times 100\% \quad (2)$$

式中： K_{std} ——标准样品中丙烯酰胺定性离子的相对丰度，%；

A_{std2} ——标准样品中丙烯酰胺定性离子的峰面积（或峰高）；

A_{std1} ——标准样品中丙烯酰胺定量离子的峰面积（或峰高）。

表3 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

K_{std}	K_{sam} 相对于 K_{std} 的最大允许偏差
$K_{std} > 50$	±20%
$20 < K_{std} \leq 50$	±25%
$10 < K_{std} \leq 20$	±30%
$K_{std} \leq 10$	±50%

8.2 丙烯酰胺的定量分析

丙烯酰胺经定性鉴别后，根据定量离子的峰面积（或峰高），用内标法计算。

8.3 结果计算

8.3.1 标准曲线法

当丙烯酰胺采用标准曲线法进行定量时，样品中丙烯酰胺的质量浓度 ρ_x 按公式（5）计算：

$$\rho_x = \rho_1 \times D \quad (5)$$

式中： ρ_x ——样品中丙烯酰胺的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；
 ρ_1 ——由标准曲线（7.2.1）所得试样中丙烯酰胺的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；
 D ——稀释倍数。

8.3.2 平均相对响应因子法

当丙烯酰胺采用平均相对响应因子法进行定量时，样品中丙烯酰胺的质量浓度 ρ_x 按公式（6）计算。

$$\rho_x = \frac{A_x \times \rho_{is}}{A_{is} \times RRF} \quad (6)$$

式中： ρ_x ——样品中丙烯酰胺的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；
 A_x ——样品中丙烯酰胺的峰面积（或峰高）；
 A_{is} ——样品中内标物的峰面积（或峰高）；
 ρ_{is} ——样品中内标物的浓度， $\mu\text{g/L}$ ；
 \overline{RRF} ——由公式（2）所得目标物的平均相对响应因子，无量纲。

8.4 结果表示

当测定结果小于 $100 \mu\text{g/L}$ 时，保留小数点后 1 位，当测定结果大于等于 $100 \mu\text{g/L}$ 时，保留 3 位有效数字。

9 精密度和准确度

9.1 精密度

3家实验室分别对丙烯酰胺的加标浓度为 $1.0 \mu\text{g/L}$ 、 $10.0 \mu\text{g/L}$ 和 $50.0 \mu\text{g/L}$ 的地表水和加标浓度为 $5.0 \mu\text{g/L}$ 、 $10.0 \mu\text{g/L}$ 和 $90.0 \mu\text{g/L}$ 的污水厂废水进行了 6 次重复测定，地表水实验室内相对标准偏差为 $3.5\% \sim 9.1\%$ ，实验室间相对标准偏差为 $0.2\% \sim 1.3\%$ ，重复性限范围 $0.2 \sim 5.3 \mu\text{g/L}$ ，再现性限范围 $0.2 \sim 5.3 \mu\text{g/L}$ ；废水实验室内相对标准偏差为 $2.7\% \sim 9.7\%$ ，实验室间相对标准偏差为 $0.3\% \sim 1.9\%$ ，重复性限范围 $1.2 \sim 7.1 \mu\text{g/L}$ ，再现性限范围 $1.2 \sim 7.1 \mu\text{g/L}$ ，具体见附录 A 中表 A.1。

9.2 准确度

3家实验室分别对丙烯酰胺的加标浓度为 $1.0 \mu\text{g/L}$ 、 $10.0 \mu\text{g/L}$ 和 $50.0 \mu\text{g/L}$ 的地表水和加标浓度为 $5.0 \mu\text{g/L}$ 、 $10.0 \mu\text{g/L}$ 和 $90.0 \mu\text{g/L}$ 的污水厂废水进行了 6 次重复测定，加标回收率为地表水 $90.0\% \sim 98.3\%$ ，加标回收率最终值分别为 90.0 ± 2.6 、 97.2 ± 0.6 、 98.3 ± 0.4 ；污水厂废水 $93.0\% \sim 98.9\%$ ，加标回收率最终值分别为 93.5 ± 1.4 、 95.8 ± 3.6 、 98.8 ± 0.6 。具体见附录 A 中表 A.2。

10 质量保证和质量控制

10.1 空白试验

每批样品（≤20个/批）至少做一个空白实验，空白试样值不得超过方法的检出限。

10.2 校准

校准曲线的相关系数 $r \geq 0.995$ ，否则应重新绘制校准曲线；每批样品（≤20）应测定一个曲线中间校核点，其测定结果与校准曲线相应点浓度的相对误差应在±20%以内。

10.3 精密度控制

每批样品应至少测定10%的平行双样，样品数量少于10个时，应至少测定一个平行双样，平行双样测定结果的相对偏差应在±20%以内。

10.4 准确度控制

每批样品应至少测定5%的基体加标样品，样品数量少于20个时，应至少测定一个基体加标样品，加标回收率应在80%~120%之间。

11 废物处理

实验过程中产生的废液和废物应分类收集和保管，委托有资质的单位进行处理。



附录 A

(资料性附录)

方法的精密度和准确度

三家实验室分别对五种不同浓度的样品进行了测定。精密度和准确度结果见表 A.1 和表 A.2。

表A.1 方法的精密度

化合物名称 (样品类型)	精密度统计结果					
	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	总均值 ($\mu\text{g/L}$)	实验室内相对 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 ($\mu\text{g/L}$)
丙烯酰胺 (地表水)	1.0	0.9	8.5~9.1	1.3	0.2	0.2
	10.0	9.7	4.5~5.1	0.3	1.3	1.3
	50.0	49.1	3.5~4.1	0.2	5.3	5.3
丙烯酰胺 (污水厂废水)	5.0	4.7	7.6~9.7	0.7	1.2	1.2
	10.0	9.6	4.8~6.3	1.9	1.5	1.5
	90.0	88.9	2.7~3.0	0.3	7.1	7.1

表A.2 方法的准确度

化合物名称	样品类型	实际样品浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	回收率范围 (%)	加标回收率最终值 (%) $\bar{P} \pm 2S_{\bar{P}}$
丙烯酰胺	地表水	0	1.0	92.0~94.5	90.0 \pm 2.6
		0	10.0	96.8~97.5	97.2 \pm 0.6
		0	50.0	98.1~98.4	98.1 \pm 0.4
	污水厂废水	0	5.0	93.0~94.3	93.5 \pm 1.4
		0	10.0	94.7~97.9	95.8 \pm 3.6
		0	90.0	98.5~98.9	98.8 \pm 0.6