



中华人民共和国城镇建设行业标准

CJ/T 141—2018
代替 CJ/T 141~CJ/T 150—2001

城镇供水水质标准检验方法

Standard of water quality examination methods
for urban water supply

2018-06-12 发布

2018-12-01 实施

中华人民共和国住房和城乡建设部 发布

目 次

前言	V
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
3.1 最低检测质量浓度	1
3.2 精密度	1
3.3 准确度	1
4 总则	1
4.1 检验方法的选择	1
4.2 试剂及浓度表示	2
4.3 实验纯水	2
4.4 检测仪器的计量检定/校准与维护	2
4.5 实验室安全	2
4.6 质量控制与保证	2
5 无机和感官性状指标	2
5.1 臭	2
5.2 氰化物	6
5.3 硫化物	12
5.4 挥发酚	18
5.5 阴离子合成洗涤剂	24
5.6 二氧化硅	29
6 有机物指标	31
6.1 氯乙烯	31
6.2 1,1,1-三氯乙烷	37
6.3 1,1,2-三氯乙烷	37
6.4 四氯化碳	37
6.5 1,2-二氯乙烷	37
6.6 1,1-二氯乙烯	37
6.7 1,2-二氯乙烯	37
6.8 三氯乙烯	37
6.9 四氯乙烯	37
6.10 六氯丁二烯	37
6.11 苯	38
6.12 甲苯	45
6.13 二甲苯	45
6.14 乙苯	45

6.15	苯乙烯	46
6.16	氯苯	46
6.17	1,2-二氯苯	50
6.18	1,4-二氯苯	57
6.19	三氯苯	57
6.20	六氯苯	57
6.21	环氧氯丙烷	57
6.22	丙烯酰胺	60
6.23	微囊藻毒素-LR	63
6.24	微囊藻毒素-RR	67
6.25	苯酚	67
6.26	4-硝基酚	72
6.27	3-甲基酚	72
6.28	2,4-二氯酚	72
6.29	萘	73
6.30	荧蒽	77
6.31	苯并(b)荧蒽	77
6.32	苯并(k)荧蒽	77
6.33	苯并(a)芘	77
6.34	苯并(ghi)花	77
6.35	茚并[1,2,3-c,d]芘	77
7	农药指标	77
7.1	敌敌畏	77
7.2	乐果	89
7.3	对硫磷	89
7.4	甲基对硫磷	90
7.5	2,4-滴	90
7.6	七氯	90
7.7	毒死蜱	92
7.8	灭草松	95
7.9	马拉硫磷	98
7.10	莠去津	98
7.11	呋喃丹	98
7.12	溴氰菊酯	98
7.13	五氯酚	98
7.14	草甘膦	98
7.15	敌百虫	103
8	致嗅物质指标	103
8.1	土臭素	103
8.2	2-甲基异莰醇	107
9	消毒剂与消毒副产物指标	107
9.1	臭氧	107

9.2	二氧化氯	109
9.3	三氯甲烷	111
9.4	三溴甲烷	111
9.5	一溴二氯甲烷	111
9.6	二溴一氯甲烷	111
9.7	二氯甲烷	111
9.8	二氯乙酸	112
9.9	三氯乙酸	121
9.10	一氯乙酸	121
9.11	一溴乙酸	121
9.12	一氯一溴乙酸	121
9.13	二溴乙酸	121
9.14	一溴二氯乙酸	121
9.15	一氯二溴乙酸	121
9.16	三溴乙酸	121
9.17	2,4,6-三氯酚	121
10	微生物指标	121
10.1	贾第鞭毛虫	121
10.2	隐孢子虫	131
10.3	粪性链球菌	131
10.4	亚硫酸盐还原厌氧菌(梭状芽胞杆菌)孢子	136
11	综合指标	141
11.1	城镇供水的致突变物	141

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 CJ/T 141—CJ/T 150—2001《城市供水水质检验方法标准》。与 CJ/T 141—CJ/T 150—2001 相比,主要技术变化如下:

- 增加了臭、氰化物、硫化物、挥发酚、阴离子合成洗涤剂、氯乙烯、1,1,1-三氯乙烷、1,1,2-三氯乙烷、四氯化碳、1,2-二氯乙烷、1,1-二氯乙烯、1,2-二氯乙烯、三氯乙烯、四氯乙烯、六氯丁二烯、苯、甲苯、二甲苯、乙苯、苯乙烯、氯苯、1,2-二氯苯、1,4-二氯苯、三氯苯、六氯苯、环氧氯丙烷、丙烯酰胺、微囊藻毒素-LR、微囊藻毒素-RR、敌敌畏、乐果、对硫磷、甲基对硫磷、2,4-滴、七氯、毒死蜱、灭草松、草甘膦、莠去津、呋喃丹、溴氰菊酯、五氯酚、马拉硫磷、2-甲基异茨醇、土臭素、臭氧、二氧化氯、三氯甲烷、三溴甲烷、二氯一溴甲烷、一氯二溴甲烷、二氯甲烷、二氯乙酸、三氯乙酸、一氯乙酸、一溴乙酸、一氯一溴乙酸、二溴乙酸、二氯一溴乙酸、一氯二溴乙酸、三溴乙酸、贾第鞭毛虫、隐孢子虫等 62 项指标的 32 个检验方法;
- 删除了锑、钠、钙、镁等 4 项无机类指标的 3 个检验方法;
- 删除了 1,1-二氯乙烯、1,1,1-三氯乙烷、1,1,2-三氯乙烷、三溴甲烷、1,1,2,2-四氯乙烷 5 项挥发性有机物的 2 个检验方法;
- 修订了二氧化硅、敌百虫、敌敌畏、乐果、对硫磷、甲基对硫磷、苯酚、4-硝基酚、3-甲基酚、2,4-二氯酚、2,4,6-三氯酚、五氯酚、萘、荧蒽、苯并(b)荧蒽、苯并(k)荧蒽、苯并(a)芘、苯并(ghi)芘、茚并[1,2,3-c,d]芘、粪性链球菌、亚硫酸盐还原厌氧菌(梭状芽孢杆菌)孢子和致突变物等 22 项指标的 9 个检验方法。

本标准由住房和城乡建设部标准定额研究所提出。

本标准由住房和城乡建设部市政给水排水标准化技术委员会归口。

本标准负责起草单位:中国城市规划设计研究院、国家城市供水水质监测网北京监测站、国家城市供水水质监测网上海监测站、国家城市供水水质监测网哈尔滨监测站、国家城市供水水质监测网深圳监测站、中国科学院生态环境研究中心、国家城市供水水质监测网济南监测站、国家城市供水水质监测网郑州监测站、国家城市供水水质监测网广州监测站、国家城市供水水质监测网天津监测站。

本标准参加起草单位:国家城市供水水质监测网武汉监测站、国家城市供水水质监测网杭州监测站、国家城市供水水质监测网大连监测站、国家城市供水水质监测网石家庄监测站、国家城市供水水质监测网太原监测站、国家城市供水水质监测网无锡监测站、国家城市供水水质监测网合肥监测站、国家城市供水水质监测网福州监测站、国家城市供水水质监测网厦门监测站、国家城市供水水质监测网西安监测站、国家城市供水水质监测网珠海监测站、国家城市供水水质监测网佛山监测站、国家城市供水水质监测网滨海监测站、国家城市供水水质监测网青岛监测站、国家城市供水水质监测网乌鲁木齐监测站、国家城市供水水质监测网兰州监测站、国家城市供水水质监测网银川监测站、国家城市供水水质监测网长沙监测站、国家城市供水水质监测网南昌监测站、国家城市供水水质监测网株洲监测站、国家城市供水水质监测网昆明监测站、国家城市供水水质监测网重庆监测站、国家城市供水水质监测网成都监测站、国家城市供水水质监测网南京监测站、北京疾病预防控制中心、广州市水质监测中心、广东省城市供水水质监测网顺德监测站、浙江省平湖市疾病预防控制中心。

本标准主要起草人:邵益生、何琴、桂萍、李宗来、顾薇娜、林爱武、曾次元、贾莉莉、卢益新、于建伟、贾瑞宝、林瑛、刘静、施俭、罗文斌、刘波、杨敏、孙韶华、周丙建、王丹、慕先锋、张凌云、张立尖、张冬青、窦春菊、黄辉宇、李琳、金红、王蕾、俞超、周明、朱灵敏、李冬梅、李红岩、张晓霞、吴学峰、柴文、罗亮、

曲莉、姜旭、徐呈豪、徐荣、张昱、宋陆阳、梁涛、王欣莹、骆鹏、安伟、孟祥慧、王祥、张建华、崔建华、徐欣、冯复来、向华、陆峰、董瑞圣、林朝晖、张旭东、林婧。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- CJ/T 141—2001；
- CJ/T 142—2001；
- CJ/T 143—2001；
- CJ/T 144—2001；
- CJ/T 145—2001；
- CJ/T 146—2001；
- CJ/T 147—2001；
- CJ/T 148—2001；
- CJ/T 149—2001；
- CJ/T 150—2001。

城镇供水水质标准检验方法

1 范围

本标准规定了城镇供水水质检验方法的术语和定义、总则、无机和感官性状指标、有机物指标、农药指标、致嗅物质指标、消毒剂与消毒副产物指标、微生物指标和综合指标的检验方法。

本标准适用于城镇供水及其水源水的水质检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 5750(所有部分) 生活饮用水标准检验方法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 15603 常用危险化学品贮存通则

GB 19489 生物安全通用要求

GB/T 27476.1 检测实验室安全 第1部分:总则

GB/T 27476.5 检测实验室安全 第5部分:化学因素

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

最低检测质量浓度 **minimum quantitative detection limit**

在限定误差满足预定要求的前提下,用特定方法能够准确定量测定待测物质的最低质量浓度。

3.2

精密度 **precision**

在规定的条件下,相互独立的多次测定结果的一致程度。

3.3

准确度 **accuracy**

测定结果与被测量真值或参考值的一致程度。

4 总则

4.1 检验方法的选择

本标准是对 GB/T 5750 的补充,当同一项指标如果有两个或两个以上的检验方法时,可根据设备及技术条件选择适用的方法。

4.2 试剂及浓度表示

4.2.1 试剂规格

所用试剂,凡未指明规格者,均应为分析纯,当需用其他规格时将另作说明。

4.2.2 浓度表示

浓度可用质量浓度、物质的量浓度、质量分数、体积分数和体积比浓度表示。

4.3 实验纯水

所用纯水应符合 GB/T 6682 的规定。痕量分析或有特殊要求的应采用一级水,微量分析应采用二级水,一般化学分析应采用三级水。

4.4 检测仪器的计量检定/校准与维护

所使用与检测数据直接相关的仪器设备,应定期进行检定、校准、自校和维护,仪器设备在分析工作中应正常运行。

4.5 实验室安全

实验室安全的一般要求应按照 GB/T 27476.1 和 GB/T 27476.5 执行。

常用化学危险品贮存的基本要求应按照 GB 15603 执行。

微生物实验室生物安全管理、实验室设施设备的配置、个人防护和实验室安全行为等应按照 GB 19489 执行。

4.6 质量控制与保证

4.6.1 空白样品

样品测定前,应先分析一个纯水或试剂空白;当空白试验未满足要求时,应分析影响空白值的因素,采取措施降低空白值,再进行样品测定。

4.6.2 质控样品

进行样品测定时,为确认校准曲线的准确性及分析条件的可控性,应采用一定数量已知浓度的质控样品进行同步测定。每 20 个样品应至少分析一个质控样品。质控样品测定结果应在允许范围内,否则应找出偏离的原因并予以解决。

5 无机和感官性状指标

5.1 臭

5.1.1 适用范围

本方法规定了用嗅觉层次分析法(Flavor profile analysis,简称 FPA)测定城镇供水及其水源水中的臭。

本方法适用于城镇供水及其水源水中臭的测定。

5.1.2 原理

嗅觉层次分析法是用于评价水中臭特征的感官分析方法。本方法选定 3~5 名分析人员组成嗅觉评价小组,分析人员按照方法培训文件定期进行培训。通过方法培训,使得分析人员熟悉水中常见的异臭类型及不同浓度范围内的异臭强度特征。进行分析时,水样加热到一定温度使臭溢出,分析人员闻其臭气。各分析人员先单独评价测试水样的异臭类型和异臭强度等级,再共同讨论确定水样的异臭类型,其中异臭强度等级取平均值。

5.1.3 试剂和材料

- 5.1.3.1 硫代硫酸钠溶液($\rho=100$ g/L):称取 10 g 硫代硫酸钠溶于无臭水中,稀释至 100 mL。
- 5.1.3.2 己醛($C_6H_{12}O$)标准品:纯度大于或等于 95%。
- 5.1.3.3 2,6-壬二烯醛($C_9H_{14}O$)标准品:纯度大于或等于 95%。
- 5.1.3.4 2-甲基异茨醇标准储备溶液($\rho=100$ $\mu\text{g}/\text{mL}$):购买市售具有标准物质证书的标准溶液。
- 5.1.3.5 土臭素标准储备溶液($\rho=100$ $\mu\text{g}/\text{mL}$):购买市售具有标准物质证书的标准溶液。
- 5.1.3.6 次氯酸钠。

5.1.4 仪器

- 5.1.4.1 恒温水浴锅:温度控制为 ± 1 $^{\circ}\text{C}$ 。
- 5.1.4.2 移液器:20 μL 和 100 μL 。
- 5.1.4.3 温度计:0 $^{\circ}\text{C}$ ~100 $^{\circ}\text{C}$ 。
- 5.1.4.4 取样瓶:具塞玻璃瓶,1 L。
- 5.1.4.5 样品瓶:具塞磨口锥形瓶,500 mL。

5.1.5 样品

- 5.1.5.1 样品采集时,应使水样在样品瓶中完全充满且没有气泡,再盖上样品瓶塞。采集自来水样品时,应在样品瓶中预先加入 0.1 mL 硫代硫酸钠溶液(5.1.3.1)脱氯,放水 3 min 以上,再采集样品。
- 5.1.5.2 样品应于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下冷藏保存,在 24 h 内测定。

5.1.6 分析步骤

- 5.1.6.1 以 2-甲基异茨醇标准溶液($\rho=40$ ng/L)对分析人员进行嗅觉灵敏度测试,测试结果土霉味强度 FPA 等级为 4~6 方可进行样品分析。
- 5.1.6.2 量取 200 mL 水样至样品瓶中,置于 45 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热 10 min~15 min。
- 5.1.6.3 分析人员分别对水样进行闻测。闻测时,一只手托住瓶底,另一只手压紧瓶盖,以划圆圈的形式轻轻摇动样品瓶;再将玻璃瓶靠近鼻孔,移除瓶盖,进行闻测。分析下一个水样时,分析人员应先闻无臭水,休息 2 min 以上,方可进行水样分析。
- 5.1.6.4 记录闻测得到的异臭类型和异臭强度等级。异臭强度采用 7 个等级,见表 1。

表 1 异臭强度等级表

异臭强度等级	异臭强度描述	说明
0	无	无任何异臭
2	微弱	一般饮用者甚难察觉,但嗅觉敏感者可以察觉
4	弱	一般饮用者刚能察觉,易分辨出不同的异臭种类
6	中等强度	已能明显察觉异臭
8	较强	有较强的,闻测时有刺激性感觉
10	强	有很显著的异臭,长时间闻测难以忍受
12	很强	有强烈的恶臭或异味,强度让人无法忍受

5.1.6.5 进行水样分析时,应记录第一感觉的测定结果;当水样中的异臭难以描述时,分析人员应重新对其进行分析。

5.1.7 结果计算

水样分析结束后,分析人员应共同进行讨论,对描述的异臭种类和强度等级达成一致,作为水样中臭的评价结果,其中异臭强度等级取各分析人员测定结果的平均值。水样中臭的测定结果记录,见表 2。

表 2 测定结果记录表

样品描述	测定结果		
采样时间			
分析人员编号	异臭类型 1	异臭类型 2	异臭类型 3
	1		
2			
3			
4			
分析结果			

5.1.8 质量保证和控制

5.1.8.1 本方法应在通风良好、无异味的环境中进行,分析人员测试前 30 min 不应吃东西、喝饮料或吸烟,染感冒、过敏症者或其他相关问题时不应参加闻测。

5.1.8.2 分析人员分别对样品进行闻测时,不应接触瓶颈部位。

5.1.8.3 选择 1~2 种常见的参考致臭物质,用无臭水配制成一定浓度的标准溶液进行加标实验。参考致臭物质的异臭种类描述见表 3,其配制浓度及对应的异臭强度等级见表 4。按照样品分析步骤对其进行测定,记录水样的异臭类型及异臭强度等级,水样中臭的异臭强度等级测定值与理论计算值不应超过 2 个异臭强度等级单位。

表3 参考致臭物质异臭种类

物质名称	异臭种类	配制浓度 μg/L
2-甲基异苻醇	土霉味	0.200
土臭素	土霉味	0.200
2,6-壬二烯醛	黄瓜味	10.0
己醛	腐败胡桃油味	200
次氯酸钠	氯味	100

表4 参考致臭物质标准溶液的配制浓度及异臭强度等级

异臭强度等级	参考致臭物质标准溶液配制浓度 ng/L			
	2-甲基异苻醇	土臭素	2,6-壬二烯醛	己醛
0	0	0	0	0
2	15.0	10.0	50.0	350
4	40.0	20.0	100	600
6	60.0	40.0	200	1 200
8	200	80.0	400	2 500
10	300	120	800	5 000
12	400	300	1 600	10 000

5.1.8.4 以参考致臭物质配制浓度的对数值为横坐标,异臭强度等级为纵坐标绘制浓度-响应曲线。参考致臭物质标准溶液配制浓度的对数值与异臭强度等级之间呈线性关系。浓度-响应曲线的相关系数应大于 0.80,异臭强度等级标准偏差在 2 以内。

5.1.8.5 本法中异臭强度等级与 GB/T 5750.4—2006 中 3.1 的臭强度等级对应关系,见表 5。

表5 异臭强度等级对照表

异臭强度描述	说明	异臭强度等级	
		GB/T 5750.4 2006 中的 3.1	本标准
无	无任何臭味	0	0
微弱	一般饮用者甚难察觉, 但臭味敏感者可以发觉	1	$1 < FPA \leq 3$
弱	一般饮用者刚能察觉	2	$3 < FPA \leq 5$
明显	已能明显察觉	3	$5 < FPA \leq 7$
强	已有很显著的臭味	4	$7 < FPA \leq 10$
很强	有强烈的恶臭或异臭	5	$10 < FPA \leq 12$

5.2 氰化物

5.2.1 连续流动法

5.2.1.1 适用范围

本方法规定了用连续流动法测定城镇供水及其水源水中的氰化物。

本方法适用于城镇供水及其水源水中氰化物的测定。

本方法最低检测质量浓度为 $2.0 \mu\text{g/L}$ (以 CN^- 计)。

5.2.1.2 原理

样品和蒸馏试剂通过蠕动泵被带入连续流动的液流中,混合后进入蒸馏器进行在线蒸馏,馏出物冷凝后经吸收试剂吸收进入氰化物反应单元及模块中,与氯胺-T 的活性氯作用生成氯化氰,再与异烟酸吡唑酮反应生成蓝色化合物。

在整个反应过程中,样品和各试剂的液流在蠕动泵推动下,按特定的顺序和比例混合,在密闭的管路中连续流动,被系统均匀注入的空气泡分隔成数十个片段流,每个片段流与试剂反应形成微反应单元,反应完全后,于 630 nm 波长处进行比色测定。

5.2.1.3 试剂和材料

5.2.1.3.1 氢氧化钠溶液($\rho=200 \text{ g/L}$):称取 50 g 氢氧化钠溶于纯水中,冷却后用纯水稀释至 250 mL 。

5.2.1.3.2 氢氧化钠溶液($\rho=0.4 \text{ g/L}$):吸取 2 mL 氢氧化钠溶液(5.2.1.3.1),用纯水稀释至 1000 mL 。

5.2.1.3.3 曲拉通溶液($\varphi=50\%$):取 50 mL 无水乙醇,与等体积曲拉通 X-100(Triton X-100)混合。

5.2.1.3.4 蒸馏试剂:称取 30.0 g 磷酸二氢钾(KH_2PO_4), 60.0 g 柠檬酸($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$)和 10.0 g 氯化钾,溶于 400 mL 纯水中,并稀释至 500 mL ,再加入甘油($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$)至 1000 mL ,混匀。

5.2.1.3.5 储备缓冲液:称取 9.0 g 硼酸(H_3BO_3), 5.0 g 氢氧化钠和 10.0 g 氯化钾,溶于纯水中,并稀释至 1000 mL 。

5.2.1.3.6 吸收试剂:吸取 0.5 mL 曲拉通溶液(5.2.1.3.3),加入 100 mL 储备缓冲液(5.2.1.3.5)中,混匀,临用时配制。

5.2.1.3.7 工作缓冲液:称取 3.0 g 磷酸二氢钾(KH_2PO_4), 15.0 g 磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)和 3.0 g 柠檬酸三钠($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$),溶于纯水中,并稀释至 1000 mL 。再加入 1 mL 曲拉通溶液(5.2.1.3.3)并混匀。

5.2.1.3.8 氯胺-T 溶液($\rho=1 \text{ g/L}$):称取 0.1 g 氯胺-T($\text{C}_7\text{H}_7\text{SO}_2\text{NClNa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$),溶于纯水中,并稀释至 100 mL ,临用时配制。

5.2.1.3.9 异烟酸-吡唑酮溶液:取 6 mL 氢氧化钠溶液(5.2.1.3.1)于 100 mL 纯水中,再称取 3.5 g 异烟酸($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_2\text{N}$)溶于上述溶液中。另称取 1.5 g 吡唑酮,溶于 20 mL N-二甲基甲酰胺 [$\text{HCON}(\text{CH}_3)_2$] 中。合并两种溶液,用氢氧化钠溶液(5.2.1.3.1)调节 pH 值为 7,再用纯水稀释至 200 mL ,混匀。

5.2.1.3.10 氯化钠标准溶液($c=0.01000 \text{ mol/L}$):称取 0.2922 g 氯化钠(基准试剂)溶于适量纯水中,并定容至 500 mL 容量瓶中,混匀。

5.2.1.3.11 试银灵指示剂:称取 0.02 g 试银灵(对二甲氨基亚苄基罗丹宁, $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{NO}_2\text{S}_2$),溶于 100 mL 丙酮中。用棕色瓶储存并置于暗处,此试剂可保存 1 个月。

5.2.1.3.12 硝酸银标准溶液($c=0.01000 \text{ mol/L}$):准确称取 0.8494 g 硝酸银溶于纯水中,用纯水定容至 500 mL 。置于棕色瓶中保存。临用前用氯化钠标准溶液标定。

标定方法:准确移取 10.00 mL 氯化钠标准溶液(5.2.1.3.10)于 150 mL 锥形瓶中,加入 50 mL 水。向锥形瓶中加入 3~5 滴铬酸钾指示液,用硝酸银标准溶液(5.2.1.3.12)滴定至溶液由黄色变成浅砖红

色。记录硝酸银的用量(V_1)。同时另取 10.00 mL 纯水代替氯化钠标准溶液作空白试验,记录硝酸银标准溶液用量(V_0)。硝酸银标准溶液浓度的计算见式(1):

$$c = \frac{c_1 \times 10.00}{V_1 - V_0} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- c ——硝酸银标准溶液浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
- c_1 ——氯化钠标准溶液浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
- V_1 ——滴定氯化钠标准溶液时硝酸银标准溶液的用量,单位为毫升(mL);
- V_0 ——滴定纯水空白时硝酸银标准溶液的用量,单位为毫升(mL);
- 10.00 ——氯化钠标准溶液体积,单位为毫升(mL)。

5.2.1.3.13 氰化钾标准储备溶液[$\rho(\text{CN}^-) = 100 \mu\text{g}/\text{mL}$]:称取 1.0 g 氢氧化钠溶于 400 mL 纯水中,再准确加入 0.125 2 g 氰化钾至完全溶解,转移至 500 mL 容量瓶中,用纯水定容,混匀,置于棕色瓶中避光保存。该溶液使用前进行标定。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。氰化物为剧毒,应避免粉尘的吸入或与固体及溶液的接触。

标定方法:准确移取 10.00 mL 氰化物标准储备溶液(5.2.1.3.13)于锥形瓶中,加入 50 mL 纯水和 1 mL 氢氧化钠溶液(5.2.1.3.2),加入 0.2 mL 试银灵指示剂(5.2.1.3.11),用硝酸银标准溶液(5.2.1.3.12)滴定,溶液由黄色刚好变为橙红色为止,记录硝酸银标准溶液用量(V_1)。同时另取 10.00 mL 纯水作空白试验,记录硝酸银标准溶液用量(V_0)。

氰化物质量浓度的计算见式(2):

$$\rho = \frac{c \times (V_1 - V_0) \times 52.04}{10.00} \times 10^6 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- ρ ——氰化物的质量浓度,以氰离子(CN^-)计,单位为克每升(g/L);
- c ——硝酸银标准溶液浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
- V_1 ——滴定氰化钾标准储备溶液时硝酸银标准溶液用量,单位为毫升(mL);
- V_0 ——滴定纯水空白时硝酸银标准溶液用量,单位为毫升(mL);
- 52.04 ——相当于 1 L 的 1 mol/L 硝酸银标准溶液的氰离子(CN^-)的质量,单位为克(g);
- 10.00 ——氰化钾储备溶液体积,单位为毫升(mL)。

5.2.1.3.14 氰化钾标准使用溶液[$\rho(\text{CN}^-) = 1.00 \mu\text{g}/\text{mL}$]:先按式(3)计算应吸取氰化钾标准储备溶液(5.2.1.3.13)的体积,准确吸取氰化钾标准储备溶液于 500 mL 棕色容量瓶中,用氢氧化钠溶液(5.2.1.3.2)定容,混匀。

$$V = \frac{1.00 \times 500}{T \times 1000} \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

- V ——氰化钾标准储备溶液的体积,单位为毫升(mL);
- $T \times 1000$ ——1 mL 氰化钾标准储备溶液中氰化物质量,单位为微克(μg);
- 1.00 ——1 mL 氰化钾标准使用溶液含 1.00 μg 氰离子;
- 500 ——氰化钾标准使用溶液体积,单位为毫升(mL)。

5.2.1.3.15 系统清洗溶液:吸取 1 mL 曲拉通溶液(5.2.1.3.3),用纯水稀释至 1000 mL,混匀,临用时配制。

5.2.1.4 仪器

5.2.1.4.1 连续流动分析仪:氰化物反应单元及模块、在线蒸馏器、自动进样器、多通道蠕动泵、比色检

测器、数据处理系统。

5.2.1.4.2 超声波清洗器。

5.2.1.4.3 容量瓶:100 mL。

5.2.1.5 样品

5.2.1.5.1 用玻璃瓶采集水样。采样前,用稀酸溶液清洗 2 次,再用纯水冲洗干净。水样采集时应检查有无氧化剂。采集含余氯等氧化剂的水样时,可加适量抗坏血酸除去干扰,再加入氢氧化钠调节 pH 值不小于 12。

5.2.1.5.2 样品应于 0 °C~4 °C 条件下避光保存,在 24 h 内测定。

5.2.1.6 分析步骤

5.2.1.6.1 参考仪器说明书,安装分析系统,设定系统参数,将工作条件调整至最佳状态。所有泵管先进纯水,检查整个流路系统的密封性、液体流动的顺畅性和气泡的均匀性。待基线稳定后,所有泵管进试剂,待基线再次稳定后进行测定。仪器参考条件见表 6。

仪器参考条件因不同仪器和型号的灵敏度及操作条件的影响而变化时,应根据实际情况进行调整。

表 6 检测氰化物的仪器参考条件

蒸馏加热温度 °C	进样速率 样品数/h	进样清洗比	流路系统	气泡注入速率 个/s	比色光程 cm
125	30	2:1	气泡形状、大小一致, 液流间隔均匀	2	1

5.2.1.6.2 标准系列溶液的配制:取 6 个 100 mL 容量瓶,依次准确加入 0 mL,0.20 mL,1.00 mL,2.00 mL,5.00 mL 和 10.00 mL 氰化钾标准使用溶液(5.2.1.3.14),用氢氧化钠溶液(5.2.1.3.2)定容,配制成浓度为 0 μg/L,2.0 μg/L,10.0 μg/L,20.0 μg/L,50.0 μg/L 和 100 μg/L 的标准系列溶液。

5.2.1.6.3 标准曲线的绘制:以标准曲线最高浓度点进样,根据测定信号值(峰高)大小调整信号放大系数。取适量标准系列溶液分别置于样品杯中,从低浓度到高浓度依次测定,得到不同浓度氰化物的测定信号值(峰高)。以测定信号值(峰高)为纵坐标,对应的氰化物浓度(以 CN⁻ 计)为横坐标,绘制标准曲线。

5.2.1.6.4 取适量待测样品置于样品杯中,按照与标准系列相同的分析条件进行样品测定。若样品浑浊不清,可用 0.45 μm 玻璃纤维滤膜过滤后测定。

5.2.1.6.5 取适量纯水置于样品杯中,按照与样品相同的分析条件进行空白实验。

5.2.1.7 结果计算

水样中氰化物的质量浓度计算见式(4):

$$\rho = \frac{A - b}{k} \dots\dots\dots(4)$$

式中:

ρ ——水样中氰化物的质量浓度,单位为微克每升(μg/L);

A ——仪器响应的信号值(峰高);

k ——标准曲线的斜率;

b ——标准曲线的截距。

5.2.1.8 精密度和准确度

5.2.1.8.1 精密度:7个实验室分别测定含 10.0 $\mu\text{g/L}$ 和 90.0 $\mu\text{g/L}$ 氰化物的纯水加标样品,其相对标准偏差分别为 1.0%~4.5%和 0.29%~3.0%。

5.2.1.8.2 准确度:7个实验室分别测定水源水、出厂水和管网水加标样品,当氰化物加标浓度为 5.0 $\mu\text{g/L}$ ~10.0 $\mu\text{g/L}$ 时,其回收率见表 7。

表 7 氰化物测定结果的准确度

加标浓度 $\mu\text{g/L}$	回收率 %		
	水源水	出厂水	管网水
5.0		81.0~101	
10.0	95.2~106		87.0~103

5.2.2 流动注射法

5.2.2.1 适用范围

本方法规定了用流动注射法测定城镇供水及其水源水中的氰化物。

本方法适用于城镇供水及其水源水中氰化物的测定。

本方法最低检测质量浓度为 2.0 $\mu\text{g/L}$ (以 CN^- 计)。

5.2.2.2 原理

样品通过蠕动泵被带入到一个试剂溶液连续流动的、无空气间隔的系统反应模块中,在弱酸条件下,样品中的氰合成物通过在线蒸馏释放出氰化氢气体,由扩散池分离后通过氢氧化钠溶液吸收,与氯胺-T 在 pH 值小于 8 的条件下反应转化成氯化氰,然后与异烟酸-巴比妥酸反应,形成蓝紫色染料,于 600 nm 波长处比色测定。

5.2.2.3 试剂和材料

5.2.2.3.1 氢氧化钠溶液($\rho=1.0 \text{ g/L}$):称取 1.0 g 氢氧化钠,用纯水溶解并稀释至 1 000 mL。

5.2.2.3.2 氢氧化钠溶液($\rho=12 \text{ g/L}$):称取 24 g 氢氧化钠,用纯水溶解并稀释至 2 000 mL。

5.2.2.3.3 磷酸盐缓冲液(pH=4.24):称取 97.0 g 无水磷酸二氢钾(KH_2PO_4)溶于 800 mL 水中,用纯水稀释至 1 000 mL,混匀。该溶液可保存 1 个月。

5.2.2.3.4 氯胺-T($\rho=2 \text{ g/L}$):称取 1.0 g 氯胺-T,用纯水溶解并稀释至 500 mL。临用时配制。

5.2.2.3.5 异烟酸-巴比妥酸溶液:称取 13.6 g 巴比妥酸和 13.6 g 异烟酸,用氢氧化钠溶液(5.2.2.3.2)溶解,并稀释至 1000 mL。

5.2.2.3.6 蒸馏试剂:称取 3.3 g 乙酸锌 $[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ 和 13.21 g 酒石酸($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$),用纯水溶解,并稀释至 1 000 mL。

5.2.2.3.7 氯化钠标准溶液($c=0.010 \text{ 00 mol/L}$):称取 0.292 2 g 氯化钠,用纯水溶解,并定容至 500 mL,混匀。

5.2.2.3.8 试银灵指示剂:称取 0.02 g 试银灵(对二甲氨基亚苄基罗丹宁, $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{NO}_2\text{S}_2$)溶于 100 mL 丙酮中。置于棕色瓶中保存。保存期 1 个月。

5.2.2.3.9 硝酸银标准溶液($c=0.010 \text{ 00 mol/L}$):准确称取 0.849 4 g 硝酸银(AgNO_3),用纯水溶解并

定容至 500 mL。置于棕色瓶中保存。临用前用氯化钠标准溶液(5.2.2.3.7)标定。

标定方法:准确移取 10.00 mL 氯化钠标准溶液(5.2.2.3.7)于 150 mL 锥形瓶中,加入 50 mL 纯水。向锥形瓶中加入 3~5 滴铬酸钾指示液,用硝酸银标准溶液(5.2.2.3.9)滴定至溶液由黄色变成浅砖红色,记录硝酸银标准溶液的用量(V_1)。同时另取 10.00 mL 纯水作空白试验,记录硝酸银标准溶液用量(V_0)。

硝酸银标准溶液浓度计算见式(5):

$$c = \frac{c_1 \times 10.00}{V_1 - V_0} \dots\dots\dots (5)$$

式中:

- c ——硝酸银标准溶液浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
- c_1 ——氯化钠标准溶液浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
- V_1 ——滴定氯化钠标准溶液时,硝酸银标准溶液的用量,单位为毫升(mL);
- V_0 ——空白滴定时,硝酸银标准溶液的用量,单位为毫升(mL);
- 10.00 ——氯化钠标准溶液体积,单位为毫升(mL)。

5.2.2.3.10 氰化钾标准储备溶液[$\rho(\text{CN}^-) = 100 \mu\text{g}/\text{mL}$]:称取 1.0 g 氢氧化钠溶于 400 mL 水中,再准确加入 0.1252 g 氰化钾至完全溶解,转移至 500 mL 容量瓶中,用纯水定容,混匀,置于棕色瓶中避光保存。该溶液使用前进行标定。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。氰化物为剧毒,应避免粉尘的吸入或与固体及溶液的接触。

标定方法:准确移取 10.00 mL 氰化钾标准储备溶液(5.2.2.3.10)于锥形瓶中,加入 50 mL 纯水和 1 mL 氢氧化钠溶液(5.2.2.3.2),加入 0.2 mL 试银灵指示剂(5.2.2.3.8),用硝酸银标准溶液(5.2.2.3.9)滴定,溶液由黄色刚好变为橙红色为止,记录硝酸银标准溶液用量(V_1)。同时另取 10.00 mL 纯水作空白试验,记录硝酸银标准溶液用量(V_0)。

氰化物浓度计算见式(6):

$$\rho = \frac{c \times (V_1 - V_0) \times 52.04}{10.00} \times 10^6 \dots\dots\dots (6)$$

式中:

- ρ ——氰化物浓度(以 CN^- 计),单位为毫克每毫升(mg/mL);
- c ——硝酸银标准溶液浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
- V_1 ——滴定氰化钾储备溶液时硝酸银标准溶液用量,单位为毫升(mL);
- V_0 ——空白试验硝酸银标准溶液用量,单位为毫升(mL);
- 52.04 ——相当于 1 L 的 1 mol/L 硝酸银标准溶液的氰离子(CN^-)的质量,单位为克(g);
- 10.00 ——氰化钾储备液体积,单位为毫升(mL)。

氰化钾标准使用溶液[$\rho(\text{CN}^-) = 1.00 \mu\text{g}/\text{mL}$]:先按式(7)计算应移取氰化钾标准储备溶液(5.2.2.3.10)的体积,再准确移取氰化物标准储备溶液于 500 mL 棕色容量瓶中,用氢氧化钠溶液(5.2.2.3.1)定容,混匀。

$$V = \frac{10.00 \times 500}{T \times 1000} \dots\dots\dots (7)$$

式中:

- V ——氰化钾标准储备溶液的体积,单位为毫升(mL);
- $T \times 1000$ ——1 mL 氰化钾标准储备溶液中氰化物含量,单位为微克(μg);
- 10.00 ——1 mL 氰化钾标准使用溶液含 10.00 μg 氰离子;
- 500 ——氰化钾标准使用溶液体积,单位为毫升(mL)。

5.2.2.4 仪器

5.2.2.4.1 流动注射分析仪:氰化物反应单元及模块、在线蒸馏器、自动进样器、多通道蠕动泵、比色检测器(光程为 1 cm)、数据处理系统。

5.2.2.4.2 超声波清洗器。

5.2.2.4.3 容量瓶:100 mL。

5.2.2.5 样品

5.2.2.5.1 样品的采集按 5.2.1.5.1 的要求。

5.2.2.5.2 样品的保存按 5.2.1.5.2 的要求。

5.2.2.6 分析步骤

5.2.2.6.1 参考仪器说明书,安装分析系统,设定系统参数,将工作条件调整至最佳状态。将所有泵管进纯水,检查整个流路系统的密封性及液体流动的顺畅性。待基线稳定后,所有泵管进试剂,待基线再次稳定后进行测定。仪器参考条件见表 8。

仪器参考条件因不同仪器和型号的灵敏度及操作条件的影响而变化时,可根据实际情况进行调整。

表 8 检测氰化物的仪器参考条件

蒸馏加热温度 ℃	循环周期 s	进样针清洗时间 s	进样时间 s	到阀时间 s	装载周期 s	注入周期 s	注入到峰开始时间 s	峰基线宽度 s
125	200	44	145	135	90	110	26	70

5.2.2.6.2 标准系列溶液的配制:取 6 个 100 mL 容量瓶,依次准确加入 0 mL,0.20 mL,1.00 mL,2.00 mL,5.00 mL 和 10.00 mL 氰化钾标准使用溶液(5.2.2.3.11),用氢氧化钠溶液(5.2.2.3.1)定容,配制成浓度为 0 μg/L,2.0 μg/L,10.0 μg/L,20.0 μg/L,50.0 μg/L 和 100 μg/L 的标准系列溶液。

5.2.2.6.3 标准曲线的绘制:取适量标准系列溶液分别置于样品杯中,从低浓度到高浓度依次测定,得到不同浓度氰化物的信号值(峰面积)。以信号值(峰面积)为纵坐标,对应的氰化物浓度(以 CN⁻计)为横坐标,绘制标准曲线。

5.2.2.6.4 取适量待测样品置于样品杯中,按照与标准系列相同的分析条件进行样品测定。

5.2.2.6.5 取适量纯水置于样品杯中,按照与样品相同的分析条件进行空白试验。

5.2.2.7 结果计算

水样中氰化物的质量浓度计算见式(8):

$$\rho = \frac{\Lambda - b}{k} \quad \dots\dots\dots (8)$$

式中:

ρ ——水样中氰化物的质量浓度,单位为微克每升(μg/L);

Λ ——仪器响应的信号值(峰面积);

k ——标准曲线的斜率;

b ——标准曲线的截距。

5.2.2.8 精密度和准确度

5.2.2.8.1 精密度:10个实验室分别测定含 10.0 $\mu\text{g/L}$ 和 90.0 $\mu\text{g/L}$ 氰化物的纯水加标样品,其相对标准偏差为 0.3%~3.3%和 0.6%~3.2%。

5.2.2.8.2 准确度:10个实验室分别测定水源水、出厂水和管网水加标样品,当氰化物加标浓度为 10.0 $\mu\text{g/L}$ 和 90.0 $\mu\text{g/L}$ 时,其回收率见表 9。

表 9 氰化物测定结果的准确度

加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	回收率/%		
	水源水	出厂水	管网水
10.0	94.1~106	91.9~107	84.0~107
90.0	91.8~107	90.3~106	88.4~105

5.3 硫化物

5.3.1 连续流动法

5.3.1.1 适用范围

本方法规定了用连续流动法测定城镇供水及其水源水中的硫化物。

本方法适用于城镇供水及其水源水中硫化物的测定。

本方法最低检测质量浓度为 4.0 $\mu\text{g/L}$ 。

5.3.1.2 原理

样品和曲拉通溶液由蠕动泵带入硫化物反应单元及模块中,在酸性条件下,样品中的硫离子与 N,N-二甲基对苯二胺二盐酸盐反应生成蓝色化合物。

在整个反应过程中,样品和各试剂的液流在蠕动泵推动下,按特定的顺序和比例混合,在密闭的管路中连续流动,被系统均匀注入的空气泡分隔成数十个片段流,每个片段流与试剂反应形成微反应单元,反应完全后,于 660 nm 波长处比色测定。

5.3.1.3 试剂和材料

5.3.1.3.1 盐酸($\rho_{20}=1.19\text{ g/mL}$):优级纯。

5.3.1.3.2 盐酸溶液(1+1)。

5.3.1.3.3 乙酸($\rho_{20}=1.06\text{ g/mL}$):优级纯。

5.3.1.3.4 氢氧化钠溶液($\rho=40\text{ g/L}$):称取 40 g 氢氧化钠溶于纯水中,并稀释至 1 000 mL。

5.3.1.3.5 曲拉通溶液($\varphi=50\%$):取 50 mL 异丙醇至 50 mL 曲拉通 X-100(Triton X-100)中,混匀。

5.3.1.3.6 N,N-二甲基对苯二胺二盐酸盐储备溶液:称取 1 g N,N-二甲基对苯二胺二盐酸盐 $[(\text{CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}]$,用盐酸溶液(5.3.1.3.2)溶解,并稀释至 500 mL。

5.3.1.3.7 N,N-二甲基对苯二胺二盐酸盐工作溶液:量取 190 mL N,N-二甲基对苯二胺二盐酸盐储备溶液(5.3.1.3.6),用纯水稀释至 1 000 mL。

5.3.1.3.8 三氯化铁储备溶液:称取 13.5 g 三氯化铁,用盐酸溶液(5.3.1.3.2)溶解,用纯水稀释至 500 mL。若溶液浑浊,应重新配制。

5.3.1.3.9 三氯化铁工作溶液:量取 190 mL 三氯化铁储备溶液(5.3.1.3.8),用纯水稀释至 1 000 mL。

5.3.1.3.10 硫化物固定剂:称取 1 g 羧甲基纤维素钠($R_n\text{-OCH}_2\text{COONa}$),缓慢加入到 80 mL 约 50 °C 的纯水中,不断搅拌至完全溶解,冷却至室温;另称取 0.56 g 硫酸锌($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$),溶于 10 mL 纯水中。在搅拌下将上述两种溶液混合,再加入 0.8 mL 氢氧化钠溶液(5.3.1.3.4),用纯水稀释至 100 mL。此溶液通常情况下为浑浊,不需过滤。

5.3.1.3.11 曲拉通清洗溶液:吸取 0.5 mL 曲拉通溶液(5.3.1.3.5),用纯水稀释至 500 mL,混匀,临用时配制。

5.3.1.3.12 淀粉溶液($\rho=5\text{ g/L}$):称取 0.5 g 可溶性淀粉,用少量纯水调成糊状,再加入刚煮沸的纯水至 100 mL,冷却后再加入 0.1 g 水杨酸或 0.4 g 氯化锌保存。

5.3.1.3.13 硫代硫酸钠标准溶液 [$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=0.100\ 0\text{ mol/L}$]:称取 26 g 硫代硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$),溶于新煮沸放冷的纯水中,并稀释至 1 000 mL。再加入 0.4 g 氢氧化钠或 0.2 g 无水碳酸钠(Na_2CO_3),储存于棕色瓶中,放置 1 个月,过滤。按下述方法标定其准确浓度:

准确称取 3 份各约 0.11 g~0.13 g 在 105 °C 干燥至恒量的碘酸钾(基准试剂),分别放入 250 mL 碘量瓶中,各加入 100 mL 纯水,待碘酸钾溶解后,各加入 3 g 碘化钾及 10 mL 乙酸(5.3.1.3.3),在暗处静置 10 min,用待标定的硫代硫酸钠标准溶液滴定,至溶液呈淡黄色时,加入 1 mL 淀粉溶液(5.3.1.3.12),继续滴定至蓝色褪去为止。记录硫代硫酸钠标准溶液的用量,硫代硫酸钠标准溶液浓度计算见式(9):

$$c = \frac{m}{V \times 0.035\ 67} \quad \dots\dots\dots (9)$$

式中:

c ——硫代硫酸钠标准溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

m ——碘酸钾的质量,单位为克(g);

V ——硫代硫酸钠标准溶液的用量,单位为毫升(mL);

0.035 67——与 1.00 mL 硫代硫酸钠标准溶液 [$\rho(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=1.000\text{ mol/L}$]相当的以克(g)表示的碘酸钾质量。

5.3.1.3.14 硫代硫酸钠标准溶液 [$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=0.012\ 50\text{ mol/L}$]:准确吸取经过标定的硫代硫酸钠标准溶液(5.3.1.3.13)于容量瓶内,用新煮沸放冷的纯水稀释为 0.01250 mol/L。

5.3.1.3.15 碘标准溶液 [$c(1/2\text{I}_2)=0.012\ 50\text{ mol/L}$]:称取 40 g 碘化钾,置于玻璃乳钵内,加少许纯水溶解。加入 13 g 碘片,研磨使碘完全溶解,移入棕色瓶内,用纯水稀释至 1 000 mL,用硫代硫酸钠标准溶液(5.3.1.3.13)标定后于暗处保存,临用时将此碘液稀释为 $c(1/2\text{I}_2)=0.012\ 50\text{ mol/L}$ 碘标准溶液。

5.3.1.3.16 乙酸锌溶液($\rho=220\text{ g/L}$):称取 22 g 乙酸锌 [$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$],溶于纯水并稀释至 100 mL。

5.3.1.3.17 硫化物标准储备溶液 [$\rho(\text{S}^{2-})=100\ \mu\text{g/mL}$]:取硫化钠晶体($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$),用少量纯水清洗表面,并用滤纸吸干。称取 0.2 g~0.3 g,用煮沸放冷的纯水溶解,并定容到 250 mL,临用前配制并标定。此溶液 1 mL 约含 0.1 mg 硫化物(S^{2-}),其标定方法为:取 5 mL 乙酸锌溶液(5.3.1.3.16)置于 250 mL 碘量瓶中,准确加入 20.00 mL 硫化物标准储备溶液(5.3.1.3.17)及 25.00 mL 碘标准溶液(5.3.1.3.15)。同时用纯水作空白试验。各加 5 mL 盐酸溶液(5.3.1.3.2),摇匀,于暗处放置 15 min,加 50 mL 纯水,用硫代硫酸钠标准溶液(5.3.1.3.14)滴定,至溶液呈淡黄色时,加 1 mL 淀粉溶液,继续滴定至蓝色消失为止。硫化物(以 S^{2-} 计)的质量浓度应按式(10)计算:

$$\rho(\text{S}^{2-}) = \frac{(V_0 - V_1) \times c \times 16}{20} \quad \dots\dots\dots (10)$$

式中:

$\rho(\text{S}^{2-})$ ——硫化物(以 S^{2-} 计)的质量浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);

V_0 ——空白所消耗的硫代硫酸钠标准溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_1 ——硫化钠溶液所消耗的硫代硫酸钠标准溶液的体积,单位为毫升(mL);

- c ——硫代硫酸钠标准溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
- 16 ——与 1.00 mL 硫代硫酸钠标准溶液 [$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=1.000 \text{ mol/L}$] 相当的以毫克(mg)表示的硫化物质量。

5.3.1.3.18 硫化物标准使用溶液 [$\rho(\text{S}^{2-})=5.00 \mu\text{g/mL}$]:准确吸取一定体积新标定的硫化物标准储备溶液(5.3.1.3.17)于 50 mL 容量瓶中,加入 1 mL 乙酸锌溶液(5.3.1.3.16),用新煮沸放冷的纯水定容。

5.3.1.3.19 系统清洗溶液:移取 1 mL 曲拉通溶液(5.3.1.3.5)于 1 000 mL 纯水中,混匀,临用时配制。

5.3.1.4 仪器

5.3.1.4.1 连续流动分析仪:硫化物反应单元及模块、在线蒸馏器、自动进样器、多通道蠕动泵、比色检测器、数据处理系统。

5.3.1.4.2 超声清洗器。

5.3.1.4.3 离心机。

5.3.1.4.4 容量瓶:100 mL。

5.3.1.5 样品

5.3.1.5.1 宜使用棕色玻璃瓶或聚四氟乙烯塑料瓶采集水样。采集水样时,每 100 mL 水样中应加入 1 mL 硫化物固定剂(5.3.1.3.10)。采集含余氯等氧化剂的水样时,每 100 mL 水样中应先加入 0.1 mL 抗坏血酸溶液($\rho=20 \text{ g/L}$)除去氧化剂的干扰,再加入 1 mL 硫化物固定剂(5.3.1.3.10)。

5.3.1.5.2 样品应于 $0 \text{ }^\circ\text{C} \sim 4 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下避光冷藏,在 72 h 内测定。

5.3.1.6 分析步骤

5.3.1.6.1 参考仪器说明书,安装分析系统,设定系统参数,将工作条件调整至最佳状态。所有泵管先进纯水,检查整个流路系统的密封性、液体流动的顺畅性和气泡的均匀性。待基线稳定后,所有泵管再进试剂,待基线再次稳定后进行测定。仪器参考条件见表 10。

仪器参考条件因不同仪器和型号的灵敏度及操作条件的影响而变化时,可根据实际情况进行调整。

表 10 检测硫化物的仪器参考条件

进样速率 样品数/h	进样清洗比	流路系统	气泡注入速率 个/s	比色光程 cm
60	3:1	气泡形状、大小一致,液流间隔均匀	2	1

5.3.1.6.2 标准系列溶液的配制:取 7 个 100 mL 容量瓶,依次准确加入 0 mL, 0.10 mL, 0.20 mL, 0.50 mL, 1.00 mL, 2.00 mL 和 5.00 mL 硫化物标准使用溶液(5.3.1.3.18),再各加入 1.0 mL 硫化物固定剂(5.3.1.3.10),用纯水定容,配制成浓度为 $0 \mu\text{g/L}$, $5.0 \mu\text{g/L}$, $10.0 \mu\text{g/L}$, $25.0 \mu\text{g/L}$, $50.0 \mu\text{g/L}$, $100 \mu\text{g/L}$ 和 $250 \mu\text{g/L}$ 的标准系列溶液。

5.3.1.6.3 标准曲线的绘制:以标准曲线最高浓度点进样,根据信号值(峰高)大小调整信号放大系数。取适量标准系列溶液分别置于样品杯中,从低浓度到高浓度依次测定,得到不同浓度硫化物的信号值(峰高)。以信号值(峰高)为纵坐标,对应的硫化物浓度为横坐标,绘制标准曲线。

5.3.1.6.4 取适量待测样品置于样品杯中,按照与标准系列相同的分析条件进行样品测定。当样品浑浊对测定产生干扰时,可采用沉淀分离或曝气分离法消除干扰。

5.3.1.6.5 取适量纯水置于样品杯中,按照与样品相同的分析条件进行空白试验。

5.3.1.7 结果计算

水样中硫化物的质量浓度计算见式(11):

$$\rho = \frac{\Lambda - b}{k} \dots\dots\dots(11)$$

式中:

ρ ——水样中硫化物的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

Λ ——仪器响应的信号值(峰高);

k ——标准曲线的斜率;

b ——标准曲线的截距。

5.3.1.8 精密度和准确度

5.3.1.8.1 精密度:5个实验室测定含 20.0 $\mu\text{g/L}$ 和 180 $\mu\text{g/L}$ 硫化物的纯水加标样品,其相对标准偏差分别为 0.64%~3.3%和 0.32%~2.2%。

5.3.1.8.2 准确度:5个实验室分别测定水源水、出厂水和管网水加标样品,当硫化物加标浓度为 20.0 $\mu\text{g/L}$ ~50.0 $\mu\text{g/L}$ 时,其回收率见表 11。

表 11 硫化物测定结果的准确度

加标浓度/ $(\mu\text{g/L})$	回收率/%		
	水源水	出厂水	管网水
10.0		72.3~93.3	
20.0	85.0~98.9		72.9~104
50.0	81.5~97.4		

5.3.2 流动注射法

5.3.2.1 适用范围

本方法规定了用流动注射法测定城镇供水及其水源水中的硫化物。

本方法适用于城镇供水及其水源水中硫化物的测定。

本方法最低检测质量浓度为 6.0 $\mu\text{g/L}$ 。

5.3.2.2 原理

样品通过蠕动泵被带入一个试剂溶液连续流动的、无空气间隔的系统反应模块中,在酸化条件下,通过在线蒸馏释放出硫化氢气体,经扩散池分离并被氢氧化钠溶液吸收,最后在酸性条件下,与包含对氨基二甲苯胺的三氯化铁溶液反应,形成亚甲蓝,于波长 660 nm 处比色测定。

5.3.2.3 试剂和材料

5.3.2.3.1 磷酸溶液:取 90 mL 磷酸($\rho_{20} = 1.69 \text{ g/mL}$),用纯水稀释至 1 000 mL。本试剂用于蒸馏试剂。

5.3.2.3.2 盐酸溶液($c = 3.0 \text{ mol/L}$):取 248 mL 盐酸($\rho_{20} = 1.19 \text{ g/mL}$),用纯水稀释至 1 000 mL。

5.3.2.3.3 盐酸溶液($c = 0.20 \text{ mol/L}$):取 16.5 mL 盐酸($\rho_{20} = 1.19 \text{ g/mL}$),用纯水稀释至 1 000 mL。

5.3.2.3.4 乙酸($\rho_{20} = 1.06 \text{ g/mL}$):优级纯。

5.3.2.3.5 氢氧化钠溶液($\rho=40$ g/L):称取 40 g 氢氧化钠溶于纯水中,并稀释至 1 000 mL。

5.3.2.3.6 氢氧化钠溶液($\rho=1$ g/L):取 25 mL 氢氧化钠溶液(5.3.2.3.5),用纯水稀释至 1 000 mL。本试剂用于载液和标准稀释液。

5.3.2.3.7 对氨基二甲基苯胺试剂($\rho=1.0$ g/L):称取 0.50 g 对氨基二甲基苯胺,用盐酸溶液(5.3.2.3.2)溶解,并稀释至 500 mL,混匀。若试剂颜色变暗应重新配制。

5.3.2.3.8 三氯化铁($\rho=13$ g/L):称取 6.5 g 三氯化铁($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$),用盐酸溶液(5.3.2.3.3)溶解,并稀释至 500 mL,混匀。

5.3.2.3.9 硫化物固定剂:称取 1 g 羧甲基纤维素钠($\text{R}_n\text{-OCH}_2\text{COONa}$),缓慢加入到 80 mL 约 50 °C 的纯水中,不断搅拌至完全溶解,冷却至室温;另称取 0.56 g 硫酸锌($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$),溶于 10 mL 纯水中。在搅拌下将上述两种溶液混合,再加入 0.8 mL 氢氧化钠溶液(5.3.2.3.5),用纯水稀释至 100 mL。此溶液通常情况下为浑浊,不需过滤。

5.3.2.3.10 淀粉溶液($\rho=5$ g/L):称取 0.5 g 可溶性淀粉,用少量纯水调成糊状,加入刚煮沸的纯水至 100 mL,冷却后加入保存剂 0.1 g 水杨酸或 0.4 g 氯化锌。

5.3.2.3.11 硫代硫酸钠标准溶液[$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=0.1000$ mol/L]:称取 26 g 硫代硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$),溶于新煮沸放冷的纯水中,并稀释至 1 000 mL。加入 0.4 g 氢氧化钠或 0.2 g 无水碳酸钠(Na_2CO_3),混匀。置于棕色瓶中保存,放置 1 个月,过滤。按下述方法标定其准确浓度:

准确称取三份各约 0.11 g~0.13 g 在 105 °C 干燥至恒量的碘酸钾,分别放入 250 mL 碘量瓶中,各加 100 mL 纯水,待碘酸钾溶解后,各加 3 g 碘化钾及 10 mL 乙酸(5.3.2.3.4),在暗处静置 10 min,用待标定的硫代硫酸钠标准溶液(5.3.2.3.11)滴定,至溶液呈淡黄色时,加 1 mL 淀粉溶液(5.3.2.3.10),继续滴定至蓝色褪去为止。记录硫代硫酸钠标准溶液的用量,硫代硫酸钠标准溶液的浓度计算见式(12):

$$c = \frac{m}{V \times 0.03567} \dots\dots\dots (12)$$

式中:

c —— 硫代硫酸钠标准溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

m —— 碘酸钾的质量,单位为克(g);

V —— 硫代硫酸钠标准溶液的用量,单位为毫升(mL);

0.035 67——1.00 mL 硫代硫酸钠标准溶液[$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=1.000$ mol/L]相当的以克(g)表示的碘酸钾质量。

5.3.2.3.12 硫代硫酸钠标准溶液[$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=0.0125$ mol/L]:准确移取上述经过标定的硫代硫酸钠标准溶液(5.3.2.3.11)于 500 mL 容量瓶中,用新煮沸放冷的纯水定容,配制成浓度为 0.0125 mol/L 的硫代硫酸钠标准溶液。

5.3.2.3.13 碘标准溶液[$c(1/2\text{I}_2)=0.0125$ mol/L]:称取 40 g 碘化钾,置于玻璃乳钵内,加少许纯水溶解。加入 13 g 碘片,研磨使碘完全溶解,移入棕色瓶内,用纯水稀释至 1 000 mL,用硫代硫酸钠标准溶液(5.3.2.3.12)标定后保存在暗处,临用时将此碘液稀释为 0.0125 mol/L 的碘标准溶液(以 $1/2\text{I}_2$ 计)。

5.3.2.3.14 乙酸锌溶液($\rho=220$ g/L):称取 22 g 乙酸锌[$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$],溶于纯水,并稀释至 100 mL。

5.3.2.3.15 硫化物标准储备溶液:取硫化钠晶体($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$),用少量纯水清洗表面,并用滤纸吸干。称取 0.2 g~0.3 g,用煮沸放冷的纯水溶解并定容至 250 mL。此溶液 1 mL 约含 0.1 mg 硫化物(S^{2-}),临用前制备并标定,标定方法为:取 5 mL 乙酸锌溶液(5.3.2.3.14)置于 250 mL 碘量瓶中,加入 20.00 mL 硫化物标准储备溶液(5.3.2.3.15)及 25.00 mL 碘标准溶液(5.3.2.3.13),同时用纯水作空白试验。各加 5 mL 盐酸溶液(1+9),摇匀,于暗处放置 15 min,加 50 mL 纯水,用硫代硫酸钠标准溶液(5.3.2.3.12)滴定,至溶液呈淡黄色时,加 1 mL 淀粉溶液(5.3.2.3.10),继续滴定至蓝色消失为止。硫化物(以 S^{2-} 计)的质量浓度计算见式(13):

$$\rho(\text{S}^{2-}) = \frac{(V_0 - V_1) \times c \times 16}{20} \dots\dots\dots(13)$$

式中:

- $\rho(\text{S}^{2-})$ ——硫化物(以 S^{2-} 计)的质量浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);
 V_0 ——空白所消耗的硫代硫酸钠标准溶液的体积,单位为毫升(mL);
 V_1 ——硫化钠溶液所消耗的硫代硫酸钠标准溶液的体积,单位为毫升(mL);
 c ——硫代硫酸钠标准溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
 16 ——与 1.00 mL 硫代硫酸钠标准溶液 [$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 1.000 \text{ mol/L}$] 相当的以毫克(mg)表示的硫化物质量。

5.3.2.3.16 硫化物标准使用溶液 [$\rho(\text{S}^{2-}) = 5.00 \mu\text{g/mL}$]: 取一定体积新标定的硫化钠标准储备溶液(5.3.2.3.15), 加 1 mL 乙酸锌溶液(5.3.2.3.14), 用新煮沸放冷的纯水定容至 50 mL。

5.3.2.4 仪器

5.3.2.4.1 流动注射分析仪: 硫化物反应单元及模块、自动进样器、多通道蠕动泵、比色检测器和数据处理系统。

5.3.2.4.2 超声波清洗器。

5.3.2.4.3 容量瓶: 100 mL。

5.3.2.5 样品

5.3.2.5.1 样品的采集按 5.3.1.5.1 的要求。

5.3.2.5.2 样品的保存按 5.3.1.5.2 的要求。

5.3.2.6 分析步骤

5.3.2.6.1 参考仪器说明书, 安装分析系统, 设定系统参数, 将工作条件调整至最佳状态。将所有泵管进纯水, 检查整个流路系统的密封性及液体流动的顺畅性。待基线稳定后, 所有泵管进试剂, 待基线再次稳定后进行测定。仪器参考条件见表 12。

表 12 检测硫化物的仪器参考条件

蒸馏加热 温度 ℃	循环周期 s	进样针 清洗时间 s	进样时间 s	到阀时间 s	装载周期 s	注入周期 s	注入到峰 开始时间 s	峰基线 宽度 s
65/30	240	139	90	230	90	150	12	100

5.3.2.6.2 标准系列的配制: 取 6 个 100 mL 容量瓶, 依次准确加入 0 mL, 0.20 mL, 0.50 mL, 1.00 mL, 2.00 mL 和 5.00 mL 硫化物标准使用溶液(5.3.2.3.16), 再各加入 1.0 mL 硫化物固定剂(5.3.2.3.9), 用纯水定容, 配制成浓度为 0.0 $\mu\text{g/L}$, 10.0 $\mu\text{g/L}$, 25.0 $\mu\text{g/L}$, 50.0 $\mu\text{g/L}$, 100 $\mu\text{g/L}$ 和 250 $\mu\text{g/L}$ 的标准系列溶液。

5.3.2.6.3 标准曲线的绘制: 取适量标准系列溶液分别置于样品杯中, 从低浓度到高浓度依次测定, 得到不同浓度硫化物的信号值(峰面积)。以信号值(峰面积)为纵坐标, 对应的硫化物浓度(以 S^{2-} 计)为横坐标, 绘制标准曲线。

5.3.2.6.4 取适量待测样品置于样品杯中, 按照与标准系列相同的分析条件进行样品测定。当样品浑浊对测定产生干扰时, 可采用沉淀分离或曝气分离法消除干扰。

5.3.2.6.5 取适量纯水置于样品杯中,按照与样品相同的分析条件进行空白试验。

5.3.2.7 结果计算

水样中硫化物的质量浓度计算见式(14):

$$\rho = \frac{\Lambda - b}{k} \dots\dots\dots(14)$$

式中:

ρ ——水样中硫化物的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

Λ ——仪器响应的信号值(峰高);

k ——标准曲线的斜率;

b ——标准曲线的截距。

5.3.2.8 精密度和准确度

5.3.2.8.1 精密度:6个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当硫化物加标浓度为 $10.0 \mu\text{g/L} \sim 50.0 \mu\text{g/L}$ 和 $136 \mu\text{g/L} \sim 205 \mu\text{g/L}$ 时,其相对标准偏差见表 13。

表 13 硫化物测定结果的精密度

加标浓度/ $(\mu\text{g/L})$	相对标准偏差/%			
	纯水	水源水	出厂水	管网水
10.0~50.0	3.1~5.1			
80.7~205	1.1~7.6			
136~205		0.82~11	0.85~8.8	0.7~5.4

5.3.2.8.2 准确度:6个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当硫化物加标浓度为 $10.0 \mu\text{g/L} \sim 50.0 \mu\text{g/L}$ 和 $80.7 \mu\text{g/L} \sim 205 \mu\text{g/L}$ 时,其回收率见表 14。

表 14 硫化物测定结果的准确度

加标浓度/ $(\mu\text{g/L})$	回收率/%			
	纯水	水源水	出厂水	管网水
10.0~50.0	78.3~94.4			
80.7~205	89.0~101	87.3~117	76.7~102	79.6~102

5.4 挥发酚

5.4.1 连续流动法

5.4.1.1 适用范围

本方法规定了用连续流动法测定城镇供水及其水源水中的挥发酚。

本方法适用于城镇供水及其水源水中挥发酚的测定。

本方法最低检测质量浓度为 $2.0 \mu\text{g/L}$ 。当使用长光程(50 cm 或 100 cm)流通检测器进行比色测定时,可进一步降低方法的最低检测质量浓度。

5.4.1.2 原理

样品和蒸馏试剂通过蠕动泵被带入连续流动的液流中,混合后进入蒸馏器进行在线蒸馏,馏出物冷凝后经吸收试剂吸收进入挥发酚反应单元和模块中,在碱性铁氰化钾存在下与4-氨基安替吡啉反应生成橙红色的叫噪酚安替吡啉染料。

在整个反应过程中,样品和各试剂的液流在蠕动泵推动下,按特定的顺序和比例混合,在密闭的管路中连续流动,被系统均匀注入的空气泡分隔成数十个片段流,每个片段流与试剂反应形成微反应单元,反应完全后,于505 nm波长处比色测定。

5.4.1.3 试剂和材料

5.4.1.3.1 纯水:本法中所用的纯水均为无酚纯水。无酚水的制备方法为:于纯水中加入氢氧化钠至pH值大于12,进行蒸馏,在碱性溶液中,酚形成酚钠不被蒸出。

5.4.1.3.2 盐酸($\rho_{20}=1.19$ g/mL):优级纯。

5.4.1.3.3 磷酸($\rho_{20}=1.69$ g/mL):优级纯。

5.4.1.3.4 蒸馏试剂:量取160 mL磷酸(5.4.1.3.3),用纯水稀释至1 000 mL。

5.4.1.3.5 氢氧化钠溶液($\rho=40$ g/L):称取40 g氢氧化钠溶于纯水中,并稀释至1 000 mL。

5.4.1.3.6 氢氧化钠溶液($\rho=0.4$ g/L):吸取10 mL氢氧化钠溶液(5.4.1.3.5),用纯水稀释至1 000 mL。

5.4.1.3.7 十二烷基聚乙二醇醚溶液($\omega=30\%$):称取30 g十二烷基聚乙二醇醚(Brij-35),溶于70 mL纯水中。

5.4.1.3.8 铁氰化钾溶液:依次称取3.0 g硼酸(H_3BO_3),5.0 g氯化钾和2.0 g铁氰化钾 $[K_3Fe(CN)_6]$,溶解于800 mL纯水中,用氢氧化钠溶液(5.4.1.3.5)调节pH值至10.3,用纯水稀释至1 000 mL,再加入1 mL十二烷基聚乙二醇醚溶液(5.4.1.3.7),混匀。

5.4.1.3.9 4-氨基安替吡啉溶液($\rho=0.2$ g/L):称取0.20 g 4-氨基安替吡啉($C_{11}H_{13}N_3O$)溶于纯水中,并稀释至1 000 mL。

5.4.1.3.10 吸收试剂:称取3.0 g硼酸(H_3BO_3),5.0 g氯化钾溶于800 mL纯水中,用40 g/L的氢氧化钠溶液调节pH值至10.3,用纯水稀释至1 000 mL,加入1 mL十二烷基聚乙二醇醚溶液(5.4.1.3.7)并混匀,临用时配制。

5.4.1.3.11 硫酸溶液(1+9)。

5.4.1.3.12 淀粉溶液($\rho=5$ g/L):称取0.5 g可溶性淀粉,用少量纯水调成糊状,再加刚煮沸的纯水至100 mL,冷却后加入0.1 g水杨酸或0.4 g氯化锌保存。

5.4.1.3.13 硫代硫酸钠标准溶液 $[c(Na_2S_2O_3)=0.050 0$ mol/L]:准确吸取一定体积经过标定的硫代硫酸钠溶液,用适量纯水稀释成浓度为0.050 0 mol/L的标准溶液。

配制:称取25 g硫代硫酸钠($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$)溶于1 000 mL新煮沸放冷的纯水中,加入0.4 g氢氧化钠或0.2 g无水碳酸钠,储存于棕色瓶内,7 d~10 d后进行标定。

标定:准确移取25.00 mL重铬酸钾标准溶液 $[c(1/6K_2Cr_2O_7)=0.100 0$ mol/L]于500 mL碘量瓶中,加2.0 g碘化钾和20 mL硫酸溶液,密塞,摇匀,于暗处放置10 min。再加入150 mL纯水,用待标定的硫代硫酸钠溶液滴定,直到溶液呈浅黄色时,加入1 mL淀粉溶液(5.4.1.3.12),继续滴定至蓝色变为亮绿色。同时做空白试验。硫代硫酸钠标准溶液的浓度计算见式(15):

$$c(Na_2S_2O_3) = \frac{c_1 \times 25.00}{V_1 - V_0} \quad \dots\dots\dots (15)$$

式中:

$c(Na_2S_2O_3)$ ——硫代硫酸钠标准溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

c_1 ——重铬酸钾标准溶液的浓度 $[c(1/6K_2Cr_2O_7)]$,单位为摩尔每升(mol/L);

V_1 —— 硫代硫酸钠标准溶液的用量,单位为毫升(mL);

V_0 —— 空白试验硫代硫酸钠标准溶液的用量,单位为毫升(mL)。

5.4.1.3.14 溴酸钾-溴化钾溶液 [$c(1/6\text{KBrO}_3)=0.1 \text{ mol/L}$]:称取 2.78 g 干燥的溴酸钾(KBrO_3),溶于纯水中,加入 10 g 溴化钾(KBr),并稀释至 1 000 mL。

5.4.1.3.15 苯酚的提纯:取苯酚于具空气冷凝管的蒸馏瓶中,加热蒸馏,收集 182 °C~184 °C 的馏出部分。提纯后的苯酚冷却后应为白色,密塞储于冷暗处。

5.4.1.3.16 苯酚标准储备溶液:将 1 g 提纯后的白色苯酚用纯水溶解,并稀释至 1 000 mL。标定后保存于冰箱中。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。

苯酚标准储备溶液的标定:准确移取 25.00 mL 待标定的苯酚储备溶液(5.4.1.3.16),置于 250 mL 碘量瓶中。加入 100 mL 纯水,然后准确加入 25.00 mL 溴酸钾-溴化钾溶液(5.4.1.3.14)。立即加入 5 mL 浓盐酸,盖严瓶塞,缓缓旋摇。静置 10 min。加入 1 g 碘化钾,盖严瓶塞,摇匀,于暗处放置 5 min 后,用硫代硫酸钠标准溶液滴定,至呈浅黄色时,加入 1 mL 淀粉溶液(5.4.1.3.12),继续滴定至蓝色消失为止。同时用纯水作试剂空白滴定。苯酚标准溶液(以苯酚计)质量浓度的计算见式(16):

$$\rho = \frac{(V_0 - V_1) \times 0.050 0 \times 15.68 \times 1 000}{25} = (V_0 - V_1) \times 31.36 \dots\dots\dots (16)$$

式中:

ρ —— 苯酚标准溶液(以苯酚计)的质量浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V_0 —— 试剂空白消耗硫代硫酸钠溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_1 —— 苯酚标准储备溶液消耗硫代硫酸钠溶液的体积,单位为毫升(mL);

15.68 —— 与 1.00 mL 硫代硫酸钠标准溶液溶液 [$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=1.000 \text{ mol/L}$] 相当的以毫克(mg)表示的苯酚质量。

5.4.1.3.17 苯酚中间溶液 [$\rho(\text{C}_6\text{H}_5\text{OH})=10.0 \mu\text{g/mL}$]:准确移取 10.00 mL 苯酚标准储备溶液(5.4.1.3.16)于 100 mL 容量瓶中,用纯水定容。临用时配制。

5.4.1.3.18 苯酚标准使用溶液 [$\rho(\text{C}_6\text{H}_5\text{OH})=1.00 \mu\text{g/mL}$]:准确移取 10.00 mL 苯酚中间溶液(5.4.1.3.17)于 100 mL 容量瓶中,用纯水定容。临用时配制。

5.4.1.3.19 盐酸溶液($c=1 \text{ mol/L}$):取 83 mL 盐酸(5.4.1.3.2),用纯水稀释至 1 000 mL。

5.4.1.3.20 系统清洗溶液:吸取 1 mL 十二烷基聚乙二醇醚溶液(5.4.1.3.7),用纯水稀释至 1 000 mL,混匀,临用时配制。

5.4.1.4 仪器

5.4.1.4.1 连续流动分析仪:挥发酚反应单元及模块、在线蒸馏器、自动进样器、多通道蠕动泵、比色检测器、数据处理系统。

5.4.1.4.2 超声波清洗器。

5.4.1.4.3 容量瓶:100 mL。

5.4.1.5 样品

5.4.1.5.1 采集水样时应用棕色玻璃瓶。水样采集时应先检查有无氧化剂。当采集含余氯等氧化剂的水样时,每 100 mL 水样中应先加入 1.0 mL 硫酸亚铁铵溶液($\rho=1.1 \text{ g/L}$)除去干扰,再立即加入磷酸(5.4.1.3.3)酸化使 pH 约为 4.0,加入适量硫酸铜($\rho=1 \text{ g/L}$)以抑制微生物对酚类的生物氧化作用。若同时测定水样中的挥发酚与氰化物,可加入适量抗坏血酸除去氧化剂的干扰,再加氢氧化钠使水样 pH 值大于等于 12。

5.4.1.5.2 样品应于 0 °C~4 °C 条件下冷藏保存,在 24 h 内测定。

5.4.1.6 分析步骤

5.4.1.6.1 参考仪器说明书,安装分析系统,设定系统参数,将工作条件调整至最佳状态。连接好泵管,

将进样器管路进纯水,试剂管路进清洗溶液,检查整个系统管路的密封性、液体流动的顺畅性和气泡的均匀性。待基线稳定后,所有泵管进试剂,待基线再次稳定后进行测定。仪器参考条件见表 15。

仪器参考条件因不同仪器和型号的灵敏度及操作条件的影响而变化时,可根据实际情况进行调整。

表 15 检测挥发酚的仪器参考条件

蒸馏加热温度 ℃	进样速率 样品数/h	进样清洗比	流路系统	气泡注入速率 个/s	比色光程 cm
155	30	3:1	气泡形状、大小一致, 液流间隔均匀	2	1

5.4.1.6.2 标准系列溶液的配制:取 6 个 100 mL 容量瓶,依次准确加入 0 mL,0.20 mL,0.50 mL,1.00 mL,2.00 mL 和 5.00 mL 苯酚标准使用溶液(5.4.1.3.18),用氢氧化钠溶液(5.4.1.3.6)定容至刻度,配制成质量浓度(以苯酚计)为 0 μg/L,2.0 μg/L,5.0 μg/L,10.0 μg/L,20.0 μg/L 和 50.0 μg/L 的标准系列溶液。

5.4.1.6.3 标准曲线的绘制:以标准曲线最高浓度点进样,根据信号值(峰高)大小调整信号放大系数。取适量标准系列溶液分别置于样品杯中,从低浓度到高浓度依次测定,得到不同浓度挥发酚的信号值(峰高)。以信号值(峰高)为纵坐标,对应的挥发酚质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

5.4.1.6.4 取适量待测样品置于样品杯中,按照与标准系列相同的分析条件进行样品测定。当样品浑浊不清时,可用 0.45 μm 玻璃纤维滤膜过滤后测定。

5.4.1.6.5 取适量纯水置于样品杯中,按照与样品相同的分析条件进行空白试验。

5.4.1.7 结果计算

水样中挥发酚的质量浓度计算见式(17):

$$\rho = \frac{A - b}{k} \quad \dots\dots\dots(17)$$

式中:

ρ ——水样中硫化物的质量浓度,单位为微克每升(μg/L);

A ——仪器响应的信号值(峰高);

k ——标准曲线的斜率;

b ——标准曲线的截距。

5.4.1.8 精密度和准确度

5.4.1.8.1 精密度:6 个实验室测定纯水加标样品,当挥发酚加标浓度分别为 10.0 μg/L 和 90.0 μg/L 时,其相对标准偏差为 1.8%~4.6% 和 0.34%~1.5%。

5.4.1.8.2 准确度:6 个实验室分别测定水源水、出厂水和管网水加标样品,当挥发酚加标浓度为 5.0 μg/L 时,其回收率见表 16。

表 16 挥发酚测定结果的准确度

加标浓度/(μg/L)	回收率/%		
	水源水	出厂水	管网水
5.0	91.1~102	82.2~101	87.4~108

5.4.2 流动注射法

5.4.2.1 适用范围

本方法规定了用流动注射法测定城镇供水及其水源水中的挥发酚。

本方法适用于城镇供水及其水源水中挥发酚的测定。

本方法最低检测质量浓度为 1.0 μg/L。

5.4.2.2 原理

样品通过蠕动泵被带入一个试剂溶液连续流动的、无空气间隔的挥发酚反应模块中与磷酸溶液混合蒸馏,包含挥发酚物质的馏出物经过膜分离,冷凝后再与碱性铁氰化钾溶液发生氧化反应,生成醌类物质,最后与 4-氨基安替吡啉溶液进行显色反应,在 500 nm 处比色测定。

5.4.2.3 试剂和材料

5.4.2.3.1 磷酸($\rho_{20}=1.69$ g/mL):优级纯。

5.4.2.3.2 磷酸蒸馏试剂:取 75 mL 磷酸,用纯水稀释至 500 mL,混匀。临用时配制。

5.4.2.3.3 氢氧化钠溶液($\rho=40$ g/L):称取 40 g 氢氧化钠溶于纯水中,并稀释至 1 000 mL。

5.4.2.3.4 硫酸亚铁铵溶液($\rho=1.1$ g/L):称取 0.55 g 硫酸亚铁铵溶于纯水中,再加入 0.5 mL 浓硫酸,用纯水稀释至 500 mL,混匀。密闭保存。

5.4.2.3.5 4-氨基安替吡啉溶液($\rho=1.0$ g/L):称取 0.5 g 的 4-氨基安替吡啉溶于纯水中,并稀释至 500 mL,用 0.45 μm 的滤膜过滤。临用时配制。

5.4.2.3.6 铁氰化钾缓冲溶液:依次称取 2.0 g 铁氰化钾,3.1 g 硼酸,3.75 g 氯化钾,溶于 800 mL 纯水中,再加入氢氧化钠溶液(5.4.2.3.3),使溶液的 pH 值至 10.3,并稀释至 1 000 mL,用 0.45 μm 的滤膜过滤。于 0℃~4℃ 条件下冷藏保存,保存期为 7 d。

5.4.2.3.7 硫酸溶液(1+9)。

5.4.2.3.8 淀粉溶液($\rho=5$ g/L):称取 0.5 g 可溶性淀粉,用少量纯水调成糊状,再加刚煮沸的纯水至 100 mL,冷却后加入 0.1 g 水杨酸或 0.4 g 氯化锌保存。

5.4.2.3.9 硫代硫酸钠标准溶液[$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=0.0500$ mol/L]:准确移取一定体积经过标定的硫代硫酸钠溶液,用适量纯水稀释成浓度为 0.0500 mol/L 的标准溶液。

配制:称取 25 g 硫代硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)溶于 1 000 mL 新煮沸放冷的纯水中,加入 0.4 g 氢氧化钠或 0.2 g 无水碳酸钠,储存于棕色瓶内,7 d~10 d 后进行标定。

标定:准确移取 25.00 mL 重铬酸钾标准溶液[$c(1/6\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7)=0.1000$ mol/L]于 500 mL 碘量瓶中,加 2.0 g 碘化钾和 20 mL 硫酸溶液(5.4.2.3.7),密塞,摇匀,于暗处放置 10 min。加入 150 mL 纯水,用待标定的硫代硫酸钠溶液滴定,直到溶液呈浅黄色时,加入 1 mL 淀粉溶液(5.4.2.3.8),继续滴定至蓝色变为亮绿色。同时做空白试验。硫代硫酸钠标准溶液的浓度(以 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 计)计算见式(18):

$$c = \frac{c_1 \times 25.00}{V_1 - V_0} \dots\dots\dots (18)$$

式中:

c ——硫代硫酸钠标准溶液的浓度(以 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 计),单位为摩尔每升(mol/L);

c_1 ——重铬酸钾标准溶液的浓度[$c(1/6\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7)$],单位为摩尔每升(mol/L);

V_1 ——硫代硫酸钠标准溶液的用量,单位为毫升(mL);

V_0 ——空白试验硫代硫酸钠标准溶液的用量,单位为毫升(mL)。

5.4.2.3.10 溴酸钾-溴化钾溶液[$c(1/6\text{KBrO}_3)=0.1$ mol/L]:称取 2.78 g 干燥的溴酸钾(KBrO_3),溶于纯水中,加入 10 g 溴化钾,并稀释至 1 000 mL。

5.4.2.3.11 苯酚的提纯:取苯酚于具空气冷凝管的蒸馏瓶中,加热蒸馏,收集 182 °C~184 °C 的馏出部分。提纯后的苯酚冷却后应为白色,于冷暗处密闭保存。

5.4.2.3.12 苯酚标准储备溶液:将 1 g 提纯后的白色苯酚溶解于纯水中,稀释至 1 000 mL。于 0 °C~4 °C 条件下保存。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。

苯酚标准储备溶液的标定:准确移取 25.00 mL 待标定的苯酚储备溶液(5.4.2.3.12),置于 250 mL 碘量瓶中。加入 100 mL 纯水,然后准确加入 25.00 mL 溴酸钾-溴化钾溶液(5.4.2.3.10)。立即加入 5 mL 盐酸($\rho_{20}=1.19$ g/mL),盖严瓶塞,缓缓旋摇。静置 10 min。加入 1 g 碘化钾,盖严瓶塞,摇匀,于暗处放置 5 min 后,用硫代硫酸钠标准溶液(5.4.2.3.9)滴定,至呈浅黄色时,加入 1 mL 淀粉溶液(5.4.2.3.8),继续滴定至蓝色消失为止。同时用纯水作试剂空白滴定。苯酚标准溶液的质量浓度(以 C_6H_5OH 计)计算见式(19):

$$\rho = \frac{(V_0 - V_1) \times 0.050 0 \times 15.68 \times 1 000}{25} = (V_0 - V_1) \times 31.36 \dots\dots\dots (19)$$

式中:

ρ ——苯酚标准溶液的质量浓度(C_6H_5OH),单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V_0 ——试剂空白消耗硫代硫酸钠溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_1 ——苯酚标准储备溶液消耗硫代硫酸钠溶液的体积,单位为毫升(mL);

15.68 ——与 1.00 mL 硫代硫酸钠标准溶液溶液 [$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=1.000$ mol/L] 相当的以 mg 表示的苯酚质量。

5.4.2.3.13 苯酚中间溶液 [$\rho(C_6H_5OH)=10.00$ $\mu\text{g/mL}$]:准确移取 10.00 mL 苯酚标准储备溶液(5.4.2.3.12)于 100 mL 容量瓶中,用纯水定容。临用时配制。

5.4.2.3.14 苯酚标准使用溶液 [$\rho(C_6H_5OH)=1.00$ $\mu\text{g/mL}$]:准确移取 10.00 mL 苯酚中间溶液(5.4.2.3.13)于 100 mL 容量瓶中,用纯水定容。临用时配制。

5.4.2.4 仪器

5.4.2.4.1 流动注射分析仪:挥发酚反应单元及模块、在线蒸馏器、自动进样器、多通道比例进样泵、比色检测器、数据处理系统。

5.4.2.4.2 容量瓶:100 mL。

5.4.2.5 样品

5.4.2.5.1 样品的采集按 5.4.1.5.1 的要求。

5.4.2.5.2 样品的保存按 5.4.1.5.2 的要求。

5.4.2.6 分析步骤

5.4.2.6.1 参考仪器说明书,安装分析系统,设定系统参数,将工作条件调整至最佳状态。将所有泵管进纯水,检查整个流路系统的密封性及液体流动的顺畅性。待基线稳定后,所有泵管进试剂,待基线再次稳定后进行测定。仪器参考条件见表 17。

仪器参考条件因不同仪器和型号的灵敏度及操作条件的影响而变化时,可根据实际情况进行调整。

表 17 检测挥发酚的仪器参考条件

蒸馏加热 温度 °C	循环周期 s	进样针 清洗时间 s	进样时间 s	到阀时间 s	装载周期 s	注入周期 s	注入到峰 开始时间 s	峰基线 宽度 s
145	360	69	180	315	140	140	12	51

5.4.2.6.2 标准系列的配制:取 6 个 100 mL 容量瓶,依次准确加入 0 mL,0.20 mL,0.50 mL,1.00 mL, 2.00 mL 和 5.00 mL 苯酚标准使用溶液(5.4.2.3.14),用纯水定容至刻度,配制成质量浓度(以苯酚计)为 0 μg/L,2.0 μg/L,5.0 μg/L,10.0 μg/L,20.0 μg/L 和 50.0 μg/L 的标准系列溶液。

5.4.2.6.3 标准曲线的绘制:取适量标准系列溶液分别置于样品杯中,从低浓度到高浓度依次测定,得到不同浓度挥发酚的信号值(峰面积)。以信号值(峰面积)为纵坐标,对应的挥发酚浓度(以苯酚计)为横坐标,绘制标准曲线。

5.4.2.6.4 取适量待测样品置于样品杯中,按照与标准系列相同的分析条件进行样品测定。

5.4.2.6.5 取适量纯水置于样品杯中,按照与样品相同的分析条件进行空白试验测定。

5.4.2.7 结果计算

水样中挥发酚的质量浓度计算见式(20):

$$\rho = \frac{\Lambda - b}{k} \quad \dots\dots\dots(20)$$

式中:

ρ ——水样中硫化物的质量浓度,单位为微克每升(μg/L);

Λ ——仪器响应的信号值(峰面积);

k ——标准曲线的斜率;

b ——标准曲线的截距。

5.4.2.8 精密度和准确度

5.4.2.8.1 精密度:11 个实验室测定纯水加标样品,当挥发酚加标浓度为 10.0 μg/L 时,其相对标准偏差为 1.8%~8.8%。

5.4.2.8.2 准确度:11 个实验室分别测定水源水、出厂水和管网水加标样品,当挥发酚加标浓度为 10.0 μg/L 时,其回收率见表 18。

表 18 挥发酚测定结果的准确度

加标浓度 μg/L	回收率 %		
	水源水	出厂水	管网水
10.0	91.9~110	87.4~107	91.1~112

5.5 阴离子合成洗涤剂

5.5.1 连续流动法

5.5.1.1 适用范围

本方法规定了用连续流动法测定城镇供水及其水源水中的阴离子合成洗涤剂。

本方法适用于城镇供水及其水源水中阴离子合成洗涤剂的测定。

本方法最低检测质量浓度为 0.050 mg/L。

5.5.1.2 原理

样品通过蠕动泵被带入阴离子合成洗涤剂反应单元及模块中,样品中的阴离子合成洗涤剂与碱性亚甲蓝反应形成蓝色化合物,该化合物被氯仿萃取并经相分离器分离,其后用酸性亚甲蓝洗涤氯仿相以

除去氯离子和硝酸根离子等无机阴离子的干扰并在第二个相分离器中再次分离。

在整个反应过程中,样品和各试剂的液流在蠕动泵推动下,按特定的顺序和比例混合,在密闭的管路中连续流动,被系统均匀注入的空气泡分隔成数十个片段流,每个片段流与试剂反应形成微反应单元,反应完全后,于波长 660 nm 处比色测定。

5.5.1.3 试剂和材料

5.5.1.3.1 硫酸($\rho_{20}=1.84$ g/mL):优级纯。

5.5.1.3.2 氢氧化钠溶液($\rho=200$ g/L):称取 200 g 氢氧化钠溶于纯水中,冷却后用纯水稀释至 1 000 mL。

5.5.1.3.3 曲拉通溶液($\phi=50\%$):取 50 mL 异丙醇(C_3H_8O),与等体积曲拉通(Triton X-100)混匀。

5.5.1.3.4 硫酸溶液(1+99):移取 1 mL 硫酸(5.5.1.3.1)至 99 mL 纯水中,混匀。

5.5.1.3.5 亚甲基蓝储备溶液($\rho=0.25$ g/L):称取 0.05 g 亚甲基蓝($C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot 3H_2O$),溶于纯水中,并稀释至 200 mL。

5.5.1.3.6 缓冲溶液储备液:称取 10.0 g 四硼酸钠($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$),用纯水溶解,再加入 10 mL 氢氧化钠溶液(5.5.1.3.2),用纯水稀释至 1 000 mL。

5.5.1.3.7 亚甲基蓝溶液:取 20 mL 亚甲基蓝储备溶液(5.5.1.3.5),用缓冲溶液储备液(5.5.1.3.6)稀释至 100 mL。转移至分液漏斗中,用 10 mL 氯仿进行洗涤,弃去氯仿相并用新的氯仿重复洗涤,直到氯仿层中没有红色为止(通常至少需要 3 次)。然后用 2 号滤纸或玻璃纤维滤纸过滤,临用时配制。

5.5.1.3.8 碱性亚甲基蓝溶液:取 60 mL 亚甲基蓝溶液(5.5.1.3.7),用缓冲溶液储备液(5.5.1.3.6)稀释至 200 mL,加入 20 mL 无水乙醇,混匀。

5.5.1.3.9 酸性亚甲基蓝溶液:称取 10.0 g 磷酸二氢钠(NaH_2PO_4),用纯水溶解,再加入 2 mL 亚甲基蓝储备溶液(5.5.1.3.5)和 1 mL 硫酸溶液(5.5.1.3.4),用纯水稀释至 200 mL。加入 80 mL 无水乙醇,混匀。

5.5.1.3.10 十二烷基苯磺酸钠标准储备溶液[$\rho(DBS)=1.00$ mg/mL]:称取 0.500 g 十二烷基苯磺酸钠($C_{12}H_{25}-C_6H_4SO_3Na$,简称 DBS),用纯水溶解,并稀释至 500 mL。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。

十二烷基苯磺酸钠标准溶液应用纯品配制。如无纯品,可用市售阴离子型洗衣粉提纯。提纯方法为:将洗衣粉用热的 95% 的乙醇处理,滤去不溶物。再将滤液加热挥发去除部分乙醇,过滤,弃去滤液。将滤渣溶于少量热的乙醇中,过滤,如此重复 3 次。然后于十二烷基苯磺酸钠乙醇溶液中加入等体积的纯水,用相当于溶液三分之一体积的石油醚(沸程 30 °C~40 °C)萃洗,分离出石油醚相,按同样步骤连续用石油醚洗涤 5 次,弃去石油醚。最后将十二烷基苯磺酸钠乙醇溶液蒸发至干,在 105 °C 烘烤,得到白色或淡黄色固体,即为纯品。

5.5.1.3.11 十二烷基苯磺酸钠标准使用溶液[$\rho(DBS)=10.0$ μ g/mL]:准确移取 1.00 mL 十二烷基苯磺酸钠标准储备溶液(5.5.1.3.10)于 100 mL 容量瓶中,用纯水定容。

5.5.1.3.12 三氯甲烷:优级纯。

5.5.1.4 仪器

5.5.1.4.1 连续流动分析仪:阴离子合成洗涤剂反应单元及模块、自动进样器、多通道蠕动泵、比色检测器、数据处理系统。

5.5.1.4.2 超声清洗器。

5.5.1.4.3 容量瓶:100 mL。

5.5.1.5 样品

5.5.1.5.1 采集水样应用聚四氟乙烯塑料瓶或玻璃瓶。水样采集时应先检查有无氧化剂。采集含余氯

等氧化剂的水样时,应加适量的抗坏血酸除去干扰。

5.5.1.5.2 样品应于 0℃~4℃冷藏保存,在 24 h 内测定。

5.5.1.6 分析步骤

5.5.1.6.1 参考仪器说明书,安装分析系统,设定系统参数,将工作条件调整至最佳状态。进样管泵入空气,氯仿试剂管泵入氯仿,碱性亚甲蓝和酸性亚甲蓝试剂管泵入无水乙醇。待氯仿进入萃取圈且基线平稳后,进样管泵入纯水,碱性亚甲蓝和酸性亚甲蓝试剂管泵入相应的试剂,待基线再次稳定后进行测定。仪器参考条件见表 19。

仪器参考条件因不同仪器和型号的灵敏度及操作条件的影响而变化时,可根据实际情况酌情进行调整。

表 19 检测阴离子合成洗涤剂的仪器参考条件

进样速率 样品数/h	进样清洗比	流路系统	气泡注入速率 个/s	比色光程 cm
20	0.8 : 1	气泡形状、大小一致,液流间隔均匀	2	1

5.5.1.6.2 标准系列的配制:取 6 个 100 mL 容量瓶,依次准确加入 0 mL,0.50 mL,1.00 mL,2.00 mL,5.00 mL 和 10.00 mL 十二烷基苯磺酸钠标准使用溶液(5.5.1.3.11),用纯水定容,配制成阴离子合成洗涤剂质量浓度为 0 mg/L,0.050 mg/L,0.100 mg/L,0.200 mg/L,0.500 mg/L 和 1.00 mg/L 的标准系列溶液。

5.5.1.6.3 标准曲线的绘制:以标准曲线最高浓度点进样,根据信号值(峰高)大小调整信号放大系数。取适量标准系列溶液分别置于样品杯中,从低浓度到高浓度依次测定,得到不同浓度阴离子合成洗涤剂的信号值(峰高)。以信号值(峰高)为纵坐标,对应的阴离子合成洗涤剂浓度为横坐标,绘制标准曲线。

5.5.1.6.4 取适量待测样品置于样品杯中,按照与标准系列相同的分析条件进行样品测定。当样品浑浊时,可用 0.45 μm 玻璃纤维滤膜过滤或离心处理,但部分待测物可能会被吸附使测定结果偏低。

5.5.1.6.5 取适量纯水置于样品杯中,按照与样品相同的分析条件进行空白试验。

5.5.1.7 结果计算

水样中阴离子合成洗涤剂的质量浓度计算见式(21):

$$\rho = \frac{\Lambda - b}{k} \dots\dots\dots(21)$$

式中:

- ρ——水样中阴离子洗涤剂的质量浓度,单位为微克每升(μg/L);
- Λ——仪器响应的信号值(峰高);
- k——标准曲线的斜率;
- b——标准曲线的截距。

5.5.1.8 精密度和准确度

5.5.1.8.1 精密度:5 个实验室测定纯水加标样品,当阴离子合成洗涤剂加标浓度为 0.050 mg/L 和 0.450 mg/L 时,其相对标准偏差为 1.8%~4.2%和 1.4%~3.1%。

5.5.1.8.2 准确度:5 个实验室分别测定水源水、出厂水和管网水加标样品,当阴离子合成洗涤剂加标浓度为 0.100 mg/L 和 0.300 mg/L 时,其回收率见表 20。

表 20 阴离子合成洗涤剂测定结果的准确度

加标浓度 mg/L	回收率 %		
	水源水	出厂水	管网水
0.100	78.9~98.3	77.5~99.3	77.8~91.1
0.300	74.3~105	78.3~94.0	78.1~107

5.5.2 流动注射法

5.5.2.1 适用范围

本方法规定了用流动注射法测定城镇供水及其水源水中的阴离子合成洗涤剂。

本方法适用于城镇供水及其水源水中阴离子合成洗涤剂的测定。

本方法最低检测质量浓度为 0.050 mg/L。

5.5.2.2 原理

通过蠕动泵将一定体积的样品带入一个试剂溶液连续流动的、无空气间隔的系统反应模块中,与碱性亚甲蓝溶液混合反应形成离子络合物,通过膜相分离器,该离子络合物可被氯仿萃取,以除去环境水样中的蛋白质负向干扰。包含有离子络合物的氯仿与酸性亚甲基蓝溶液混合,反萃取氯仿,以除去其他的正向干扰物如氯离子和硝酸根离子等无机阴离子。于波长 650 nm 处,对包含有离子络合物的氯仿相进行比色分析。

5.5.2.3 试剂和材料

5.5.2.3.1 甲醇溶液(1+4):取 200 mL 甲醇,与 800 mL 的纯水混合,混匀。

5.5.2.3.2 碱性硼酸溶液:称取 6.0 g 氢氧化钠和 28.6 g 四硼酸钠($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$),溶于纯水中,并稀释至 1 000 mL。

5.5.2.3.3 硫酸溶液($c=0.5 \text{ mol/L}$):取 26.9 mL 浓硫酸($\rho_{20}=1.84 \text{ g/mL}$),用纯水稀释至 1 000 mL。

5.5.2.3.4 亚甲蓝储备液($\rho=1.5 \text{ g/L}$):称取 0.75 g 亚甲蓝,用纯水溶解,并稀释至 500 mL。

5.5.2.3.5 三氯甲烷:优级纯。

5.5.2.3.6 碱性亚甲蓝溶液:依次将 120 mL 亚甲蓝储备液(5.5.2.3.4)和 200 mL 碱性硼酸溶液(5.5.2.3.2)加入 1 000 mL 分液漏斗中,混匀。每次加入 50 mL 的三氯甲烷萃取,重复萃取多次,至三氯甲烷为无色或非常明亮的紫色为止,然后将水相放入 2 000 mL 容量瓶中,再加入 400 mL 碱性硼酸溶液(5.5.2.3.2),用纯水定容。

5.5.2.3.7 酸性亚甲蓝溶液:于 1 000 mL 分液漏斗中,分别加入 80 mL 亚甲蓝储备液(5.5.2.3.4)、40 mL 碱性硼酸溶液(5.5.2.3.2)和 300 mL 纯水,混匀。每次加入 50 mL 的三氯甲烷萃取,如此重复多次,至三氯甲烷为无色或非常明亮的紫色为止,然后将水相放入 2 000 mL 容量瓶中,再加入 60 mL 硫酸溶液,用纯水稀释至刻度。

5.5.2.3.8 碱性亚甲蓝使用溶液:分别量取 200 mL 碱性亚甲蓝溶液(5.5.2.3.6)和 200 mL 甲醇溶液(5.5.2.3.1),用纯水稀释至 1 000 mL,混匀。

5.5.2.3.9 酸性亚甲蓝使用溶液:分别量取 300 mL 酸性亚甲蓝溶液(5.5.2.3.7)和 600 mL 纯水,混匀。

5.5.2.3.10 清洗溶液:分别量取 700 mL 纯水、200 mL 甲醇和 100 mL 盐酸于 1 000 mL 容量瓶中,混匀。

5.5.2.3.11 十二烷基苯磺酸钠标准储备溶液 $[\rho(\text{DBS})=1.00 \text{ mg/mL}]$:称取 0.500 g 十二烷基苯磺酸钠($\text{C}_{12}\text{H}_{25}-\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na}$,简称 DBS),溶于纯水中,定容至 500 mL。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。

十二烷基苯磺酸钠标准溶液应用纯品配制。如无纯品,可用市售阴离子型洗衣粉提纯。方法如下:

将洗衣粉用热的 95% 的乙醇处理,滤去不溶物。再将滤液加热挥发去除部分乙醇,过滤,弃去滤液。将滤渣溶于少量热的乙醇中,过滤,如此重复三次。然后于十二烷基苯磺酸钠乙醇溶液中加入等体积的纯水,用相当于溶液三分之一体积的石油醚(沸程 $30\text{ }^\circ\text{C}\sim 40\text{ }^\circ\text{C}$)萃洗,分离出石油醚相,按同样步骤连续用石油醚洗涤 5 次,弃去石油醚。最后将十二烷基苯磺酸钠乙醇溶液蒸发至干,在 $105\text{ }^\circ\text{C}$ 烘烤,得到白色或淡黄色固体,即为纯品。

5.5.2.3.12 十二烷基苯磺酸钠标准使用溶液 $[\rho(\text{DBS})=10.0 \mu\text{g/mL}]$:准确移取 1.00 mL 十二烷基苯磺酸钠标准储备溶液(5.5.2.3.11)于 100 mL 容量瓶中,用纯水定容。

5.5.2.4 仪器

5.5.2.4.1 流动注射分析仪:阴离子合成洗涤剂模块、自动进样器、多通道蠕动泵、比色检测器、数据处理系统。

5.5.2.4.2 超声波清洗器。

5.5.2.4.3 容量瓶:100 mL。

5.5.2.5 样品

5.5.2.5.1 样品的采集按 5.5.1.5.1 的要求。

5.5.2.5.2 样品的保存按 5.5.1.5.2 的要求。

5.5.2.6 分析步骤

5.5.2.6.1 参考仪器说明书,安装分析系统,设定系统参数,将工作条件调整至最佳状态。氯仿泵管进试剂,其他泵管进纯水,检查整个流路系统的密封性及液体流动的顺畅性。待基线稳定后,所有泵管进试剂,继续观察确认进入检测器为氯仿有机相,检测器中不应带入水相,待基线再次稳定后进行测定。仪器参考条件见表 21。

仪器参考条件因不同仪器和型号的灵敏度及操作条件的影响而变化时,可根据实际情况进行调整。

表 21 检测阴离子合成洗涤剂的仪器参考条件

循环周期 s	进样针 清洗时间 s	进样时间 s	到阀时间 s	装载周期 s	注入周期 s	注入到峰 开始时间 s	峰基线 宽度 s
200	15	80	1	109	75	63	130

5.5.2.6.2 标准系列的配制:取 6 个 100 mL 容量瓶,依次准确加入 0 mL,0.50 mL,1.00 mL,2.00 mL,5.00 mL 和 10.00 mL 十二烷基苯磺酸钠标准使用溶液(5.5.2.3.13),用纯水定容,配制成阴离子合成洗涤剂质量浓度为 0 mg/L,0.050 mg/L,0.100 mg/L,0.200 mg/L,0.500 mg/L 和 1.00 mg/L 的标准系列溶液。

5.5.2.6.3 标准曲线的绘制:取适量标准系列溶液分别置于样品杯中,从低浓度到高浓度依次测定,得到不同浓度阴离子合成洗涤剂的信号值(峰面积)。以信号值(峰面积)为纵坐标,对应的阴离子合成洗涤剂浓度(以十二烷基苯磺酸钠计)为横坐标,绘制标准曲线。

5.5.2.6.4 取适量待测样品置于样品杯中,按照与标准系列相同的分析条件进行样品测定。

5.5.2.6.5 取适量纯水置于样品杯中,按照与样品相同的分析条件进行空白试验。

5.5.2.7 结果计算

水样中阴离子合成洗涤剂的质量浓度计算见式(22):

$$\rho = \frac{A - b}{k} \dots\dots\dots(22)$$

式中:

ρ ——水样中阴离子合成洗涤剂的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

A ——仪器响应的信号值(峰面积);

k ——标准曲线的斜率;

b ——标准曲线的截距。

5.5.2.8 精密度和准确度

5.5.2.8.1 精密度:9个实验室测定纯水加标样品,当阴离子合成洗涤剂加标浓度为0.100 mg/L和0.900 mg/L时,其相对标准偏差为0.9%~5.4%和0.7%~4.2%。

5.5.2.8.2 准确度:9个实验室分别测定水源水、出厂水和管网水加标样品,当阴离子合成洗涤剂加标浓度为0.100 mg/L和0.900 mg/L时,其回收率见表22。

表22 阴离子合成洗涤剂测定结果的准确度

加标浓度 mg/L	回收率 %		
	水源水	出厂水	管网水
0.100	80.8~97.1	76.2~98.0	83.0~104
0.900	83.9~111	82.0~98.1	85.9~102

5.6 二氧化硅

5.6.1 适用范围

本方法规定了用硅钼蓝分光光度法测定城镇供水及其水源水中的溶解性二氧化硅。

本方法适用于城镇供水及其水源水中溶解性二氧化硅的测定。

若取50 mL水样,则最低检测质量浓度为0.02 mg/L(以SiO₂计)。

5.6.2 原理

在pH值为1.2时,钼酸铵与二氧化硅和水中磷酸盐起反应,生成硅钼杂多酸,加入草酸可破坏磷钼酸,但不能破坏硅钼酸,用1,2,4-氨基萘酚磺酸将硅钼杂多酸还原为硅钼蓝,其吸光度与二氧化硅浓度成正比,于波长680 nm处比色测定。

5.6.3 试剂和材料

5.6.3.1 本方法所用纯水应为不含二氧化硅的蒸馏水,所有试剂应保存于聚乙烯瓶中。

5.6.3.2 二氧化硅标准储备溶液[$\rho(\text{SiO}_2) = 100 \mu\text{g/mL}$]:准确称取0.100 0 g二氧化硅(优级纯)置于铂坩埚中,加0.33 g无水碳酸钠,混匀。于1 000 °C加热至完全融化、冷却,溶于水,移入1 000 mL容量瓶中,稀释至刻度。贮存于聚乙烯瓶中。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。

5.6.3.3 二氧化硅标准使用溶液[$\rho(\text{SiO}_2)=10.0 \mu\text{g/mL}$]:准确移取 10.00 mL 二氧化硅标准储备溶液(5.6.3.2)于 100 mL 容量瓶中,用纯水稀释定容。

5.6.3.4 盐酸溶液(1+1)。

5.6.3.5 氢氧化钠溶液($\rho=8 \text{ g/L}$):称取 0.8 g 氢氧化钠溶于纯水中,并稀释至 100 mL。

5.6.3.6 草酸溶液($\rho=70 \text{ g/L}$):称取 7 g 草酸($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$),用纯水溶解,并稀释至 100 mL。

5.6.3.7 1,2,4-氨基萘酚磺酸溶液($\rho=2.5 \text{ g/L}$):将 30.0 g 亚硫酸氢钠(NaHSO_3)溶于 100 mL 纯水中,加入 1.0 g 亚硫酸钠和 0.5 g 的 1,2,4-氨基萘酚磺酸[1-氨基-2-萘酚-4-磺酸($\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}_4\text{NS}$)],溶解后稀释至 200 mL。

5.6.3.8 钼酸铵溶液($\rho=100 \text{ g/L}$):称取 10 g 钼酸铵[$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$],用纯水溶解并稀释至 100 mL,必要时可过滤,用氢氧化钠或氨水调 pH 值至 8。

5.6.3.9 对硝基酚指示剂($\rho=1 \text{ g/L}$):称取 0.1 g 对硝基酚($\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$),用纯水溶解并稀释至 100 mL。

5.6.4 仪器

5.6.4.1 分光光度仪。

5.6.4.2 具塞比色管:50 mL。

5.6.5 样品

应选用聚乙烯塑料瓶采集样品。样品采集后应于 $0 \text{ }^\circ\text{C} \sim 4 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下保存,在 7 d 内进行测定。

5.6.6 分析步骤

5.6.6.1 吸取适量水样(视二氧化硅含量而定)于 50 mL 具塞比色管中,用纯水稀释至 50 mL 刻度。当水样为酸性时,应先加 3 滴对硝基酚指示剂(5.6.3.9),滴加氢氧化钠溶液(5.6.3.5)到恰显黄色,再用纯水稀释至 50 mL 刻度。

5.6.6.2 分别准确吸取 0 mL,0.50 mL,1.00 mL,2.00 mL,5.00 mL 和 10.00 mL 二氧化硅标准使用溶液(5.6.3.3)于 50 mL 具塞比色管中,用纯水稀释至刻度,配制成浓度为 0 mg/L,0.10 mg/L,0.20 mg/L,0.40 mg/L,1.00 mg/L 和 2.00 mg/L 的标准系列溶液。

5.6.6.3 向水样及标准系列中迅速连续加入 1.0 mL 盐酸溶液(5.6.3.4)和 2.0 mL 钼酸铵溶液(5.6.3.8),混匀,放置 5 min~30 min。放置时间与温度有关,温度低于 $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 时放置 30 min,温度在 $30 \text{ }^\circ\text{C} \sim 35 \text{ }^\circ\text{C}$ 时放置 10 min,温度高于 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 时,放置 5 min。

5.6.6.4 加入 2.0 mL 草酸溶液(5.6.3.6),充分摇匀,放置 2 min~15 min,加入 2.0 mL 1,2,4-氨基萘酚磺酸溶液(5.6.3.7),充分摇匀,放置 5 min。

5.6.6.5 在 680 nm 波长处,用 1 cm 比色皿,以纯水作参比测量样品及标准系列溶液的吸光度。

5.6.6.6 标准曲线的绘制:以各标准溶液中所含二氧化硅的质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

5.6.7 结果计算

水样中二氧化硅(SiO_2)质量浓度的计算见式(23):

$$\rho(\text{SiO}_2) = \frac{A - b}{k} \dots\dots\dots(23)$$

式中:

$\rho(\text{SiO}_2)$ ——水样中二氧化硅(SiO_2)的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

A ——水样中二氧化硅(SiO_2)测定的吸光度;

- k ——标准曲线的斜率；
 b ——标准曲线的截距。

5.6.8 精密度和准确度

5.6.8.1 精密度:6个实验室测定二氧化硅浓度为 0.40 mg/L 和 12.0 mg/L 的人工合成水样,其平均相对标准偏差分别为 6.4%和 2.2%。

5.6.8.2 准确度:6个实验室测定自来水加标样品,当二氧化硅加标浓度为 0.60 mg/L 和 6.0 mg/L 时,其平均回收率为 100%和 99.7%。

6 有机物指标

6.1 氯乙烯

6.1.1 适用范围

本方法规定了用吹扫捕集/气相色谱-质谱法测定城镇供水及其水源水中的 22 种挥发性有机化合物(VOC)。

本方法适用于城镇供水及其水源水中 22 种挥发性有机化合物,包括氯乙烯、1,1-二氯乙烯、二氯甲烷、反式-1,2-二氯乙烯、顺式-1,2-二氯乙烯、三氯甲烷、1,2-二氯乙烷、1,1,1-三氯乙烷、四氯化碳、三氯乙烯、一溴二氯甲烷、1,1,2-三氯乙烷、二溴一氯甲烷、四氯乙烯、氯苯、三溴甲烷、1,4-二氯苯、1,2-二氯苯、1,3,5-三氯苯、1,2,4-三氯苯、1,2,3-三氯苯和六氯丁二烯的测定。

若取 5 mL 水样测定,本方法中 22 种挥发性有机化合物的最低检测质量浓度见表 23。

表 23 22 种挥发性有机化合物的最低检测质量浓度

中文名称	英文名称	CAS 号	最低检测质量浓度 μg/L
氯乙烯	Chloroethene	75-01-4	0.68
1,1-二氯乙烯	1,1-Dichloroethene	75-35-4	0.80
二氯甲烷	Dichloromethane	75-09-2	0.48
反式-1,2-二氯乙烯	trans-1,2-Dichloroethene	156-60-5	0.48
顺式-1,2-二氯乙烯	cis-1,2-Dichloroethene	156-59-2	0.40
三氯甲烷	Chloroform	67-66-3	0.36
1,2-二氯乙烷	1,2-Dichloroethane	107-06-2	0.40
1,1,1-三氯乙烷	1,1,1-Trichloroethane	71-55-6	0.44
四氯化碳	Carbon tetrachloride	56-23-5	0.88
三氯乙烯	Trichloroethylene	79-01-6	0.60
一溴二氯甲烷	Bromodichloromethane	75-27-4	0.36
1,1,2-三氯乙烷	1,1,2-Trichloroethane	79-00-5	0.44
二溴一氯甲烷	Dibromochloromethane	124-48-1	0.28
四氯乙烯	Tetrachloroethylene	127-18-4	0.72
氯苯	Chlorobenzene	108-90-7	0.48

表 23 (续)

中文名称	英文名称	CAS号	最低检测质量浓度 μg/L
三溴甲烷	Bromoform	75-25-2	0.44
1,4-二氯苯	1,4-Dichlorobenzene	106-46-7	0.36
1,2-二氯苯	1,2-Dichlorobenzene	95-50-1	0.40
1,3,5-三氯苯	1,3,5-Trichlorobenzene	108-70-3	0.72
1,2,4-三氯苯	1,2,4-Trichlorobenzene	120-82-1	0.68
六氯丁二烯	Hexachlorobutadiene	87-68-3	0.44
1,2,3-三氯苯	1,2,3-Trichlorobenzene	87-61-6	0.72

6.1.2 原理

被测水样经注射器或自动进样设备被注入吹扫捕集装置的吹脱管中,水样中低水溶性的挥发性有机物在室温下经惰性气体(氮气或氦气)吹扫吸附于装有适当吸附剂的捕集管内。吹扫程序完成后,捕集管被加热并以氮气或氦气反吹,将所吸附的组分解吸入气相色谱仪(GC)中,目标化合物经程序升温色谱分离后,用质谱仪(MS)检测。通过与待测目标化合物标准质谱图和保留时间相比较进行定性分析,外标法进行定量分析。

6.1.3 试剂和材料

6.1.3.1 甲醇:色谱纯。

6.1.3.2 纯水:将纯水在 90 °C 水浴中用氮气吹脱 15 min,临用时配制。纯水中不应有干扰测定的杂质。

6.1.3.3 盐酸溶液(1+1)。

6.1.3.4 载气:氮气或氦气,纯度大于或等于 99.999%。

6.1.3.5 22 种 VOC 标准储备溶液:使用市售具有标准物质证书的混合标准溶液或单组分标准溶液,常用浓度为 100 mg/L~1 000 mg/L,避光于 0 °C~4 °C 保存。

6.1.3.6 22 种 VOC 标准使用溶液:移取一定量的 VOC 标准储备溶液(6.1.3.5)至预先装有甲醇(6.1.3.1)的容量瓶中,用甲醇定容,配制成混合标准使用溶液,其浓度应便于配制标准系列溶液。配制的 VOC 标准使用溶液置于聚四氟乙烯(PTFE)封口的螺口瓶中,尽量减少瓶内的液上顶空,避光于 0 °C~4 °C 保存。

6.1.3.7 校准标准溶液($\rho=25$ mg/L):全氟三丁胺(PFTBA)或 4-溴氟苯(BFB)溶液,用甲醇(6.1.3.1)配制。

6.1.3.8 抗坏血酸。

6.1.4 仪器

6.1.4.1 气相色谱-质谱联用仪:气相色谱仪部分具有分流/不分流进样口,可程序升温,所有的玻璃元件均用硅烷化试剂处理脱活。质谱仪部分在 0.7 s 内可由 35 amu 扫描至 265 amu,使用电子电离源(EI)方式离子化,标准电子能量为 70 eV。

6.1.4.2 毛细管色谱柱,可使用以下色谱柱或其他性能等效的色谱柱:

- a) 色谱柱 1:DB-VRX(0.18 mm×20 m,1.0 μm);
- b) 色谱柱 2:DB-624(0.32 mm×30 m,1.8 μm);

c) 色谱柱 3:RTX-VMS(0.25 mm×30 m,1.4 μm)。

6.1.4.3 吹扫捕集装置:包括吹扫装置、捕集管和脱附装置。

6.1.4.4 样品瓶:带螺旋盖及聚四氟乙烯垫片的 2 mL、40 mL 棕色玻璃瓶。

6.1.4.5 注射器:5 mL,带 PTFE 鲁尔锁(Luer-Lock)紧头。

6.1.5 样品

6.1.5.1 采样时,使水样在样品瓶中溢流出不留气泡。当从水龙头采样时,应先打开龙头放水至水温稳定(约 3 min~5 min),调节水流速度约为 500 mL/min,从流水中采集样品;当从开放的水体中采样时,应先用 1 L 的广口瓶或烧杯从有代表性的区域中采样,再小心把水样从广口瓶或烧杯中倒入样品瓶中。

对于含余氯等氧化剂的样品,采样前在 40 mL 样品瓶中先加入 25 mg 的抗坏血酸(6.1.3.8)。待样品瓶中充满水样并溢流后,用盐酸溶液(6.1.3.3)作保存剂调节样品使 pH 值小于 2,密封样品瓶,垫片的聚四氟乙烯面应朝下。当在含保存剂的样品瓶中加入水样产生大量气泡时,应重新采集水样,并不再加入保存剂,并在样品上标明“未酸化”。

6.1.5.2 样品应于 0 °C~4 °C 冷藏保存。“未酸化”的样品保存期为 24 h,酸化后的样品保存期为 14 d。

6.1.6 分析步骤

6.1.6.1 吹扫捕集装置参考条件

吹扫温度:室温;吹扫时间:11 min;解吸温度:250 °C;解吸时间:1 min;烘烤温度:270 °C;烘烤时间:4 min;进样量:5 mL;吹扫气体:氮气或氦气,纯度不小于 99.999%,流量为 40 mL/min。

注:吹扫装置在每次开机后和关机前宜进行一次不进样的吹扫程序,系统无污染后方可开始实验或关机。

6.1.6.2 气相色谱仪参考条件

进样口温度:250 °C;进样方式:分流;分流比为 50:1;载气流速:1.0 mL/min。

升温程序:初始温度 40 °C,保持 3 min,10 °C/min 升温至 100 °C,25 °C/min 升温至 225 °C,保持 3 min。

6.1.6.3 质谱仪参考条件

离子源温度:230 °C;接口温度:250 °C;四极杆温度:150 °C;扫描方式:全扫描(SCAN);扫描范围:35 amu~265 amu;扫描时间:0.45 s;回扫时间:0.05 s。

6.1.6.4 仪器校准

使用校准标准溶液(6.1.3.7)对仪器性能进行检查,得到的关键离子丰度应满足要求,否则应重新调谐质谱仪直至符合要求。

6.1.6.5 工作曲线的绘制

取 6 个预先装有纯水(6.1.3.2)的 50 mL 容量瓶,依次准确加入一定量的混合标准使用溶液(6.1.3.6),用纯水(6.1.3.2)定容,配制成浓度为 0 μg/L,1.0 μg/L,5.0 μg/L,10.0 μg/L,20.0 μg/L 和 40.0 μg/L 的标准系列溶液。置于吹扫捕集装置上,根据以上参考条件,按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以色谱峰面积为纵坐标,以质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

6.1.6.6 样品测定

6.1.6.6.1 将样品恢复至室温,用 5 mL 注射器抽出略大于 5 mL 的水样,倒转注射器,排除空气,使水样体积为 5.0 mL,立即注入吹扫捕集装置中,根据设定好的仪器条件上机测定。

6.1.6.6.2 色谱图的考察:挥发性有机化合物的总离子流标准色谱图,见图 1。

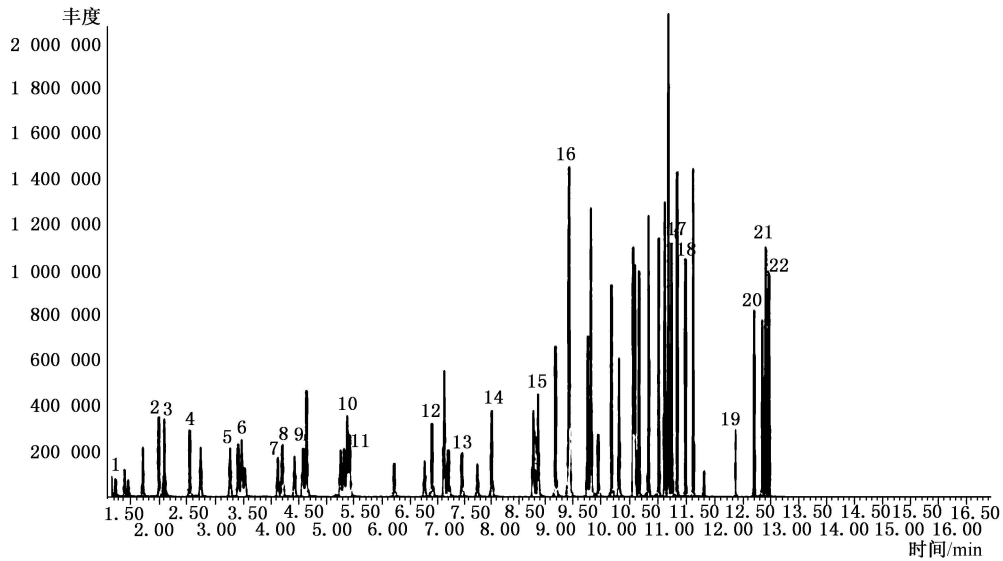


图 1 挥发性有机化合物总离子流标准色谱图

6.1.6.6.3 定性分析:以目标化合物保留时间和标准物质质谱图比较进行定性分析。各组分的出峰顺序、参考保留时间和定量离子见表 24。

6.1.6.6.4 定量分析:外标法。

表 24 各组分的出峰顺序、参考保留时间和定量离子

出峰顺序	被测组分	保留时间/min	定量离子 m/z
1	氯乙烯	1.233	62
2	1,1-二氯乙烯	2.011	96
3	二氯甲烷	2.108	84
4	反式-1,2-二氯乙烯	2.567	96
5	顺式-1,2-二氯乙烯	3.297	96
6	三氯甲烷	3.498	83
7	1,2-二氯乙烷	4.152	62
8	1,1,1-三氯乙烷	4.235	97
9	四氯化碳	4.603	117
10	三氯乙烯	5.403	132
11	一溴二氯甲烷	5.451	83
12	1,1,2-三氯乙烷	6.925	83
13	二溴一氯甲烷	7.467	129
14	四氯乙烯	8.002	166
15	氯苯	8.836	112
16	三溴甲烷	9.371	173

表 24 (续)

出峰顺序	被测组分	保留时间/min	定量离子 m/z
17	1,4-二氯苯	11.240	146
18	1,2-二氯苯	11.491	146
19	1,3,5-三氯苯	12.387	180
20	1,2,4-三氯苯	12.728	180
21	六氯丁二烯	12.936	225
22	1,2,3-三氯苯	12.999	180

6.1.7 结果计算

水样中目标化合物的质量浓度计算见式(24)：

$$\rho_i = \frac{\Lambda - b}{k} \dots\dots\dots (24)$$

式中：

ρ_i ——水样中目标化合物的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$)；

Λ ——水样中目标化合物对应的定量离子峰面积；

k ——工作曲线斜率；

b ——工作曲线截距。

6.1.8 精密度和准确度

6.1.8.1 精密度:11 个实验室测定 22 种挥发性有机化合物(VOC)纯水加标样品,其相对标准偏差见表 25。

表 25 22 种挥发性有机化合物测定结果的精密度

被测组分	实验室内相对标准偏差/%		实验室间相对标准偏差/%	
	1.00 $\mu\text{g/L}$	10.0 $\mu\text{g/L}$	1.00 $\mu\text{g/L}$	10.0 $\mu\text{g/L}$
氯乙烯	2.1~17	2.5~13	12	13
1,1-二氯乙烯	1.8~7.9	1.0~16	10	8.4
二氯甲烷	1.2~17	2.4~13	5.1	9.7
顺式-1,2-二氯乙烯	1.8~7.5	0.9~10	9.5	11
反式-1,2-二氯乙烯	1.3~11	1.0~13	10	7.2
三氯甲烷	1.6~13	2.1~11	4.8	12
1,2-二氯乙烷	2.1~7.8	1.0~9.4	12	7.4
1,1,1-三氯乙烷	2.0~9.8	1.0~9.9	10	11
四氯化碳	1.6~11	1.0~8.3	9.0	10
三氯乙烯	2.6~8.2	0.9~11	7.4	8.4
一溴二氯甲烷	1.6~8.4	2.2~10	13	6.4
1,1,2-三氯乙烷	1.8~7.0	2.3~8.2	8.5	8.2

表 25 (续)

被测组分	实验室内相对标准偏差/%		实验室间相对标准偏差/%	
	1.00 $\mu\text{g/L}$	10.0 $\mu\text{g/L}$	1.00 $\mu\text{g/L}$	10.0 $\mu\text{g/L}$
二溴一氯甲烷	2.3~9.0	2.8~9.7	14	10
四氯乙烯	0.8~14	0.9~8.2	11	8.9
氯苯	1.3~12	0.8~9.6	9.1	10
三溴甲烷	3.6~5.9	1.8~8.9	13	11
1,4-二氯苯	1.1~12	0.9~11	7.5	9.7
1,2-二氯苯	1.7~9.8	0.8~11	6.9	7.8
1,3,5-三氯苯	1.4~17	0.9~12	8.6	12
1,2,4-三氯苯	1.4~15	1.0~12	7.2	11
六氯丁二烯	1.5~19	1.1~17	9.8	9.3
1,2,3-三氯苯	1.4~14	0.9~12	5.3	11

6.1.8.2 准确度:11个实验室测定22种挥发性有机化合物(VOC)的纯水、水源水和自来水加标样品,其回收率见表26。

表 26 22种挥发性有机物测定结果的准确度

被测组分	回收率 %					
	加标浓度为1.00 $\mu\text{g/L}$			加标浓度为10.0 $\mu\text{g/L}$		
	纯水	水源水	自来水	纯水	水源水	自来水
氯乙烯	82.1~114	75.7~114	79.0~99.0	74.1~115	71.3~106	74.0~110
1,1-二氯乙烯	78.5~109	77.1~108	77.1~110	85.3~108	86.1~110	80.8~106
二氯甲烷	87.5~110	77.1~106	81.0~118	76.9~109	82.5~111	75.5~108
顺式-1,2-二氯乙烯	82.4~108	77.6~108	77.6~111	82.5~114	87.3~114	81.6~105
反式-1,2-二氯乙烯	86.3~108	78.0~111	78.0~113	82.8~101	86.7~112	85.0~112
三氯甲烷	85.7~110	76.0~110	86.0~122	72.0~104	75.0~112	79.9~114
1,2-二氯乙烷	79.1~127	74.9~114	79.1~123	83.6~110	84.0~113	84.8~109
1,1,1-三氯乙烷	81.0~102	78.7~113	80.1~111	80.4~115	80.7~112	82.3~116
四氯化碳	78.8~104	76.3~112	76.3~108	83.5~116	82.9~113	82.7~113
三氯乙烯	86.4~109	82.0~117	81.0~117	79.1~103	79.2~110	83.2~116
一溴二氯甲烷	73.6~108	76.6~113	75.1~119	84.6~102	83.6~112	89.7~119
1,1,2-三氯乙烷	82.0~105	79.0~114	81.0~107	82.0~107	88.0~113	82.1~119
二溴一氯甲烷	76.0~108	75.9~115	78.7~123	83.2~116	84.5~114	86.2~116
四氯乙烯	74.9~107	74.0~111	78.3~111	81.0~107	86.8~108	85.7~106
氯苯	82.7~111	79.3~117	80.8~116	79.8~111	86.4~112	79.2~112

表 26 (续)

被测组分	回收率 %					
	加标浓度为 1.00 $\mu\text{g/L}$			加标浓度为 10.0 $\mu\text{g/L}$		
	纯水	水源水	自来水	纯水	水源水	自来水
三溴甲烷	70.2~113	76.3~116	72.0~117	85.5~125	88.4~117	89.6~112
1,4-二氯苯	75.7~112	81.4~114	80.0~115	80.7~109	79.5~110	80.5~113
1,2-二氯苯	76.7~104	84.0~113	84.4~117	85.1~106	82.2~110	86.6~112
1,3,5-三氯苯	85.4~108	84.4~110	85.9~109	83.8~119	86.5~112	83.8~119
1,2,4-三氯苯	84.0~105	82.0~112	85.0~118	81.9~115	83.7~110	80.4~121
六氯丁二烯	82.0~117	82.6~116	85.1~111	85.6~118	84.2~118	80.3~121
1,2,3-三氯苯	76.0~103	85.0~110	82.0~116	82.5~116	86.5~112	80.9~119

6.2 1,1,1-三氯乙烷

吹扫捕集/气相色谱-质谱法按 6.1 的要求。

6.3 1,1,2-三氯乙烷

吹扫捕集/气相色谱-质谱法按 6.1 的要求。

6.4 四氯化碳

吹扫捕集/气相色谱-质谱法按 6.1 的要求。

6.5 1,2-二氯乙烷

吹扫捕集/气相色谱-质谱法按 6.1 的要求。

6.6 1,1-二氯乙烯

吹扫捕集/气相色谱-质谱法按 6.1 的要求。

6.7 1,2-二氯乙烯

吹扫捕集/气相色谱-质谱法按 6.1 的要求。

1,2-二氯乙烯包括顺式 1,2-二氯乙烯和反式 1,2-二氯乙烯。

6.8 三氯乙烯

吹扫捕集/气相色谱-质谱法按 6.1 的要求。

6.9 四氯乙烯

吹扫捕集/气相色谱-质谱法按 6.1 的要求。

6.10 六氯丁二烯

吹扫捕集/气相色谱-质谱法按 6.1 的要求。

6.11 苯

6.11.1 吹扫捕集/气相色谱-质谱法

6.11.1.1 适用范围

本方法规定了用吹扫捕集/气相色谱-质谱法测定城镇供水及其水源水中的苯、甲苯、乙苯、二甲苯和苯乙烯。

本方法适用于城镇供水及其水源水中苯、甲苯、乙苯、二甲苯、苯乙烯的测定。

若取 5 mL 水样测定,本方法的最低检测质量浓度为:苯,0.28 $\mu\text{g/L}$;甲苯,0.60 $\mu\text{g/L}$;乙苯,0.52 $\mu\text{g/L}$;间二甲苯和对二甲苯,1.0 $\mu\text{g/L}$;邻二甲苯,0.48 $\mu\text{g/L}$;苯乙烯,0.48 $\mu\text{g/L}$ 。

6.11.1.2 原理

将被测水样注入吹扫捕集装置的吹脱管中,通入氦气后,水样中的苯系物被吹脱出来,捕集在装有适当吸附剂的捕集管内。吹脱程序完成后,捕集管被瞬间加热并以氦气反吹,将所吸附的苯系物解吸并吹入气相色谱仪中,苯系物经程序升温分离后,用质谱仪检测。

通过与待测目标化合物标准质谱图和保留时间相比较进行定性分析,用外标法进行定量分析。

6.11.1.3 试剂和材料

6.11.1.3.1 甲醇:色谱纯。

6.11.1.3.2 抗坏血酸。

6.11.1.3.3 盐酸溶液($c=4.0 \text{ mol/L}$):取 33.3 mL 浓盐酸,用纯水稀释至 100 mL。

6.11.1.3.4 苯系物标准品:苯、甲苯、乙苯、邻二甲苯、间二甲苯、对二甲苯、苯乙烯,均为色谱纯。

6.11.1.3.5 苯系物标准储备溶液($\rho=1\ 000 \text{ mg/L}$):准确称取苯、甲苯、乙苯、邻二甲苯、间二甲苯、对二甲苯和苯乙烯的标准品(6.11.1.3.4)100 mg,分别置于 100 mL 容量瓶中,用甲醇(6.11.1.3.1)溶解并定容。推荐使用市售具有标准物质证书的混合标准溶液或单组分标准溶液。

6.11.1.3.6 苯系物标准使用溶液($\rho=5.00 \text{ mg/L}$):准确移取 50 μL 苯系物标准储备溶液(6.11.1.3.5)至预先装有一定体积甲醇(6.11.1.3.1)的 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容。

6.11.1.3.7 载气:氮气或氦气,纯度大于等于 99.999%。

6.11.1.4 仪器

6.11.1.4.1 气相色谱-质谱联用仪:气相色谱仪部分具有分流/不分流进样口,可程序升温,所有的玻璃元件均应用硅烷化试剂处理脱活。质谱仪部分配有电子电离源(ED),标准电子能量为 70 eV。

6.11.1.4.2 吹扫捕集装置:配有 Tenax/SilicaGel/Charcoal 捕集管或其他等效捕集管,5 mL 吹扫管,5 mL 注射器,也可选用 25 mL 吹扫系统。

6.11.1.4.3 色谱柱:DB-VRX(0.25 mm \times 30 m,1.40 μm)或其他等效色谱柱。

6.11.1.4.4 样品瓶:带螺旋盖及聚四氟乙烯垫片的 40 mL 棕色玻璃瓶。

6.11.1.5 样品

6.11.1.5.1 样品采集时,对于含余氯等氧化剂的样品,应在 40 mL 样品瓶中先加入 25 mg 的抗坏血酸(6.11.1.3.2)。水样采集后用盐酸溶液(6.11.1.3.3)调节 pH 值小于 2,使水样在样品瓶中溢流出而不留气泡,再密封样品瓶。

6.11.1.5.2 样品应于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保存,保存期为 7 d。

6.11.1.6 分析步骤

6.11.1.6.1 吹扫捕集装置参考条件

吹扫温度:室温;吹扫时间:9 min;解吸温度:220 °C;解吸时间:1 min;烘烤温度:270 °C;烘烤时间:2 min;进样量:5 mL;吹扫气体:氮气或氦气,纯度大于或等于 99.999%,流量为 30 mL/min。

6.11.1.6.2 气相色谱仪参考条件

进样口温度:150 °C;进样方式:分流,分流比为 10:1;载气流速:1.0 mL/min。

升温程序:初始温度 40 °C,保持 5 min,5 °C/min 升温至 90 °C,20 °C/min 升温至 170 °C。

6.11.1.6.3 质谱仪参考条件

离子源温度:230 °C;传输线温度:235 °C;四极杆温度:150 °C;溶剂延迟时间:6 min;扫描方式:选择离子监测模式(SIM);扫描范围:45 amu~350 amu。

苯系物质谱的特征离子见表 27。

表 27 苯系物质谱特征离子

中文名称	英文名称	定量离子 <i>m/z</i>	定性离子 <i>m/z</i>
苯	Benzene	78.1	/
甲苯	Toluene	91.1	92.1
乙苯	Ethyl-Benzene	91.1	106.1
邻二甲苯	o-Xylene	91.1	106.1
间二甲苯	m-Xylene	91.1	106.1
对二甲苯	p-Xylene	91.1	106.1
苯乙烯	Styrene	104	78

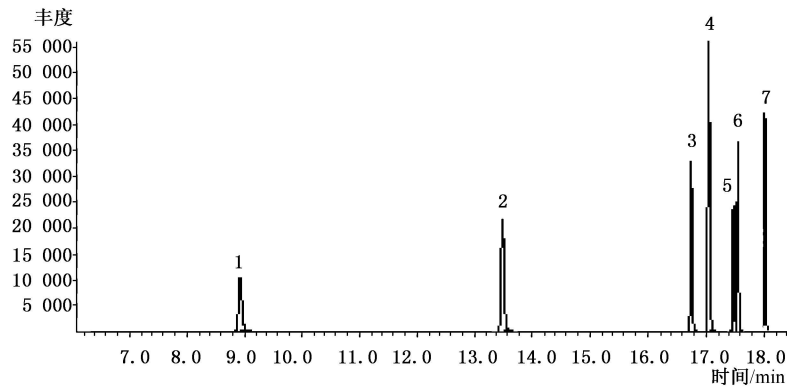
6.11.1.6.4 标准曲线的绘制

取 6 个 25 mL 容量瓶,预先装有一定量纯水,依次准确加入 0 μ L, 10.0 μ L, 25.0 μ L, 50.0 μ L, 100 μ L 和 250 μ L 的苯系物标准使用溶液(6.11.1.3.6),用纯水定容,配制成浓度为 0 μ g/L, 2.00 μ g/L, 5.00 μ g/L, 10.0 μ g/L, 20.0 μ g/L, 50.0 μ g/L 的标准系列。根据样品测定步骤,按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以色谱峰面积为纵坐标,以质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

6.11.1.6.5 样品测定

6.11.1.6.5.1 进样:将样品恢复至室温,用 5 mL 注射器抽出略大于 5 mL 的水样,倒转注射器,排除空气,使水样体积为 5.0 mL,立即注入吹扫捕集装置中,根据设定好的仪器条件进行分析。

6.11.1.6.5.2 色谱图的考察:苯系物的标准色谱图,见图 2。



说明：

- 1——苯；
- 2——甲苯；
- 3——乙苯；
- 4——间二甲苯和对二甲苯；
- 5——苯乙烯；
- 6——邻二甲苯；
- 7——异丙苯。

图 2 苯系物标准色谱图

6.11.1.6.5.3 定性分析：目标化合物以色谱保留时间和质谱特征离子谱图进行定性。各组分出峰顺序为：苯、甲苯、乙苯、间二甲苯和对二甲苯、苯乙烯、邻二甲苯、异丙苯。

6.11.1.6.5.4 定量分析：外标法。

6.11.1.7 结果计算

水样中苯系物的质量浓度计算见式(25)：

$$\rho_i = \frac{A - b}{k} \dots\dots\dots (25)$$

式中：

- ρ_i ——水样中目标化合物的质量浓度，单位为微克每升($\mu\text{g/L}$)；
- A ——水样中目标化合物对应的色谱峰积分面积；
- k ——标准曲线斜率；
- b ——标准曲线截距。

6.11.1.8 精密度和准确度

6.11.1.8.1 精密度：12 个实验室测定纯水加标样品，当加入两种不同浓度的苯系物标准溶液时，其相对标准偏差见表 28。

表 28 苯系物测定结果的精密度

被测组分	加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	相对标准偏差/%
苯	3.00	1.4~8.4
	27.0	0.54~9.4
甲苯	3.00	1.8~8.8
	27.0	0.97~10
乙苯	3.00	1.6~9.4
	27.0	1.2~9.9
间二甲苯	3.00	2.0~16
	27.0	1.2~9.7
对二甲苯	3.00	1.3~12
	27.0	0.74~11
邻二甲苯	3.00	1.4~10
	27.0	1.2~9.8
苯乙烯	3.00	1.4~8.4
	27.0	0.54~9.4

6.11.1.8.2 准确度:12个实验室分别测定水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入两种不同浓度的苯系物标准溶液时,其回收率见表 29。

表 29 苯系物测定结果的准确度

被测组分	加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	回收率/%		
		水源水	出厂水	管网水
苯	3.00	90.8~108	85.3~107	91.3~111
	27.0	90.3~121	89.0~125	87.8~130
甲苯	3.00	86.6~121	85.8~107	88.2~108
	27.0	90.6~116	89.1~122	88.9~127
乙苯	3.00	92.6~105	81.8~109	82.8~109
	27.0	89.6~107	88.3~107	87.8~107
间二甲苯	3.00	80.7~115	82.9~104	84.0~107
	27.0	91.8~108	92.0~106	91.3~107
对二甲苯	3.00	91.2~103	82.9~104	84.0~107
	27.0	91.8~108	92.0~106	91.3~107
邻二甲苯	3.00	86.6~104	82.2~107	82.9~107
	27.0	92.1~105	91.5~106	90.8~106
苯乙烯	3.00	80.7~116	87.0~117	90.5~108
	27.0	89.9~108	86.9~106	87.3~107

6.11.2 吹扫捕集/气相色谱法

6.11.2.1 适用范围

本方法规定了用吹扫捕集/气相色谱法测定城镇供水及其水源水中的苯、甲苯、乙苯、二甲苯和苯乙烯。

本方法适用于城镇供水及其水源水中苯、甲苯、乙苯、二甲苯、苯乙烯的测定。

若取 5 mL 水样测定,本方法的最低检测质量浓度为:苯,1.4 $\mu\text{g/L}$;甲苯,1.4 $\mu\text{g/L}$;乙苯,0.96 $\mu\text{g/L}$;对二甲苯,1.4 $\mu\text{g/L}$;间二甲苯,1.4 $\mu\text{g/L}$;邻二甲苯,2.1 $\mu\text{g/L}$;苯乙烯,0.96 $\mu\text{g/L}$ 。

6.11.2.2 原理

将被测水样注入吹扫捕集装置的吹脱管中,通入的氮气(或氦气)将水样中的苯系物吹脱出来,捕集在装有适当吸附剂的捕集管内。吹脱程序完成后,捕集管被瞬间加热并以氮气(或氦气)反吹,将所吸附的苯系物解吸并吹入气相色谱仪(GC)中,苯系物经程序升温分离后,用氢火焰离子化检测器(FID)检测。

通过与待测目标化合物色谱保留时间相比较进行定性分析,用外标法进行定量分析。

6.11.2.3 试剂和材料

6.11.2.3.1 甲醇:色谱纯。

6.11.2.3.2 抗坏血酸。

6.11.2.3.3 盐酸溶液($c=4.0 \text{ mol/L}$):取浓盐酸 33.3 mL,用纯水稀释至 100 mL。

6.11.2.3.4 苯系物标准品:苯、甲苯、乙苯、邻二甲苯、间二甲苯、对二甲苯、苯乙烯,均为色谱纯。

6.11.2.3.5 苯系物标准储备溶液($\rho=1\ 000 \text{ mg/L}$):准确称取苯、甲苯、乙苯、邻二甲苯、间二甲苯、对二甲苯和苯乙烯的标准品 100 mg,分别置于 100 mL 容量瓶中,用甲醇(6.11.2.3.1)溶解并定容。推荐使用市售具有标准物质证书的混合标准溶液或单组分标准溶液。

6.11.2.3.6 苯系物标准使用溶液($\rho=5.00 \text{ mg/L}$):准确移取 50 μL 苯系物标准储备溶液(6.11.2.3.5)至预先装有一定体积甲醇(6.11.2.3.1)的 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容。

6.11.2.3.7 载气:氮气或氦气,纯度大于或等于 99.999%。

6.11.2.3.8 燃烧气:氢气。

6.11.2.3.9 助燃气:压缩空气。

6.11.2.4 仪器

6.11.2.4.1 气相色谱仪:具有分流/不分流进样口,能对载气进行电子压力控制,可程序升温。

6.11.2.4.2 氢火焰离子化检测器(FID)。

6.11.2.4.3 吹扫捕集装置:配有 Tenax/SilicaGel/Charcoal 捕集管或其他等效捕集管、5 mL 吹扫管和 5 mL 注射器。

6.11.2.4.4 色谱柱:DB-WAX(0.25 mm \times 30 m,0.25 μm)或其他性能等效的色谱柱。

6.11.2.4.5 氢气发生器:氢气纯度大于或等于 99.99%。

6.11.2.4.6 样品瓶:带螺旋盖及聚四氟乙烯垫片的 40 mL 棕色玻璃瓶。

6.11.2.5 样品

6.11.2.5.1 按 6.11.1.5.1 的要求。

6.11.2.5.2 按 6.11.1.5.2 的要求。

6.11.2.6 分析步骤

6.11.2.6.1 吹扫捕集条件

吹扫温度:室温;吹扫时间:9 min;解吸温度:220 °C;解吸时间:1 min;烘烤温度:270 °C;烘烤时间:2 min;进样量:5 mL;吹扫气体:氮气或氦气,纯度大于等于 99.999%,流量为 30 mL/min。

6.11.2.6.2 气相色谱条件

进样口温度:150 °C;进样方式:分流,分流比为 10 : 1;载气流速:1.0 mL/min;氢火焰离子化检测器(FID)温度:250 °C;氢气流速:35 mL/min;空气流速:400 mL/min;尾吹流速:25 mL/min。

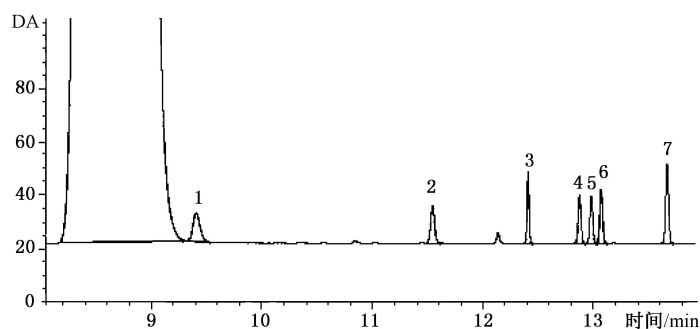
升温程序:初始温度 40 °C,保持 5 min,5 °C/min 升温至 90 °C,20 °C/min 升温至 170 °C。

6.11.2.6.3 标准曲线的绘制:分别移取 0 μL , 10.0 μL , 25.0 μL , 50.0 μL , 100 μL , 250 μL 的苯系物标准使用溶液(6.11.2.3.6)至预先装有约 10 mL 纯水的 25 mL 容量瓶中,用纯水定容,配制成浓度为 0 $\mu\text{g/L}$, 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 $\mu\text{g/L}$ 的标准系列溶液。根据样品测定步骤,按照浓度从低到高的顺序,依次上机分析。以色谱峰面积为纵坐标,以质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

6.11.2.6.4 样品测定

6.11.2.6.4.1 进样:将样品恢复至室温,用 5 mL 注射器抽出略大于 5 mL 的水样,倒转注射器,排除空气,使水样体积为 5.0 mL,立即注入吹扫捕集装置中,根据设定好的仪器条件进行分析。

6.11.2.6.4.2 色谱图的考察:苯系物的标准色谱图,见图 3。



说明:

- 1——苯;
- 2——甲苯;
- 3——乙苯;
- 4——对二甲苯;
- 5——间二甲苯;
- 6——邻二甲苯;
- 7——苯乙烯。

图 3 苯系物标准色谱图

6.11.2.6.4.3 定性分析:各组分出峰顺序为:苯、甲苯、乙苯、对二甲苯、间二甲苯、邻二甲苯、苯乙烯。

各组分保留时间为:目标化合物的保留时间应在标准物质目标化合物保留时间的±0.06 min 内。

6.11.2.6.4.4 定量分析:外标法。

6.11.2.7 结果计算

水样中苯系物的质量浓度计算见式(26):

$$\rho_i = \frac{\Lambda - b}{k} \dots\dots\dots(26)$$

式中:

ρ_i ——水样中苯系物目标化合物的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

Λ ——水样中苯系物目标化合物对应的色谱峰积分面积;

k ——标准曲线斜率;

b ——标准曲线截距。

6.11.2.8 精密度和准确度

6.11.2.8.1 精密度:6个实验室分别测定纯水加标样品,当加入两种不同浓度的苯系物标准溶液时,其相对标准偏差见表 30。

表 30 苯系物测定结果的精密度

被测组分	加标浓度/ $(\mu\text{g/L})$	相对标准偏差/ $\%$
苯	3.00	1.7~6.9
	27.0	0.94~4.8
甲苯	3.00	1.8~9.3
	27.0	1.2~5.6
乙苯	3.00	1.6~7.2
	27.0	1.1~5.8
间二甲苯	3.00	1.9~7.4
	27.0	1.3~5.6
对二甲苯	3.00	1.9~6.8
	27.0	1.1~8.4
邻二甲苯	3.00	2.0~6.5
	27.0	0.66~4.8
苯乙烯	3.00	1.6~6.7
	27.0	0.85~4.1

6.11.2.8.2 准确度:6个实验室测定水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入两种不同浓度的苯系物标准溶液时,其回收率见表 31。

表 31 苯系物测定结果的准确度

被测组分	加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	回收率/%		
		水源水	出厂水	管网水
苯	3.00	89.0~98.0	95.6~100	77.2~100
	27.0	89.0~100	87.1~101	88.2~101
甲苯	3.00	93.9~116	93.5~103	82.2~107
	27.0	88.6~101	88.7~101	94.0~102
乙苯	3.00	92.2~121	88.9~103	85.6~101
	27.0	93.2~101	93.1~102	91.6~101
间二甲苯	3.00	91.6~122	93.9~104	86.1~102
	27.0	91.8~100	93.6~100	93.7~101
对二甲苯	3.00	94.7~135	91.5~101	82.8~102
	27.0	92.2~101	88.9~102	94.5~99.3
邻二甲苯	3.00	93.2~131	92.8~102	91.7~102
	27.0	92.2~101	92.9~102	90.4~100
苯乙烯	3.00	90.8~127	81.7~102	81.8~103
	27.0	95.1~101	93.1~105	93.4~101

6.12 甲苯

6.12.1 吹扫捕集/气相色谱-质谱法

按 6.11.1 的要求。

6.12.2 吹扫捕集/气相色谱法

按 6.11.2 的要求。

6.13 二甲苯

6.13.1 吹扫捕集/气相色谱-质谱法

按 6.11.1 的要求。

6.13.2 吹扫捕集/气相色谱法

按 6.11.2 的要求。

6.14 乙苯

6.14.1 吹扫捕集/气相色谱-质谱法

按 6.11.1 的要求。

6.14.2 吹扫捕集/气相色谱法

按 6.11.2 的要求。

6.15 苯乙烯

6.15.1 吹扫捕集/气相色谱-质谱法

按 6.11.1 的要求。

6.15.2 吹扫捕集/气相色谱法

按 6.11.2 的要求。

6.16 氯苯

6.16.1 顶空/气相色谱法

6.16.1.1 适用范围

本方法规定了用顶空/气相色谱法测定城镇供水及其水源水中的氯苯。

本方法适用于城镇供水及其水源水中氯苯的测定。

若取 10 mL 水样测定,本方法的最低检测质量浓度为 0.020 mg/L。

6.16.1.2 原理

在密闭的顶空瓶中,氯苯分子从液相逸入气相中,在一定的温度下,氯苯分子在气液两相之间达到动态平衡,此时氯苯在气相中的浓度和它在液相中的浓度成正比,通过对气相中氯苯浓度的测定,即可计算出水样中氯苯的浓度。

6.16.1.3 试剂和材料

6.16.1.3.1 甲醇:色谱纯。

6.16.1.3.2 抗坏血酸。

6.16.1.3.3 盐酸溶液($c=4.0$ mol/L):取浓盐酸 33.3 mL,用纯水稀释至 100 mL。

6.16.1.3.4 氯化钠:优级纯。

6.16.1.3.5 氯苯标准品:色谱纯。

6.16.1.3.6 氯苯标准储备溶液($\rho=1\ 000$ mg/L):准确称取 10.0 mg 氯苯标准品(6.16.1.3.5),置于 10 mL 容量瓶中,用甲醇(6.16.1.3.1)溶解并定容。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。

6.16.1.3.7 氯苯标准使用溶液($\rho=10.0$ mg/L):准确移取 0.25 mL 氯苯标准储备溶液(6.16.1.3.6)于 25 mL 容量瓶中,用甲醇(6.16.1.3.1)溶解并定容。临用时配制。

6.16.1.3.8 载气:氮气,纯度大于或等于 99.999%。

6.16.1.3.9 燃烧气:氢气。

6.16.1.3.10 助燃气:压缩空气。

6.16.1.4 仪器

6.16.1.4.1 气相色谱仪:具有分流/不分流进样口,能对载气进行电子压力控制,可程序升温;所有的玻璃元件均应采用硅烷化试剂处理脱活。

6.16.1.4.2 氢火焰离子化检测器(FID)。

6.16.1.4.3 毛细管色谱柱:HP-5(0.32 mm \times 30 m,0.25 μ m)或其他性能等效的色谱柱。

6.16.1.4.4 自动顶空进样器。

6.16.1.4.5 顶空瓶:带密封盖(螺旋盖或一次性使用的钳口压盖)及密封垫(硅橡胶、丁基橡胶或氟橡胶材料)的 20 mL 玻璃瓶。

6.16.1.5 样品

6.16.1.5.1 样品采集时,使水样在样品瓶中溢流出不留气泡。当从水龙头采样时,应先打开龙头放水

至水温稳定(约 3 min~5 min),调节水流速度约为 500 mL/min,从流水中采集样品;当从开放的水体中采样时,应先用 1 L 的广口瓶或烧杯从有代表性的区域中采样,再小心把水样从广口瓶或烧杯中倒入样品瓶中。

对于含余氯等氧化剂的样品,采样前应在样品瓶中先加入 25 mg 的抗坏血酸(6.16.1.3.2)。水样用盐酸溶液(6.16.1.3.3)调节 pH 值小于 2,使水样在样品瓶中溢流出而不留气泡,再密封样品瓶。当在含保存剂的样品瓶中加入水样产生大量气泡时,应重新采集水样,并不再加入保存剂,并在样品上标明“未酸化”。

6.16.1.5.2 样品应于 0 °C~4 °C 冷藏保存。“未酸化”的样品保存期为 24 h,酸化后的样品保存期为 14 d。

6.16.1.5.3 样品预处理:取 10.0 mL 水样装于 20 mL 顶空瓶中,加入 3 g 氯化钠(6.16.1.3.4),盖上顶空瓶盖摇匀,待测。

6.16.1.6 分析步骤

6.16.1.6.1 自动顶空进样器参考条件

进样量:1 mL;平衡温度:70 °C;平衡时间:40 min。

6.16.1.6.2 气相色谱仪参考条件

进样口温度:250 °C;进样方式:分流,分流比为 1:1;载气流速:1.0 mL/min;氢火焰离子化检测器(FID)温度:250 °C;氢气流速:40 mL/min;空气流速:450 mL/min;尾吹流速:30 mL/min;柱箱温度:恒温 130 °C,保持 5 min。

6.16.1.6.3 标准曲线的绘制:取 8 个预先装有纯水的 50 mL 容量瓶,依次准确加入 0 mL,0.10 mL,0.25 mL,0.50 mL,1.00 mL,2.50 mL,5.00 mL 和 10.0 mL 的氯苯标准使用溶液(6.16.1.3.7),用纯水定容,配制成浓度分别为 0 mg/L,0.020 mg/L,0.050 mg/L,0.10 mg/L,0.200 mg/L,0.500 mg/L,1.00 mg/L 和 2.00 mg/L 的标准系列溶液。根据样品测定步骤,按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以色谱峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

6.16.1.6.4 样品测定

6.16.1.6.4.1 进样:将预处理后的水样(6.16.1.5.3)置于顶空进样系统中进行测定。

6.16.1.6.4.2 色谱图的考察:氯苯的标准色谱图,见图 4。

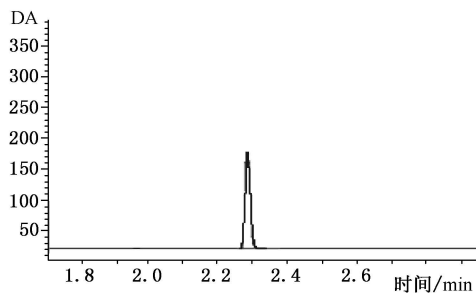


图 4 氯苯标准色谱图

6.16.1.6.4.3 定性分析:以氯苯的保留时间进行定性分析,保留时间为 2.281min。

6.16.1.6.4.4 定量分析:外标法。

6.16.1.7 结果计算

水样中氯苯的质量浓度计算见式(27):

$$\rho = \frac{A - b}{k} \dots\dots\dots(27)$$

式中:

ρ ——水样中氯苯的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

A——水样中氯苯的色谱峰面积;

- k ——标准曲线斜率；
 b ——标准曲线截距。

6.16.1.8 精密度和准确度

6.16.1.8.1 精密度:11个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入两种不同浓度的氯苯标准溶液时,其相对标准偏差见表32。

表 32 氯苯测定结果的精密度

加标浓度/(mg/L)	相对标准偏差/%			
	纯水	水源水	出厂水	管网水
0.186~0.214	1.9~6.4	2.3~17	2.5~14	2.2~6.4
1.67~1.85	0.74~11	2.0~14	1.7~22	1.8~13

6.16.1.8.2 准确度:11个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入两种不同浓度的氯苯标准溶液时,其回收率见表33。

表 33 氯苯测定结果的准确度

加标浓度/(mg/L)	回收率/%			
	纯水	水源水	出厂水	管网水
0.186~0.214	87.6~103	75.4~106	82.2~104	83.9~105
1.67~1.85	80.2~105	77.9~113	81.7~107	77.2~107

6.16.2 吹扫捕集/气相色谱法

6.16.2.1 适用范围

本方法规定了用吹扫捕集/气相色谱法测定城镇供水及其水源水中的氯苯。

本方法适用于城镇供水及其水源水中氯苯的测定。

若取 5 mL 水样测定,本方法的最低检测质量浓度为 0.028 mg/L。

6.16.2.2 原理

将被测水样用注射器或自动进样器注入吹扫捕集装置的吹脱管中,在室温下通以惰性气体(氮气或氦气),水样中的氯苯被捕集在装有适当吸附剂的捕集管内。吹扫程序完成后,捕集管被瞬间加热并以氮气或氦气反吹,将所吸附的氯苯解析入气相色谱仪中,经色谱分离后进行测定。

6.16.2.3 试剂和材料

6.16.2.3.1 甲醇:色谱纯。

6.16.2.3.2 抗坏血酸。

6.16.2.3.3 盐酸溶液($c=4.0$ mol/L):取浓盐酸 33.3 mL,用纯水稀释至 100 mL。

6.16.2.3.4 氯苯标准品:色谱纯。

6.16.2.3.5 氯苯标准储备溶液($\rho=1\ 000$ mg/L):准确称取 10.0 mg 氯苯标准品(6.16.2.3.4),置于 10 mL 容量瓶中,用甲醇(6.16.2.3.1)溶解并定容。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。

6.16.2.3.6 氯苯标准使用溶液($\rho=10.0$ mg/L):准确移取 0.25 mL 氯苯标准储备溶液(6.16.2.3.5)于 25mL 容量瓶中,用甲醇(6.16.2.3.1)溶解并定容。临用时配制。

6.16.2.3.7 载气:氮气或氦气,纯度大于或等于 99.999%。

6.16.2.3.8 燃烧气:氢气。

6.16.2.3.9 助燃气:压缩空气。

6.16.2.4 仪器

6.16.2.4.1 气相色谱仪:具有分流/不分流进样口,能对载气进行电子压力控制,可程序升温;所有的玻璃元件均应采用硅烷化试剂处理脱活。

6.16.2.4.2 吹扫捕集装置:包括吹气部分、脱附部分及捕集管。

6.16.2.4.3 氢火焰离子化检测器(FID)。

6.16.2.4.4 毛细管色谱柱:HP-5(0.32 mm×30 m,0.25 μm)或其他性能等效的色谱柱。

6.16.2.4.5 样品瓶:带螺旋盖及聚四氟乙烯垫片的 40 mL 棕色玻璃瓶。

6.16.2.5 样品

6.16.2.5.1 样品的采集按 6.16.1.5.1 的要求。

6.16.2.5.2 样品的保存按 6.16.1.5.2 的要求。

6.16.2.6 分析步骤

6.16.2.6.1 吹扫捕集参考条件

吹扫温度:室温;吹扫时间:11 min;解吸温度:220 °C;解吸时间:3 min;烘烤温度:270 °C;烘烤时间:2 min;进样量:5 mL 或 25 mL;吹扫气体:氮气或氦气,纯度大于或等于 99.999%,流量为 40 mL/min。

6.16.2.6.2 气相色谱仪参考条件

进样口温度:250 °C;进样方式:分流,分流比为 20 : 1;载气流速:1.0 mL/min;氢火焰离子化检测器(FID)温度:250 °C;氢气流速:40 mL/min;空气流速:450 mL/min;尾吹流速:30 mL/min。

升温程序:初始温度 50 °C,保持 1 min,以 10 °C/min 升温至 100 °C。

6.16.2.6.3 标准曲线的绘制:取 8 个预先装有纯水的 50 mL 容量瓶,依次准确加入 0 mL,0.15 mL,0.25 mL,0.50 mL,1.00 mL,2.50 mL,5.00 mL 和 10.0 mL 的氯苯标准使用溶液(6.16.2.3.6),用纯水定容,配制成浓度分别为 0 mg/L,0.030 mg/L,0.050 mg/L,0.10 mg/L,0.200 mg/L,0.500 mg/L,1.00 mg/L 和 2.00 mg/L 的标准系列溶液。根据样品测定步骤,按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以氯苯的色谱峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

6.16.2.6.4 样品测定

6.16.2.6.4.1 进样:将样品恢复至室温,用 5 mL 注射器抽出略大于 5 mL 的水样,倒转注射器,排除空气,使水样体积为 5.0 mL,立即注入吹扫捕集装置中,根据设定好的仪器条件进行分析。

6.16.2.6.4.2 色谱图的考察:氯苯的标准色谱图,见图 5。

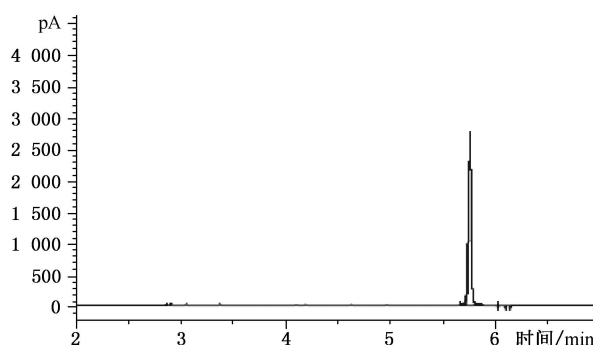


图 5 氯苯标准色谱图

6.16.2.6.4.3 定性分析:根据标准色谱图中氯苯的保留时间进行定性分析。

6.16.2.6.4.4 定量分析:外标法。

6.16.2.7 结果计算

水样中氯苯的质量浓度计算见式(28):

$$\rho = \frac{\Lambda - b}{k} \dots\dots\dots(28)$$

式中:

ρ ——水样中氯苯的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

Λ ——水样中氯苯的积分峰面积;

k ——标准曲线斜率;

b ——标准曲线截距。

6.16.2.8 精密度和准确度

6.16.2.8.1 精密度:5个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入两种不同浓度的氯苯标准溶液时,其相对标准偏差见表34。

表 34 氯苯测定结果的精密度

加标浓度/(mg/L)	相对标准偏差/%			
	纯水	水源水	出厂水	管网水
0.200	2.4~5.5	2.5~5.8	2.0~5.4	2.4~8.6
1.80	2.4~5.9	1.5~5.3	1.4~3.1	0.9~6.1

6.16.2.8.2 准确度:5个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入两种不同浓度的氯苯标准溶液时,其回收率见表35。

表 35 氯苯测定结果的准确度

加标浓度/(mg/L)	回收率/%			
	纯水	水源水	出厂水	管网水
0.200	95.4~103	94.9~105	96.7~108	96.1~107
1.80	92.5~105	89.4~104	90.6~103	87.1~102

6.16.3 吹扫捕集/气相色谱-质谱法

按 6.1 的要求。

6.17 1,2-二氯苯

6.17.1 顶空/气相色谱法

6.17.1.1 适用范围

本方法规定了用顶空/气相色谱法测定城镇供水和水源水中 1,2-二氯苯、1,4-二氯苯、1,2,3-三氯苯、1,2,4-三氯苯、1,3,5-三氯苯、六氯苯。

本方法适用于城镇供水和水源水中 1,2-二氯苯、1,4-二氯苯、1,2,3-三氯苯、1,2,4-三氯苯、1,3,5-

三氯苯和六氯苯的测定。

若取 10 mL 水样测定,本方法的最低检测质量浓度为:1,2-二氯苯,20 $\mu\text{g/L}$;1,4-二氯苯,10 $\mu\text{g/L}$;1,2,3-三氯苯,2.0 $\mu\text{g/L}$;1,2,4-三氯苯,2.0 $\mu\text{g/L}$;1,3,5-三氯苯,2.0 $\mu\text{g/L}$;六氯苯,0.44 $\mu\text{g/L}$ 。

在选定的分析条件下,六六六、滴滴涕和硝基氯苯等均不干扰测定。

6.17.1.2 原理

将被测水样置于密封的顶空瓶中,在一定温度下经一定时间的平衡,水中氯苯类化合物从液相逸出至气相,并在气液两相中达到平衡,此时氯苯类化合物在气相中的浓度与它在液相中的浓度成正比,通过对气相中氯苯类化合物浓度的测定,可计算出水样中氯苯类化合物的含量。

6.17.1.3 试剂和材料

6.17.1.3.1 甲醇:色谱纯。

6.17.1.3.2 抗坏血酸。

6.17.1.3.3 氯化钠:优级纯。

6.17.1.3.4 氯苯类标准品:1,2-二氯苯、1,4-二氯苯、1,2,3-三氯苯、1,2,4-三氯苯、1,3,5-三氯苯和六氯苯,均为色谱纯。

6.17.1.3.5 氯苯类标准储备溶液:准确称取一定量的1,2-二氯苯、1,4-二氯苯、1,2,3-三氯苯、1,2,4-三氯苯、1,3,5-三氯苯和六氯苯的标准品(6.17.1.3.4),分别置于100 mL容量瓶中,用甲醇(6.17.1.3.1)溶解并定容,常用浓度为100 mg/L~2 000 mg/L。推荐使用市售具有标准物质证书的混合标准溶液或单组分标准溶液。

6.17.1.3.6 氯苯类标准使用溶液($\rho=2.00$ mg/L~100 mg/L):准确移取一定量的氯苯类标准储备溶液(6.17.1.3.5)于100 mL容量瓶中,用纯水定容,配制成混合标准使用溶液。此溶液中各组分的质量浓度为:二氯苯,100 mg/L;三氯苯为20.0 mg/L;六氯苯为2.00 mg/L。

6.17.1.3.7 载气:氮气,纯度大于或等于99.999%。

6.17.1.4 仪器

6.17.1.4.1 气相色谱仪:可程序升温。

6.17.1.4.2 电子捕获检测器(ECD)。

6.17.1.4.3 自动顶空进样器。

6.17.1.4.4 毛细管色谱柱:HP-5(0.32 mm \times 30 m,0.25 μm)或其他性能等效的色谱柱。

6.17.1.4.5 顶空瓶:20 mL。

6.17.1.5 样品

6.17.1.5.1 采样时,使水样在样品瓶中溢流出不留气泡。当从水龙头采样时,应先打开龙头放水3 min~5 min,调节水流速度约为500 mL/min,从流水中采集样品;当从开放的水体中采样,应先用1 L的广口瓶或烧杯从有代表性的区域中采样,再小心把水样从广口瓶或烧杯中倒入样品瓶中。

对于含余氯等氧化剂的样品,应采样前每40 mL水样中先加入25 mg的抗坏血酸(6.17.1.3.2)。待样品瓶中充满水样并溢流后,用盐酸溶液(1+1)作保存剂调节样品使pH值小于2,密封样品瓶,垫片的聚四氟乙烯面应朝下。当在含保存剂的样品瓶中加入水样产生大量气泡时,应重新采集水样,并不再加入保存剂,并在样品上标明“未酸化”。

6.17.1.5.2 样品应于0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下冷藏保存。“未酸化”的样品保存期为24 h,酸化后的样品保存期为14 d。

6.17.1.5.3 样品预处理:取10.0 mL水样装于20 mL顶空瓶中,加入3 g氯化钠(6.17.1.3.3),盖上顶空

瓶盖摇匀,待测。

6.17.1.6 分析步骤

6.17.1.6.1 自动顶空进样器参考条件

进样量:1 mL;平衡温度:80 °C;平衡时间:40 min。

6.17.1.6.2 气相色谱分析条件

进样口温度:250 °C;检测器温度:320 °C;进样方式:分流,分流比为1:1;载气流速:1 mL/min。

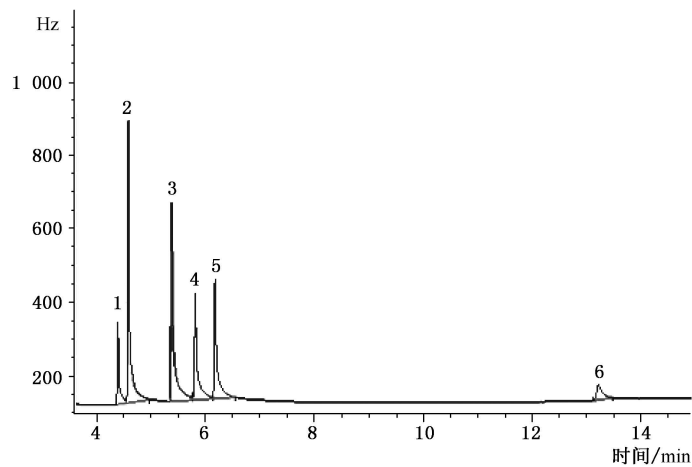
升温程序:初始温度80 °C,以15 °C/min升温至150 °C,再以5 °C/min升温至200 °C,保持2 min。

6.17.1.6.3 标准曲线的绘制:取7个100 mL容量瓶中,预先加约80 mL纯水,依次准确加入0 μL, 25 μL,50 μL,0.10 mL,0.20 mL,0.50 mL和1.00 mL的氯苯类标准使用溶液(6.17.1.3.6),用纯水定容。标准系列溶液中各组分的质量浓度:二氯苯为0 μg/L,25.0 μg/L,50.0 μg/L,100 μg/L,200 μg/L, 500 μg/L和1000 μg/L;三氯苯为0 μg/L,5.0 μg/L,10.0 μg/L,20.0 μg/L,40.0 μg/L,100 μg/L和 200 μg/L;六氯苯为0 μg/L,0.50 μg/L,1.0 μg/L,2.0 μg/L,4.0 μg/L,10.0 μg/L和20.0 μg/L。根据 样品测定步骤进行分析,按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以色谱峰面积为纵坐标,以质量浓 度为横坐标,绘制标准曲线。

6.17.1.6.4 样品测定

6.17.1.6.4.1 进样:将预处理后的水样(6.17.1.5.3)置于顶空进样系统中进行测定。

6.17.1.6.4.2 色谱图的考察:氯苯类的标准色谱图,见图6。



说明:

1—1,4-二氯苯;

2—1,2-二氯苯;

3—1,3,5-三氯苯;

4—1,2,4-三氯苯;

5—1,2,3-三氯苯;

6—六氯苯。

图6 氯苯类标准色谱图

6.17.1.6.4.3 定性分析:根据标准色谱图中各组分的保留时间,确定待测试样中组分性质。各组分的 出峰顺序:1,4-二氯苯、1,2-二氯苯、1,3,5-三氯苯、1,2,4-三氯苯、1,2,3-三氯苯、六氯苯。

6.17.1.6.4.4 定量分析:外标法。根据各组分色谱峰面积进行定量分析。

6.17.1.7 结果计算

水样中氯苯类目标化合物的质量浓度计算见式(29):

$$\rho_i = \frac{\Lambda - b}{k} \dots\dots\dots(29)$$

式中:

ρ_i ——水样中氯苯类目标化合物的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

Λ ——水样中氯苯类目标化合物的色谱峰积分面积;

k ——标准曲线的斜率;

b ——标准曲线的截距。

6.17.1.8 精密度和准确度

6.17.1.8.1 精密度:8个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入两种不同浓度的氯苯类标准溶液时,其相对标准偏差见表36和表37。

表36 低浓度加标测定结果的精密度

被测组分	加标浓度/ $(\mu\text{g/L})$	相对标准偏差/%			
		纯水	水源水	出厂水	管网水
1,4-二氯苯	9.94~10.8	2.9~11	2.9~11	2.9~12	2.9~12
1,2-二氯苯	20.0~26.7	2.4~7.4	3.5~8.4	2.5~12	3.0~11
1,3,5-三氯苯	2.20~2.78	3.8~12	4.0~12	5.5~13	5.1~11
1,2,4-三氯苯	2.00~2.55	3.4~12	3.6~10	5.7~16	4.8~12
1,2,3-三氯苯	2.00~2.50	2.8~9.0	4.4~13	3.0~14	2.6~13
六氯苯	0.500~0.505	5.6~14	5.5~11	6.1~15	5.7~11

表37 高浓度加标测定结果的精密度

被测组分	加标浓度/ $(\mu\text{g/L})$	相对标准偏差/%			
		纯水	水源水	出厂水	管网水
1,4-二氯苯	89.5~97.2	1.4~10	1.4~8.8	1.4~9.3	1.4~7.2
1,2-二氯苯	180~241	2.0~8.9	2.1~9.1	3.3~9.4	1.6~6.7
1,3,5-三氯苯	19.6~25.0	3.4~12	2.8~8.8	3.5~14	5.1~8.6
1,2,4-三氯苯	18.0~23.0	4.1~9.8	2.7~9.1	3.5~9.9	3.5~8.5
1,2,3-三氯苯	18.0~22.5	3.6~8.0	3.1~9.4	4.4~10	4.0~8.4
六氯苯	4.50~4.55	4.0~11	4.7~11	5.8~11	7.9~13

6.17.1.8.2 准确度:8个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入两种不同浓度的氯苯类标准溶液时,其回收率见表38和表39。

表 38 低浓度加标测定结果的准确度

被测组分	加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	回收率/%			
		纯水	水源水	出厂水	管网水
1,4-二氯苯	9.94~10.8	90.5~114	82.1~108	83.4~115	84.2~116
1,2-二氯苯	20.0~26.7	94.0~110	79.6~115	90.7~112	90.7~113
1,3,5-三氯苯	2.20~2.78	96.1~112	85.0~116	90.1~114	89.9~109
1,2,4-三氯苯	2.00~2.55	93.3~116	79.7~110	95.9~113	91.7~110
1,2,3-三氯苯	2.00~2.50	91.3~124	76.1~109	94.3~112	92.9~114
六氯苯	0.500~0.505	98.2~110	82.9~121	75.8~114	79.5~106

表 39 高浓度加标测定结果的准确度

被测组分	加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	回收率/%			
		纯水	水源水	出厂水	管网水
1,4-二氯苯	89.5~97.2	88.2~103	85.6~107	87.5~109	86.2~109
1,2-二氯苯	180~241	88.8~104	88.7~105	88.6~104	87.3~111
1,3,5-三氯苯	19.6~25.0	81.8~105	85.7~104	89.3~106	89.3~112
1,2,4-三氯苯	18.0~23.0	76.3~102	87.4~103	89.3~99.4	85.6~106
1,2,3-三氯苯	18.0~22.5	87.7~110	89.1~103	89.1~109	89.1~118
六氯苯	4.50~4.55	87.6~120	88.7~110	88.2~114	85.4~132

6.17.2 吹扫捕集/气相色谱法

6.17.2.1 适用范围

本方法规定了用吹扫捕集/气相色谱法测定城镇供水和水源水中 1,2-二氯苯、1,4-二氯苯、1,2,3-三氯苯、1,2,4-三氯苯和 1,3,5-三氯苯。

本方法适用于城镇供水和水源水中 1,2-二氯苯、1,4-二氯苯、1,2,3-三氯苯、1,2,4-三氯苯、1,3,5-三氯苯的测定。

若取 5 mL 水样测定,本方法的最低检测质量浓度为:1,2-二氯苯,29 $\mu\text{g/L}$;1,4-二氯苯,14 $\mu\text{g/L}$;1,2,3-三氯苯,2.0 $\mu\text{g/L}$;1,2,4-三氯苯 2.3 $\mu\text{g/L}$;1,3,5-三氯苯 2.7 $\mu\text{g/L}$ 。

在选定的分析条件下,六六六、滴滴涕、对硝基氯苯、间硝基氯苯和邻硝基氯苯均不干扰测定。

6.17.2.2 原理

将被测水样用注射器或自动进样设备注入吹扫捕集装置的吹脱管中,在室温下通以惰性气体(氮气或氦气),把水样中氯苯类化合物捕集在装有适当吸附剂的捕集管内。吹扫程序完成后,捕集管被瞬间加热并以氮气或氦气反吹,将所吸附的组分解吸入气相色谱仪中,组分经程序升温色谱分离后,用电子捕获检测器进行检测。

6.17.2.3 试剂和材料

6.17.2.3.1 甲醇:色谱纯。

6.17.2.3.2 氮气:纯度大于或等于 99.999%。

6.17.2.3.3 氯苯类标准品:1,2-二氯苯、1,4-二氯苯、1,2,3-三氯苯、1,2,4-三氯苯、1,3,5-三氯苯,均为色谱纯。

6.17.2.3.4 氯苯类标准储备溶液:准确称取一定量的 1,2-二氯苯、1,4-二氯苯、1,2,3-三氯苯、1,2,4-三氯苯和 1,3,5-三氯苯标准品(6.17.2.3.3),分别置于 100 mL 容量瓶中,用甲醇(6.17.2.3.1)溶解并定容,常用浓度为 100 mg/L~2 000 mg/L。推荐使用市售具有标准物质证书的混合标准溶液或单组分标准溶液。

6.17.2.3.5 氯苯类标准使用溶液($\rho=2.00$ mg/L~100 mg/L):准确移取一定量的氯苯类标准储备溶液(6.17.1.3.4)于 100 mL 容量瓶中,用纯水定容,配制成混合标准使用溶液。此溶液中各组分的质量浓度为:二氯苯,100 mg/L;三氯苯为 20.0 mg/L。

6.17.2.4 仪器

6.17.2.4.1 气相色谱仪。

6.17.2.4.2 电子捕获检测器(ECD)。

6.17.2.4.3 吹扫捕集装置:吹脱管 5 mL。

6.17.2.4.4 色谱柱:HP-5ms(0.32 mm×30 m,0.25 μ m)或其他性能等效的色谱柱。

6.17.2.5 样品

6.17.2.5.1 样品的采集按 6.17.1.5.1 的要求。

6.17.2.5.2 样品的保存按 6.17.1.5.2 的要求。

6.17.2.6 分析步骤

6.17.2.6.1 吹扫捕集参考条件

吹扫温度:室温;吹扫时间:11 min;解吸温度:280 $^{\circ}$ C;解吸时间:2 min;烘烤温度:270 $^{\circ}$ C;烘烤时间:2 min;进样量:5 mL;吹扫气体:氮气或氦气,纯度大于或等于 99.999%,流量为 50 mL/min。

6.17.2.6.2 气相色谱参考条件

进样口温度:250 $^{\circ}$ C;检测器温度:320 $^{\circ}$ C;进样方式:分流,分流比为 20:1;载气流速:1 mL/min。

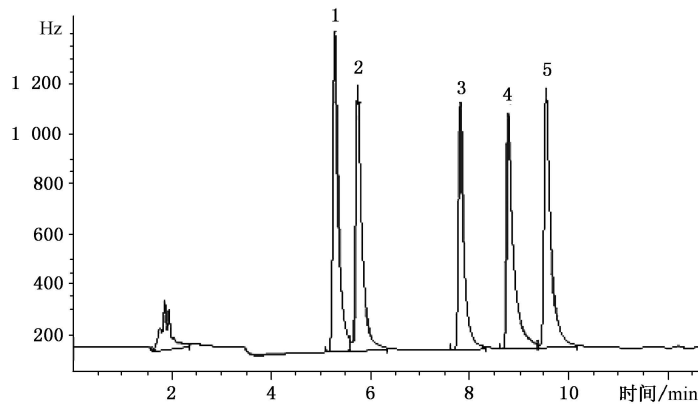
升温程序:初始温度 50 $^{\circ}$ C,以 10 $^{\circ}$ C/min 升温至 100 $^{\circ}$ C,再以 40 $^{\circ}$ C/min 升温至 220 $^{\circ}$ C,保持 2 min。

6.17.2.6.3 标准曲线的绘制:取 7 个 100 mL 容量瓶中,预先加约 80 mL 纯水,依次准确加入 0 μ L, 30 μ L,50 μ L,0.10 mL,0.20 mL,0.50 mL 和 1.00 mL 的氯苯类标准使用溶液(6.17.2.3.5),用纯水定容。标准系列溶液中各组分的质量浓度:二氯苯为 0 μ g/L,30 μ g/L,50 μ g/L,100 μ g/L,200 μ g/L,500 μ g/L 和 1 000 μ g/L;三氯苯为 0 μ g/L,5.0 μ g/L,10.0 μ g/L,20.0 μ g/L,40.0 μ g/L,100 μ g/L 和 200 μ g/L。根据样品测定步骤进行分析,按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以色谱峰面积为纵坐标,以质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

6.17.2.6.4 样品测定

6.17.2.6.4.1 进样:将样品恢复至室温,用 5 mL 注射器抽出略大于 5 mL 的水样,倒转注射器,排除空气,使水样体积为 5.0 mL,立即注入吹扫捕集装置中,根据设定好的仪器条件进行分析。

6.17.2.6.4.2 色谱图的考察:氯苯类的标准色谱图,见图 7。



说明：

- 1——1,4-二氯苯；
- 2——1,2-二氯苯；
- 3——1,3,5-三氯苯；
- 4——1,2,4-三氯苯；
- 5——1,2,3-三氯苯。

图 7 氯苯类标准色谱图

6.17.2.6.4.3 定性分析：根据标准色谱图中各组分的保留时间，确定待测试样中组分性质。各组分出峰顺序为：1,4-二氯苯、1,2-二氯苯、1,3,5-三氯苯、1,2,4-三氯苯、1,2,3-三氯苯。

6.17.2.6.4.4 定量分析：外标法。用色谱峰面积进行定量分析。

6.17.2.7 结果计算

水样中氯苯类目标化合物的质量浓度计算见式(30)：

$$\rho_i = \frac{A - b}{k} \dots\dots\dots(30)$$

式中：

- ρ_i ——水样中氯苯类目标化合物的质量浓度，单位为微克每升($\mu\text{g/L}$)；
- A ——水样中氯苯类目标化合物的色谱峰积分面积；
- k ——标准曲线的斜率；
- b ——标准曲线的截距。

6.17.2.8 精密度和准确度

6.17.2.8.1 精密度：5 个实验室测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品，其相对标准偏差见表 40。

表 40 氯苯类测定结果的精密度

被测组分	加标浓度/ $(\mu\text{g/L})$	相对标准偏差/ $\%$			
		纯水	水源水	出厂水	管网水
1,4-二氯苯	90.0~225	2.2~8.6	2.0~9.0	2.8~7.6	1.5~8.1
1,2-二氯苯	100~225	2.6~8.5	1.6~9.2	1.7~7.8	0~8.0
1,3,5-三氯苯	10.0~22.5	2.3~7.9	1.6~10	2.3~8.9	2.0~13
1,2,4-三氯苯	10.0~22.5	2.1~8.4	1.4~8.9	1.9~9.3	1.6~10
1,2,3-三氯苯	10.0~22.5	2.3~8.3	0.6~8.8	2.3~13	1.7~11

6.17.2.8.2 准确度:5个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,其回收率见表41。

表41 氯苯类测定结果的准确度

被测组分	加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	回收率/%			
		纯水	水源水	出厂水	管网水
1,4-二氯苯	90.0~225	83.0~99.0	76.9~111	80.0~99.1	78.0~98.4
1,2-二氯苯	100~225	83.0~101	78.0~109	80.0~98.8	83.0~106
1,3,5-三氯苯	10.0~22.5	76.0~104	76.0~109	76.0~104	76.0~104
1,2,4-三氯苯	10.0~22.5	78.0~105	78.0~105	79.0~103	78.0~104
1,2,3-三氯苯	10.0~22.5	80.0~104	80.0~105	80.0~104	78.0~106

6.17.3 吹扫捕集/气相色谱-质谱法

按6.1的要求。

6.18 1,4-二氯苯

6.18.1 顶空/气相色谱法

按6.17.1的要求。

6.18.2 吹扫捕集/气相色谱法

按6.17.2的要求。

6.18.3 吹扫捕集/气相色谱-质谱法

按6.1的要求。

6.19 三氯苯

6.19.1 顶空/气相色谱法

按6.17.1的要求。

6.19.2 吹扫捕集/气相色谱法

按6.17.2的要求。

6.19.3 吹扫捕集/气相色谱-质谱法

按6.1的要求。

6.20 六氯苯

顶空/气相色谱法按6.17.1的要求。

6.21 环氧氯丙烷

6.21.1 适用范围

本方法规定了用液液萃取/气相色谱-质谱法测定城镇供水及其水源水中的环氧氯丙烷。

本方法适用于城镇供水及其水源水中环氧氯丙烷的测定。

若取200 mL水样测定,本方法的最低检测质量浓度为0.4 $\mu\text{g/L}$ 。

6.21.2 原理

用二氯甲烷萃取水样中环氧氯丙烷,萃取溶液经浓缩后,采用气相色谱质谱仪,通过选择离子监测模式对水样中的环氧氯丙烷进行定性分析和定量测定。

6.21.3 试剂和材料

6.21.3.1 二氯甲烷:色谱纯。

6.21.3.2 氯化钠:优级纯。

6.21.3.3 无水硫酸钠(Na_2SO_4):分析纯。在马弗炉中于 450 °C 烘烤 2 h,置于干燥器中备用。

6.21.3.4 环氧氯丙烷标准品:色谱纯。

6.21.3.5 环氧氯丙烷标准储备溶液($\rho=1\ 000\ \mu\text{g}/\text{mL}$):准确称取 10.0 mg 的环氧氯丙烷标准品于 10 mL 容量瓶中,用二氯甲烷溶解并定容至刻度,混匀。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。

6.21.3.6 环氧氯丙烷标准使用溶液($\rho=100\ \mu\text{g}/\text{mL}$):移取 1.00 mL 环氧氯丙烷标准储备溶液(6.21.3.5)于 10 mL 容量瓶中,用二氯甲烷定容。

6.21.3.7 硫代硫酸钠溶液($\rho=30\ \text{g}/\text{L}$):称取 3 g 硫代硫酸钠(优级纯),用纯水溶解,稀释至 100 mL。

6.21.3.8 载气:氮气,纯度大于等于 99.999%。

6.21.3.9 校准标准溶液:全氟三丁胺(PFTBA)或 4-溴氟苯(BFB)校准标准溶液,用甲醇配制。

6.21.4 仪器

6.21.4.1 气相色谱-质谱联用仪:气相色谱仪部分具有分流/不分流进样口,可程序升温;所有的玻璃元件均应用硅烷化试剂处理脱活。质谱仪部分配有电子电离源(EI),标准电子能量为 70 eV。

6.21.4.2 色谱柱:固定相为 5% 苯基甲基聚硅氧烷的色谱柱,HP-5 ms(0.25 mm \times 30 m,0.25 μm)或其他性能等效的色谱柱。

6.21.4.3 分液漏斗:250 mL。

6.21.4.4 KD 浓缩器或氮吹仪。

6.21.5 样品

6.21.5.1 应用清洗干净的玻璃瓶或聚四氟乙烯(全氟丙烯)样品瓶采集水样。当采集含有余氯等氧化剂的水样时,每 100 mL 应加入 2 滴硫代硫酸钠溶液(6.21.3.7)进行脱氯。

6.21.5.2 样品采集后应于 0 °C~4 °C 避光保存,尽快分析。

6.21.5.3 样品预处理:取 200 mL 水样于 250 mL 分液漏斗中,加入 10 g 氯化钠(6.21.3.2),振摇使其完全溶解。加入 15.00 mL 二氯甲烷(6.21.3.1),振摇萃取 3 min,静置分层,将有机相经无水硫酸钠(6.21.3.3)脱水后移入浓缩管中,按上述方法再分别用 10.00 mL 二氯甲烷萃取水样,合并上述萃取液于同一浓缩管中。将上述浓缩管置于 KD 浓缩器或氮吹仪(6.21.4.4)中,在约 40 °C 水浴中浓缩至近干,或用氮吹仪浓缩至近干,用二氯甲烷定容至 1.0 mL。若水样浑浊不清,应先将样品用定性滤纸过滤再进行样品预处理。

6.21.6 分析步骤

6.21.6.1 气相色谱参考条件

进样口温度:250 °C;载气流速:1 mL/min;柱温:恒温 40 °C,保持 10 min;进样方式:直接进样,必要时可采用高压进样;进样量:1 μL ;分流比为 20:1。

6.21.6.2 质谱参考条件

四极杆温度:150 °C;离子源温度:230 °C;传输线温度:280 °C;扫描方式:选择离子监测(SIM);定量离子为:57 m/z ,辅助定性离子为:62 m/z 和 49 m/z 。

6.21.6.3 使用校准标准溶液(6.21.1.3.9)对仪器性能进行检查,得到的关键离子丰度应满足要求,否则应重新调谐质谱仪直至符合要求。

6.21.6.4 标准曲线的绘制:取 7 个 10 mL 容量瓶,预先装有一定量的二氯甲烷,依次准确加入 0 μL, 10.0 μL,20.0 μL,50.0 μL,100 μL,200 μL 和 500 μL 的环氧氯丙烷标准使用溶液(6.21.3.6),用二氯甲烷定容,配制成环氧氯丙烷质量浓度为 0 mg/L,0.10 mg/L,0.20 mg/L,0.50 mg/L,1.00 mg/L, 2.00 mg/L和 5.00 mg/L 的标准系列溶液。各取 1 μL 分别进样,记录环氧氯丙烷色谱峰的响应值。以环氧氯丙烷色谱峰的响应值为纵坐标,以质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

6.21.6.5 样品测定

6.21.6.5.1 进样:将样品进行预处理(6.21.5.3)后直接进样;进样量为 1 μL。

6.21.6.5.2 色谱图的考察:环氧氯丙烷的标准色谱图,见图 8。

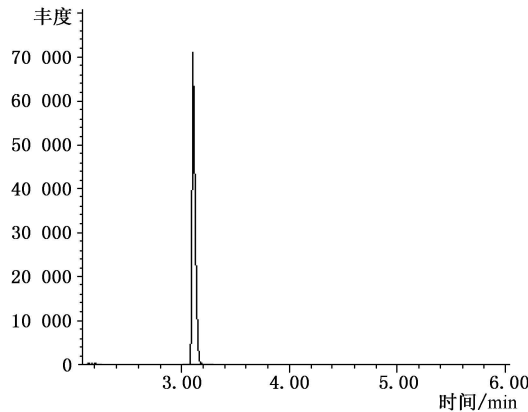


图 8 环氧氯丙烷标准色谱图

6.21.6.5.3 定性分析:根据标准色谱图组分的保留时间,确定待测试样中组分性质。环氧氯丙烷的保留时间为 3.1 min。

6.21.6.5.4 定量分析:外标法。根据环氧氯丙烷定量离子的色谱峰响应值进行定量分析。

6.21.7 结果计算

水样中环氧氯丙烷的质量浓度计算见式(31):

$$\rho = \frac{\rho_1 \times V_1}{V} \dots\dots\dots(31)$$

式中:

- ρ ——水样中环氧氯丙烷的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);
- ρ₁ ——从标准曲线上查出的环氧氯丙烷的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);
- V₁ ——萃取液定容后的体积,单位为毫升(mL);
- V ——水样的体积,单位为毫升(mL)。

6.21.8 精密度和准确度

6.21.8.1 精密度:5 个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入两种不同浓度的环氧氯丙烷标准溶液时,其相对标准偏差见表 42。

表 42 环氧氯丙烷测定结果的精密度

加标浓度/(μg/L)	相对标准偏差/%			
	纯水	水源水	出厂水	管网水
0.40	3.8~25	4.9~16	5.0~19	6.5~18
5.00	1.9~8.2	2.2~15	1.5~17	2.3~17

6.21.8.2 准确度:5个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入两种不同浓度的环氧氯丙烷标准溶液时,其回收率见表43。

如果水样回收率较低,可适当增加水样量。向纯水、水源水和出厂水中加入浓度为0.40 μg/L的环氧氯丙烷标准溶液,当水样量为500 mL时,其平均回收率分别为74%、83%和96%。

表43 环氧氯丙烷测定结果的准确度

加标浓度/(μg/L)	回收率/%			
	纯水	水源水	出厂水	管网水
0.40	52.4~78.9	44.0~67.5	44.7~71.4	43.1~71.4
5.00	46.7~87.7	38.1~56.3	43.5~60.1	41.9~70.0

6.22 丙烯酰胺

6.22.1 适用范围

本方法规定了用液相色谱/串联质谱法测定城镇供水和水源水中的丙烯酰胺。

本方法适用于城镇供水和水源水中丙烯酰胺的测定。

若进样量为10 μL时,本方法的最低检测质量浓度为0.04 μg/L。

6.22.2 原理

水样中的丙烯酰胺,采用液相色谱/串联质谱法测定时,样品使用滤膜过滤后直接进样,或经固相萃取后进样,经液相色谱仪分离,进入串联质谱仪,采用多反应监测(MRM)模式,根据保留时间和特征离子峰进行定性分析,外标法或内标法定量分析。

6.22.3 试剂和材料

6.22.3.1 甲醇:色谱纯。

6.22.3.2 乙腈:色谱纯。

6.22.3.3 甲酸:色谱纯。

6.22.3.4 甲酸溶液($\rho=0.1\%$):取1 mL甲酸于1 000 mL容量瓶中,用纯水定容。

6.22.3.5 丙烯酰胺标准品:固体,纯度大于97%。

6.22.3.6 丙烯酰胺标准储备溶液($\rho=1\ 000\ \text{mg/L}$):准确称取10.0 mg的标准品,用甲醇溶解并定容至10 mL。于0℃~4℃密封避光保存,保存期为5 d。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。

6.22.3.7 丙烯酰胺标准中间溶液($\rho=10.0\ \text{mg/L}$):准确吸取1.00 mL丙烯酰胺标准储备溶液(6.22.3.6)于100 mL容量瓶中,用纯水定容。

6.22.3.8 丙烯酰胺标准使用溶液($\rho=100\ \mu\text{g/L}$):准确吸取1.00 mL丙烯酰胺标准中间溶液(6.22.3.7)于100 mL容量瓶中,用纯水定容。临用时配制。

6.22.3.9 同位素内标: D_3 -丙烯酰胺或 ^{13}C -丙烯酰胺($\rho=0.50\ \mu\text{g/L}$):临用时配制。

6.22.3.10 脱溶剂气:氮气,纯度大于或等于99.999%。

6.22.3.11 碰撞气:氩气或氮气,纯度大于或等于99.999%。

6.22.3.12 固相萃取柱:Sep-Pak AC2,萃取材料为活性炭,吸附剂含量400 mg;或其他性能等效的固相萃取柱。

6.22.3.13 玻璃纤维滤膜:GF/F($\Phi=47\text{mm}$)。

6.22.4 仪器

6.22.4.1 液相色谱-串联质谱联用仪:配电喷雾离子源。

6.22.4.2 色谱柱:ACQUITY HSS T3(2.1 mm×50 mm,1.8 μm),或其他性能等效的色谱柱。

6.22.4.3 容量瓶:10 mL 和 100 mL,棕色。

6.22.4.4 针头式过滤器:聚偏氟乙烯(PVDF),孔径 0.22 μm。

6.22.4.5 玻璃注射器:5 mL。

6.22.4.6 样品瓶:2 mL。

6.22.5 样品

6.22.5.1 应用清洗干净干燥的棕色玻璃瓶或聚四氟乙烯(全氟丙烯)瓶采集水样。

6.22.5.2 应于 0 °C~4 °C 避光保存,12 h 内测定。

6.22.5.3 样品预处理:依次用 10 mL 甲醇和 10mL 纯水,对固相萃取柱(6.22.3.12)进行活化。取 10 mL~200 mL 水样,经玻璃纤维滤膜(6.22.3.13)过滤,再以 5mL/min 的流速通过经活化的固相萃取柱,进行富集。富集完毕后用氮气吹干小柱。用 10 mL 甲醇(6.22.3.1)分 3 次洗脱吸附于固相萃取柱上的待测组分,洗脱液合并至浓缩管中。氮气吹干洗脱液,用纯水定容至 1.0 mL。

6.22.6 分析步骤

6.22.6.1 液相色谱参考条件

流动相:A——甲酸溶液(6.22.3.4),B——甲醇(6.22.3.1);A+B=95+5;进样量:10 μL;柱温:30 °C;洗脱条件:等度洗脱;流速:0.25 mL/min。

6.22.6.2 质谱参考条件

电离方式:电喷雾正离子模式(ESI+);离子源温度:120 °C;毛细管电压:3.5 kV;脱溶剂气温度:350 °C 脱溶剂气流量:400 L/h。

检测方式:多反应离子监测(MRM),多反应监测条件见表 44。

表 44 丙烯酰胺的多反应监测条件

化合物名称	CAS 号	母离子 m/z	子离子 m/z	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
丙烯酰胺	79-06-1	71.9	54.9	20	8
	79-06-1	71.9	43.9	20	8
D ₃ -丙烯酰胺	122775-19-3	74.9	57.9	20	8
¹³ C-丙烯酰胺	287399-24-0	72.9	55.9	20	8

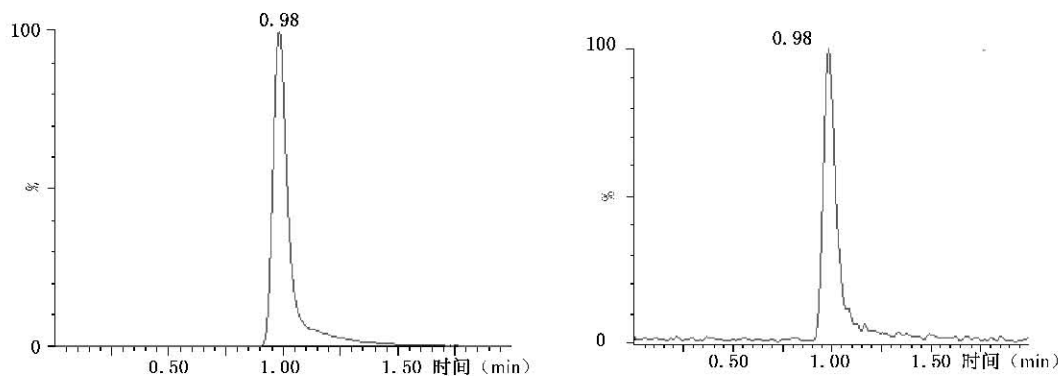
6.22.6.3 标准曲线的绘制:取 8 个 100 mL 容量瓶,依次准确加入 0 μL,40 μL,80 μL,400 μL,800 μL,2.00 mL,4.00 mL 和 10.0 mL 丙烯酰胺标准使用溶液(6.22.3.8),用纯水定容至刻度,配制成浓度分别为 0,0.04 μg/L,0.08 μg/L,0.40 μg/L,0.80 μg/L,2.00 μg/L,4.00 μg/L 和 10.0 μg/L 的标准系列溶液。临用时配制。按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以丙烯酰胺的峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。

6.22.6.4 样品测定

6.22.6.4.1 样品准备:用玻璃注射器直接抽取一定体积的水样,或将预处理(6.22.5.3)后的水样经针头式过滤器(6.22.4.4)过滤,置于样品瓶中上机测定。若样品基质效应明显,亦可采用同位素内标法进行校正。当采用内标法时,建议同位素内标溶液浓度为 0.50 μg/L。

6.22.6.4.2 进样:直接进样,进样量为 10 μL。

6.22.6.4.3 色谱图的考察:丙烯酰胺的 MRM 色谱图,见图 9。



a) 丙烯酰胺的 MRM 色谱图(71.9>54.9) b) 丙烯酰胺的 MRM 色谱图(71.9>43.9)

图 9 丙烯酰胺的 MRM 色谱图

6.22.6.4.4 定性分析:根据丙烯酰胺 MRM 色谱图的保留时间和离子对进行定性分析。丙烯酰胺定量离子对为 71.9>54.9,定性离子对为 71.9>43.9;参考保留时间为 0.91 min。

6.22.6.4.5 定量分析:外标法或内标法。

6.22.7 结果计算

6.22.7.1 外标法

水样中丙烯酰胺的质量浓度计算见式(32):

$$\rho = \frac{\Lambda - b}{k} \dots\dots\dots(32)$$

式中:

ρ ——水样中丙烯酰胺的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

Λ ——水样中丙烯酰胺对应的色谱峰面积;

k ——标准曲线的斜率;

b ——标准曲线的截距。

6.22.7.2 内标法

当采用同位素内标法进行定量分析时,水样中丙烯酰胺的质量浓度计算见式(33):

$$\rho = \frac{\Lambda \times \rho_{is}}{\Lambda_{is}} \dots\dots\dots(33)$$

式中:

ρ ——水样中丙烯酰胺的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

Λ ——水样中丙烯酰胺对应的色谱峰面积;

ρ_{is} ——水样中同位素内标对应的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

Λ_{is} ——水样中同位素内标对应的色谱峰面积。

6.22.8 精密度和准确度

6.22.8.1 精密度:6 个实验室测定纯水、出厂水和管网水加标样品,其相对偏差见表 45。

表 45 丙烯酰胺测定结果的精密度

加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	相对标准偏差/%		
	纯水	出厂水	管网水
0.25	3.4~8.1	1.5~5.9	1.9~9.9
0.50	1.5~7.0	1.5~11	1.4~7.2
1.00	2.2~5.6	1.1~7.9	1.7~4.8

6.22.8.2 准确度:6个实验室测定纯水、出厂水和管网水加标样品,其回收率见表 46。

表 46 丙烯酰胺测定结果的准确度

加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	回收率/%		
	纯水	出厂水	管网水
0.25	93.3~106	85.7~102	91.4~105
0.50	93.9~102	85.3~103	91.6~109
1.00	90.5~105	85.7~107	90.5~105

6.23 微囊藻毒素-LR

6.23.1 适用范围

采用液相色谱/串联质谱法。本方法规定了用液相色谱/串联质谱法测定城镇供水及其水源水中的微囊藻毒素-LR(MC-LR)和微囊藻毒素-RR(MC-RR)。

本方法适用于城镇供水及其水源水中微囊藻毒素-LR(MC-LR)和微囊藻毒素-RR(MC-RR)的测定。

若进样量为 10 μL 时,本方法最低检测质量浓度为:微囊藻毒素-LR,0.10 $\mu\text{g/L}$;微囊藻毒素-RR,0.02 $\mu\text{g/L}$ 。

6.23.2 原理

水样中的微囊藻毒素,采用液相色谱/串联质谱法测定时,样品经预处理后再采用滤膜过滤,经液相色谱仪分离,进入串联质谱仪,采用多反应监测(MRM)模式,根据保留时间和特征离子峰进行定性分析,外标法进行定量分析。

6.23.3 试剂和材料

6.23.3.1 甲醇:色谱纯。

6.23.3.2 乙腈:色谱纯。

6.23.3.3 甲酸:优级纯。

6.23.3.4 甲醇溶液(1+1)。

6.23.3.5 甲醇溶液(8+2)。

6.23.3.6 甲酸溶液($\rho=0.1\%$):取 1 mL 甲酸于 1 000 mL 容量瓶中,用纯水定容。

6.23.3.7 微囊藻毒素标准品:包括微囊藻毒素-RR 和微囊藻毒素-LR,固体,纯度大于或等于 97%。

6.23.3.8 微囊藻毒素-RR 标准储备溶液($\rho=100 \text{ mg/L}$):准确称取 1.0 mg 的标准品,用甲醇溶液

(6.23.3.4)溶解并定容至 10 mL。于 0 °C~4 °C 条件下密封保存。

6.23.3.9 微囊藻毒素-LR 标准储备溶液($\rho=100$ mg/L):准确称取 1.0 mg 的标准品,用甲醇溶液(6.23.3.4)溶解并定容至 10 mL。于 0 °C~4 °C 条件下密封保存。

6.23.3.10 微囊藻毒素混合标准使用溶液:分别移取 100 μ L MC-RR 标准储备溶液(6.23.3.8)和 20.0 μ L MC-LR 标准储备溶液(6.23.3.9)于 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶液(6.23.3.4)定容,此溶液中各组分浓度:MC-RR 为 20.0 μ g/L,MC-LR 为 100 μ g/L。推荐使用市售具有标准物质证书的混合标准溶液或单组分标准溶液,用甲醇溶液(6.23.3.4)配制。

6.23.3.11 脱溶剂气:氮气,纯度大于或等于 99.999%。

6.23.3.12 碰撞气:氩气或氮气,纯度大于或等于 99.999%。

6.23.3.13 玻璃纤维滤膜:GF/F($\phi=47$ mm)。

6.23.4 仪器

6.23.4.1 液相色谱-串联质谱联用仪:带电喷雾离子源。

6.23.4.2 色谱柱:ACQUITY UPLC BEH shield RP18(2.1 mm \times 50 mm,1.7 μ m);或其他性能等效的色谱柱。

6.23.4.3 超声波清洗器。

6.23.4.4 容量瓶:10 mL,棕色。

6.23.4.5 冰箱:超低温冰箱(-80 °C)或低温冰箱(-20 °C)。

6.23.4.6 超声波细胞破碎仪。

6.23.4.7 针头式过滤器:聚偏氟乙烯(PVDF),孔径 0.22 μ m。

6.23.4.8 玻璃注射器:5 mL。

6.23.4.9 样品瓶:2 mL。

6.23.5 样品

6.23.5.1 样品采集

应用棕色玻璃瓶采集。采集水样时应注满容器,上部不留空间,密闭保存。

6.23.5.2 样品保存

应于 0 °C~4 °C 条件下避光保存。

6.23.5.3 样品预处理

6.23.5.3.1 水样经玻璃纤维滤膜(6.23.3.13)过滤,对溶解态藻毒素(水样)和藻细胞内藻毒素(膜样)分别进行不同的处理。水样中的 MC-LR、MC-RR 的总量是水样处理和膜样处理测定结果之和。

6.23.5.3.2 水样处理:用玻璃注射器抽取一定体积的水样,经针头式过滤器(6.23.4.7)过滤,置于样品瓶中,再加入等体积的甲醇(6.23.3.1),上机测定。

6.23.5.3.3 膜样处理:可采用冻融法或超声处理法。

冻融法:取 1 L~5 L 水样,用玻璃纤维滤膜(6.23.3.13)过滤。用镊子小心将滤膜从过滤器中取出,对折放入 50 mL 离心管中。将离心管于 -80 °C 条件下冷冻 120 min,当在 -20 °C 条件下时应冷冻 180 min,取出后在 40 °C 水浴中加热 60 min。重复上述操作,共冻融 7 次。将解冻后的滤膜取出,剪碎,将碎片重新放入离心管中。向上述离心管中加入 30 mL 甲醇溶液(6.23.3.4),萃取、浸泡过夜。在 10 000 g 条件下离心 10 min,取一定体积的上清液,经针头式过滤器(6.23.4.7)过滤,置于样品瓶中,上机测定。

超声处理法:取 1 L~5 L 水样,用玻璃纤维滤膜(6.23.3.13)过滤。将滤膜置于玻璃瓶中,再加入 15 mL 甲醇溶液(6.23.3.5)。将玻璃瓶置于冰水浴中,用功率 600 W 的超声细胞破碎仪采用超声 2 s,间歇 1 s 的方式破碎藻细胞 10 min~30 min。超声后若液面降低则补加甲醇溶液(6.23.3.5)至原体积。将上述溶液进行离心或经针头式过滤器(6.23.4.7)过滤,当藻密度大导致溶液浑浊或颜色呈蓝绿色时,可加入硫酸钠进行盐析处理,再离心后取上清液置于样品瓶中,上机测定。

6.23.6 分析步骤

6.23.6.1 液相色谱参考条件

流动相:A——甲酸溶液(6.23.3.6),B——乙腈(6.23.3.2);柱温:30 °C;流动相流速:0.30 mL/min;洗脱条件:梯度洗脱。

梯度洗脱参考条件见表 47。

表 47 液相色谱梯度洗脱参考条件

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
初始	90	10
3.0	0	100
3.5	0	100
4.0	90	10

注:此条件为超高效(压)液相色谱的参考条件,普通高效液相色谱应根据实际情况进行调整。

6.23.6.2 质谱参考条件

电离方式:电喷雾正离子模式(ESI+);离子源温度:120 °C;毛细管电压:2.5 kV;脱溶剂气温度:350 °C;脱溶剂气流量:400 L/h。

检测方式:多反应离子监测(MRM),多反应监测条件见表 48。

表 48 微囊藻毒素的多反应监测条件

被测组分	母离子 <i>m/z</i>	定量子离子 <i>m/z</i>	定性子离子 <i>m/z</i>	锥孔电压 V	定量子离子碰撞能 eV	定性子离子碰撞能 eV
微囊藻毒素-RR	520	135	103.2	45	35	60
微囊藻毒素-LR	995.9	135	86	88	70	80

6.23.6.3 标准曲线的绘制:取 7 个 10 mL 容量瓶,依次准确加入 0 μ L,10 μ L,20 μ L,50 μ L,100 μ L,200 μ L 和 500 μ L 微囊藻毒素混合标准使用溶液(6.23.3.10),用甲醇溶液(6.23.3.4)定容,配制成 MC-RR 质量浓度分别为 0 μ g/L,0.02 μ g/L,0.04 μ g/L,0.10 μ g/L,0.20 μ g/L,0.40 μ g/L 和 1.00 μ g/L,以及 MC-LR 质量浓度分别为 0 μ g/L,0.10 μ g/L,0.20 μ g/L,0.50 μ g/L,1.00 μ g/L,2.00 μ g/L 和 5.00 μ g/L 的标准系列溶液。按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以色谱峰面积为纵坐标,以质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

6.23.6.4 样品测定

6.23.6.4.1 进样:进样方式为直接进样,进样量为 10.0 μ L。

6.23.6.4.2 色谱图考察:微囊藻毒素-RR 和微囊藻毒素-LR 的 MRM 色谱图,分别见图 10 和图 11。

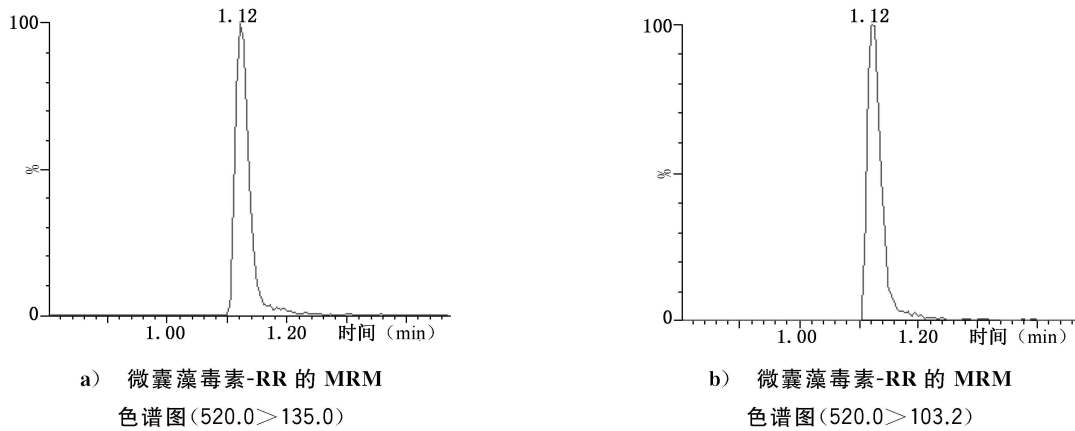


图 10 微囊藻毒素-RR 的 MRM 色谱图

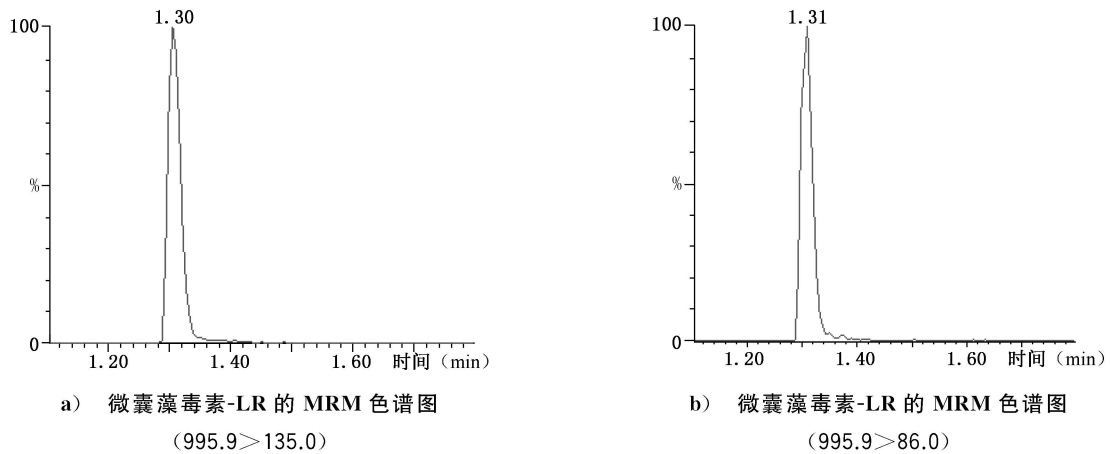


图 11 微囊藻毒素的 MRM 色谱图

6.23.6.4.3 定性分析:根据微囊藻毒素 MRM 色谱图中各组分的保留时间和离子对进行定性分析。保留时间为:MC-RR,1.12 min;MC-LR,1.30 min。

6.23.6.4.4 定量分析:外标法。仪器工作站自动测量并记录色谱峰面积,根据各组分定量离子的色谱峰面积在标准曲线上查出各组分相应的质量浓度。

6.23.7 结果计算

水样中微囊藻毒素-LR 或微囊藻毒素-RR 的质量浓度计算见式(34):

$$\rho = \frac{A - b}{k} \dots\dots\dots (34)$$

式中:

- ρ ——水样中微囊藻毒素-LR 或微囊藻毒素-RR 的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);
- A ——水样中微囊藻毒素-LR 或微囊藻毒素-RR 对应的色谱峰面积;
- k ——标准曲线的斜率;
- b ——标准曲线的截距。

6.23.8 精密度和准确度

6.23.8.1 精密度:4个实验室测定纯水、出厂水和水源水加标样品,其相对标准偏差见表49。

表49 微囊藻毒素测定结果的精密度

被测组分	加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	相对标准偏差/%		
		纯水	出厂水	水源水
微囊藻毒素-LR	0.500	6.8~9.6	7.7~10	7.0~9.6
	1.00	3.9~8.3	6.1~10	6.2~8.2
	2.00	2.0~8.2	5.1~11	3.9~9.0
微囊藻毒素-RR	0.100	5.4~11	0.69~9.0	4.9~19
	0.200	3.2~6.0	5.7~6.7	4.4~9.2
	0.400	2.0~9.0	2.0~8.5	3.2~7.6

6.23.8.2 准确度:4个实验室测定纯水、出厂水和水源水加标样品,其回收率见表50。

表50 微囊藻毒素测定结果的回收率

被测组分	加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	回收率/%		
		纯水	出厂水	水源水
微囊藻毒素-LR	0.500	92.8~99.7	84.4~96.0	91.1~100
	1.00	91.2~99.1	88.9~95.0	90.3~95.7
	2.00	92.6~96.6	85.0~113	85.4~96.0
微囊藻毒素-RR	0.100	94.2~98.6	95.1~101	75.9~99.0
	0.200	85.4~104	85.2~105	75.4~101
	0.400	86.9~103	85.0~103	84.0~103

6.24 微囊藻毒素-RR

液相色谱/串联质谱法按6.23的要求。

6.25 苯酚

6.25.1 适用范围

采用液相色谱法。本方法规定了用液相色谱法测定城镇供水及其水源水中苯酚、4-硝基酚、3-甲基酚、2,4-二氯酚、2,4,6-三氯酚和五氯酚。

本方法适用于城镇供水及其水源水中苯酚、4-硝基酚、3-甲基酚、2,4-二氯酚、2,4,6-三氯酚和五氯酚的测定。

若取水样1000 mL浓缩至1.0 mL测定,进样量为40 μL 时,则本方法最低检测质量浓度分别为:苯酚,0.61 $\mu\text{g/L}$;4-硝基酚,0.12 $\mu\text{g/L}$;3-甲基酚,0.56 $\mu\text{g/L}$;2,4-二氯酚,0.35 $\mu\text{g/L}$;2,4,6-三氯酚,0.54 $\mu\text{g/L}$;五氯酚,0.27 $\mu\text{g/L}$ 。

6.25.2 原理

水中的酚类化合物用固相萃取柱吸附,通过有机溶剂洗脱,经氮吹浓缩至一定体积,采用高效液相色谱法分析,通过色谱柱将酚类化合物分离,用二极管阵列检测器或紫外检测器,测定各种酚类化合物的峰高或峰面积,以外标法进行定量分析。

6.25.3 试剂和材料

6.25.3.1 甲醇:色谱纯。

6.25.3.2 酚类化合物混合标准溶液:直接购买市售具有标准物质证书的混合标准溶液,其中包含苯酚、4-硝基酚、3-甲基酚、2,4-二氯酚、2,4,6-三氯酚和五氯酚,常用浓度为 20 mg/L~200 mg/L。

6.25.3.3 四氢呋喃:色谱纯。

6.25.3.4 正己烷:色谱纯。

6.25.3.5 硫酸溶液($c=0.5$ mol/L):取 2.7 mL 的硫酸($\rho_{20}=1.84$ g/mL),缓慢加入纯水中,稀释至 100 mL。

6.25.3.6 乙酸:优级纯。

6.25.3.7 乙酸溶液($\varphi=0.1\%$):取 1 mL 乙酸于 1 000 mL 容量瓶中,用纯水定容。

6.25.3.8 乙酸-甲醇溶液($\varphi=0.1\%$):取 1 mL 乙酸于 1 000 mL 容量瓶中,用甲醇定容。

6.25.3.9 硫代硫酸钠:分析纯。

6.25.4 仪器

6.25.4.1 高效液相色谱仪。

6.25.4.2 紫外检测器或二极管阵列检测器(DAD)。

6.25.4.3 色谱柱: C_{18} 柱(4.6 mm \times 100 mm,3.5 μ m)或其他性能等效的色谱柱。

6.25.4.4 固相萃取柱: C_{18} 柱(6 mL,200 mg)或其他性能等效的固相萃取柱。

6.25.4.5 尖底浓缩瓶:1.0 mL,具刻度。

6.25.4.6 玻璃纤维滤膜:GF/F($\phi=47$ mm)。

6.25.5 样品

6.25.5.1 应用棕色玻璃瓶采集水样。当采集含有余氯等氧化剂的水样时,水样中应加入适量的硫代硫酸钠脱氯。

6.25.5.2 样品保存:用硫酸溶液(6.25.3.5)调节水样使 pH 值小于 2。水样应于 0 $^{\circ}$ C~4 $^{\circ}$ C 避光冷藏保存,尽快过柱进行检测。

6.25.5.3 样品预处理

6.25.5.3.1 可采用固相萃取法、玻璃纤维滤膜过滤法或圆盘(disk)萃取法。

6.25.5.3.2 固相萃取法:依次用 10 mL 甲醇(6.25.3.1)和 10 mL 纯水,对 C_{18} 固相萃取柱(6.25.4.4)进行活化。取 1 000 mL 水样,加入硫酸溶液(6.25.3.5)使 pH 值达到 1.5~2,再以 5 mL/min~10 mL/min 的流速使水样通过活化的 C_{18} 固相萃取柱(6.25.4.4),萃取完成后用氮气吹干。用 2 mL 四氢呋喃(6.25.3.3)洗脱后置于尖底浓缩瓶内。若有杂峰影响苯酚等的测定,可先用 2 mL 正己烷(6.25.3.4)洗脱后,再用四氢呋喃(6.25.3.3)洗脱。分别将洗脱液浓缩,定容体积均为 1.0 mL,分开贮存。样品测定时,抽取洗脱液进样,可平行测定三次。若用正己烷洗脱则分别测定,将定量结果相加。

6.25.5.3.3 若水样浑浊不清,应先采用玻璃纤维滤膜(6.25.4.6)对水样进行过滤,再进行固相萃取处理。玻璃纤维过滤法:对悬浮物所吸附的酚类化合物,则水样不用滤纸过滤,可采取玻璃纤维过滤方法

处理:水样用经正己烷(6.25.3.4)处理的玻璃纤维过滤,然后分别用正己烷(6.25.3.4)及四氢呋喃(6.25.3.5)洗脱吸附的酚类化合物,洗脱液分开存放并与富集柱的洗脱液合并。

6.25.5.3.4 圆盘(disk)萃取法:将圆盘装置和真空泵连接好,系统不应渗漏。先将5 mL正己烷(6.25.3.4)倒入盘中,在50 kPa下抽干5 min,在常压下倒入5 mL甲醇(6.25.3.1),在3 kPa~7 kPa下让甲醇流出,接近干时,再倒入5 mL纯水,仍在低真空下抽滤,直至液面接近圆盘表面时,停止抽气,准备上样。将水样倒入盘中,在70 kPa真空下,以80 mL/min~120 mL/min的流速抽滤,然后在50 kPa的真空下抽气干燥5 min。将5 mL正己烷(6.25.3.4)加入盘中,在3 kPa~7 kPa的低真空下将待测组分充分洗脱下来,将洗脱液在氮气流下浓缩至0.5 mL,再定容至1.0 mL,供测定用。同样再用5 mL四氢呋喃(6.25.3.5)洗脱,浓缩并定容至1.0 mL。两种洗脱液分别测定并将结果相加。

6.25.6 分析步骤

6.25.6.1 液相色谱参考条件

流动相:A——乙酸-甲醇溶液(6.25.3.8);B——乙酸溶液(6.25.3.7);柱温:35℃~40℃;进样量:40 μL;洗脱条件:梯度洗脱。

梯度洗脱参考条件,见表51。

表51 液相色谱梯度洗脱参考条件

时间/min	流速/(mL/min)	流动相 A/%	流动相 B/%
0	0.6	50	50
5.0	0.6	50	50
5.1	0.8	45	55
8.0	0.8	90	10
13.0	0.8	90	10
13.1	0.6	50	50
18.0	0.6	50	50

6.25.6.2 检测器条件

不同酚类化合物的特征波长,见表52。在柱压稳定后开启二极管阵列检测器(DAD),设立DAD波长变换程序表,根据各自仪器分离情况确定,参考条件见表53。

表52 酚类化合物的特征波长

化合物名称	特征波长/nm
苯酚	275
4-硝基酚	320
3-甲基酚	275
2,4-二氯酚	295
2,4,6-三氯酚	295
五氯酚	305

表 53 二极管阵列检测器(DAD)波长变化程序表

时间/min	样品波长/nm	带宽	参比波长/nm	带宽	平衡
0	275	16	360	100	
3.7	275	16	360	100	
3.8	320	16	360	100	
4.3	320	16	360	100	
4.35	275	16	360	100	
5.25	275	16	360	100	√
6.1	275	8	360	100	
7.5	275	8	360	100	
7.6	295	8	360	100	
10.60	295	8	360	100	
10.61	305	8	360	100	
15.0	305	8	360	100	√
18.0	305	8	360	100	

6.25.6.3 标准曲线的绘制:依次准确加入 0 μL , 50 μL , 100 μL , 200 μL , 500 μL 和 1.00 mL 酚类化合物混合标准溶液(6.25.3.2)于 6 个 10 mL 容量瓶中,用甲醇(6.25.3.1)定容,配制成标准系列溶液。酚类化合物标准系列溶液的浓度见表 54。按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以酚类化合物色谱峰的峰面积为纵坐标,以浓度为横坐标,绘制标准曲线。

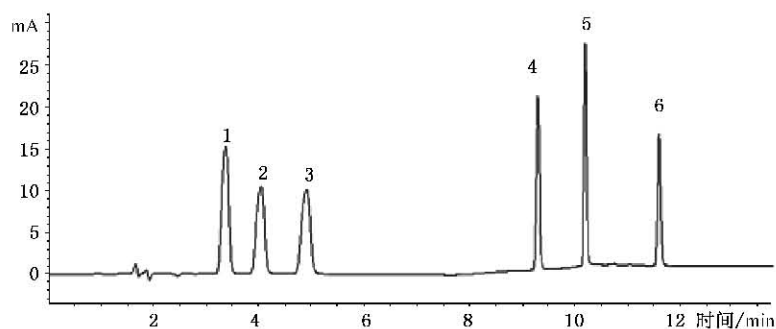
表 54 酚类化合物标准系列溶液浓度

标准系列溶液浓度/(mg/L)					
苯酚	4-硝基酚	3-甲基酚	2,4-二氯酚	2,4,6-三氯酚	五氯酚
0	0	0	0	0	0
1.00	0.250	1.00	1.00	1.00	1.00
2.00	0.500	2.00	2.00	2.00	2.00
4.00	1.00	4.00	4.00	4.00	4.00
10.0	2.50	10.0	10.0	10.0	10.0
20.0	5.00	20.0	20.0	20.0	20.0

6.25.6.4 样品测定

6.25.6.4.1 进样:用微量注射器手动进样或自动进样器进样;进样量为 40 μL 。

6.25.6.4.2 色谱图的考察:酚类化合物的标准色谱图,见图 12。



说明:

- 1 苯酚;
- 2 4-硝基酚;
- 3 3-甲基酚;
- 4 2,4-二氯酚;
- 5 2,4,6-三氯酚;
- 6 五氯酚。

图 12 酚类化合物标准色谱图

6.25.6.4.3 定性分析:根据标准色谱图中各组分的保留时间确定被测试样中的组分及名称。各组分保留时间为:苯酚,3.37 min;4-硝基酚,4.04 min;3-甲基酚,4.91 min;2,4-二氯酚,9.31min;2,4,6-三氯酚,10.21 min;五氯酚,11.62 min。

6.25.6.4.4 定量分析:外标法。通过各组分色谱峰的峰面积,根据标准曲线计算定量,或由工作站根据标准曲线计算定量。

6.25.7 结果计算

水样中酚类化合物各组分质量浓度的计算见式(35):

$$\rho_i = \frac{\rho_0 \times V_t}{V_s} \quad \dots\dots\dots (35)$$

式中:

- ρ_i ——水样中酚类化合物各组分质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);
- ρ_0 ——水样中酚类化合物固相萃取洗脱液质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);
- V_t ——水样中酚类化合物固相萃取洗脱液浓缩后定容体积,单位为毫升(mL);
- V_s ——水样体积,单位为毫升(mL)。

6.25.8 精密度和准确度

6.25.8.1 精密度:7个实验室测定人工合成水样,其相对标准偏差见表55。

表 55 酚类化合物测定结果的精密度

被测组分	组分浓度/ $(\mu\text{g/L})$	相对标准偏差/%
苯酚	4.00	14
	20.0	14
4-硝基酚	1.00	12
	5.00	8.5

表 55 (续)

被测组分	组分浓度/($\mu\text{g/L}$)	相对标准偏差/%
3-甲基酚	4.00	11
	20.0	7.2
2,4-二氯酚	4.00	11
	20.0	5.5
2,4,6-三氯酚	4.00	7.0
	20.0	4.8
五氯酚	4.00	6.5
	20.0	7.0

6.25.8.2 准确度:7个实验室测定人工合成水样,其平均回收率见表56。

表 56 酚类化合物测定结果的回收率

被测组分	组分浓度/($\mu\text{g/L}$)	平均回收率/%
苯酚	4.00	89.0
	20.0	97.4
4-硝基酚	1.00	95.0
	5.00	96.4
3-甲基酚	4.00	94.2
	20.0	95.6
2,4-二氯酚	4.00	96.5
	20.0	97.9
2,4,6-三氯酚	4.00	99.5
	20.0	100
五氯酚	4.00	96.0
	20.0	93.9

6.26 4-硝基酚

液相色谱法按 6.25 的要求。

6.27 3-甲基酚

液相色谱法按 6.25 的要求。

6.28 2,4-二氯酚

液相色谱法按 6.25 的要求。

6.29 萘

6.29.1 适用范围

本方法规定了用液相色谱法测定城镇供水及其水源水中的萘(NPH)、荧蒹(FLU)、苯并(b)荧蒹(BbF)、苯并(k)荧蒹(BkF)、苯并(a)芘(BaP)、苯并(ghi)芘(BPer)和茚并[1,2,3-c,d]芘(IP)。

本方法适用于城镇供水及其水源水中多环芳烃(PAHs)包括萘(NPH)、荧蒹(FLU)、苯并(b)荧蒹(BbF)、苯并(k)荧蒹(BkF)、苯并(a)芘(BaP)、苯并(ghi)芘(BPer)和茚并[1,2,3-c,d]芘(IP)的测定。

若取水样 500 mL 浓缩至 0.5 mL 测定,进样量为 10 μ L 时,则本方法最低检测质量浓度为:萘, 35.5 ng/L; 荧蒹, 1.2 ng/L; 苯并(b)荧蒹, 1.7 ng/L; 苯并(k)荧蒹, 0.05 ng/L; 苯并(a)芘, 1.0 ng/L; 苯并(ghi)芘, 1.3 ng/L; 茚并[1,2,3-c,d]芘, 5.5 ng/L。

6.29.2 原理

本方法采用 C_{18} 固相萃取柱对水中的 PAHs 进行吸附保留;用二氯甲烷洗脱 PAHs 后,进入液相色谱仪,用 C_{18} 色谱柱分离后,用荧光和/或紫外检测器检测,通过保留时间和特征紫外吸收或荧光进行定性分析,外标法定量测定。

6.29.3 试剂和材料

6.29.3.1 甲醇:色谱纯。

6.29.3.2 二氯甲烷:色谱纯。

6.29.3.3 四氢呋喃:色谱纯。

6.29.3.4 硫代硫酸钠。

6.29.3.5 异丙醇:色谱纯。

6.29.3.6 多环芳烃标准储备溶液:购买市售具有标准物质证书的混合标准溶液。

6.29.4 仪器

6.29.4.1 高压液相色谱仪。

6.29.4.2 荧光检测器。

6.29.4.3 紫外检测器。

6.29.4.4 色谱柱: C_{18} 柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m)或其他性能等效的色谱柱。

6.29.4.5 固相萃取装置:全自动固相萃取仪;或具有类似功能的固相萃取抽滤装置(负压)或恒流蠕动泵(正压)。

6.29.4.6 真空泵:30 L/min。

6.29.4.7 固相萃取柱: C_{18} 柱(6 mL, 500 mg)或其他性能等效的固相萃取柱。

6.29.4.8 采样瓶:带磨口玻璃塞的棕色玻璃细口瓶。

6.29.4.9 尖底浓缩管:最小分度为 0.1 mL,容积应进行标定,带磨口玻璃塞。

6.29.5 样品

6.29.5.1 样品应采集在棕色玻璃瓶中。当水样中含有余氯时,每升水样中应加入 25 mg 的硫代硫酸钠(6.29.3.4)除去余氯的干扰。当不能立即进行样品处理时,宜在采样时每升水样加入 200 mL 的异丙醇(6.29.3.5)作为样品稳定剂和基体改性剂。

6.29.5.2 样品应置于暗处,于 0 $^{\circ}$ C \sim 4 $^{\circ}$ C 冷藏保存,在 24 h 内尽快进行预处理。将吸附后的固相萃取柱直接贮存在冰箱中,在 20 d 内将 PAHs 从固相萃取柱上洗脱下来,进行样品分析。

6.29.5.3 样品预处理

6.29.5.3.1 固相萃取法:根据配备的液相色谱仪灵敏度和水源污染状况,量取 500 mL~2 000 mL 水样。每 1 000 mL 水样,加入 200 mL 的异丙醇(6.29.3.5),若在采样时加入异丙醇,不再重复加入,混合均匀。依次用 2 mL 二氯甲烷(6.29.3.2)、2 mL 的甲醇(6.29.3.1)和 5 mL 纯水,对 C_{18} 固相萃取柱进行活化。将水样以 4 mL/min~5 mL/min 的流速,全部通过活化的 C_{18} 固相萃取柱进行富集。再用 5 mL 纯水淋洗,富集完成后用氮气吹干。用 2 mL 二氯甲烷(6.29.3.2)或四氢呋喃(6.29.3.3)分两次洗脱吸附在 C_{18} 固相萃取柱上的被测组分,再将洗脱液合并至浓缩管中。将洗脱液浓缩,再用二氯甲烷(6.29.3.2)定容至 0.5 mL。

6.29.5.3.2 玻璃纤维或滤膜过滤法:适用于悬浮物所吸附的 PAHs。其分析步骤为:水样先用经二氯甲烷(6.29.3.2)处理过的玻璃纤维过滤,然后用二氯甲烷洗下吸附的 PAHs,将洗脱液与经固相萃取处理后的洗脱液合并;或用经二氯甲烷(6.29.3.2)处理过的滤膜过滤,再用二氯甲烷洗下滤膜上的 PAHs,将洗脱液与经固相萃取处理后的洗脱液合并。

6.29.5.3.3 圆盘(disk)萃取法:适用于悬浮物所吸附的 PAHs,尤其是含颗粒物较多的地表水中的悬浮物。其分析步骤如下:

- a) 设备装配:将圆盘装置和真空泵联结好,保证没有液体渗漏。
- b) 圆盘条件化:先将 5 mL 二氯甲烷(6.29.3.2)倒入盘中,接上真空泵,在 50 kPa 下抽滤持续 5 min,停止抽气,恢复常压,倒入 5 mL 甲醇(6.29.3.1),在 3 kPa~7 kPa 的低真空下,让甲醇缓缓流出,接近抽干时,再倒入 5 mL 去离子水,仍然在低真空下抽滤,直至液面接近圆盘表面时,停止抽气,备用。
- c) 样品过滤与圆盘干燥:将样品倒入盘中,在 70 kPa 真空下,以 80 mL/min~120 mL/min 的流速抽滤,在 50 kPa 的真空下抽空气干燥 5 min。
- d) 洗脱与浓缩:将 5 mL 二氯甲烷(6.29.3.2)加入盘中,在 3 kPa~7 kPa 的低真空下使待测组分充分洗脱,将洗脱液用氮吹浓缩至近干,用二氯甲烷(6.29.3.2)定容至 0.5 mL。

6.29.6 分析步骤

6.29.6.1 液相色谱条件

流动相:甲醇(6.29.3.1)+水(80+20);进样量:5 μ L~25 μ L;柱温:35 $^{\circ}$ C;洗脱条件:采用等度洗脱;流速为 1.0 mL/min。当分离效果不理想时,可增加流动相中水的比例,或采用梯度洗脱。

6.29.6.2 检测器条件

6.29.6.2.1 荧光检测器:不同目标化合物荧光器的特征激发波长和发射波长,见表 57。为获得较高方法的灵敏度,根据最优化柱系统条件下获得的各 PAHs 的保留时间,进行波长程序设置。

表 57 多环芳烃的特征激发波长和发射波长

多环芳烃	激发波长 λ_{ex}/nm	发射波长 λ_{em}/nm
萘	275	350
荧蒹	226	449
苯并(b)荧蒹	302	452
苯并(k)荧蒹	302	431
苯并(a)芘	297	405
苯并(ghi)芘	302	420
茚并[1,2,3-c,d]芘	305	500

6.29.6.2.2 紫外检测器:检测波长为 254 nm。当水源水样品中背景干扰严重时,可选用其他紫外波长。

6.29.6.3 标准曲线的绘制:根据液相色谱仪的线性工作范围,选择不同浓度的标准系列溶液,所用标准系列溶液由混合的 PAHs 标准溶液用甲醇稀释制得,标准系列溶液浓度见表 58。按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以色谱峰的响应值(峰面积)为纵坐标,以质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

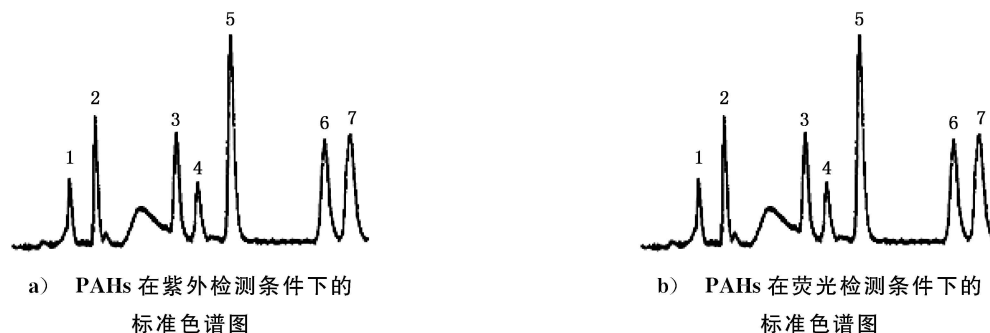
表 58 多环芳烃标准系列溶液浓度

标准系列溶液浓度						
NPH mg/L	FLU μg/L	BbF μg/L	BkF μg/L	BaP μg/L	BPer μg/L	IP μg/L
0.50	5.0	2.0	2.0	5.0	8.0	6.0
1.00	10.0	4.00	4.0	10.0	16.0	10.0
2.00	20.0	8.00	8.00	20.0	32.0	20.0
4.00	40.0	16.0	16.0	40.0	64.0	40.0
6.00	60.0	24.0	24.0	60.0	96.0	60.0
8.00	80.0	32.0	32.0	80.0	128	80.0
10.0	100	40.0	40.0	100	160	100

6.29.6.4 样品测定

6.29.6.4.1 进样:以注射器手动进样或自动进样器进样。进样量:5 μL~25 μL。

6.29.6.4.2 色谱图的考察:多环芳烃的标准色谱图,见图 13。



说明:

- 1——萘(NPH);
- 2——荧蒹(FLU);
- 3——苯并(b)荧蒹(BbF);
- 4——苯并(k)荧蒹(BkF);
- 5——苯并(a)芘(BaP);
- 6——苯并(ghi)芘(BPer);
- 7——茚并[1,2,3-c,d]芘(IP)。

图 13 多环芳烃的标准色谱图

6.29.6.4.3 定性分析:根据标准色谱图各组分的保留时间,确定出被测试样中存在的组分数目和组分名称。

在紫外检测条件下,各组分的保留时间为:NPH,2.78 min;FLU,3.94 min;BbF,7.65 min;BkF,8.65 min;BaP,10.48 min;BPer,14.48 min;IP,15.65 min。

在荧光检测条件下,各组分的保留时间为: NPH,2.38 min;FLU,3.74 min;BbF,7.53 min;BkF,8.67 min; BaP,10.10 min;BPer,14.43 min;IP,15.72 min。

6.29.6.4.4 定量分析:外标法。

6.29.7 结果计算

采用色谱工作站,计算机自动计算出洗脱液中各组分的质量浓度。水样中各组分的浓度计算见式(36):

$$\rho_i = \frac{\rho_0 \times V_c}{V_s} \dots\dots\dots(36)$$

式中:

ρ_i ——水样中各组分质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

ρ_0 ——固相萃取洗脱液质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

V_c ——固相萃取洗脱液浓缩后定容体积,单位为毫升(mL);

V_s ——水样体积,单位为毫升(mL)。

注:计算出水样中 PAHs 含量,以 $\mu\text{g/L}$ 表示,但 NPH 以 mg/L 表示。

6.29.8 精密度和准确度

6.29.8.1 8个实验室分别测定两种加标浓度的人工合成水样,其相对标准偏差和加标回收率见表 59。

表 59 多环芳烃测定结果的精密度和准确度

被测组分	加标浓度	相对标准偏差/%	平均回收率/%
NPH	2.0 mg/L	20.5	85.6
	8.0 mg/L	12.3	92.2
FLU	20.0 $\mu\text{g/L}$	18.5	97.6
	80.0 $\mu\text{g/L}$	15.9	94.6
BbF	8.0 $\mu\text{g/L}$	17.8	100.5
	32.0 $\mu\text{g/L}$	10.9	98.1
BkF	8.0 $\mu\text{g/L}$	11.5	101
	32.0 $\mu\text{g/L}$	7.52	99.4
BaP	20.0 $\mu\text{g/L}$	11.6	101
	80.0 $\mu\text{g/L}$	7.25	95.0
BPer	32.0 $\mu\text{g/L}$	9.97	94.7
	128 $\mu\text{g/L}$	9.29	93.4
IP	20.0 $\mu\text{g/L}$	12.8	96.0
	80.0 $\mu\text{g/L}$	8.81	91.5

6.29.8.2 采用圆盘萃取方式对地表水加标样进行富集,其相对标准偏差和加标回收率,见表 60。

表 60 采用圆盘萃取方式向地表水样品中加标时的精密度和准确度

被测组分	加标浓度	分析次数	相对标准偏差/%	平均回收率/%
NPH	5 $\mu\text{g/L}$ ~10 $\mu\text{g/L}$	7	18	74
FLU	40 ng/L ~60 ng/L	9	8.6	102
BbF	16 ng/L ~24 ng/L	10	14	103
BkF	16 ng/L ~24 ng/L	10	7.3	107
BaP	40 ng/L ~60 ng/L	10	5.7	97
BPer	64 ng/L ~96 ng/L	10	8.4	100
IP	40 ng/L ~60 ng/L	10	8.2	104

6.30 荧蒽

液相色谱法按 6.29 的要求。

6.31 苯并(b)荧蒽

液相色谱法按 6.29 的要求。

6.32 苯并(k)荧蒽

液相色谱法按 6.29 的要求。

6.33 苯并(a)芘

液相色谱法按 6.29 的要求。

6.34 苯并(ghi)芘

液相色谱法按 6.29 的要求。

6.35 茚并[1,2,3-c,d]芘

液相色谱法按 6.29 的要求。

7 农药指标

7.1 敌敌畏

7.1.1 液相色谱/串联质谱法

7.1.1.1 适用范围

本方法规定了用液相色谱/串联质谱法测定城镇供水及其水源水中的乐果、呋喃丹、敌敌畏、莠去津、甲基对硫磷、马拉硫磷、对硫磷、灭草松、毒死蜱、2,4-滴、五氯酚和溴氰菊酯。

本方法适用于城镇供水及其水源水中乐果、呋喃丹、敌敌畏、莠去津、甲基对硫磷、马拉硫磷、对硫磷、灭草松、毒死蜱、2,4-滴、五氯酚和溴氰菊酯的测定。

本方法 12 种农药的最低检测质量浓度为：乐果，0.29 $\mu\text{g/L}$ ；呋喃丹，0.27 $\mu\text{g/L}$ ；敌敌畏，0.16 $\mu\text{g/L}$ ；

莠去津,0.13 μg/L;甲基对硫磷,1.6 μg/L;马拉硫磷,0.39 μg/L;对硫磷,0.73 μg/L;灭草松,0.57 μg/L;毒死蜱,0.16 μg/L;2,4-滴,1.1 μg/L;五氯酚,0.79 μg/L;溴氰菊酯,2.1 μg/L。

7.1.1.2 原理

样品经预处理,直接进样,经液相色谱仪分离,然后进入串联质谱仪,采用多反应监测(MRM)模式,根据保留时间和特征离子峰进行定性分析,外标法或内标法进行定量测定。

7.1.1.3 试剂和材料

7.1.1.3.1 甲醇:色谱纯。

7.1.1.3.2 甲醇溶液(1+1)。

7.1.1.3.3 甲酸(或乙酸)。

7.1.1.3.4 抗坏血酸溶液($\rho=20$ g/L):称取 2.0 g 抗坏血酸,用纯水溶解并稀释至 100 mL。于 0 °C~4 °C 保存。若颜色变黄应重新配制。

7.1.1.3.5 甲酸(或乙酸)溶液($\phi=0.1\%$):取 1 mL 甲酸(或乙酸)于 1 000 mL 容量瓶中,用纯水定容。

7.1.1.3.6 农药标准品:包括乐果、呋喃丹、敌敌畏、莠去津、甲基对硫磷、马拉硫磷、对硫磷、灭草松、毒死蜱、2,4-滴、五氯酚、溴氰菊酯,各组分纯度不小于 97%。推荐使用市售具有标准物质证书的混合标准溶液或单组分标准溶液,溶剂为甲醇或乙腈。

7.1.1.3.7 农药标准储备溶液($\rho=1\ 000$ mg/L):准确称取 10.0 mg 不同组分的农药标准品(7.1.1.3.6),分别用甲醇(7.1.1.3.1)溶解并定容至 10 mL。在 -20 °C 密封冷藏,在 6 个月内稳定。

7.1.1.3.8 农药中间溶液($\rho=10.0$ mg/L):分别移取 0.10 mL 农药标准储备溶液(7.1.1.3.7)于同一个 10 mL 容量瓶中,用甲醇(7.1.1.3.1)定容,配制成各组分浓度均为 10.0 mg/L 的混合标准溶液。

7.1.1.3.9 农药标准使用溶液($\rho=100$ μg/L):准确移取 1.00 mL 农药中间溶液(7.1.1.3.8)于 100 mL 容量瓶中,用甲醇溶液(7.1.1.3.2)定容。

7.1.1.3.10 脱溶剂气:高纯氮气,纯度大于或等于 99.999%。

7.1.1.3.11 碰撞气:高纯氩气或氦气,纯度大于或等于 99.999%。

7.1.1.4 仪器

7.1.1.4.1 液相色谱-串联质谱联用仪:电喷雾离子源。

7.1.1.4.2 色谱柱: C_{18} 柱或氟苯基柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm)或其他性能等效的色谱柱。

7.1.1.4.3 容量瓶:10 mL,100 mL,棕色。

7.1.1.4.4 聚偏氟乙烯(PVDF)针头式过滤器:孔径 0.22 μm。

7.1.1.4.5 一次性注射器:1 mL 或 2 mL。

7.1.1.4.6 样品瓶:2 mL。

7.1.1.5 样品

7.1.1.5.1 应用干净干燥的 100 mL 棕色玻璃瓶采集水样。对于含余氯等氧化剂的样品,应向水样中加入 0.1 mL 抗坏血酸溶液(7.1.1.3.4)脱氯。

7.1.1.5.2 样品于 0 °C~4 °C 冷藏保存。

7.1.1.5.3 样品预处理:用一次性注射器抽取水样,用 PVDF 滤膜过滤,然后加入等体积的甲醇(7.1.1.3.1),装入进样瓶中,待机分析。

7.1.1.6 分析步骤

7.1.1.6.1 液相色谱参考条件

流动相 A:甲醇(7.1.1.3.1);流动相 B:甲酸(或乙酸)溶液(7.1.1.3.5)。

流速:0.4 mL/min;柱温:30 ℃;进样量:10 μL 或 20 μL。
流动相参考梯度洗脱程序:见表 61。

表 61 流动相参考梯度洗脱程序

时间 min	流动相 A %	流动相 B %
初始	50	50
3.5	90	10
3.6	100	0
4	50	50
5	50	50

注:此条件为超高效液相色谱仪的参考条件,高效液相色谱的参考条件应根据实际情况进行调整。

7.1.1.6.2 质谱参考条件

毛细管电压:3.5 kV;源温度:120 ℃;脱溶剂气温度:350 ℃;脱溶剂气流量:800 L/h;碰撞室压力:0.3 Pa~0.35 Pa。

检测方式:多反应离子监测(MRM),12种农药的多反应监测条件见表 62。

表 62 12种农药的多反应监测条件

农药名称	CAS	ESI	母离子 m/z	锥孔电压 V	子离子 m/z	碰撞能 eV
乐果	60-51-5	+	230.1	22	125.0	20
				22	199.0*	10
呋喃丹	1563-66-2	+	222.1	30	123.1	24
				30	165.2*	14
敌敌畏	62-73-7	+	221.0	38	79.1	26
				38	109.0*	18
莠去津	1912-24-9	+	216.2	40	96.1	24
				41	174.1*	20
甲基对硫磷	298-00-0	+	264.0	38	125.1*	18
				38	232.1	14
马拉硫磷	121-75-5	+	331.2	24	99.1	26
				24	127.2*	12
对硫磷	56-38-2	+	292.1	30	236.1*	14
				30	264.2	12
灭草松	25057-89-0	+	241.1	21	107.1	26
				21	199.1*	12
毒死蜱	2921-88-2	+	345.0	28	97.0*	30
				28	198.0	18

表 62 (续)

农药名称	CAS	ESI	母离子 m/z	锥孔电压 V	子离子 m/z	碰撞能 eV
2,4-滴	94-75-7	—	219.0	24	125.1	22
				24	161.0*	16
五氯酚	87-86-5	—	264.8	50	34.9*	22
				50	37.0	30
溴氰菊酯	52918-63-5	+	504.1	34	93.0	50
				34	279.0*	12

注：标记*的为定量离子。

7.1.1.6.3 标准曲线的绘制：取 11 个 10 mL 容量瓶，依次准确加入 0 μL ，10 μL ，20 μL ，50 μL ，100 μL ，200 μL ，500 μL ，1.00 mL，2.00 mL，5.00 mL 和 10.0 mL 混合标准使用溶液，用甲醇溶液(7.1.1.3.2)稀释至刻度，配制成浓度分别为 0 $\mu\text{g/L}$ ，0.10 $\mu\text{g/L}$ ，0.20 $\mu\text{g/L}$ ，0.50 $\mu\text{g/L}$ ，1.00 $\mu\text{g/L}$ ，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 $\mu\text{g/L}$ 和 100 $\mu\text{g/L}$ 的标准系列溶液。按照浓度从低到高的顺序，依次上机测定。以目标化合物的峰面积为纵坐标，其对应的质量浓度为横坐标，绘制标准曲线。

7.1.1.6.4 样品测定

7.1.1.6.4.1 进样：将预处理后的样品按照仪器参考条件和分析步骤直接进样上机测定。

7.1.1.6.4.2 色谱图的考察：12 种农药的 MRM 色谱图，见图 14~图 25。

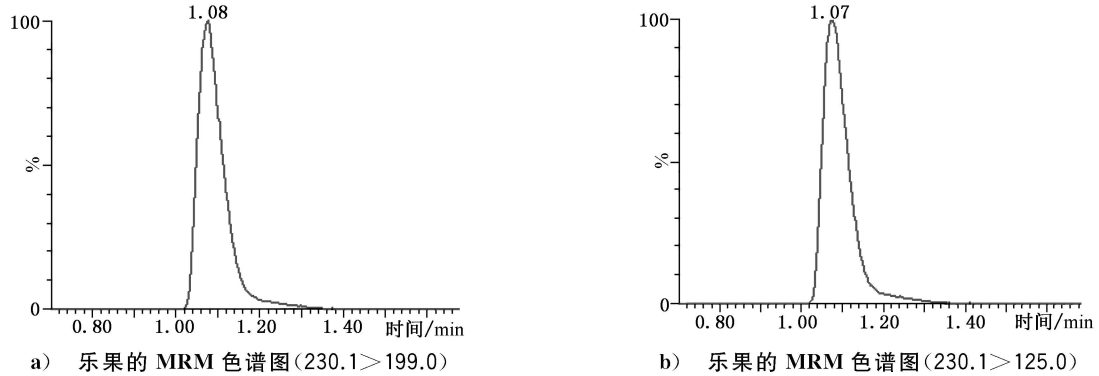


图 14 乐果的 MRM 色谱图

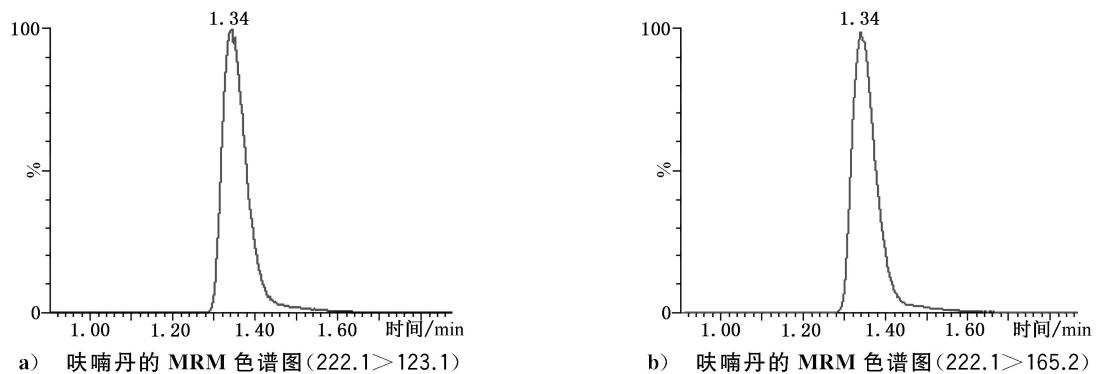
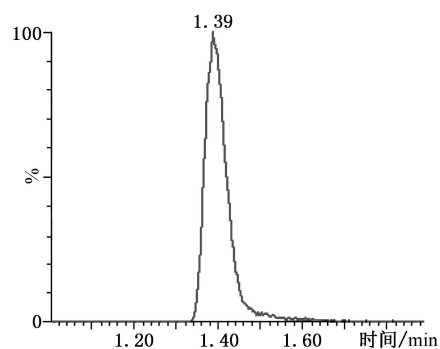
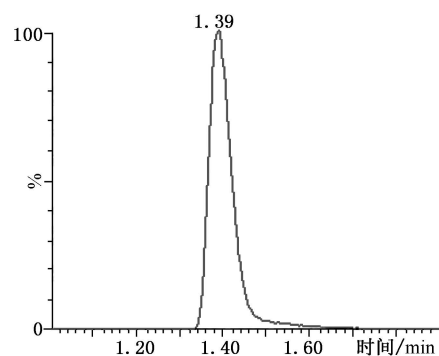


图 15 呋喃丹的 MRM 色谱图

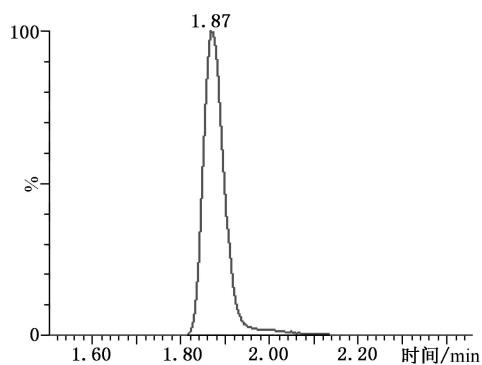


a) 敌敌畏的 MRM 色谱图(220.1>109.0)

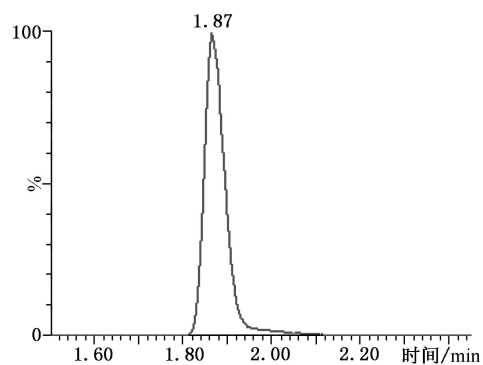


b) 敌敌畏的 MRM 色谱图(220.1>79.1)

图 16 敌敌畏的 MRM 色谱图

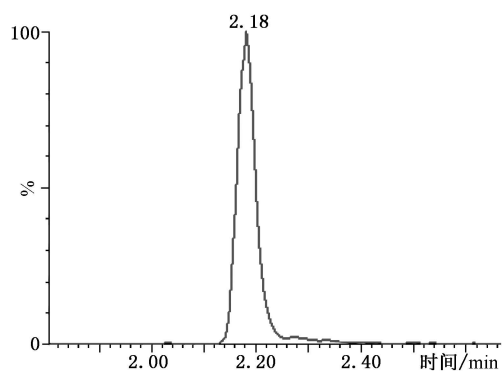


a) 莠去津的 MRM 色谱图(216.2>174.1)

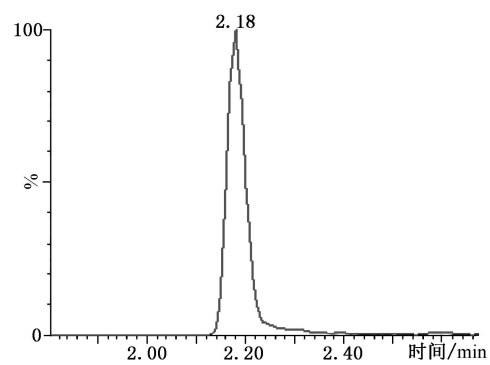


b) 莠去津的 MRM 色谱图(216.2>96.1)

图 17 莠去津的 MRM 色谱图

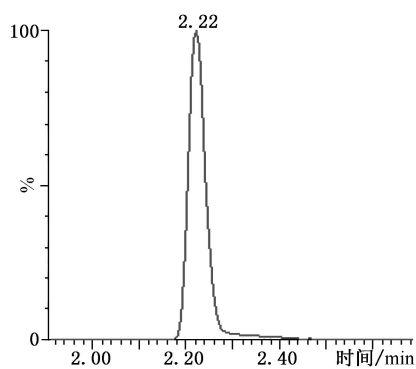


a) 甲基对硫磷的 MRM 色谱图(264.0>232.1)

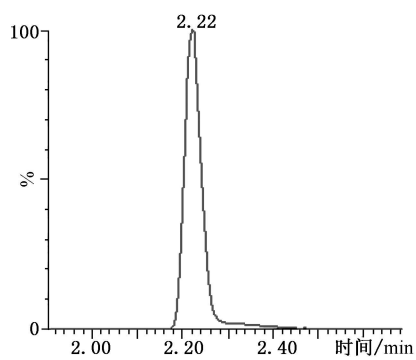


b) 甲基对硫磷的 MRM 色谱图(264.0>125.1)

图 18 甲基对硫磷的 MRM 色谱图

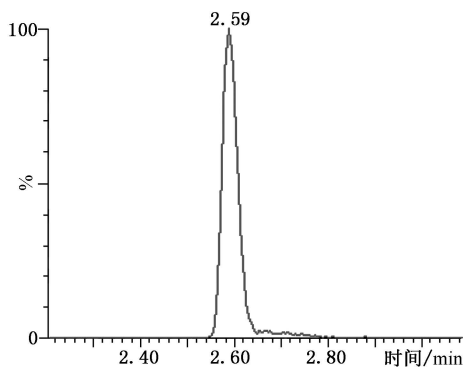


a) 马拉硫磷的 MRM 色谱图(331.2>127.2)

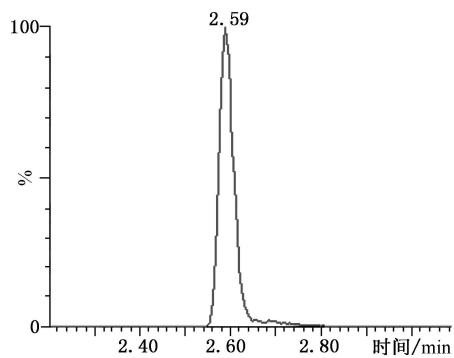


b) 马拉硫磷的 MRM 色谱图(331.2>99.1)

图 19 马拉硫磷的 MRM 色谱图

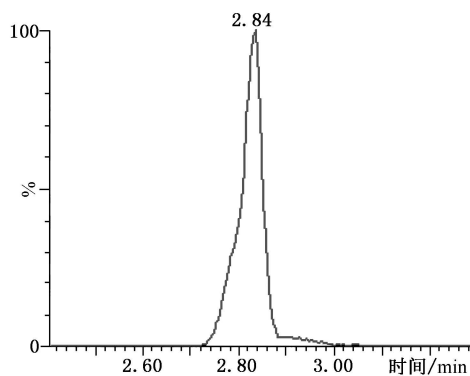


a) 对硫磷的 MRM 色谱图(292.1>264.2)

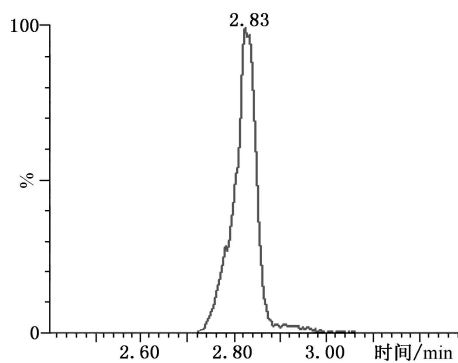


b) 对硫磷的 MRM 色谱图(292.1>236.1)

图 20 对硫磷的 MRM 色谱图

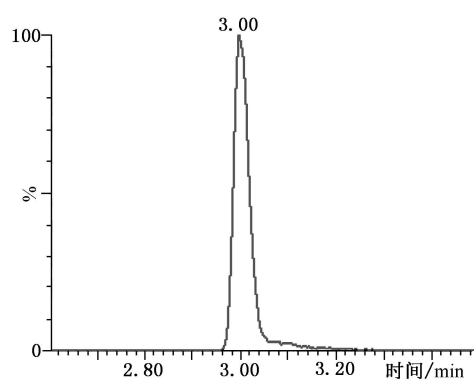


a) 灭草松的 MRM 色谱图(241.1>199.1)

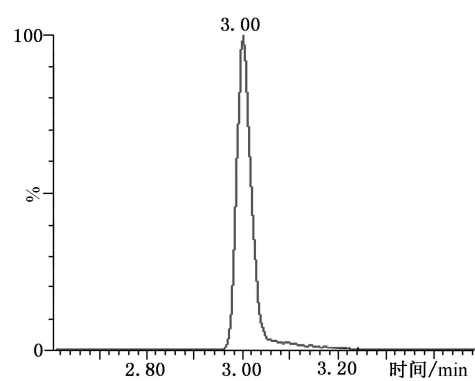


b) 灭草松的 MRM 色谱图(241.1>107.1)

图 21 灭草松的 MRM 色谱图

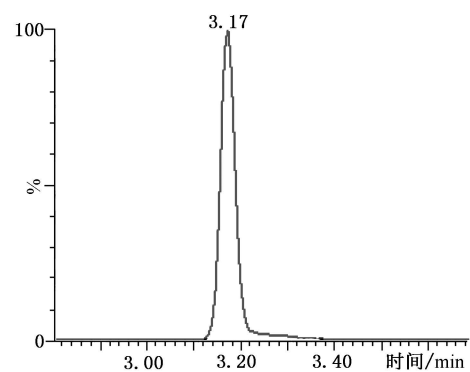


a) 毒死蜱的 MRM 色谱图 (350.0 > 198.0)

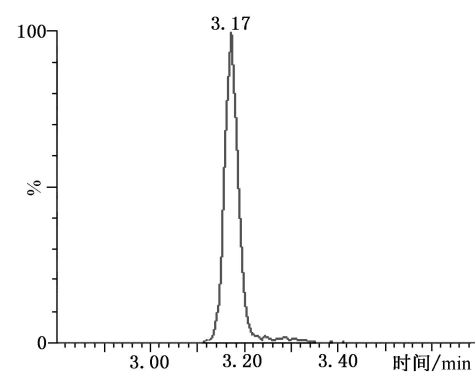


b) 毒死蜱的 MRM 色谱图 (350.0 > 97.0)

图 22 毒死蜱的 MRM 色谱图

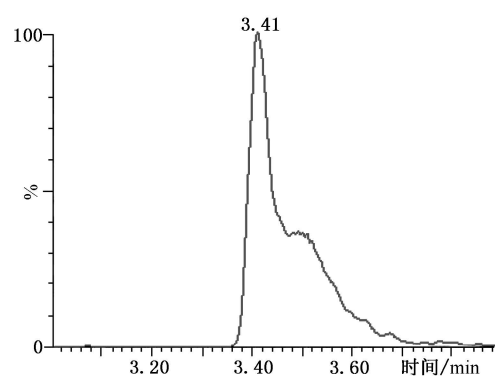


a) 2,4-滴的 MRM 色谱图 (219.0 > 161.0)

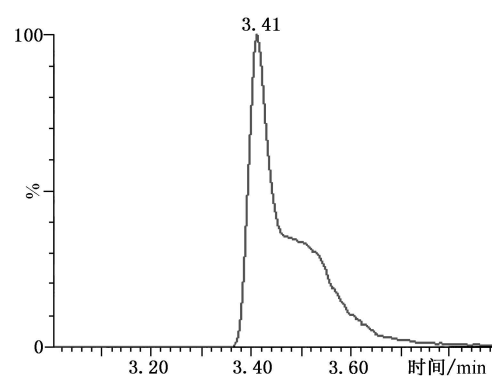


b) 2,4-滴的 MRM 色谱图 (219.0 > 125.1)

图 23 2,4-滴的 MRM 色谱图



a) 五氯酚的 MRM 色谱图 (264.8 > 37.0)



b) 2,4-滴的 MRM 色谱图 (264.8 > 34.9)

图 24 五氯酚的 MRM 色谱图

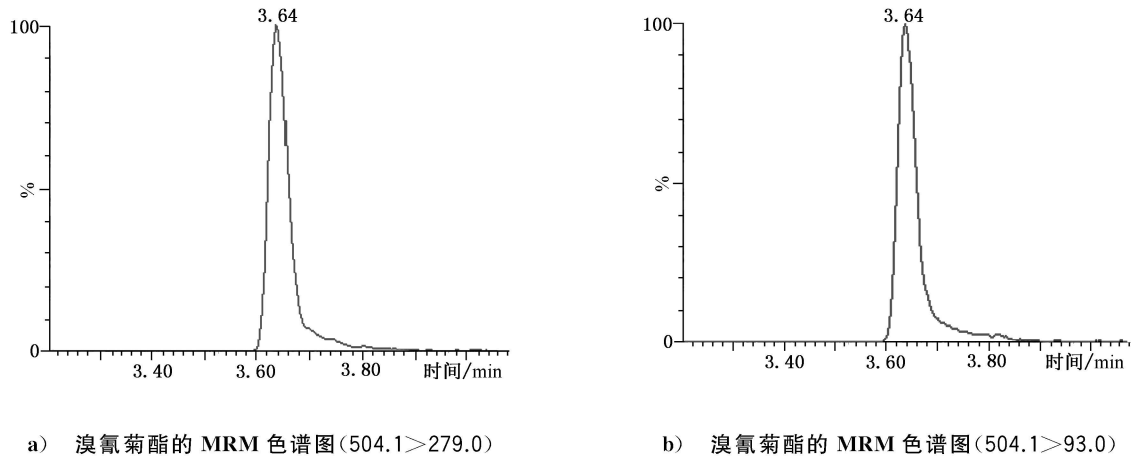


图 25 溴氰菊酯的 MRM 色谱图

7.1.1.6.4.3 定性分析:根据不同农药 MRM 色谱图中的保留时间和特征离子对进行定性分析。

7.1.1.6.4.4 定量分析:外标法。工作站自动测量并记录峰面积,根据峰面积在标准曲线上查出相应的质量浓度。

在进行样品分析时,每批相同基体的样品应随机抽取 10%~20%的样品进行加标回收分析。若回收率不在 70%~130%范围内,可使用工作曲线定量,或采用内标法定量。

7.1.1.7 结果计算

水样中某种农药的质量浓度计算见式(38):

$$\rho = \frac{2 \times (A - b)}{k} \dots\dots\dots (38)$$

式中:

ρ ——水样中某种农药的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

A ——水样中某种农药对应的色谱峰面积;

k ——标准曲线的斜率;

b ——标准曲线的截距;

2 ——稀释因子,水样用等体积甲醇稀释。

7.1.1.8 精密度和准确度

7.1.1.8.1 精密度:7 个实验室测定纯水加标样品,当农药的加标浓度为 10.0 $\mu\text{g/L}$ 和 100 $\mu\text{g/L}$ 时,其相对标准偏差见表 63。

表 63 12 种农药测定结果的精密度

被测组分	相对标准偏差/%	
	加标浓度 10.0 $\mu\text{g/L}$	加标浓度 100 $\mu\text{g/L}$
乐果	1.6~4.2	1.4~3.1
呋喃丹	1.1~4.7	0.67~5.0
敌敌畏	1.9~5.7	0.91~8.8
莠去津	0.65~4.2	0.85~5.7

表 63 (续)

被测组分	相对标准偏差/%	
	加标浓度 10.0 $\mu\text{g/L}$	加标浓度 100 $\mu\text{g/L}$
甲基对硫磷	4.4~9.0	1.7~5.5
马拉硫磷	2.1~6.9	1.9~9.2
对硫磷	2.3~7.8	0.73~5.9
灭草松	1.1~4.5	1.1~4.7
毒死蜱	2.6~7.5	1.6~8.4
2,4-滴	1.2~8.2	0.87~5.3
五氯酚	3.1~7.7	0.78~7.0
溴氰菊酯	3.2~10	1.5~7.8

7.1.1.8.2 准确度:7个实验室测定三种浓度的水源水、出厂水和管网水加标样品,其回收率见表 64。

表 64 12种农药测定结果的准确度

被测组分	加标浓度/ $(\mu\text{g/L})$	回收率/%		
		水源水	出厂水	管网水
乐果	40.0	68.3~111	52.8~113	71.2~120
	80.0	63.9~112	61.0~108	68.4~105
	160	56.9~106	59.1~105	64.5~112
呋喃丹	3.50	70.5~113	79.6~101	77.2~118
	7.00	70.6~103	80.5~98.3	74.5~110
	14.0	74.0~101	81.0~93.3	74.0~103
敌敌畏	0.500	76.5~100	74.3~107	72~100
	1.00	62.1~96.2	61.3~98.6	62.0~97.6
	2.00	72.1~106	75.3~95.7	72.1~97.1
莠去津	1.00	62.5~123	78.0~119	76~120
	2.00	78.5~123	86.4~119	85.9~123
	4.00	86.4~110	86.6~116	86.8~120
甲基对硫磷	10.0	65.8~98.7	66.0~101	66.4~90.9
	20.0	66.1~98.9	65.4~98.4	65.9~100
	40.0	65.4~107	66.2~93.0	66.0~102
马拉硫磷	125	70.9~99.9	75.7~95.8	75.8~104
	250	60.2~94.3	75.2~96.3	68.6~99.9
	500	69.3~98.4	69.0~98.0	62.1~102

表 64 (续)

被测组分	加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	回收率/%		
		水源水	出厂水	管网水
对硫磷	1.50	68.6~114	63.7~121	68.9~101
	3.00	68.7~112	69.6~101	62.2~96.6
	6.00	69.5~128	62.2~97.7	68.7~97.6
灭草松	150	80.2~103	67.6~103	77.8~100
	300	70.2~93.8	58.3~98.2	66.6~96.5
	600	56.3~93.3	59.4~83.2	54.9~98.1
毒死蜱	15.0	73.8~105	73.9~102	73.4~106
	30.0	73.7~106	74.2~102	73.8~100
	60.0	74.2~106	73.8~99.2	73.8~106
2,4-滴	15.0	87.2~103	90.2~103	84.2~103
	30.0	90.3~102	90.3~103	90.0~107
	60.0	90.3~106	90.1~106	90.1~104
五氯酚	4.50	88.5~106	81.5~106	72.9~107
	9.00	89.5~94.9	85.4~101	83.4~99.9
	18.0	70.6~105	70.6~99.0	71.4~100
溴氰菊酯	10.0	68.4~96.9	53.2~96.8	97.8~103
	20.0	68.7~97.5	68.9~104	57.2~99.7
	40.0	67.9~111	68.6~105	67.9~104

7.1.2 固相萃取/气相色谱法

7.1.2.1 适用范围

本方法规定了用固相萃取/气相色谱法测定城镇供水及其水源水中的敌百虫、敌敌畏、乐果、对硫磷、甲基对硫磷。

本方法适用于城镇供水及其水源水中敌百虫、敌敌畏、乐果、对硫磷、甲基对硫磷的测定。

若取水样 100 mL 浓缩至 1.0 mL 测定,当进样量为 2 μL 时,本方法最低检测质量浓度为:敌百虫, 0.14 $\mu\text{g/L}$;敌敌畏,0.43 $\mu\text{g/L}$;乐果,0.29 $\mu\text{g/L}$;甲基对硫磷,0.24 $\mu\text{g/L}$;对硫磷,0.10 $\mu\text{g/L}$ 。

7.1.2.2 原理

水样中微量有机磷农药采用固相萃取技术吸附,经具有一定极性的有机溶剂洗脱后浓缩至一定体积,通过气相色谱柱分离,用火焰光度检测器进行测定。

火焰光度检测器的机理为:有机磷化合物氧化燃烧生成磷的氧化物,然后在富氢焰的条件下被氢还原,被火焰高温激发的磷裂片发射一系列特征波长的光,其最大吸收波长为 526 nm。通过 526 nm 干涉滤光片,测量其发射光强度而检测磷,其光强度与含磷量成正比。

7.1.2.3 试剂和材料

7.1.2.3.1 载气:氮气,纯度大于或等于 99.999%。

7.1.2.3.2 燃烧气:氢气,纯度大于或等于 99.999%。

7.1.2.3.3 助燃气:空气,应净化,干燥。

7.1.2.3.4 农药混合标准溶液:配制敌百虫、敌敌畏、乐果、对硫磷、甲基对硫磷的混合标准溶液。混合标准溶液中各组分的质量浓度为:敌百虫、敌敌畏和乐果为 200 mg/L,对硫磷和甲基对硫磷为 100 mg/L。推荐使用市售具有标准物质证书的混合标准溶液或单组分标准溶液。

7.1.2.3.5 甲醇:色谱纯。

7.1.2.3.6 盐酸溶液(1+1)。

7.1.2.3.7 丙酮:色谱纯。

7.1.2.3.8 固相萃取柱:HLB 柱(60 mg, 3 mL)或其他性能等效的固相萃取柱。

7.1.2.4 仪器

7.1.2.4.1 气相色谱仪:具有程序升温功能。

7.1.2.4.2 火焰光度检测器(FPD)。

7.1.2.4.3 色谱柱:HP-5(0.32 mm×30 m, 0.25 μm)或其他性能等效的色谱柱。

7.1.2.4.4 样品瓶:2.5 L 玻璃磨口瓶。

7.1.2.4.5 容量瓶:10 mL。

7.1.2.4.6 浓缩瓶或具塞刻度离心管:10 mL。

7.1.2.4.7 固相萃取装置。

7.1.2.5 样品

7.1.2.5.1 样品的采集应用 2.5 L 玻璃磨口瓶。有机磷农药在水中不稳定,易发生降解,水样采集后应加入一定量盐酸调节使 pH 值不大于 2。当采集含余氯等氧化剂的水样时,可加适量抗坏血酸除去干扰。

7.1.2.5.2 样品应于 0 °C~4 °C 冷藏保存,尽快进行预处理与测定。

7.1.2.5.3 样品预处理:依次用 5 mL 甲醇和 5 mL 纯水,对 HLB 柱(7.1.2.3.8)进行活化。从样品瓶中取 100 mL 上清液,以 2 mL/min 的流速通过经活化的 HLB 柱进行富集。富集完毕后用氮气吹干 HLB 柱。用 1 mL 甲醇+丙酮溶液(70+30),洗脱吸附于 HLB 小柱上的待测组分,重复进行 3 次,再将洗脱液合并至浓缩管中。将洗脱液浓缩,并定容至 1.0 mL。若水样浑浊不清,应先对水样进行过滤,再进行固相萃取处理。

7.1.2.6 分析步骤

7.1.2.6.1 气相色谱参考条件

进样口温度:250 °C;检测器温度:250 °C~300 °C;载气流量:15 mL/min;氢气流速:75 mL/min~80 mL/min;空气流速:105 mL/min~120 mL/min。

升温程序:初始温度 80 °C,保持 1 min,以 10 °C/min 升至 230 °C,保持 4 min。

7.1.2.6.2 标准曲线的绘制:取 7 个 10 mL 容量瓶中,依次准确加入 0 μL, 25 μL, 50 μL, 100 μL, 200 μL, 500 μL 和 1.00 mL 有机磷农药混合标准溶液(7.1.2.3.4),用甲醇+丙酮溶液(70+30)定容至刻度,配制成标准系列溶液。有机磷农药标准系列溶液的浓度见表 65。按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以色谱峰面积为纵坐标,以浓度为横坐标,绘制标准曲线。

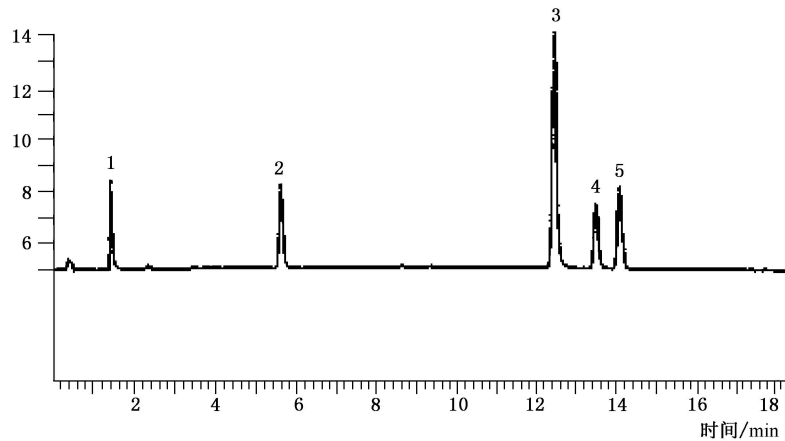
表 65 有机磷农药标准系列溶液的浓度

标准系列溶液浓度/(mg/L)				
敌百虫	敌敌畏	乐果	甲基对硫磷	对硫磷
0	0	0	0	0
0.50	0.50	0.50	0.25	0.25
1.00	1.00	1.00	0.50	0.50
2.00	2.00	2.00	1.00	1.00
4.00	4.00	4.00	2.00	2.00
10.0	10.0	10.0	5.00	5.00
20.0	20.0	20.0	10.0	10.0

7.1.2.6.3 样品测定

7.1.2.6.3.1 进样:将预处理后的样品直接进样进行测定;进样量:2 μL 。

7.1.2.6.3.2 色谱图的考察:五种有机磷农药的标准色谱图,见图 26。



说明:

- 1——敌百虫;
- 2——敌敌畏;
- 3——乐果;
- 4——甲基对硫磷;
- 5——对硫磷。

图 26 五种有机磷标准色谱图

7.1.2.6.3.3 定性分析:根据标准色谱图中各组分的保留时间,确定待测试样中组分性质。各组分出峰顺序为:敌百虫、敌敌畏、乐果、甲基对硫磷、对硫磷。各组分参考保留时间为:敌百虫,1.44 min;敌敌畏,5.62 min;乐果,12.47 min;甲基对硫磷,13.52 min;对硫磷,14.12 min。

7.1.2.6.3.4 定量分析:外标法。

7.1.2.7 结果计算

由仪器数据处理系统所得标样及试样中各组分峰高,作为定量依据。试样中农药质量浓度计算见式(39):

$$\rho_i = \frac{\rho_{is} \times h_i \times V_1 \times V_2}{h_{is} \times V_3 \times V_4} \dots\dots\dots (39)$$

式中:

ρ_i ——试样中农药质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

ρ_{is} ——标样中农药质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

h_i ——试样中农药峰高,单位(mV);

h_{is} ——标样中农药峰高,单位(mV);

V_1 ——标样进样体积,单位为微升(μL);

V_2 ——提取液体积,单位为毫升(mL);

V_3 ——试样进样体积,单位为微升(μL);

V_4 ——被提取的水样体积,单位为毫升(mL)。

7.1.2.8 精密度和准确度

本方法经 8 个实验室验证,综合所得相对标准偏差和平均回收率见表 66。

表 66 5 种有机磷农药测定结果的精密度及准确度

被测组分	加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	相对标准偏差/%	平均回收率/%
敌百虫	40.4	28	87.9
	162	27	90.6
敌敌畏	30.4	14	86.2
	122	28	97.0
乐果	46.4	28	98.9
	186	24	107
甲基对硫磷	10.0	18	98.0
	40.0	21	103
对硫磷	13.0	16	99.2
	52.0	24	114

注:加标回收率的加标量与标准值相同。

7.2 乐果

7.2.1 液相色谱/串联质谱法

按 7.1.1 的要求。

7.2.2 固相萃取/气相色谱法

按 7.1.2 的要求。

7.3 对硫磷

7.3.1 液相色谱/串联质谱法

按 7.1.1 的要求。

7.3.2 固相萃取/气相色谱法

按 7.1.2 的要求。

7.4 甲基对硫磷

7.4.1 液相色谱/串联质谱法

按 7.1.1 的要求。

7.4.2 固相萃取/气相色谱法

按 7.1.2 的要求。

7.5 2,4-滴

液相色谱/串联质谱法按 7.1.1 的要求。

7.6 七氯

7.6.1 适用范围

本方法规定了用固相萃取/气相色谱-质谱法测定城镇供水及其水源水中的七氯。

本方法适用于城镇供水及其水源水中七氯的测定。

若取水样 1 000 mL 浓缩至 1.0 mL 测定,则本方法最低检测质量浓度为 0.2 $\mu\text{g/L}$ 。

7.6.2 原理

水样中的七氯被 C_{18} 固相萃取柱吸附,用二氯甲烷洗脱,洗脱液经浓缩至一定体积,采用气相色谱毛细柱分离,以质谱作为检测器,对水中的七氯进行定性分析和定量测定。

7.6.3 试剂和材料

7.6.3.1 载气:氦气,纯度大于或等于 99.999%。

7.6.3.2 七氯标准品:固体。

7.6.3.3 甲醇:色谱纯。

7.6.3.4 二氯甲烷:色谱纯。

7.6.3.5 硫代硫酸钠溶液($\rho=30\text{ g/L}$):称取 3.0 g 优级纯硫代硫酸钠,用纯水溶解,并稀释至 100 mL。

7.6.3.6 盐酸:优级纯。

7.6.3.7 七氯标准储备溶液($\rho=1.00\text{ mg/mL}$):准确称取 10.0 mg 的七氯标准品,用甲醇(7.6.3.3)溶解,并定容至 10 mL。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏保存。

7.6.3.8 七氯标准使用溶液($\rho=100\text{ }\mu\text{g/mL}$):移取 1.00 mL 七氯标准储备溶液(7.6.3.7)于 10 mL 容量瓶中,用甲醇(7.6.3.3)定容。

7.6.3.9 无水硫酸钠:在马弗炉中于 450 $^{\circ}\text{C}$ 烘烤 2 h,置于干燥器中备用。

7.6.3.10 玻璃纤维滤膜:GF/F($\Phi=47\text{ mm}$)。

7.6.3.11 固相萃取柱: C_{18} 柱(200 mg, 3 mL)或其他性能等效的固相萃取柱。

7.6.3.12 校准标准溶液:全氟三丁胺(PFTBA)或 4-溴氟苯(BFB)溶液,用甲醇(7.6.3.3)配制。

7.6.4 仪器

7.6.4.1 气相色谱-质谱联用仪:气相色谱仪部分具有分流/不分流进样口,可程序升温。质谱仪配有电子电离源(ED),标准电离能量为 70 eV。

7.6.4.2 色谱柱:HP-5ms(250 $\mu\text{m}\times 30\text{ m}$, 0.25 μm)或其他性能等效的色谱柱。

7.6.4.3 固相萃取装置。

7.6.4.4 氮吹仪。

7.6.4.5 容量瓶:10 mL。

7.6.5 样品

7.6.5.1.1 应用干净干燥的棕色玻璃瓶采集样品。当采集含有余氯的水样时,每 100 mL 加入应 2 滴硫代硫酸钠溶液(7.6.3.5)脱氯,再加入盐酸(7.6.3.6)调节 pH 值小于 2,防止水样的生物降解。

7.6.5.1.2 采集后的样品应在 14 d 内进行固相萃取预处理,萃取液储存于密闭玻璃瓶中,于 0 °C~4 °C 冷藏避光保存,在萃取后 30 d 内测定。

7.6.5.1.3 样品预处理:依次用 5 mL 甲醇(7.6.3.3)和 5 mL 纯水,对 C₁₈ 固相萃取柱(7.6.3.11)进行活化。取 1000 mL 水样,以 10 mL/min 的流速通过经活化的 C₁₈ 固相萃取柱,进行富集。富集完毕后用氮气吹干小柱。用 10 mL 二氯甲烷(7.6.3.4)分 3 次洗脱吸附于 C₁₈ 固相萃取柱上的待测组分,洗脱液经无水硫酸钠(7.6.3.9)干燥,再合并至浓缩管中。将洗脱液浓缩,用二氯甲烷(7.6.3.4)定容至 1.0 mL。若水样浑浊,应经玻璃纤维滤膜(7.6.3.10)过滤,再进行固相萃取。

7.6.6 分析步骤

7.6.6.1 气相色谱参考条件。

进样口温度:250 °C;载气流速:1 mL/min;进样方式:不分流进样;进样量:1 μL。

升温程序:初始温度 80 °C,以 20 °C/min 升温至 260 °C。

7.6.6.2 质谱参考条件。

四级杆温度:150 °C;离子源温度:230 °C;传输线温度:250 °C;扫描方式:选择离子监测(SIM);特征离子(m/z)为 100,272,274;溶剂延迟:5 min。

7.6.6.3 使用校准标准溶液(7.6.3.12)对仪器性能进行检查,得到的关键离子丰度应满足要求,否则应重新调谐质谱仪直至符合要求。

7.6.6.4 标准曲线的绘制:取 8 个 10 mL 容量瓶,依次准确加入 0 μL,20 μL,40 μL,100 μL,200 μL,400 μL,800 μL 和 1 000 μL 七氯标准使用溶液(7.6.3.8),用甲醇(7.6.3.3)定容,混匀,配制成质量浓度分别为 0 mg/L,0.20 mg/L,0.40 mg/L,1.00 mg/L,2.00 mg/L,4.00 mg/L,8.00 mg/L 和 10.0 mg/L 的标准系列溶液。各取 1 μL,按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以色谱峰的峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

7.6.6.5 样品测定。

7.6.6.5.1 进样:将处理好的样品按照仪器分析条件直接进样进行测定;进样量:1 μL。

7.6.6.5.2 参考色谱图:七氯的标准色谱图,见图 27。

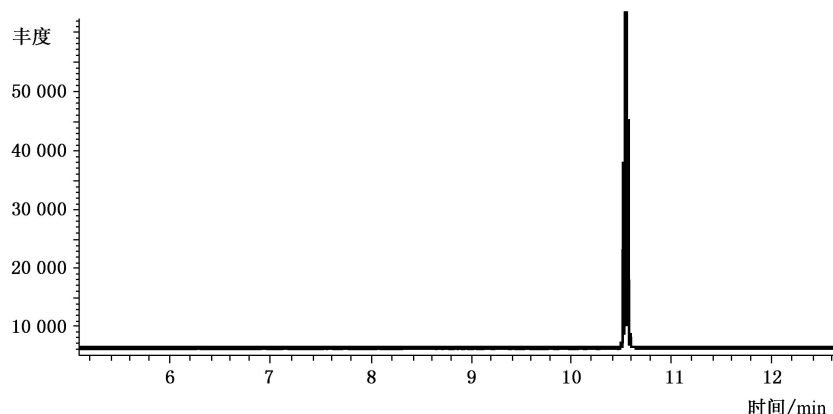


图 27 七氯标准色谱图

7.6.6.5.3 定性分析:根据保留时间,与标准谱图比较,确定待测试样中组分性质。

7.6.6.5.4 定量分析:外标法。根据七氯特征离子(m/z 为 100)色谱峰的峰面积进行定量分析。

7.6.7 数据处理与结果表达

根据色谱峰的积分面积从标准曲线上查出标准溶液中七氯的质量浓度,再计算出水样中七氯的质量浓度。水样中七氯的质量浓度计算见式(40):

$$\rho = \frac{\rho_1 \times V_1}{V} \quad \dots\dots\dots (40)$$

式中:

ρ ——水样中七氯的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

ρ_1 ——从标准曲线上查出的七氯的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V_1 ——萃取液定容后的体积,单位为毫升(mL);

V ——水样的体积,单位为毫升(mL)。

7.6.8 精密度和准确度

7.6.8.1 精密度:6个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入两种不同浓度的七氯标准溶液时,其相对标准偏差见表 67。

表 67 七氯测定结果的精密度

加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	相对标准偏差/%			
	纯水	水源水	出厂水	管网水
1.00	1.3~5.2	0.7~8.0	0.9~8.3	1.8~7.1
9.00	2.1~7.5	2.5~11	1.6~11	2.5~14

7.6.8.2 准确度:6个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入两种不同浓度的七氯标准溶液时,其回收率见表 68。

表 68 七氯测定结果的回收率

加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	回收率/%			
	纯水	水源水	出厂水	管网水
1.00	83.4~100	87.4~115	76.9~100	81.6~100
9.00	83.0~110	83.6~109	83.2~114	84.6~112

7.7 毒死蜱

7.7.1 固相萃取/气相色谱-质谱法

7.7.1.1 适用范围

本方法规定了用固相萃取-气相色谱质谱法测定城镇供水及其水源水中的毒死蜱。

本方法适用于城镇供水及其水源水中毒死蜱的测定。

若取水样 1 000 mL 浓缩至 1.0 mL 测定,则本方法最低检测质量浓度为 1.0 $\mu\text{g/L}$ 。

7.7.1.2 原理

水样中的毒死蜱被 C_{18} 固相萃取柱吸附,使用二氯甲烷洗脱,洗脱液经浓缩至一定体积,采用气相色谱毛细柱分离,以质谱作为检测器,对水中的毒死蜱进行定性分析和定量测定。

7.7.1.3 试剂和材料

7.7.1.3.1 甲醇:色谱纯。

7.7.1.3.2 二氯甲烷:色谱纯。

7.7.1.3.3 盐酸。

7.7.1.3.4 无水硫酸钠:在马弗炉中于 450 °C 烘烤 2 h,置于干燥器中备用。

7.7.1.3.5 硫代硫酸钠溶液($\rho=30$ g/L):称取 3.0 g 硫代硫酸钠,用纯水溶解,并稀释至 100 mL。

7.7.1.3.6 毒死蜱标准品:固体,纯度大于或等于 98%。

7.7.1.3.7 毒死蜱标准储备溶液($\rho=1.00$ mg/mL):准确称取 10.0 mg 的毒死蜱标准品(7.7.1.3.6),用二氯甲烷(7.7.1.3.2)溶解并定容至 10 mL。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。于 -20 °C 条件下密封保存,保存期 6 个月。

7.7.1.3.8 毒死蜱标准使用溶液($\rho=100$ μ g/mL):准确移取 1.00 mL 毒死蜱标准储备溶液(7.7.1.3.7)于 10 mL 容量瓶中,用二氯甲烷(7.7.1.3.2)定容,混匀。

7.7.1.3.9 载气:氮气,纯度大于或等于 99.999%。

7.7.1.3.10 固相萃取柱: C_{18} 柱(200 mg, 3 mL)或其他性能等效的固相萃取柱。

7.7.1.3.11 校准标准溶液:全氟三丁胺(PFTBA)或 4-溴氟苯(BFB)溶液,用甲醇配制。

7.7.1.4 仪器

7.7.1.4.1 气相色谱-质谱联用仪:气相色谱仪部分具有分流/不分流进样口,可程序升温。质谱仪部分配有电子电离源(ED),标准电离能量为 70 eV。

7.7.1.4.2 色谱柱:固定相为(5%苯基)甲基聚硅氧烷,规格为 30m \times 0.32mm \times 0.25 μ m;或其他性能等效的色谱柱。

7.7.1.4.3 固相萃取装置。

7.7.1.4.4 氮吹仪。

7.7.1.4.5 真空泵。

7.7.1.4.6 大容量采样管。

7.7.1.5 样品

7.7.1.5.1 应用干净干燥的棕色玻璃瓶采集样品。当采集含有余氯的水样时,每 100 mL 应加入 2 滴硫代硫酸钠溶液(7.7.1.3.5)脱氯,再加入盐酸(7.7.1.3.3)调节 pH 值小于等于 2,防止水样的生物降解。

7.7.1.5.2 样品应于 0 °C ~4 °C 避光冷藏保存,并尽快处理与测定。

7.7.1.5.3 样品预处理:依次用 5 mL 甲醇(7.7.1.3.1)和 5 mL 纯水,对 C_{18} 固相萃取柱(7.7.1.3.10)进行活化。取 1 000 mL 水样,以 8 mL/min~10 mL/min 的流速通过经活化的 C_{18} 固相萃取柱,进行富集。萃富集完毕后用氮气吹干小柱。用 3 mL 二氯甲烷(7.7.1.3.2)分次洗脱吸附于 C_{18} 固相萃取柱上的待测组分,洗脱液经无水硫酸钠(7.7.1.3.4)干燥,合并至浓缩管中。将洗脱液浓缩,用二氯甲烷(7.7.1.3.2)定容至 1.0 mL。

7.7.1.6 分析步骤

7.7.1.6.1 气相色谱参考条件。

进样口温度:300 °C;载气流速:1 mL/min;进样方式:分流进样;分流比为 20 : 1;进样量:1 μ L。

升温程序:初始温度 80 °C,保持 2 min,15 °C/min 升温至 280 °C,保持 2 min。

7.7.1.6.2 质谱参考条件。

四级杆温度 150 °C;离子源(ED)温度为 230 °C;传输线温度:280 °C;扫描方式:选择离子监测;特征离子(m/z):97,197 和 314。

7.7.1.6.3 使用校准标准溶液(7.7.1.3.11)对仪器性能进行检查,得到的关键离子丰度应满足要求,否则应重新调谐质谱仪直至符合要求。

7.7.1.6.4 标准曲线的绘制:取 7 个 10 mL 容量瓶,依次准确移取 0 mL,0.10 mL,0.20 mL,0.50 mL, 1.00 mL, 2.00 mL 和 5.00 mL 毒死蜱标准使用溶液,用甲醇定容,配制成毒死蜱浓度分别为 0 mg/L, 1.0 mg/L, 2.0 mg/L,5.0 mg/L,10.0 mg/L,20.0 mg/L 和 50.0 mg/L 的标准系列溶液。各取 1 μL 进样,按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以色谱峰的响应值为纵坐标,以毒死蜱的质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

7.7.1.6.5 样品测定。

7.7.1.6.5.1 进样:将处理好的样品按照分析条件上机测定。进样量:1 μL。

7.7.1.6.5.2 色谱图的考察:毒死蜱的标准色谱图,见图 28。

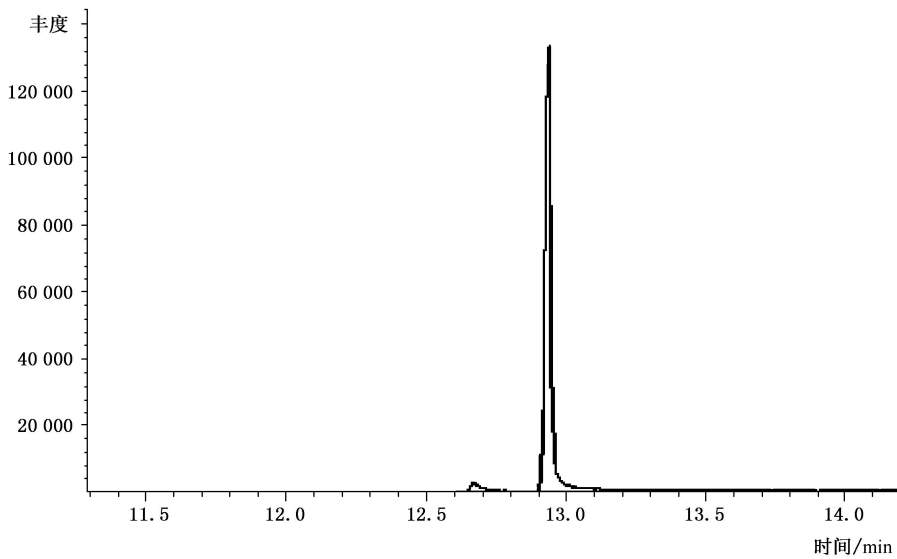


图 28 毒死蜱标准色谱图

7.7.1.6.5.3 定性分析:根据保留时间,与标准谱图进行比较,确定待测试样中组分性质。毒死蜱的保留时间为 13.0 min。

7.7.1.6.5.4 定量分析:外标法。根据毒死蜱特征离子(m/z 为 97)色谱峰的响应值进行定量分析。

7.7.1.7 结果计算

根据毒死蜱色谱峰的响应值从标准曲线上查出标准溶液中毒死蜱的质量浓度,再计算出水样中毒死蜱的质量浓度。水样中毒死蜱的质量浓度计算见式(41):

$$\rho = \frac{\rho_1 \times V_1}{V} \dots\dots\dots (41)$$

式中:

- ρ ——水样中毒死蜱的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);
- ρ_1 ——从标准曲线上查出的毒死蜱的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);
- V_1 ——萃取液定容后的体积,单位为毫升(mL);
- V ——水样的体积,单位为毫升(mL)。

7.7.1.8 精密度和准确度

7.7.1.8.1 精密度:6 个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入两种不同浓度的毒死蜱标准溶液时,其相对标准偏差见表 69。

表 69 毒死蜱测定结果的精密度

加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	相对标准偏差/%			
	纯水	水源水	出厂水	管网水
0.82~2.00	3.2~13	2.7~7.0	4.0~9.2	4.0~9.4
8.80~10.0	3.9~8.9	3.0~23	2.8~18	2.5~8.0

7.7.1.8.2 准确度:6个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入两种不同浓度的毒死蜱标准溶液时,其回收率见表 70。

表 70 毒死蜱测定结果的准确度

加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	回收率/%			
	纯水	水源水	出厂水	管网水
0.82~2.00	73.7~104	76.9~104	72.7~106	75.0~104
8.80~10.0	73.7~107	70.2~92.9	75.1~91.2	74.8~130

7.7.2 液相色谱/串联质谱法

按 7.1.1 的要求。

7.8 灭草松

7.8.1 固相萃取/液相色谱法

7.8.1.1 适用范围

本方法规定了用固相萃取/液相色谱法测定城镇供水及其水源水中的灭草松。

本方法适用于城镇供水及其水源水中灭草松的测定。

若取水样 1 000 mL 浓缩至 1.0 mL 测定,则本方法最低检测质量浓度为 0.4 $\mu\text{g/L}$ 。

7.8.1.2 原理

水样中的灭草松用固相萃取柱吸附,甲醇洗脱,洗脱液经浓缩定容后,用具有紫外检测器的液相色谱仪进行测定。通过灭草松在液相色谱柱上的保留时间与响应值进行定性分析和定量分析。

7.8.1.3 试剂和材料

7.8.1.3.1 甲醇:色谱纯。

7.8.1.3.2 乙腈:色谱纯。

7.8.1.3.3 磷酸:优级纯。

7.8.1.3.4 磷酸溶液($\varphi=0.5\%$):取 5 mL 磷酸(7.8.1.3.3)用纯水稀释至 1 000 mL。

7.8.1.3.5 盐酸:优级纯。

7.8.1.3.6 抗坏血酸。

7.8.1.3.7 灭草松标准品:固体,纯度大于或等于 99%。

7.8.1.3.8 灭草松标准储备溶液($\rho=1.00$ mg/mL):准确称取 10.0 mg 的灭草松标准品(7.8.1.3.7),用甲醇(7.8.1.3.1)溶解并定容于 10 mL 容量瓶中。于 0 °C~4 °C 密封保存,保存期 6 个月。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液,溶剂为甲醇或乙腈。

7.8.1.3.9 灭草松标准使用溶液($\rho=100$ μ g/mL):准确移取 1.00 mL 灭草松标准储备溶液(7.8.1.3.8)于 10 mL 容量瓶中,用甲醇(7.8.1.3.1)定容。

7.8.1.3.10 针头式过滤器:聚四氟乙烯(PTFE),孔径 0.45 μ m。

7.8.1.3.11 固相萃取柱:HLB(200 mg,6 mL)或其他性能等效的固相萃取柱。

7.8.1.4 仪器

7.8.1.4.1 高效液相色谱仪。

7.8.1.4.2 紫外检测器。

7.8.1.4.3 色谱柱: C_{18} 柱(4.6 mm \times 150 mm,5 μ m)或其他性能等效的色谱柱。

7.8.1.4.4 固相萃取装置。

7.8.1.4.5 容量瓶:10 mL。

7.8.1.5 样品

7.8.1.5.1 应用干净干燥的 1 L 棕色玻璃瓶采集水样。

7.8.1.5.2 样品保存:向水样中加入盐酸(7.8.1.3.5)调节 pH 值小于等于 2。若水样中含有余氯,可加入约 0.02 g 的抗坏血酸(7.8.1.3.6)去除干扰。水样于 0 °C~4 °C 避光冷藏保存。

水样的预处理应在 7 d 内进行,预处理后的洗脱液应在 30 d 内进行测定。

7.8.1.5.3 样品预处理:依次用 5 mL 甲醇(7.8.1.3.1)和 5 mL 纯水,对 HLB 柱(7.8.1.3.11)进行活化。取 1 000 mL 水样,以 8 mL/min~10 mL/min 的流速通过经活化的 HLB 柱,进行富集。富集完毕后用氮气吹干小柱。用 3 mL 甲醇(7.8.1.3.1)分次洗脱吸附于 HLB 柱上的待测组分,流速为 0.5 mL/min~1 mL/min,洗脱液经无水硫酸钠干燥,合并至浓缩管中。将洗脱液浓缩,用甲醇(7.8.1.3.1)定容至 1.0 mL。

7.8.1.6 分析步骤

7.8.1.6.1 液相色谱参考条件。

流动相:65%体积乙腈(7.8.1.3.2)和 35%体积磷酸溶液(7.8.1.3.4)混合。

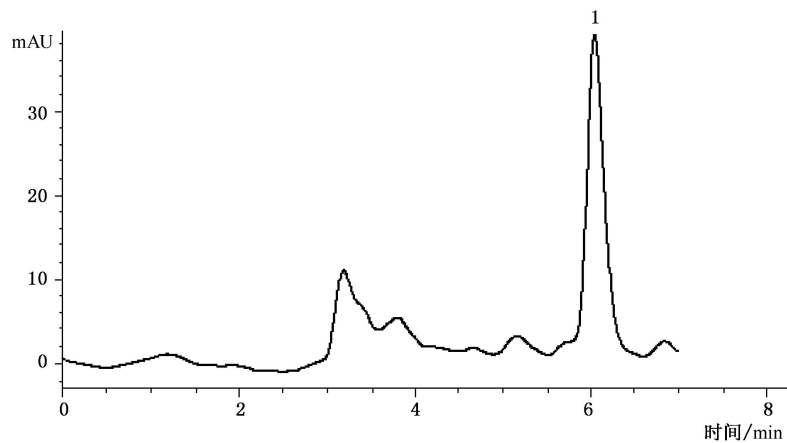
进样量:10 μ L;柱温:35 °C;紫外检测波长:213 nm;洗脱条件:采用等度洗脱,流速:0.5 mL/min。

7.8.1.6.2 标准曲线的绘制:取 7 个 10 mL 的容量瓶,依次准确移取 0 μ L,50 μ L,0.10 mL,0.50 mL,1.00 mL,2.00 mL 和 3.00 mL 灭草松标准使用溶液(7.8.1.3.9),用甲醇(7.8.1.3.1)定容,配制成灭草松质量浓度分别为 0 mg/L,0.50 mg/L,1.0 mg/L,5.0 mg/L,10.0 mg/L,20.0 mg/L 和 30.0 mg/L 的标准系列溶液。在给定的色谱条件下,按照浓度从低到高的顺序依次上机测定。以色谱峰的响应值为纵坐标,以灭草松质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

7.8.1.6.3 测定。

7.8.1.6.3.1 进样:将处理好的样品按照仪器分析条件进行测定。进样量:10 μ L。

7.8.1.6.3.2 色谱图的考察:灭草松的标准色谱图,见图 29。



说明:

1——灭草松。

图 29 灭草松标准色谱图

7.8.1.6.3.3 定性分析:根据标准色谱图组分的保留时间,确定待测试样中组分性质。

7.8.1.6.3.4 定量分析:外标法。根据灭草松紫外检测器的响应值进行定量测定。

7.8.1.7 结果计算

根据色谱峰的响应值从工作曲线查出标准溶液中灭草松的质量浓度,再计算出水样中灭草松的质量浓度。水样中灭草松的质量浓度计算见式(42):

$$\rho = \frac{\rho_1 \times V_1}{V} \dots\dots\dots (42)$$

式中:

ρ ——水样中灭草松的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

ρ_1 ——从标准曲线上查出的灭草松的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V_1 ——萃取液定容后的体积,单位为毫升(mL);

V ——水样的体积,单位为毫升(mL)。

7.8.1.8 精密度和准确度

7.8.1.8.1 精密度:11个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入高低两种不同浓度的灭草松标准溶液时,其相对标准偏差见表71。

表 71 灭草松测定结果的精密度

加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	相对标准偏差/%			
	纯水	水源水	出厂水	管网水
5.0	0.23~9.6	—	—	—
10.0	—	0.41~15	0.71~13	0.53~27
50.0	0.15~1.6	0.11~11	0.14~15	0.14~16

7.8.1.8.2 准确度:11个实验室分别测定纯水、水源水、出厂水和管网水加标样品,当加入高低两种不同浓度的灭草松标准溶液时,其回收率见表72。

表 72 灭草松测定结果的准确度

加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	回收率/%			
	纯水	水源水	出厂水	管网水
5.0	92.6~110			
10.0		70.9~101	88.9~115	77.7~97.6
50.0	95.6~106	78.4~108	70.3~111	71.4~101

7.8.2 液相色谱/串联质谱法

按 7.1.1 的要求。

7.9 马拉硫磷

液相色谱/串联质谱法按 7.1.1 的要求。

7.10 莠去津

液相色谱/串联质谱法按 7.1.1 的要求。

7.11 呋喃丹

液相色谱/串联质谱法按 7.1.1 的要求。

7.12 溴氰菊酯

液相色谱/串联质谱法按 7.1.1 的要求。

7.13 五氯酚

7.13.1 液相色谱法

按 6.25 的要求。

7.13.2 液相色谱/串联质谱法

按 7.1.1 的要求。

7.14 草甘膦

7.14.1 离子色谱法-氢氧根系统淋洗液

7.14.1.1 适用范围

本方法规定了用离子色谱法测定城镇供水及其水源水中的草甘膦。

本方法适用于城镇供水及其水源水中草甘膦的测定。

若进样量为 $25 \mu\text{L}$ 时,本方法最低检测质量浓度为 0.044 mg/L 。

当水样中的干扰使检测结果呈现假阳性时,应采用其他方法进行确认。

7.14.1.2 原理

草甘膦含有极性很强的羧基和氨基,是一种极性较强的化合物,不溶于一般有机溶剂, $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 时在水中的溶解度较大。采用离子色谱法测定时,水样中的草甘膦和其他阴离子随氢氧化钾(或氢氧化钠)淋洗液进入阴

离子交换分离系统(由分离柱和保护柱组成),根据分离柱对各离子的亲和力不同进行分离,已分离的阴离子流经阴离子抑制系统转化成具有高电导率的强酸,而淋洗液则转化成低电导率的水,由电导检测器测量各种阴离子组分的电导率,通过草甘膦的保留时间进行定性分析,以色谱峰面积或峰高进行定量测定。

7.14.1.3 试剂和材料

7.14.1.3.1 载气:氮气,纯度大于或等于 99.999%。

7.14.1.3.2 硫代硫酸钠溶液($\rho=1\text{ g/L}$):称取 1 g 硫代硫酸钠,用纯水溶解,并稀释至 1 000 mL。

7.14.1.3.3 草甘膦标准品:固体,纯度大于 96%。

7.14.1.3.4 草甘膦标准储备溶液[$\rho(\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P})=1\,000\text{ mg/L}$]:准确称取 0.100 0 g 草甘膦标准品(7.14.1.3.3),用纯水溶解并定容至 100 mL,于 $0\text{ }^\circ\text{C}\sim 4\text{ }^\circ\text{C}$ 密封冷藏避光保存。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。

7.14.1.3.5 草甘膦标准使用溶液[$\rho(\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P})=10.0\text{ mg/L}$]:准确移取 1.00 mL 草甘膦标准储备溶液(7.14.1.3.4)于 100 mL 容量瓶中,用纯水定容。临用时配制。

7.14.1.3.6 氢氧化钾溶液($c=30\text{ mmol/L}$):称取 3.37 g 氢氧化钾,用纯水溶解,定容至 2 L。

7.14.1.4 仪器

7.14.1.4.1 离子色谱仪。

7.14.1.4.2 电导检测器。

7.14.1.4.3 阴离子分析柱:IonPac AS 19(4 mm \times 250 mm),或其他性能等效的分析柱。

7.14.1.4.4 阴离子保护柱:IonPac AG 19(4 mm \times 50 mm),或其他性能等效的保护柱。

7.14.1.4.5 氢氧化钾淋洗液发生器或性能等效的淋洗液发生装置。

7.14.1.4.6 阴离子抑制器:ASRS-300,或其他性能等效的抑制器。

7.14.1.4.7 针头式过滤器:尼龙材质,孔径 0.45 μm 。

7.14.1.5 样品

7.14.1.5.1 用纯水冲净晾干后的塑料瓶采集样品。自来水中的余氯会导致草甘膦的分解,采集自来水样品时,应在样品瓶中加入适量硫代硫酸钠溶液(7.14.1.3.2)除氯。

7.14.1.5.2 样品应于 $0\text{ }^\circ\text{C}\sim 4\text{ }^\circ\text{C}$ 冷藏避光保存,保存期 14 d。

7.14.1.5.3 样品预处理:水样采集后,用针头式过滤器(7.14.1.4.7)进行过滤。当水样中存在有机物污染时,应先经 C_{18} 固相萃取柱对水样预处理再进行测定;当水样中存在重金属污染时,水样应先经 Na 型树脂柱预处理,再用针头式过滤器过滤后进行测定。

7.14.1.6 分析步骤

7.14.1.6.1 离子色谱参考条件

等度淋洗;淋洗液流速:1.0 mL/min;淋洗液浓度:30 mmol/L;抑制器电流:75 m Λ ;进样体积:25 μL 。

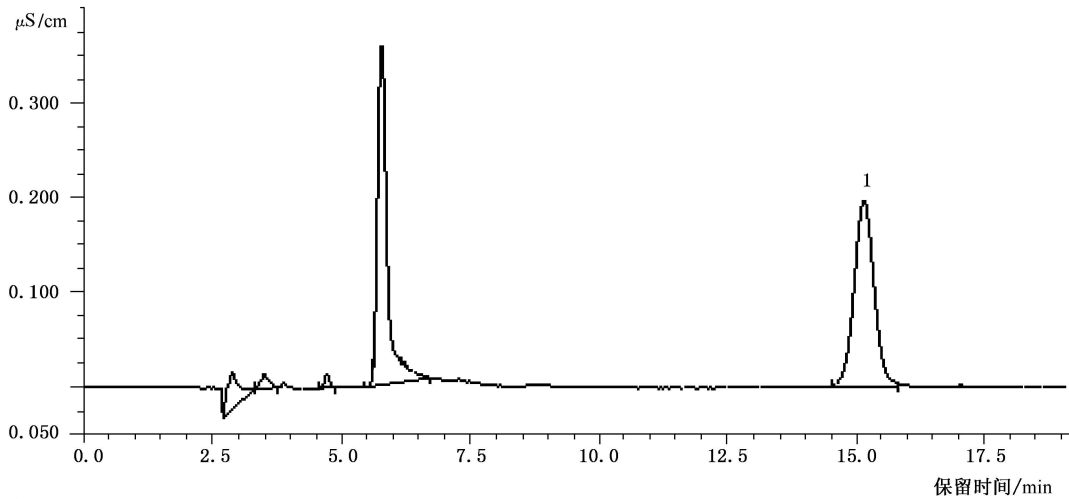
7.14.1.6.2 标准曲线的绘制

取 8 个 100 mL 容量瓶,依次准确移取 0 mL,0.50 mL,1.00 mL,2.00 mL,4.00 mL,6.00 mL,8.00 mL 和 10.00 mL 草甘膦标准使用溶液(7.14.1.3.5),用纯水定容,配制成草甘膦浓度分别为 0 mg/L,0.050 mg/L,0.100 mg/L,0.200 mg/L,0.400 mg/L,0.600 mg/L,0.800 mg/L 和 1.000 mg/L 的标准系列溶液。按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以草甘膦的峰面积(或峰高)为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

7.14.1.6.3 样品测定

7.14.1.6.3.1 进样:将预处理后的水样直接进样,进样体积为 25 μL。

7.14.1.6.3.2 色谱图的考察:草甘膦的标准色谱图,见图 30。



说明:

1——草甘膦。

图 30 草甘膦标准色谱图

7.14.1.6.3.3 定性分析:根据标准色谱图中草甘膦的保留时间进行定性分析。

7.14.1.6.3.4 定量分析:外标法。根据草甘膦电导率响应的峰面积或峰高进行定量分析。

7.14.1.7 结果计算

水样中草甘膦的质量浓度计算见式(43):

$$\rho = \frac{A - b}{k} \dots\dots\dots (43)$$

式中:

ρ——水样中草甘膦的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

A——水样中草甘膦对应的峰面积(μS×min)或峰高(μS);

k——标准曲线的斜率;

b——标准曲线的截距。

7.14.1.8 精密度和准确度

7.14.1.8.1 精密度:13 个实验室测定纯水、水源水和出厂水加标样品,其相对标准偏差见表 73。

表 73 草甘膦测定结果的精密度

加标浓度/(mg/L)	相对标准偏差/%		
	纯水	水源水	出厂水
0.100	1.7~6.1	1.3~12	1.5~8.5
0.900	0.34~4.8	0.44~8.4	0.48~4.8

7.14.1.8.2 准确度:13个实验室测定纯水、水源水和出厂水加标样品,其回收率见表74。

表74 草甘膦测定结果的准确度

加标浓度/(mg/L)	回收率/%		
	纯水	水源水	出厂水
0.100	86.5~104	83.4~107	89.9~111
0.900	89.1~103	93.8~111	89.0~110

7.14.2 离子色谱法-碳酸根系统淋洗液

7.14.2.1 适用范围

本方法规定了用离子色谱法测定城镇供水及其水源水中的草甘膦。

本方法适用于城镇供水及其水源水中草甘膦的测定。

若进样量为20 μL时,本方法最低检测质量浓度为0.032 mg/L。

当水样中的干扰使检测结果呈现假阳性时,应采用其他方法进行确认。

7.14.2.2 原理

草甘膦含有极性很强的羧基和氨基,是一种极性较强的化合物,不溶于一般有机溶剂,25℃时在水中的溶解度较大。采用离子色谱法测定时,水样中的草甘膦和其他阴离子随碳酸钠淋洗液进入阴离子交换分离系统(由分离柱和保护柱组成),根据分离柱对各离子的亲和力不同进行分离,采用电导检测器进行检测,用硫酸溶液和纯水为再生液,由抑制器降低淋洗液电导背景,通过草甘膦的保留时间进行定性分析,以色谱峰面积或峰高进行定量测定。

7.14.2.3 试剂和材料

7.14.2.3.1 载气:氮气,纯度大于或等于99.999%。

7.14.2.3.2 硫代硫酸钠溶液($\rho=1\text{g/L}$):称取1g硫代硫酸钠,用纯水溶解,并稀释至1000mL。

7.14.2.3.3 碳酸钠溶液[$c(\text{Na}_2\text{CO}_3)=8.0\text{mmol/L}$]:准确称取0.8480g优级纯碳酸钠,用纯水溶解,并稀释至1000mL。置于淋洗液瓶中。

7.14.2.3.4 硫酸溶液[$c=90\text{mmol/L}$]:取5.0mL浓硫酸($\rho_{20}=1.84\text{g/mL}$),在不断搅拌下慢慢加入预先装有适量纯水的烧杯中,冷却至室温,将此溶液转移至1000mL容量瓶中,用纯水定容。

7.14.2.3.5 草甘膦标准品:固体,纯度大于或等于96%。

7.14.2.3.6 草甘膦标准储备溶液[$\rho(\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P})=1000\text{mg/L}$]:准确称取0.1000g草甘膦标准品(7.14.2.3.5),用纯水溶解并定容至100mL。于0℃~4℃密封冷藏避光保存。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。

7.14.2.3.7 草甘膦标准使用溶液[$\rho(\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P})=10.0\text{mg/L}$]:准确移取1.00mL草甘膦标准储备溶液(7.14.2.3.6)于100mL容量瓶中,用纯水定容。临用时配制。

7.14.2.4 仪器

7.14.2.4.1 离子色谱仪。

7.14.2.4.2 电导检测器。

7.14.2.4.3 阴离子分析柱:A Supp5-150(4mm×150mm),或其他性能等效的分析柱。

7.14.2.4.4 阴离子保护柱:4/5G保护柱(4mm×50mm),或其他性能等效的保护柱。

7.14.2.4.5 抑制器:MSM II 化学抑制器+MCS 二氧化碳抑制器或其他性能等效的抑制器。

7.14.2.4.6 针头式过滤器:尼龙材质,孔径 0.45 μm。

7.14.2.5 样品

7.14.2.5.1 样品采集按 7.14.1.5.1 的要求。

7.14.2.5.2 样品保存按 7.14.1.5.2 的要求。

7.14.2.5.3 样品预处理按 7.14.1.5.3 的要求。

7.14.2.6 分析步骤

7.14.2.6.1 离子色谱参考条件。

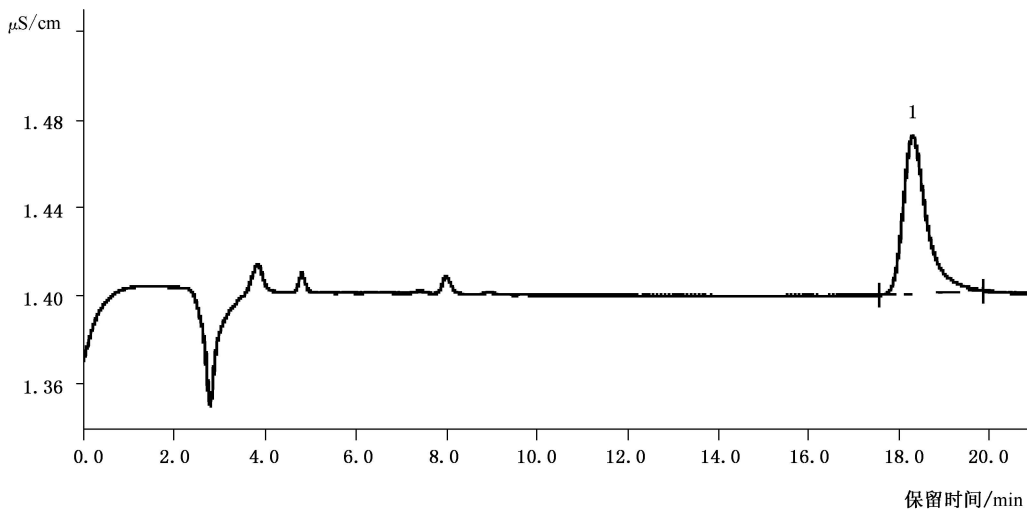
等度淋洗;淋洗液流速:0.7 mL/min;淋洗液:8.0 mmol/L 的碳酸钠溶液(7.14.2.3.3);再生液:90 mmol/L 的硫酸溶液(7.14.2.3.4);进样体积:20 μL。

7.14.2.6.2 标准曲线的绘制:取 8 个 100 mL 的容量瓶,依次准确移取 0 mL,0.50 mL,1.00 mL,2.00 mL,4.00 mL,6.00 mL,8.00 mL 和 10.00 mL 草甘膦标准使用溶液(7.14.2.3.7),用纯水定容,配制成草甘膦浓度分别为 0 mg/L,0.050 mg/L,0.100 mg/L,0.200 mg/L,0.400 mg/L,0.600 mg/L,0.800 mg/L 和 1.00 mg/L 的标准系列溶液。按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以草甘膦峰面积(或峰高)为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

7.14.2.6.3 样品测定。

7.14.2.6.3.1 进样:将预处理后的水样直接进样,进样体积为 20 μL。

7.14.2.6.3.2 色谱图的考察:草甘膦的标准色谱图,见图 31。



说明:
1——草甘膦。

图 31 草甘膦标准色谱图

7.14.2.6.3.3 定性分析:根据标准色谱图草甘膦的保留时间进行定性分析。

7.14.2.6.3.4 定量分析:外标法。根据草甘膦电导率响应的峰面积或峰高进行定量分析。

7.14.2.7 结果表达

水样中草甘膦的质量浓度计算见式(44):

$$\rho = \frac{A-b}{k} \dots\dots\dots(44)$$

式中：

ρ ——水样中草甘膦的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L)；

Λ ——水样中草甘膦对应的峰面积($\mu\text{S}\times\text{min}$)或峰高(μS)；

k ——标准曲线的斜率；

b ——标准曲线的截距。

7.14.2.8 精密度和准确度

7.14.2.8.1 精密度:3个实验室测定纯水、水源水和出厂水加标样品,其相对标准偏差见表75。

表 75 草甘膦测定结果的精密度

加标浓度/(mg/L)	相对标准偏差/%		
	纯水	水源水	出厂水
0.100	3.9~4.0	3.7~5.0	4.4~6.7
0.900	0.41~1.8	0.80~1.99	0.92~3.7

7.14.2.8.2 准确度:3个实验室测定纯水、水源水和出厂水加标样品,其回收率见表76。

表 76 草甘膦测定结果的准确度

加标浓度/(mg/L)	回收率/%		
	纯水	水源水	出厂水
0.100	95.1~103	98.6~102	93.7~99.2
0.900	100~101	96.1~101	92.7~100

7.15 敌百虫

固相萃取/气相色谱法按7.1.2的要求。

8 致嗅物质指标

8.1 土臭素

8.1.1 适用范围

本方法规定了用顶空固相微萃取/气相色谱-质谱法测定城镇供水及其水源水中的2-甲基异莰醇(2-MIB)和土臭素(Geosmin)。

本方法适用于城镇供水及其水源水中的2-甲基异莰醇(2-MIB)和土臭素(Geosmin)的测定。

若取25 mL水样,采用手动固相微萃取装置对水样进行富集测定,则本方法的最低检测质量浓度为:2-甲基异莰醇,5.1 ng/L;土臭素,3.7 ng/L。

若取10 mL水样,采用自动固相微萃取装置对水样进行富集测定,则本方法的最低检测质量浓度为:2-甲基异莰醇,6.8 ng/L;土臭素,4.8 ng/L。

水样中余氯干扰测定。当采集含余氯的样品时,可加入硫代硫酸钠进行脱氯处理。

8.1.2 原理

被测水样置于密闭的顶空瓶中,在65℃条件下经一定时间平衡,水样中的2-甲基异莰醇和土臭素

逸至上部空间,在气液两相中达到动态平衡。用固相微萃取法对气相中的 2-甲基异莰醇和土臭素进行萃取,在气相色谱仪中分离,再以质谱检测器进行定量测定。2-甲基异莰醇和土臭素在气相中的浓度与其在液相中的浓度成正比,通过对气相中 2-甲基异莰醇和土臭素浓度的测定,即可计算出水样中 2-甲基异莰醇和土臭素的浓度。

8.1.3 试剂和材料

8.1.3.1 甲醇:色谱纯。

8.1.3.2 硫代硫酸钠溶液($\rho=100\text{ g/L}$):称量 10 g 优级纯硫代硫酸钠,溶于纯水并稀释至 100 mL。

8.1.3.3 氯化钠:优级纯。

8.1.3.4 2-甲基异莰醇标准储备溶液($\rho=100\text{ }\mu\text{g/mL}$):购买市售具有标准物质证书的标准溶液。

8.1.3.5 土臭素标准储备溶液($\rho=100\text{ }\mu\text{g/mL}$):购买市售具有标准物质证书的标准溶液。

8.1.3.6 2-异丁基-3-甲氧基吡嗪标准储备溶液($\rho=100\text{ }\mu\text{g/mL}$):购买市售具有标准物质证书的标准溶液。

8.1.3.7 致嗅物质中间溶液($\rho=1.00\text{ }\mu\text{g/mL}$):分别移取 100 μL 的 2-甲基异莰醇标准储备溶液(8.1.3.4)和土臭素标准储备溶液(8.1.3.5)于 10 mL 容量瓶中,用甲醇(8.1.3.1)定容。于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,可保存一个月。

8.1.3.8 2-异丁基-3-甲氧基吡嗪内标中间溶液($\rho=1.00\text{ }\mu\text{g/mL}$):准确移取 100 μL 的 2-异丁基-3-甲氧基吡嗪标准储备溶液(8.1.3.6)于 10 mL 容量瓶中,用甲醇(8.1.3.1)稀释至刻度,混匀。于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,可保存一个月。

8.1.3.9 致嗅物质标准使用溶液($\rho=10.0\text{ }\mu\text{g/L}$):准确移取 100 μL 致嗅物质中间溶液(8.1.3.7)于 10 mL 容量瓶中,用纯水定容。临用时现配。

8.1.3.10 2-异丁基-3-甲氧基吡嗪内标标准使用溶液($\rho=10.0\text{ }\mu\text{g/L}$):准确移取 100 μL 2-异丁基-3-甲氧基吡嗪内标中间溶液(8.1.3.8)于 10 mL 容量瓶中,用纯水定容,混匀。临用时配制。

8.1.3.11 载气:氦气,纯度不小于 99.999%。

8.1.4 仪器

8.1.4.1 气相色谱-质谱联用仪:气相部分可程序升温,所有的玻璃元件均应用硅烷化试剂处理脱活。质谱部分 0.7 s 内可由 35 amu 扫描至 265 amu,使用 EI 方式离子化,标准电子能量为 70 eV。

8.1.4.2 色谱柱:DB-5ms 毛细管柱(0.25 mm \times 30 m,1.4 μm)或其他性能等效的色谱柱。

8.1.4.3 固相微萃取装置:手动或自动固相微萃取装置。

8.1.4.4 固相微萃取纤维头:纤维涂层材质为 DVB/Carboxen/PDMS 或 PDMS/DVB 的萃取头。新购萃取头使用前应老化预处理;样品测定前,萃取头在气相色谱仪进样口 240 $^{\circ}\text{C}$ 条件下应至少老化 5 min。

8.1.4.5 样品瓶:采用手动固相微萃取时,规格为 40 mL,玻璃小口样品瓶,并附带螺旋盖及聚四氟乙烯隔垫;采用自动固相微萃取时,规格为 20 mL,顶空萃取瓶。

8.1.4.6 磁性搅拌子:聚四氟乙烯材质,10 mm~20 mm 长棒状。

8.1.4.7 采样瓶:100 mL 棕色旋盖玻璃瓶。

8.1.4.8 微量进样针:10 μL ,100 μL 。

8.1.5 样品

8.1.5.1 采集生活饮用水样品时,应在样品瓶中先加入硫代硫酸钠溶液(8.1.3.2),每 100 mL 水样加入 0.1 mL 硫代硫酸钠溶液,取水样至满瓶,密封。采集水源水样品时,取水样至满瓶,密封。

8.1.5.2 样品采集后于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏保存,保存期 48 h。

8.1.6 分析步骤

8.1.6.1 气相色谱参考条件

进样口温度:240 ℃;进样方式:不分流进样;载气:氮气,载气流速为 1.5 mL/min。

升温程序:初始温度 40 ℃,保持 5 min;再以 8 ℃/min 升温至 240 ℃,保持 5 min。

8.1.6.2 质谱参考条件

离子源(ED)温度为 230 ℃;四级杆温度 150 ℃;传输线温度:280 ℃;扫描方式:选择离子监测(SIM);扫描范围:45 amu~450 amu;扫描时间:0.7s。

2-甲基异莰醇的特征离子(m/z)为 95、107、108,定量离子(m/z)为 95;土臭素的特征离子(m/z)为 112、111、125,定量离子(m/z)为 112;2-异丁基-3-甲氧基吡嗪的特征离子(m/z)为 124、94、151,定量离子(m/z)为 124。

8.1.6.3 固相微萃取条件

8.1.6.3.1 手动固相微萃取:固定磁力搅拌转速为 200 r/min~250 r/min,萃取温度为 65 ℃,萃取时间为 40 min;解析温度为 240 ℃,解析时间为 5 min。

8.1.6.3.2 自动固相微萃取:萃取温度为 65 ℃,快速振荡 10 min,再萃取 20 min;解析温度为 240 ℃,解析时间为 5 min。

8.1.6.4 标准曲线的绘制

8.1.6.4.1 采用手动固相微萃取法对水样进行前处理时,标准曲线的绘制包括下列分析步骤:

取 7 个 25 mL 容量瓶,依次准确加入 0 μ L,25.0 μ L,50.0 μ L,100 μ L,150 μ L,200 μ L 和 250 μ L 致嗅物质标准使用溶液(8.1.3.9),用纯水定容,配制成 2-甲基异莰醇和土臭素质量浓度均为 0 ng/L,10.0 ng/L,20.0 ng/L,40.0 ng/L,60.0 ng/L,80.0 ng/L 和 100 ng/L 的标准系列溶液。

将标准系列溶液分别倒入不同的样品瓶中,依次加入 50.0 μ L 的 2-异丁基-3-甲氧基吡嗪内标标准使用溶液(8.1.3.10)、6.25 g 氯化钠(8.1.3.3)和磁性搅拌子,进行固相微萃取预处理。按照浓度由小到大的顺序,依次上机测定。以目标化合物特征离子的峰面积与内标特征离子的峰面积之比为纵坐标,其对应的浓度为横坐标,绘制标准曲线。

8.1.6.4.2 采用自动固相微萃取法对水样进行前处理时,标准曲线的绘制包括下列分析步骤:

取 7 个 10 mL 容量瓶,依次准确加入 0 μ L,25.0 μ L,50.0 μ L,100 μ L,150 μ L,200 μ L 和 250 μ L 致嗅物质标准使用溶液(8.1.3.9),用纯水定容,配制成 2-甲基异莰醇和土臭素质量浓度均为 0 ng/L,10.0 ng/L,20.0 ng/L,40.0 ng/L,60.0 ng/L,80.0 ng/L 和 100 ng/L 的标准系列溶液。

将标准系列溶液分别倒入样品瓶中,依次加入 20.0 μ L 的 2-异丁基-3-甲氧基吡嗪内标标准使用溶液(8.1.3.10)、2.5 g 氯化钠(8.1.3.3),进行固相微萃取预处理。按照浓度从低到高的顺序,依次进行上机测定。以目标化合物特征离子的峰面积与内标特征离子的峰面积之比为纵坐标,其对应的浓度为横坐标,绘制标准曲线。

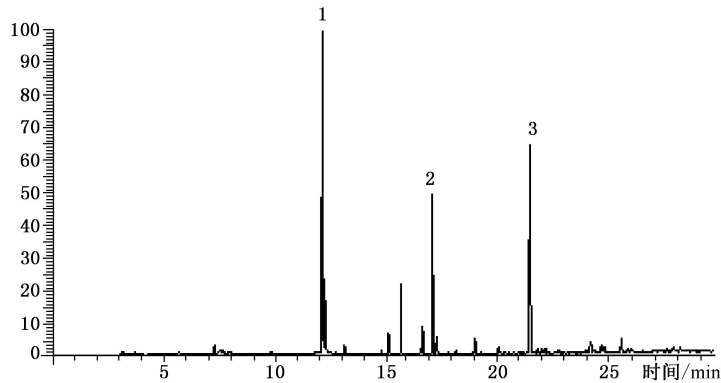
8.1.6.5 样品测定

8.1.6.5.1 手动固相微萃取:取 25.0 mL 水样于样品瓶中,依次加入 50.0 μ L 的 2-异丁基-3-甲氧基吡嗪内标标准使用溶液(8.1.3.10)、6.25 g 氯化钠(8.1.3.3)和磁性搅拌子,进行固相微萃取预处理,直接进样上机测定。进样时,将萃取纤维头插入进样口,推出纤维头,同时运行 GC-MS 进行解析。

8.1.6.5.2 自动固相微萃取:取 10.0 mL 水样于样品瓶中,依次加入 20.0 μ L 的 2-异丁基-3-甲氧基吡嗪

内标准使用溶液(8.1.3.10)和 2.5 g 氯化钠(8.1.3.3),进行固相微萃取预处理,上机测定。

8.1.6.5.3 色谱图的考察:致嗅物质的标准色谱图,见图 32。



说明:

- 1——2-异丁基-3-甲氧基吡嗪 (IBMP);
- 2——2-甲基异茨醇 (2-MIB);
- 3——土臭素 (Geosmin)。

图 32 嗅味物质标准色谱图

8.1.6.5.4 定性分析:根据各组分的保留时间和特征选择离子进行定性分析。各组分参考保留时间:2-异丁基-3-甲氧基吡嗪 (IBMP), 12.13 min; 2-甲基异茨醇 (2-MIB), 17.08 min; 土臭素 (Geosmin), 21.48 min。各组分特征选择离子:2-甲基异茨醇 (2-MIB) 为 95, 107, 108; 土臭素 (Geosmin) 为 112, 111, 125。

8.1.6.5.5 定量分析:内标法。各组分的特征定量离子 (m/z): 2-甲基异茨醇 (2-MIB), 95; 土臭素 (Geosmin), 112; 2-异丁基-3-甲氧基吡嗪 (IBMP), 124。

8.1.7 数据处理与结果表达

8.1.7.1 采用内标法对水样中的 2-甲基异茨醇及土臭素进行定量计算。

8.1.7.2 响应因子 (Response Factor, RF) 的计算见式(45):

$$RF = \frac{A_s \times C_{is}}{A_{is} \times C_s} \dots\dots\dots (45)$$

式中:

- RF —— 响应因子;
- A_s —— 目标化合物定量离子峰面积;
- A_{is} —— 内标化合物的定量离子峰面积;
- C_s —— 目标化合物浓度,单位为纳克每升 (ng/L);
- C_{is} —— 内标化合物的浓度,单位为纳克每升 (ng/L)。

8.1.7.3 实际水样中目标化合物的质量浓度计算见式(46):

$$\rho = \frac{A_s \times C_{is} \times D}{A_{is} \times RF} \dots\dots\dots (46)$$

式中:

- ρ —— 实际水样中目标化合物的质量浓度,单位为纳克每升 (ng/L);
- A_s —— 实际水样中目标化合物对应的峰面积;
- C_{is} —— 内标化合物的质量浓度,单位为纳克每升 (ng/L);
- D —— 水样的稀释倍数;
- A_{is} —— 内标化合物对应的峰面积;

RF——响应因子。

8.1.8 精密度及准确度

8.1.8.1 精密度:9个实验室分别测定纯水、水源水或出厂水加标样品,当加入三种不同浓度的2-甲基异莰醇和土臭素混合标准溶液时,其相对标准偏差见表77。

表77 致嗅物质测定结果的精密度

被测组分	加标浓度/(ng/L)	相对标准偏差/%	
		纯水	水源水或出厂水
2-甲基异莰醇	10.0	6.7~11	1.3~18
	50.0	2.1~16	0.85~10
	100	1.5~15	1.7~13
土臭素	10.0	2.8~18	2.3~21
	50.0	0.7~28	2.2~16
	100	1.7~14	2.2~14

8.1.8.2 准确度:9个实验室测定纯水、水源水或出厂水加标样品,当加入三种不同浓度的2-甲基异莰醇和土臭素混合标准溶液时,其回收率见表78。

表78 致嗅物质测定结果的准确度

被测组分	加标浓度/(ng/L)	回收率/%	
		纯水	水源水或出厂水
2-甲基异莰醇	10.0	80.3~120	89.9~110
	50.0	83.3~112	87.4~108
	100	89.6~104	87.0~109
土臭素	10.0	78.3~114	81.9~121
	50.0	78.9~106	85.7~108
	100	74.4~115	75.2~115

8.2 2-甲基异莰醇

顶空固相微萃取/气相色谱-质谱法按8.1的要求。

9 消毒剂与消毒副产物指标

9.1 臭氧

9.1.1 适用范围

本方法规定了用碘化钾-DPD现场比色法测定城镇供水及其水源水中残留的臭氧。

本方法适用于经臭氧消毒后的城镇供水及其水源水中臭氧的直接测定。臭氧测定范围为0.02 mg/L~2.50 mg/L。

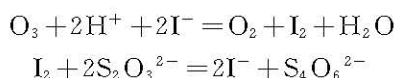
本方法最低检测质量浓度为 0.01 mg/L。

常见的离子如 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cl^{-} 、 F^{-} 等离子对测定结果无影响。 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 等离子干扰可通过加入 0.1 mL EDTA 二钠溶液($\rho=40$ g/L)消除。余氯对测定结果有较大影响,可通过加入 0.2 mL 甘氨酸溶液($\rho=1\ 000$ g/L)消除干扰。

9.1.2 原理

水中臭氧能与碘化钾反应生成游离碘,在 pH 值为 6.2~6.5 时,游离碘能与 N,N-二乙基对苯二胺(DPD)反应生成红色化合物,该化合物对 520 nm 波长光具有选择性吸收,根据溶液对光吸收程度与被测物质的浓度的关系确定被测水样中臭氧的浓度。

采用碘量法测定臭氧时,其原理为臭氧氧化碘化钾生成单质碘,单质碘与硫代硫酸钠反应,以淀粉作为指示剂,确定臭氧的浓度。其化学反应方程式如下:



由上式可知,利用单质碘的氧化性和碘离子的还原性,可对水中的臭氧进行测定。

碘酸钾与碘离子的反应方程式见下式:



因此,碘酸根与臭氧间存在一定的定量关系,可以替代臭氧标准溶液。

9.1.3 试剂和材料

9.1.3.1 碘化钾试剂管。

9.1.3.2 DPD 试剂管。

9.1.3.3 碘化钾(KI)。

9.1.3.4 EDTA 二钠溶液[$\rho(C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O)=4$ g/L]:称取 4 g EDTA 二钠溶于纯水中,用纯水定容至 1 000 mL,混匀。

9.1.3.5 甘氨酸溶液[$\rho(C_2H_5O_2N)=100$ g/L]:称取 10 g 甘氨酸溶于纯水中,用纯水定容至 100 mL,混匀。

9.1.3.6 碘酸钾标准储备溶液[$\rho(KIO_3)=1\ 486$ mg/L]:称取预先在 120 °C~140 °C 烘干 2 h 的优级纯碘酸钾 0.148 6 g,用纯水溶解,定容至 100 mL,混匀。

9.1.3.7 碘酸钾标准使用溶液[$\rho(KIO_3)=14.86$ mg/L]:准确移取 1.00 mL 碘酸钾标准储备溶液(9.1.3.6)于 100 mL 棕色容量瓶中,约加 20 mL 水,加入约 1 g 碘化钾,1 滴 20% 硫酸溶液,摇匀,静置 2 min,再用纯水定容,混匀。临用时配制。浓度为 14.86 mg/L 的碘酸钾溶液相当于浓度为 10.0 mg/L 的臭氧。

9.1.4 仪器

9.1.4.1 分光光度计或单项比色计。

9.1.4.2 比色瓶。

9.1.5 样品

现场采集样品后立即测量。

9.1.6 分析步骤

9.1.6.1 用吸管移取被测水样至比色瓶 10 mL 刻度线处,擦净比色瓶外壁,将比色瓶放入比色槽中锁定。

9.1.6.2 调零,进行空白测量,仪器显示“0.00”,表示校零完成。

9.1.6.3 在比色瓶中加入一支碘化钾试剂,用吸管移取被测水样至比色瓶刻度线处,加入一支 DPD 试剂,旋紧比色瓶定位器,摇动使试剂溶解,擦净比色瓶外壁,放入比色槽中锁定,放置 3 min。

9.1.6.4 进行浓度测量。根据仪器内置的标准曲线,仪器上显示的数值即为水样中臭氧的质量浓度(单位,mg/L)。

9.1.7 精密度和准确度

9.1.7.1 精密度:9 个实验室分别测定两种不同浓度的碘酸钾标准溶液,其相当于臭氧浓度为 0.25 mg/L 和 2.25 mg/L,相对标准偏差为 1.1%~4.2% 和 0.26%~1.3%。

9.1.7.2 准确度:9 个实验室测定纯水和管网水加标样品,向水样中加入两种不同浓度碘酸钾标准溶液,相当于臭氧浓度为 0.25 mg/L 和 2.25 mg/L 的水样,再向其加入相当于臭氧浓度为 0.30 mg/L 的碘酸钾标准溶液时,其回收率见表 79。

表 79 臭氧测定结果的准确度

本底浓度/(mg/L)	加标浓度/(mg/L)	回收率/%	
		纯水	管网水
0.25	0.30	90.0~107	90.0~107
2.25	0.30	90.0~107	90.0~107

9.1.8 质量控制

9.1.8.1 在测定样品时,应同时测定一定数量的质控样品。质控样加标浓度与被测水样臭氧的浓度应接近一致。

9.1.8.2 质控样分析步骤为:准确吸取一定量碘酸钾标准使用液于 10 mL 比色瓶中,加纯水至 10 mL,配制成相当于臭氧浓度为 0.05 mg/L~2.50 mg/L 的标准溶液,向比色瓶中加入碘化钾试剂、DPD 试剂各一支,摇匀静置 3 min。按 9.1.6 步骤操作。

9.2 二氧化氯

9.2.1 适用范围

本方法规定了用 DPD 现场比色法测定城镇供水中的消毒剂二氧化氯余量。

本方法适用于城镇供水中二氧化氯的测定。

本方法最低检测质量浓度为 0.02 mg/L。

水中的游离氯干扰测定,加入甘氨酸可将其转化为氯化氨基乙酸而不干扰二氧化氯的测定。

9.2.2 原理

水样中的二氧化氯与 N,N-二乙基对苯二胺(DPD)反应产生粉色物质,于 528 nm 波长处进行比色定量分析。

9.2.3 试剂和材料

9.2.3.1 甘氨酸溶液($\rho=100$ g/L):称取 10 g 甘氨酸,用纯水溶解,稀释至 100 mL。

9.2.3.2 DPD 溶液($\rho=25$ g/L):称取 2.5 g 的 N,N-二乙基对苯二胺硫酸盐,用纯水溶解,稀释至

100 mL。此溶液临用时配制。

9.2.3.3 磷酸盐缓冲溶液:称取 2.4 g 无水磷酸氢二钠和 4.6 g 无水磷酸二氢钾,用纯水溶解,稀释至 100 mL。

9.2.3.4 二氧化氯储备溶液

二氧化氯的发生及吸收装置示意图见图 33。

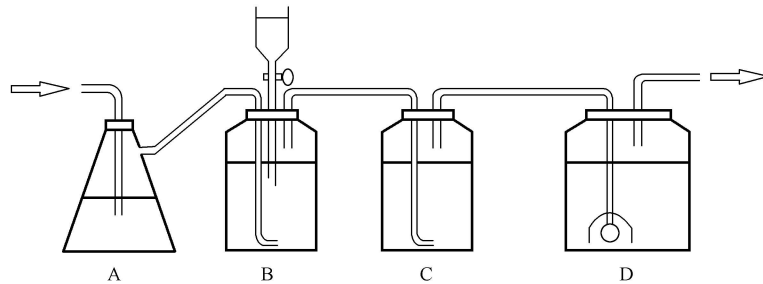


图 33 二氧化氯发生及吸收装置示意图

在 A 瓶中加入 300 mL 纯水,将 A 瓶一端与空气压缩机相接,另一玻璃管与 B 瓶相连。B 瓶为高强度硼硅玻璃瓶,溶解 10 g 亚氯酸钠于 750 mL 纯水中并倒入 B 瓶中;在分液漏斗中装有 20 mL 硫酸溶(1+9)。C 瓶装有亚氯酸钠饱和溶液或片状固体亚氯酸钠。D 瓶为 2 L 硼硅玻璃收集瓶,瓶中装有 1 500 mL 纯水,用以吸收二氧化氯,余气由排气管排出。

启动空气压缩机,使空气均匀地通过整个装置(前端可增加流量计来控制空气流量)。每隔 5 min 由分液漏斗加入 5 mL 硫酸溶液,加完最后一次后,空气持续通 30 min。由于二氧化氯具有强氧化性,空气中的体积浓度超过 10% 就可能爆炸,应在通风橱内进行操作。

所获得的黄色二氧化氯储备溶液应置于棕色玻璃瓶内密塞于冷藏保存。临用前用碘量法标定其质量浓度。

9.2.4 仪器

9.2.4.1 便携式二氧化氯比色计。

9.2.4.2 二氧化氯发生及吸收装置。

9.2.5 样品

由于二氧化氯易挥发,采集水样后,不应将水样暴露于阳光或强灯光下,应在现场尽快测定。

9.2.6 分析步骤

9.2.6.1 取适量水样倒入样品杯中至刻度线,盖上比色计盖,作为空白对照。

9.2.6.2 按电源键打开比色计。

9.2.6.3 取下比色计帽将样品杯放入比色计中,用仪器帽盖住样品池,按清零键进行空白测量,屏幕先显示“—”后显示“0.00”,表示校零完成,从样品池上取下空白样。

9.2.6.4 向第二个样品杯中加入适量水样至刻度线后立刻加入甘氨酸溶液(9.2.3.1),按每 10 mL 水样 4 滴的量加入,摇匀,加磷酸盐缓冲溶液(9.2.3.3),按每 10 mL 水样 6 滴的量加入,摇匀,加 DPD 溶液(9.2.3.2),按每 10 mL 水样 2 滴的量加入,摇匀,静置 30 s 后,放入比色计,按仪器读数键,仪器上显示的数值即为测定水样中二氧化氯的质量浓度(单位:mg/L)。

9.2.6.5 低温样品应适当提高温度,以室温为宜,样品与试剂反应过程中产生的细小气泡应尽量排出。

9.2.7 结果计算

从仪器直接读取检测结果。检测结果保留到小数点后两位数字,浓度以 mg/L 为单位。

9.2.8 精密度和准确度

9.2.8.1 精密度:7个实验室测定纯水加标样品,向水样中加入三种不同的二氧化氯标准溶液,其相对标准偏差见表 80。

表 80 二氧化氯测定结果的精密度

加标浓度/(mg/L)	相对标准偏差/%
0.30~0.50	0~3.6
1.50~1.70	0.36~2.8
2.76~3.40	0.23~3.0

9.2.8.2 准确度:7个实验室测定纯水加标样品,向水样中加入三种不同的二氧化氯标准溶液,其回收率见表 81。

表 81 二氧化氯测定结果的准确度

加标浓度/(mg/L)	回收率/%
0.43~0.64	92.5~102
1.39~1.84	97.2~106
2.61~3.22	98.7~104

9.3 三氯甲烷

吹扫捕集/气相色谱-质谱法按 6.1 的要求。

9.4 三溴甲烷

吹扫捕集/气相色谱-质谱法按 6.1 的要求。

9.5 一溴二氯甲烷

吹扫捕集/气相色谱-质谱法按 6.1 的要求。

9.6 二溴一氯甲烷

吹扫捕集/气相色谱-质谱法按 6.1 的要求。

9.7 二氯甲烷

吹扫捕集/气相色谱-质谱法按 6.1 的要求。

9.8 二氯乙酸

9.8.1 离子色谱法

9.8.1.1 适用范围

本方法规定了用离子色谱法测定城镇供水和水源水中的二氯乙酸(DCAA)和三氯乙酸(TCAA)。

本方法适用于城镇供水及其水源水中二氯乙酸(DCAA)和三氯乙酸(TCAA)的测定。

若进样量为 1.0 mL 时,则本方法的最低检测质量浓度为:二氯乙酸,0.92 $\mu\text{g/L}$;三氯乙酸,1.7 $\mu\text{g/L}$ 。

若水样中的 Cl^- 对二氯乙酸的测定有影响,可以通过 onguard Ba/Ag/H 前处理柱去除。少许过量的脱氯剂硫代硫酸钠对测定有影响,可采取增大梯度淋洗浓度或延长高浓度淋洗时间以消除影响。温度对测定二氯乙酸、三氯乙酸的影响较大,可通过控制柱温恒定至 30 $^{\circ}\text{C}$ 来消除影响。

9.8.1.2 原理

水样中待测卤乙酸阴离子随淋洗液进入离子交换分离柱系统(由保护柱和分离柱组成),由于分离柱对不同阴离子的亲和力存在差异,因而,在淋洗液的不间断淋洗作用下,待测阴离子按照亲和力的差异顺序洗脱分离。抑制器系统中以氢离子选择性地将淋洗液中的阳离子交换除去,淋洗液则转变为弱电导度的水,大大降低了基线背景。已分离的阴离子与氢离子结合,转换成具有高电导度的强酸,提高了待测阴离子的响应值,由电导检测器测量顺序流出的各组分电导率,以待测离子的相对保留时间定性分析,以其峰高或峰面积进行定量分析。

9.8.1.3 试剂和材料

9.8.1.3.1 载气:氮气,纯度大于或等于 99.999%。

9.8.1.3.2 硫代硫酸钠溶液($\rho=1 \text{ g/L}$):称取 1 g 分析纯硫代硫酸钠溶于纯水中,并稀释至 1 000 mL,混匀。

9.8.1.3.3 二氯乙酸、三氯乙酸标准品:固体,纯度大于或等于 99%。

9.8.1.3.4 二氯乙酸标准储备溶液($\rho=1 000 \text{ mg/L}$):准确称取 10.0 mg 的二氯乙酸标准品(9.8.1.3.3),用纯水溶解并定容至 10 mL。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 密封保存。

9.8.1.3.5 三氯乙酸标准储备溶液($\rho=1 000 \text{ mg/L}$):准确称取 10.0 mg 三氯乙酸标准物质(9.8.1.3.3),用纯水溶解并定容至 10 mL。推荐使用市售具有标准物质证书的标准溶液。于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 密封保存。

9.8.1.3.6 卤乙酸混合标准使用溶液:分别移取 0.100 mL 的二氯乙酸(9.8.1.3.4)和 0.200 mL 的三氯乙酸标准储备溶液(9.8.1.3.5)于 100 mL 容量瓶中,用纯水定容。此溶液中二氯乙酸和三氯乙酸的质量浓度分别为 1.00 mg/L 和 2.00 mg/L。临用时配制。

9.8.1.4 仪器

9.8.1.4.1 离子色谱仪:具有梯度泵和离子色谱工作站。

9.8.1.4.2 电导检测器。

9.8.1.4.3 色谱保护柱:IonPac AG19(50 mm \times 4 mm)阴离子保护柱,或其他性能等效的色谱保护柱。

9.8.1.4.4 色谱分析柱:IonPac AS19(250 mm \times 4 mm)阴离子分析柱,或其他性能等效的色谱分析柱。

9.8.1.4.5 抑制器:ASRS300(4 mm)阴离子抑制器,或其他性能等效的抑制器。

9.8.1.4.6 前处理柱:onguard Ba/Ag/H。

9.8.1.4.7 针式过滤器。

9.8.1.4.8 滤膜:孔径为 0.22 μm 。

9.8.1.5 样品

9.8.1.5.1 用干燥的棕色玻璃瓶或聚四氟乙烯瓶采集样品。对于含余氯等氧化剂的样品,每 100 mL 水样中可加入硫代硫酸钠溶液(9.8.1.3.2)消除干扰。

9.8.1.5.2 样品应于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏避光保存,尽快测定。

9.8.1.5.3 样品预处理:水样应采用 0.22 μm 的滤膜过滤后测定。

9.8.1.6 分析步骤

9.8.1.6.1 离子色谱参考条件

柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;抑制电流:75 mA;进样体积:1.0 mL;淋洗液:氢氧化钾溶液;淋洗液流速:1.0 mL/min。

淋洗液梯度程序见表 82。

表 82 淋洗液梯度程序

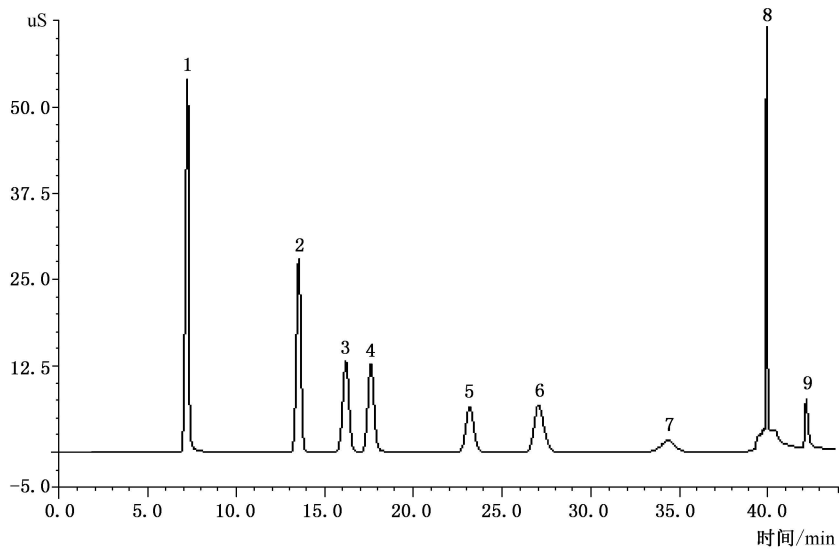
时间/min	氢氧化钾浓度/(mmol/L)
0	8
35	8
35.1	50
43	50
43.1	8
48	8

9.8.1.6.2 标准曲线的绘制:取 9 个 100 mL 容量瓶,分别移取 0 mL,0.20 mL,0.50 mL,1.00 mL,2.00 mL,5.00 mL 和 10.00 mL 卤乙酸混合标准使用溶液(9.8.1.3.6),用纯水定容。此标准系列溶液中:二氯乙酸的质量浓度分别为 0 $\mu\text{g/L}$,2.0 $\mu\text{g/L}$,5.0 $\mu\text{g/L}$,10.0 $\mu\text{g/L}$,20.0 $\mu\text{g/L}$,50.0 $\mu\text{g/L}$ 和 100 $\mu\text{g/L}$;三氯乙酸的质量浓度分别为 0 $\mu\text{g/L}$,4.0 $\mu\text{g/L}$,10.0 $\mu\text{g/L}$,20.0 $\mu\text{g/L}$,40.0 $\mu\text{g/L}$,100 $\mu\text{g/L}$ 和 200 $\mu\text{g/L}$ 。按照浓度从低到高的顺序,依次上机测定。以目标化合物色谱峰的响应值为纵坐标,对应的质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

9.8.1.6.3 样品测定

9.8.1.6.3.1 测定:将预处理(9.8.1.5.3)后的样品按照离子色谱参考条件进行测定。

9.8.1.6.3.2 色谱图的考察:二氯乙酸、三氯乙酸与常见阴离子的标准离子色谱图,见图 34。



说明：

- 1——氟离子(F⁻)；
- 2——氯离子(Cl⁻)；
- 3——二氯乙酸(DCAA)；
- 4——亚硝酸根离子(NO₂⁻)；
- 5——溴离子(Br⁻)；
- 6——硝酸根离子(NO₃⁻)；
- 7——三氯乙酸(TCAA)；
- 8——硫酸根离子(SO₄²⁻)；
- 9——磷酸根离子(PO₄³⁻)。

图 34 二氯乙酸、三氯乙酸与常见阴离子标准色谱图

9.8.1.6.3.3 定性分析：根据标准色谱图各目标化合物的保留时间，确定待测试样中的各目标化合物。目标化合物与常见阴离子的出峰顺序依次为 F⁻、Cl⁻、DCAA、NO₂⁻、Br⁻、NO₃⁻、TCAA、SO₄²⁻和 PO₄³⁻。

9.8.1.6.3.4 定量分析：外标法。根据二氯乙酸和三氯乙酸色谱峰的响应值进行定量分析。

9.8.1.7 结果计算

水样中二氯乙酸或三氯乙酸的质量浓度计算见式(47)：

$$\rho_w = \frac{A_w \times \rho_s}{A_s} \dots\dots\dots (47)$$

式中：

- ρ_w ——水样中二氯乙酸或三氯乙酸质量浓度，单位为毫克每升(mg/L)；
- A_w ——水样中二氯乙酸或三氯乙酸的峰面积；
- A_s ——标准溶液中二氯乙酸或三氯乙酸的峰面积；
- ρ_s ——标准溶液中二氯乙酸或三氯乙酸的质量浓度，单位为毫克每升(mg/L)。

9.8.1.8 精密度和准确度

9.8.1.8.1 精密度：10 个实验室测定高低两种浓度的纯水加标样品，其相对标准偏差见表 83。

表 83 二氯乙酸和三氯乙酸测定结果的精密度

被测组分	加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	相对标准偏差/%
二氯乙酸	10.0	0.39~4.4
	90.0	0.31~2.1
三氯乙酸	20.0	0.34~3.3
	180	0.14~1.2

9.8.1.8.2 准确度:10个实验室测定三种不同浓度的纯水、自来水加标样品,其回收率表 84。

表 84 二氯乙酸和三氯乙酸测定结果的准确度

被测组分	加标浓度/($\mu\text{g/L}$)	回收率/%	
		纯水	自来水
二氯乙酸	5.00	84.7~107	81.7~114
	10.0	90.6~105	83.5~106
	50.0	92.5~125	87.1~104
三氯乙酸	5.00	99.2~125	103~122
	10.0	97.2~122	94.0~110
	50.0	93.7~106	95.7~105

9.8.2 液相色谱/串联质谱法

9.8.2.1 适用范围

本方法规定了用液相色谱/串联质谱法测定城镇供水及其水源水中的一氯乙酸(MCAA)、一溴乙酸(MBAA)、二氯乙酸(DCAA)、一氯一溴乙酸(BCAA)、二溴乙酸(DBAA)、三氯乙酸(TCAA)、一溴二氯乙酸(BDCAA)、一氯二溴乙酸(CDBAA)、三溴乙酸(TBAA)。

本方法适用于城镇供水及其水源水中一氯乙酸、一溴乙酸、二氯乙酸、一氯一溴乙酸、二溴乙酸、三氯乙酸、一溴二氯乙酸、一氯二溴乙酸、三溴乙酸的测定。

若进样量为 10 μL 时,9 种卤乙酸的最低检测质量浓度分别为:一氯乙酸(MCAA),2.2 $\mu\text{g/L}$;一溴乙酸(MBAA),1.9 $\mu\text{g/L}$;二氯乙酸(DCAA),1.0 $\mu\text{g/L}$;一氯一溴乙酸(BCAA),1.4 $\mu\text{g/L}$;二溴乙酸(DBAA),0.56 $\mu\text{g/L}$;三氯乙酸(TCAA),4.4 $\mu\text{g/L}$;一溴二氯乙酸(BDCAA),19 $\mu\text{g/L}$;一氯二溴乙酸(CDBAA),19 $\mu\text{g/L}$;三溴乙酸(TBAA),8.8 $\mu\text{g/L}$ 。

9.8.2.2 原理

水样中的卤乙酸,采用液相色谱/串联质谱法测定时,不经过样品预处理,直接进样,经液相色谱仪分离,然后进入串联质谱仪,采用多反应监测(MRM)模式,根据保留时间和特征离子峰进行定性分析,外标法或内标法定量分析。

9.8.2.3 试剂和材料

9.8.2.3.1 甲醇:色谱纯。

9.8.2.3.2 乙腈:色谱纯。

9.8.2.3.3 乙酸:优级纯。

9.8.2.3.4 抗坏血酸溶液($\rho=20$ g/L):称取 2.0 g 抗坏血酸,用纯水溶解并稀释至 100 mL。于 0 °C~4 °C 保存。若颜色变黄应重新配制。

9.8.2.3.5 乙酸溶液($\phi=0.05\%$):取 0.5 mL 乙酸,用纯水定容至 1 000 mL。

9.8.2.3.6 卤乙酸标准品:包括一氯乙酸、一溴乙酸、二氯乙酸、一氯一溴乙酸、二溴乙酸、三氯乙酸、一溴二氯乙酸、一氯二溴乙酸、三溴乙酸,各组分纯度大于等于 97%。

9.8.2.3.7 卤乙酸标准储备溶液($\rho=1\ 000$ mg/L):准确称取 10.0 mg 不同组分的卤乙酸标准品(9.8.2.3.6),分别用甲醇(9.8.2.3.1)溶解并定容至 10 mL。于-20 °C密封保存。推荐使用市售具有标准物质证书的混合标准溶液或单组分标准溶液。

9.8.2.3.8 卤乙酸中间溶液($\rho=10.0$ mg/L):分别移取 1.00 mL 不同组分的卤乙酸标准储备溶液(9.8.2.3.7)于同一 100 mL 容量瓶中,用纯水定容,配制成各组分浓度均为 10.0 mg/L 的混合标准溶液。

9.8.2.3.9 卤乙酸标准使用溶液($\rho=1.00$ mg/L):移取 10.00 mL 卤乙酸中间溶液(9.8.2.3.8)于 100 mL 容量瓶中,用纯水定容。

9.8.2.3.10 D_3 -一氯乙酸标准品:纯度大于或等于 97%。

9.8.2.3.11 D_3 -一溴乙酸标准品:纯度大于或等于 97%。

9.8.2.3.12 D_3 -一氯乙酸标准储备溶液:($\rho=1\ 000$ mg/L):准确称取 10.0 mg 的 D_3 -一氯乙酸标准品(9.8.2.3.10),用甲醇(9.8.2.3.1)溶解并定容至 10 mL。于-20 °C密封保存。

9.8.2.3.13 D_3 -一溴乙酸标准储备溶液:($\rho=1\ 000$ mg/L):准确称取 10.0 mg 的 D_3 -一溴乙酸标准品(9.8.2.3.11),用甲醇(9.8.2.3.1)溶解并定容至 10 mL。于-20 °C密封保存。

9.8.2.3.14 同位素内标使用溶液($\rho=5.00$ mg/L):分别移取 50 μ L 的 D_3 -一氯乙酸标准储备溶液(9.8.2.3.12)和 D_3 -一溴乙酸标准储备溶液(9.8.2.3.13)于 10 mL 容量瓶中,用纯水定容。

9.8.2.3.15 脱溶剂气:高纯氮气,纯度大于或等于 99.999%。

9.8.2.3.16 碰撞气:高纯氩气或氦气,纯度大于或等于 99.999%。

9.8.2.4 仪器

9.8.2.4.1 液相色谱-串联质谱联用仪:带电喷雾离子源。

9.8.2.4.2 色谱柱:氟苯基柱(2.1 mm \times 100 mm,1.7 μ m)或其他性能等效的色谱柱。

9.8.2.4.3 针头式过滤器:聚偏氟乙烯(PVDF),孔径 0.22 μ m。

9.8.2.4.4 一次性注射器:1 mL 或 2 mL。

9.8.2.4.5 样品瓶:2 mL。

9.8.2.5 样品

9.8.2.5.1 应用干净干燥的 100 mL 棕色玻璃瓶或聚四氟乙烯(全氟丙烯)瓶采集水样。采集含余氯等氧化剂的水样时,应加入 0.1 mL 抗坏血酸溶液(9.8.2.3.4)保存。

9.8.2.5.2 样品应于 0 °C~4 °C 冷藏避光保存,保存期为 24 h。

9.8.2.5.3 样品预处理:先用乙酸(9.8.2.3.3)调节水样 pH 值至 5.0,再用一次性注射器抽取水样,用 PVDF 滤膜过滤后进行测定。

9.8.2.6 分析步骤

9.8.2.6.1 液相色谱参考条件

流动相 A:乙腈;流动相 B:0.05%的乙酸溶液;流速:0.4 mL/min;柱温:30 °C;进样量:10 μ L。

卤乙酸的流动相参考梯度洗脱程序见表 85。

表 85 流动相参考梯度洗脱程序

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
初始	40	60
3.0	60	40
3.1	100	0
3.5	40	60
4.5	40	60

注：此条件为超高效液相色谱仪的参考条件，高效液相色谱的参考条件应根据实际情况进行调整。

9.8.2.6.2 质谱参考条件

电离源：电喷雾负离子模式；毛细管电压：3.5 kV；源温度：120 °C；脱溶剂气温度：350 °C；脱溶剂气流量：800 L/h；碰撞室压力：0.3 Pa~0.35 Pa。

检测方式：多反应离子监测(MRM)。卤乙酸及其内标的多反应监测条件见表 86。

表 86 卤乙酸及其内标的多反应监测条件

中文名称	英文缩写	CAS号	母离子 <i>m/z</i>	子离子 <i>m/z</i>	锥孔电压 V	碰撞能 eV
一氯乙酸	MCAA	79-11-8	92.9	35.0	20	10
一溴乙酸	MBAA	79-08-3	136.9	78.9	20	11
二氯乙酸	DCAA	79-43-6	126.9	82.9	22	10
一氯一溴乙酸	BCAA	5589-96-8	172.9	128.9	20	9
二溴乙酸	DBAA	631-64-1	216.8	172.8	20	11
三氯乙酸	TCAA	76-03-9	160.8	116.8	15	7
一溴二氯乙酸	BDCAA	71133-14-7	206.8	162.8	18	8
一氯二溴乙酸	CDBAA	2578-95-5	250.8	206.8	20	7
三溴乙酸	TBAA	75-96-7	250.8	78.9	30	15
D ₃ -一氯乙酸	D ₃ -MCAA	1796-85-6	94.9	35.0	20	10
D ₃ -一溴乙酸	D ₃ -MBAA	14341-48-1	138.9	78.9	20	11

9.8.2.6.3 标准曲线的绘制：取 10 个 100 mL 的容量瓶，依次准确加入 0 μL, 100 μL, 200 μL, 500 μL, 1.00 mL, 2.00 mL, 5.00 mL, 10.00 mL, 15.00 mL 和 20.00 mL 的卤乙酸标准使用溶液(9.8.2.3.9)，用纯水稀释至刻度，配制成质量浓度为 0 μg/L, 1.0 μg/L, 2.0 μg/L, 5.0 μg/L, 10.0 μg/L, 20.0 μg/L, 50.0 μg/L, 100 μg/L, 150 μg/L 和 200 μg/L 的标准系列溶液。按照浓度从低到高的顺序，依次上机测定。以目标化合物的峰面积为纵坐标，其对应的质量浓度为横坐标，绘制标准曲线。

9.8.2.6.4 样品测定

9.8.2.6.4.1 进样:将样品预处理(9.8.2.5.3)后直接进样测定。测定水样时若基质效应明显,应采用同位素内标稀释法或样品加标校正曲线法进行定量分析,在标准系列溶液和样品中加入浓度为50.0 $\mu\text{g/L}$ 的同位素内标使用溶液(9.8.2.3.14)。

9.8.2.6.4.2 色谱图的考察:9种卤乙酸的MRM色谱图见图35~图43。

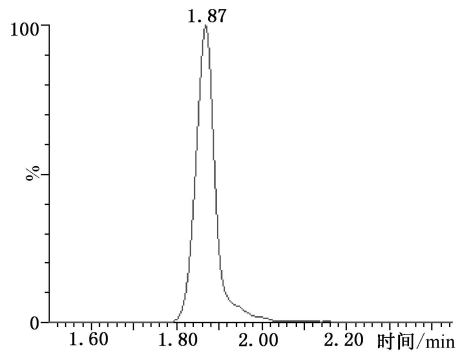


图 35 一氯乙酸的 MRM 色谱图

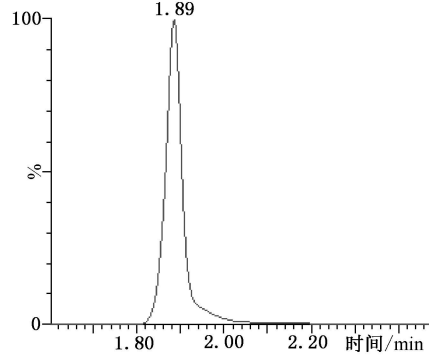


图 36 一溴乙酸的 MRM 色谱图

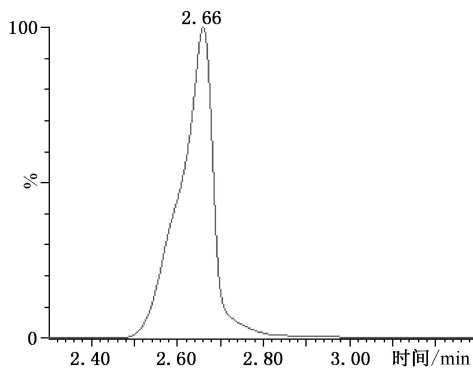


图 37 二氯乙酸的 MRM 色谱图

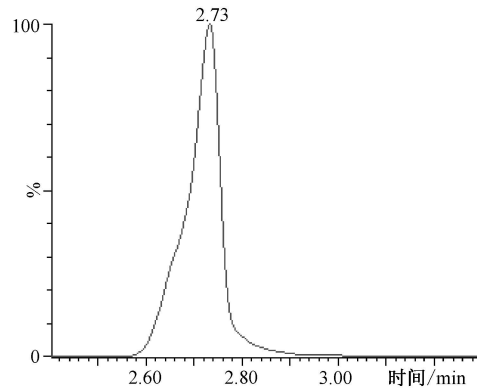


图 38 一氯一溴乙酸的 MRM 色谱图

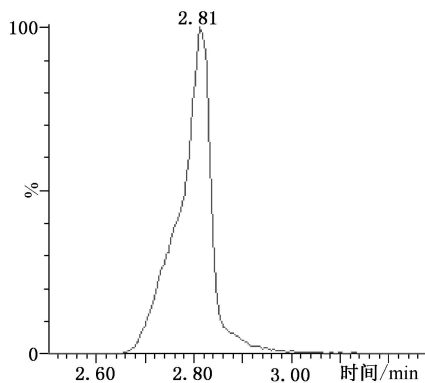


图 39 二溴乙酸的 MRM 色谱图

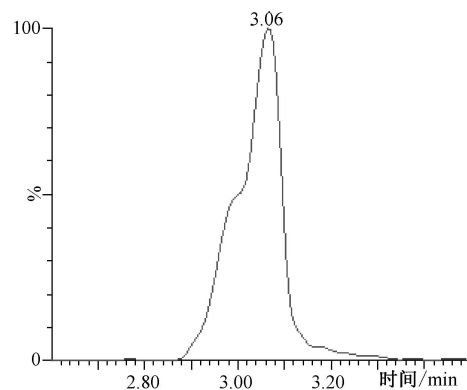


图 40 三氯乙酸的 MRM 色谱图

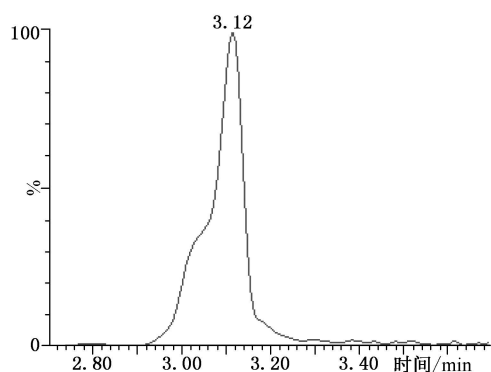


图 41 一溴二氯乙酸的 MRM 色谱图

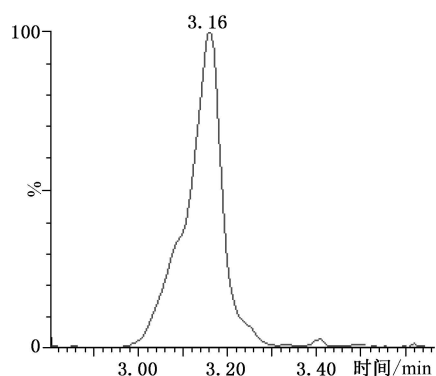


图 42 一氯二溴乙酸的 MRM 色谱图

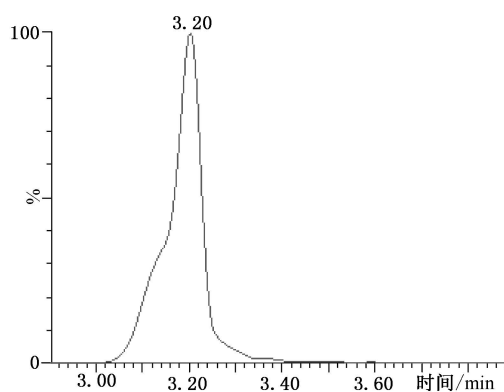


图 43 三溴乙酸的 MRM 色谱图

9.8.2.6.4.3 定性分析:根据卤乙酸 MRM 色谱图中不同目标化合物的保留时间及特征离子对进行定性分析。

9.8.2.6.4.4 定量分析:外标法和内标法。采用外标法时,根据目标化合物的峰面积进行定量分析。采用内标法时,根据目标化合物与同位素内标化合物峰面积的比值进行定量分析。

9.8.2.7 结果计算

9.8.2.7.1 外标法

水样中目标化合物的质量浓度计算见式(48):

$$\rho = \frac{A - b}{k} \quad \dots\dots\dots(48)$$

式中:

ρ ——水样中目标化合物的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

A ——水样中目标化合物对应的峰面积;

k ——标准曲线的斜率;

b ——标准曲线的截距。

9.8.2.7.2 内标法

水样中目标化合物质量浓度计算见式(49):

$$\rho = \frac{A - \rho_{\text{is}}}{A_{\text{is}}} \quad \dots\dots\dots(49)$$

式中：

ρ ——水样中目标化合物的质量浓度，单位为微克每升($\mu\text{g/L}$)；

Λ ——水样中目标化合物对应的子离子峰面积；

ρ_{is} ——水样中同位素内标化合物对应的质量浓度，单位为微克每升($\mu\text{g/L}$)

Λ_{is} ——水样中同位素内标化合物对应的子离子峰面积。

9.8.2.8 精密度和准确度

9.8.2.8.1 精密度：5个实验室测定纯水加标准样品，当加标浓度为 200 $\mu\text{g/L}$ 和 40.0 $\mu\text{g/L}$ 时，其测定结果的相对标准偏差见表 87。

表 87 卤乙酸测定结果的精密度

被测组分	相对标准偏差/%	
	加标浓度为 200 $\mu\text{g/L}$	加标浓度为 40.0 $\mu\text{g/L}$
一氯乙酸	1.2~3.8	2.5~5.4
一溴乙酸	1.0~3.8	1.0~4.3
二氯乙酸	1.6~5.0	1.7~9.6
一氯一溴乙酸	0.70~8.7	0.40~2.8
二溴乙酸	0.60~4.6	1.3~4.7
三氯乙酸	1.1~4.6	2.2~12
一溴二氯乙酸	1.2~3.6	1.8~8.5
一氯二溴乙酸	1.4~8.3	3.0~4.0
三溴乙酸	0.60~11	2.7~16

9.8.2.8.2 准确度：5个实验室测定管网水加标样品，当加标浓度为 100 $\mu\text{g/L}$ 和 10.0 $\mu\text{g/L}$ 时，其测定结果的回收率见表 88。

表 88 卤乙酸测定结果的准确度

被测组分	回收率/%	
	加标浓度为 100 $\mu\text{g/L}$	加标浓度为 10.0 $\mu\text{g/L}$
一氯乙酸	43.8~100	20.2~110
一溴乙酸	46.0~100	37.0~103
二氯乙酸	70.8~106	58.1~102
一氯一溴乙酸	81.0~100	68.7~100
二溴乙酸	81.5~102	80.9~102
三氯乙酸	65.5~117	74.9~111
一溴二氯乙酸	88.4~112	82.4~107
一氯二溴乙酸	63.8~118	80.1~102
三溴乙酸	76.1~105	74.6~106

注：表中为采用外标法的测定结果，部分实验室由于样品中一氯乙酸和一溴乙酸的基质效益明显，导致样品加标回收率偏低。

9.9 三氯乙酸

9.9.1 离子色谱法

按 9.8.1 的要求。

9.9.2 液相色谱/串联质谱法

按 9.8.2 的要求。

9.10 一氯乙酸

液相色谱/串联质谱法按 9.8.2 的要求。

9.11 一溴乙酸

液相色谱/串联质谱法按 9.8.2 的要求。

9.12 一氯一溴乙酸

液相色谱/串联质谱法按 9.8.2 的要求。

9.13 二溴乙酸

液相色谱/串联质谱法按 9.8.2 的要求。

9.14 一溴二氯乙酸

液相色谱/串联质谱法按 9.8.2 的要求。

9.15 一氯二溴乙酸

液相色谱/串联质谱法按 9.8.2 的要求。

9.16 三溴乙酸

液相色谱/串联质谱法按 9.8.2 的要求。

9.17 2,4,6-三氯酚

液相色谱法按 6.25 的要求。

10 微生物指标

10.1 贾第鞭毛虫

10.1.1 滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法

10.1.1.1 适用范围

本方法规定了用滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法测定城镇供水及其水源水中的贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊(简称“两虫”)。

本方法适用于城镇供水及其水源水中贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊的测定。

10.1.1.2 原理

首先经微孔滤膜过滤浓缩水样,再通过密度梯度离心对贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊进行分离纯化,最后经免疫荧光染色后进行荧光显微镜镜检计数,从而对水样中的贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊进行定性分析与定量检测。

10.1.1.3 试剂和材料

10.1.1.3.1 乙醇($\varphi=75\%$)。

10.1.1.3.2 丙酮。

10.1.1.3.3 吐温 80(Tween 80)。

10.1.1.3.4 盐酸溶液($c=0.1\text{ mol/L}$):吸取浓盐酸 8.2 mL,用纯水稀释至 1 000 mL。

10.1.1.3.5 氢氧化钠溶液($c=0.1\text{ mol/L}$):称取 4.0 g 氢氧化钠,用纯水溶解并稀释至 1 000 mL。

10.1.1.3.6 蔗糖。

10.1.1.3.7 Percoll 溶液(1+1):量取一定体积的 Percoll,与等体积的纯水混合。

10.1.1.3.8 Percoll-蔗糖分离液:称取 85.5 g 蔗糖,用纯水溶解,稀释至 100 mL,此溶液为饱和蔗糖溶液。再取 10 mL 上述蔗糖饱和溶液,与 90 mL 的 Percoll 溶液(10.1.1.3.7)混合。此溶液的密度为 $1.10\sim 1.15\text{ g/m}^3$ 。于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存,保存期为 7 d。

10.1.1.3.9 PBS 缓冲液:分别称取 8.0 g 氯化钠,2.9 g 磷酸氢二钠 $[\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$,0.2 g 氯化钾,0.2 g 磷酸二氢钾(KH_2PO_4),用纯水溶解,稀释至 1 000 mL。用盐酸溶液(10.1.1.3.4)或氢氧化钠溶液(10.1.1.3.5)调节 PBS 缓冲液的 pH 值至 $7.2\sim 7.4$ 。于 $0\text{ }^\circ\text{C}\sim 4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存,保存期 7 d。

10.1.1.3.10 PBST 缓冲液:向 100 mL PBS 缓冲液(10.1.1.3.9)中加入 0.01 mL 吐温 80(10.1.1.3.3),混匀。室温条件下可保存 30 d。

10.1.1.3.11 DABCO-甘油:称取 12.6 g 甘油,边搅拌加热至 $60\text{ }^\circ\text{C}\sim 70\text{ }^\circ\text{C}$,然后加入 0.2 g 的 1,4-二偶氮双环(2,2,2)辛烷(DABCO),搅拌溶解。室温条件下保存期为 12 个月。

10.1.1.3.12 牛血清蛋白(BSA)溶液($\rho=1\text{ g/L}$):称取 0.1 g 牛血清蛋白(BSA),溶解于 100 mL 纯水中,用 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤备用。

10.1.1.3.13 DAPI 储备液:称取 2 mg 的 4,6-二氨基-2-苯基吡啶(DAPI)溶于 1 mL 甲醇中。于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 避光保存,保存期 15 d。

10.1.1.3.14 DAPI 染色溶液:移取 $5\text{ }\mu\text{L}$ 的 4,6-二氨基-2-苯基吡啶(DAPI)溶液($\rho=2\text{ mg/mL}$),加入 25 mL 的 PBS 缓冲液(10.1.1.3.9),混匀。于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存。临用时配制。

10.1.1.3.15 免疫荧光试剂:抗贾第鞭毛虫/隐孢子虫单克隆荧光抗体-异硫氰荧光素试剂盒,于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存。

10.1.1.3.16 贾第鞭毛虫/隐孢子虫标样:每毫升标准溶液中含 100 个贾第鞭毛虫孢囊和 100 个隐孢子虫卵囊。

10.1.1.3.17 氯化钙溶液($c=1.0\text{ mol/L}$):称取 111 g 氯化钙,用纯水溶解,稀释至 1 000 mL。

10.1.1.3.18 碳酸氢钠($c=1.0\text{ mol/L}$):称取 84 g 碳酸氢钠,用纯水溶解,稀释至 1 000 mL。

10.1.1.3.19 氢氧化钠溶液($c=10\text{ mol/L}$):称取 40 g 氢氧化钠,用纯水溶解并稀释至 100 mL。

10.1.1.3.20 氨基磺酸溶液($\rho=97\text{ g/L}$):称取 97 g 氨基磺酸,用纯水溶解,稀释至 1 000 mL。

10.1.1.3.21 混合纤维素酯滤膜:孔径 $1\text{ }\mu\text{m}$,直径 142 mm。

10.1.1.3.22 醋酸纤维滤膜:孔径 $3\text{ }\mu\text{m}$,直径 25 mm。

10.1.1.3.23 载玻片。

10.1.1.3.24 盖玻片。

10.1.1.4 仪器

- 10.1.1.4.1 过滤装置:配置不锈钢过滤器(直径为 142 mm)和蠕动泵;或同等功能的一体化过滤装置。
- 10.1.1.4.2 摆动式离心机:容量为 15 mL、50 mL 和 500 mL;离心力能够达到 2 000g,具有刹车档,减速度为 0。
- 10.1.1.4.3 pH 计。
- 10.1.1.4.4 磁力搅拌器。
- 10.1.1.4.5 真空抽滤装置:材质为玻璃。
- 10.1.1.4.6 涡旋振荡器。
- 10.1.1.4.7 真空泵:抽滤压力为 0~5 mmHg。
- 10.1.1.4.8 荧光显微镜:450 nm~480 nm 蓝色滤光片;330 nm~385 nm 紫外滤光片;20 倍,40 倍,100 倍物镜。
- 10.1.1.4.9 锥形底离心管:15 mL,50 mL。
- 10.1.1.4.10 离心杯:500 mL。
- 10.1.1.4.11 采样桶:10 L,50 L。
- 10.1.1.4.12 平底桶:10 L,材质为聚丙烯。
- 10.1.1.4.13 镊子。
- 10.1.1.4.14 密度计:量程 1.10 g/m³~1.15 g/m³。
- 10.1.1.4.15 DAKO 笔:免疫组画笔。
- 10.1.1.4.16 玻璃吸管或巴斯德吸管。

10.1.1.5 样品

- 10.1.1.5.1 根据水样类型不同,采集不同体积水样。水源水宜采集 10 L,城镇供水宜采集 50 L。
- 10.1.1.5.2 样品于 4 ℃冷藏保存,在 72 h 内进行浓缩。

10.1.1.6 分析步骤

10.1.1.6.1 浓缩

10.1.1.6.1.1 微孔滤膜过滤法:适用于浑浊度小于 20 NTU 的水样。

采用微孔滤膜过滤法处理水样时,包括下列分析步骤:

- a) 将混合纤维素酯滤膜(10.1.1.3.21)正面向上置于过滤装置(10.1.1.4.1)上,用纯水淋洗滤膜,无气泡后密封过滤装置,将采集的水样全部进行过滤;若过滤压力过大,可更换新的滤膜重复上述步骤。依次各用约 200 mL 的 PBST 缓冲液(10.1.1.3.10)、乙醇(10.1.1.3.1)和纯水清洗采样桶,再将清洗液过滤。泵停止后打开过滤装置,用镊子折叠好滤膜移至 50 mL 锥形底离心管(10.1.1.4.9)中。
- b) 向上述锥形底离心管中加入 40 mL 丙酮(10.1.1.3.2),使滤膜完全溶解,在 1 050g、20 ℃条件下离心 10 min(勿用制动器,减速度为 0),离心后用吸管吸去上清液,至上清液加入纯水中无白色絮状体为止。若出现白色絮状体,重复上述步骤。
- c) 向离心后的沉淀物中先加入 5 mL 乙醇(10.1.1.3.1),再缓慢加入 PBS 缓冲液(10.1.1.3.9)至 40 mL,混匀。在 1 050g、20 ℃条件下离心 10 min(勿用制动器,减速度为 0)。离心后吸去上清液,保留沉淀物。

10.1.1.6.1.2 碳酸钙沉淀法:适用于浑浊度大于等于 20 NTU 的水样。

采用碳酸钙沉淀法处理水样时,包括下列分析步骤:

- a) 将水样转入平底桶(10.1.1.4.12),置于磁力搅拌器(10.1.1.4.4)上,边搅拌边加入 100 mL 氯化钙溶液(10.1.1.3.17)和 100 mL 碳酸氢钠溶液(10.1.1.3.18)。

- b) 用氢氧化钠溶液(10.1.1.3.19)调节 pH 值至 10,静置 12 h~16 h 后吸去上清液,余下约 200 mL 沉淀物。
- c) 加入 200 mL 的氨基磺酸溶液(10.1.1.3.20)溶解余下的沉淀物,转移至 500 mL 离心杯中,用少量 PBST 缓冲液(10.1.1.3.10)分次洗涤平底桶并合并至上述 500 mL 离心杯中。在 2 000g 条件下离心 10 min(勿用制动器,减速度为 0)。
- d) 吸去上清液,向离心杯中加入约 15 mL PBST 缓冲液(10.1.1.3.10),摇匀后平均分配至 2 个 50 mL 锥形底离心管内,再用 15 mL PBST 缓冲液(10.1.1.3.10)分 3 次洗涤离心杯,均分转移至上述 50 mL 锥形底离心管中,用纯水稀释至 40 mL。在 2 000g 条件下离心 10 min,吸去上清液。重复上述操作一次。保留沉淀物。

10.1.1.6.2 分离纯化:向上述浓缩后的沉淀物中加入 6 mL PBST 缓冲液(10.1.1.3.10),置于涡旋振荡器(10.1.1.4.6)上振荡 1 min,将混合液均匀分至 15 mL 离心管中,使每个离心管中样品体积小于 3 mL。用滴管从 15 mL 离心管底部缓慢加入约 5 mL Percoll-蔗糖分离液(10.1.1.3.8),在 1 050g、20 ℃条件下离心 10 min(勿用制动器,减速度为 0),用吸管从中间层上部吸取富含“两虫”孢囊和卵囊的混合液于新的 15 mL 离心管中。重复上述操作。将上述混合液合并。

10.1.1.6.3 染色包括下列步骤:

- a) 用 DAKO 笔(10.1.1.4.15)在醋酸纤维滤膜(10.1.1.3.22)的外周画圆圈,再用镊子将滤膜平移至纯水液面上润湿,操作时滤膜不应浸入液面。
- b) 将上述醋酸纤维滤膜转移到真空抽滤装置(10.1.1.4.5)上,用吸管吸取“两虫”混合液(10.1.1.6.2.2)滴加至 DAKO 笔标记的滤膜圆圈内,进行抽滤。抽滤时应在滤膜上保留一薄层液面,以防止滤膜破损。再将约 3 mL PBS 缓冲液(10.1.1.3.9)滴加至滤膜上抽滤。停止抽滤,在样品正上方滴加 0.50 mL BSA 溶液(10.1.1.3.12),保持 2 min。
- c) 用镊子将滤膜平移至载玻片(10.1.1.3.23)上,在滤膜上滴加 1 滴免疫荧光试剂(10.1.1.3.15),于湿室中避光静置 30 min,再滴加 0.10 mL DAPI 染色溶液(10.1.1.3.14),避光静置 10 min。
- d) 用镊子将滤膜平移至真空抽滤装置(10.1.1.4.5)上抽滤,用 4 mL PBS 缓冲液(10.1.1.3.9)分次淋洗滤膜,再依次滴加各 3 mL 的乙醇-甘油水溶液(30+5+65)、乙醇-甘油水溶液(70+5+25)和乙醇-甘油水溶液(90+5+5)进行脱水。
- e) 于新的载玻片上滴加 1 滴 DABCO-甘油(10.1.1.3.11),将上述滤膜(10.1.1.6.3.4)平移至新的载玻片上。在滤膜上再滴加一滴 DABCO-甘油(10.1.1.3.11),盖上盖玻片(不应有气泡)。于 4 ℃ 避光保存,保存期为 7 d。

10.1.1.6.4 镜检计数:打开荧光显微镜和汞灯,预热 15 min。先在 200 倍的荧光模式下对滤膜上圆圈内的样品进行全扫描查找“两虫”;再依次在 400 倍的蓝光激发(FITC 模式)、400 倍的紫外激发(DAPI 模式)和 1 000 倍的微分干涉(DIC 模式)模式下进一步证实。

贾第鞭毛虫孢囊呈椭圆形,直径 8 μm~15 μm。在 FITC 模式下,孢囊壁发出苹果绿色荧光。在 DAPI 模式下,当内部呈现深蓝色或者观察到 1~4 个细胞核时,呈 DAPI 阳性,可确认为贾第鞭毛虫孢囊;若呈现边缘绿色,内部浅蓝色时,呈 DAPI 阴性,再采用 DIC 模式进一步观察,若能看到孢囊的细胞核、中轴等内部结构,可确认为贾第鞭毛虫孢囊。

隐孢子虫卵囊呈圆形或椭圆形,直径 2 μm~6 μm。在 FITC 模式下,卵囊壁发出苹果绿色荧光。在 DAPI 模式下,当内部呈现深蓝色或者观察到 1~4 个细胞核时,呈 DAPI 阳性,可确认为隐孢子虫卵囊;若呈现边缘绿色,内部浅蓝色时,呈 DAPI 阴性,再采用 DIC 模式进一步观察,若能看到卵囊内有 1~4 个月牙形孢子,可确认为隐孢子虫卵囊。

10.1.1.7 结果计算

每升样品中的孢囊或卵囊数计算见式(50):

$$Y = \frac{X \times V}{V_1 \times V_2} \dots\dots\dots (50)$$

式中：

Y ——每升样品中孢囊或卵囊数；

X ——计数样本的体积中孢囊或卵囊数；

V ——水样浓缩后所得沉淀物的体积，单位为毫升(mL)；

V_1 ——用于镜检计数的沉淀物体积，单位为毫升(mL)；

V_2 ——采集的水样体积，单位为升(L)。

10.1.1.8 检测限

每升孢囊或卵囊检出限的计算见式(51)：

$$D = \frac{V}{V_1 \times V_2} \dots\dots\dots (51)$$

式中：

D ——每升孢囊或卵囊的检出限；

V ——水样浓缩后所得沉淀物的体积，单位为毫升(mL)；

V_1 ——用于镜检计数的沉淀物体积，单位为毫升(mL)；

V_2 ——采集的水样体积，单位为升(L)。

10.1.1.9 精密度和准确度

10.1.1.9.1 精密度：7个实验室分别向10L纯水、水源水和管网水样品中加入100~500个隐孢子虫和100~500个贾第鞭毛虫，其相对标准偏差见表89。

表89 隐孢子虫和贾第鞭毛虫测定结果的精密度

目标物	加标卵(孢)囊 个	相对标准偏差 %		
		纯水	水源水	出厂水
隐孢子虫	100	2.8~5.4		
	100~500		3.3~32	6~33
贾第鞭毛虫	100	3.8~6.6		
	100~500		0~24	3~38

10.1.1.9.2 准确度：7个实验室分别向10L纯水、水源水和管网水样品中加入100~500个隐孢子虫和100~500个贾第鞭毛虫，其回收率见表90。

表90 隐孢子虫和贾第鞭毛虫测定结果的准确度

目标物	加标卵(孢)囊 个	回收率 %		
		纯水	水源水	出厂水
隐孢子虫	100	25~31		
	100~500		14~33	17~30
贾第鞭毛虫	100	27~39		
	100~500		19~33	21~37

10.1.1.10 质量控制

10.1.1.10.1 免疫荧光质量控制

10.1.1.10.1.1 免疫荧光质量控制是对免疫荧光试剂盒的质量控制,由阴性对照和阳性对照两个试验组成。样品分析时,应每周进行一次。

10.1.1.10.1.2 阴性对照:取 50 μL PBS 缓冲液(10.1.1.3.9)进行膜上染色、镜检,要求检测结果不应有任何隐孢子虫卵囊和贾第鞭毛虫孢囊的检出。

10.1.1.10.1.3 阳性对照:取 10 μL 免疫荧光试剂盒中阳性抗体滴于膜上直接染色,在显微镜下观察,荧光镜检时,保证至少 50%孢囊或卵囊外形完好,未受损伤,孢囊或卵囊的形态符合其特征。

10.1.1.10.2 全程质量控制

10.1.1.10.2.1 全程质量控制是对从采样到镜检的全过程进行质量控制,由阴性对照和阳性对照两个试验组成。样品分析时,每批水样检测前应进行一次。

10.1.1.10.2.2 阴性对照:采用 10 L 纯水作为空白,进行过滤浓缩、分离纯化和染色后做镜检分析,若未检出任何卵囊及孢囊,表明实验中未带进污染,可以进行后续操作。

10.1.1.10.2.3 阳性对照:在 10 L 纯水样品中加标 100~500 个隐孢子虫卵囊和 100~500 个贾第鞭毛虫孢囊,依次进行浓缩、分离纯化、染色、镜检计数,计算其回收率。阳性对照每批水样检测之前应进行一次。7 个实验室阳性对照隐孢子虫的回收率为 31%~44%,贾第鞭毛虫的回收率为 23%~54%。

10.1.2 滤囊浓缩/密度梯度分离荧光抗体法

10.1.2.1 适用范围

本方法规定了用滤囊浓缩/密度梯度分离荧光抗体法测定城镇供水及其水源水中的贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊。

本方法适用于城镇供水及其水源水中贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊的测定。

10.1.2.2 原理

采用 Filti-Max Xpress 快速方法,对大体积量水样进行富集并快速洗脱,通过滤囊浓缩/密度梯度离心对贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊进行分离纯化,再采用免疫荧光抗体染色法进行染色和镜检计数。

10.1.2.3 试剂和材料

10.1.2.3.1 吐温 80(Tween 80)。

10.1.2.3.2 吐温 20(Tween 20)。

10.1.2.3.3 次氯酸钠溶液($\rho=50\text{ g/L}$)。

10.1.2.3.4 盐酸溶液($c=0.1\text{ mol/L}$):吸取 8.4 mL 盐酸,用纯水稀释至 1 000 mL。

10.1.2.3.5 氢氧化钠溶液($c=0.1\text{ mol/L}$):称取 4.0 g 氢氧化钠,用纯水溶解,稀释至 1 000 mL。

10.1.2.3.6 DABCO-甘油:称取 12.6 g 甘油,加热至 60 $^{\circ}\text{C}$ ~70 $^{\circ}\text{C}$,再加入 0.2 g 分析纯 1,4-二偶氮双环(2,2,2)辛烷(DABCO),]搅拌溶解。室温条件下可保存 12 个月。

10.1.2.3.7 牛血清蛋白(BSA)溶液($\rho=1\text{ g/L}$):称取 0.1 g 牛血清白蛋白(BSA),溶于 100 mL 纯水中,用 0.45 μm 滤膜过滤。

10.1.2.3.8 PBS 缓冲液:称取 8.0 g 氯化钠、2.9 g 磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)、0.2 g 氯化钾和 0.2 g 磷酸氢二钾(KH_2PO_4),用纯水溶解并稀释至 1 000 mL。用盐酸溶液(10.1.2.3.4)或氢氧化钠溶

液(10.1.2.3.5)调节 pH 值至 7.2~7.4。于 4 ℃ 保存,保存期 7 d。

10.1.2.3.9 PBST 缓冲液:将 0.01 mL 吐温 80 加入到 100 mL 的 PBS 缓冲液(10.1.2.3.8)中,混匀。室温条件下可保存 30 d。

10.1.2.3.10 免疫荧光试剂:抗贾第鞭毛虫/隐孢子虫单克隆荧光抗体-异硫氰荧光素染色试剂盒,于 4 ℃ 保存。

10.1.2.3.11 贾第鞭毛虫/隐孢子虫标样:每毫升标准溶液中含 100 个贾第鞭毛虫孢囊和 100 个隐孢子虫卵囊。

10.1.2.3.12 甲醇:色谱纯。

10.1.2.3.13 DAPI 储备液:称取 2 mg 的 4,6-二氨基-2-苯基吡啶(DAPI),溶于 1 mL 甲醇中。于 4 ℃ 避光保存,保存期 15 d。

10.1.2.3.14 DAPI 染色溶液:准确移取 50 μ L DAPI 储备液(10.1.2.3.13),加入 50 mL PBS 缓冲液(10.1.2.3.8)中,混匀。于 4 ℃ 避光保存。临用时配制。

10.1.2.3.15 乙酸乙酯。

10.1.2.3.16 甲醛溶液($w=10\%$):取 25 mL 的甲醛溶液($w=40\%$),加入到 75 mL 的纯水中。

10.1.2.4 仪器

10.1.2.4.1 采样器材:快速淘洗滤器及配套快速连接装置;快速淘洗滤芯和蠕动泵,流量达到 0.3 L/min~2.0 L/min。

10.1.2.4.2 采样桶:材质为塑料;规格为 10 L,20 L。

10.1.2.4.3 快速淘洗器。

10.1.2.4.4 离心机:容量为 15 mL 和 500 mL;离心力能够达到 2 500g。

10.1.2.4.5 空气压缩机:至少 0.4 MPa 以上压力;15 L 压缩空气。

10.1.2.4.6 玻璃吸管或巴斯德吸管。

10.1.2.4.7 锥形离心管:15 mL,500 mL。

10.1.2.4.8 pH 计。

10.1.2.4.9 涡旋振荡器。

10.1.2.4.10 磁力搅拌器。

10.1.2.4.11 真空抽滤装置:材质为玻璃。

10.1.2.4.12 真空泵。

10.1.2.4.13 载玻片。

10.1.2.4.14 盖玻片。

10.1.2.4.15 血球计数器。

10.1.2.4.16 恒温培养箱:37 ℃。

10.1.2.4.17 荧光显微镜:450 nm~480 nm 蓝色滤光片,330 nm~385 nm 紫外滤光片;20 倍,40 倍,100 倍物镜。

10.1.2.4.18 滤膜:材质为聚四氟乙烯(PTFE),孔径为 1 μ m 和 3 μ m,直径为 25 mm。

10.1.2.5 样品

10.1.2.5.1 水样采集时将一次性使用的滤芯装入过滤器中,将过滤器与取样连接装置连接好。调节蠕动泵流速约为 2 L/min,在约 20 ℃ 条件下过滤水样。

根据水样类型不同,采集不同体积的水样。水源水宜采集 20 L,城镇供水宜采集 100 L。

10.1.2.5.2 样品于 0 ℃~4 ℃ 冷藏保存,应在 72 h 内对样品进行浓缩富集。

10.1.2.6 分析步骤

10.1.2.6.1 淘洗:将滤器安装于快速淘洗器上,装好淘洗感应器。把 500 mL 锥形底离心管放在收集支架上,开始自动淘洗。淘洗结束后,将离心管从快速淘洗器上取下,关闭空气压缩机和快速淘洗器。

10.1.2.6.2 浓缩:将装有水样富集淘洗液的 500 mL 离心管置于离心机上,在 2 000g 条件下离心 15 min。应缓慢减速,以免搅动沉淀物。不应使用制动器! 离心结束后,留下 10 mL 沉淀物,小心弃去上清液。

10.1.2.6.3 分离包括下列步骤:

- a) 将离心后的沉淀物置于涡旋振荡器上,充分涡旋振荡,混匀,平均分装于 2 个 15 mL 锥形离心管中。
- b) 用 1 mL PBST 缓冲液(10.1.2.3.9)清洗 500 mL 离心管,重复 4 次,将洗涤液平均分装于上述 2 个 15 mL 锥形离心管中。
- c) 分别向 15 mL 锥形离心管中加入 5 mL 乙酸乙酯(10.1.2.3.15)和 1 mL 甲醛溶液(10.1.2.3.16),充分摇匀。
- d) 将 15 mL 锥形离心管置于离心机上,在 20 °C 和 1 050g 条件下离心 10 min。小心弃去离心管中的上清液,保留沉淀物以备用。

10.1.2.6.4 染色包括下列步骤:

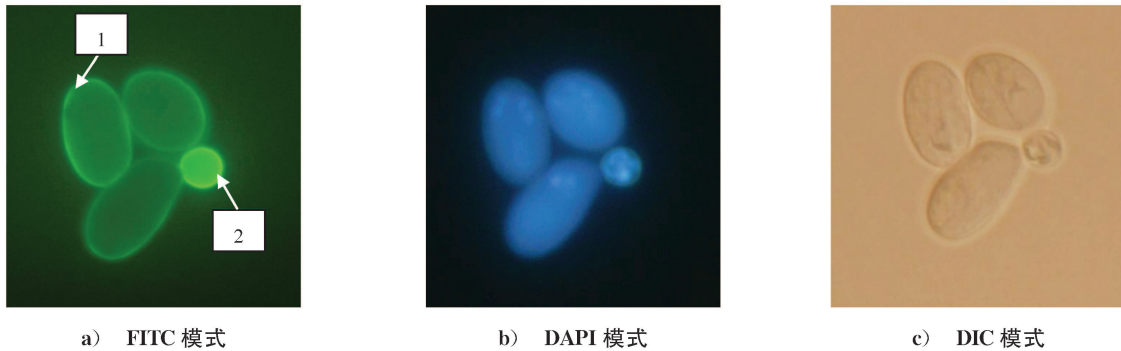
- a) 将一张滤膜(10.1.2.4.18)放在不锈钢过滤支架上,装好抽滤筒,打开真空泵。当水样较洁净时,选用孔径为 1 μm 的 PTFE 膜过滤染色;当水样浊度较大时,选用孔径为 3 μm 的 PTFE 膜过滤染色。
- b) 滴加 3 mL PBS 缓冲液(10.1.2.3.8)至滤膜上,抽吸 PBS 缓冲液(10.1.2.3.8)。每次抽吸时应在滤膜上保留一薄层液面,以防止滤膜破损。
- c) 把 15 mL 锥形离心管中的沉淀物(10.1.2.6.3.4)小心倾倒或滴于滤膜上,抽滤。
- d) 用 10 mL PBST 缓冲液(10.1.2.3.9)分 2 次清洗锥形离心管,清洗液倒入滤筒中抽滤。
- e) 再用 10 mL PBST 缓冲液(10.1.2.3.9)清洗滤筒壁,清洗液倒入滤筒中,抽吸清洗液,关闭抽滤阀。
- f) 取 0.50 mL BSA(10.1.2.3.7)滴加于滤膜正上方,保持 2 min。2 min 后抽吸 BSA(10.1.2.3.7),抽吸时滤膜不应干燥。
- g) 将微孔滤膜移至载玻片上,滴加 50 μL 荧光免疫试剂(10.1.2.3.10)于样品上,避光 30 min。再加入 50 μL DAPI 染色溶液(10.1.2.3.14)于滤膜正上方,避光静置 10 min。
- h) 将滤膜移至抽滤支架上,抽吸荧光染色液和 DAPI 染色溶液。
- i) 用 3 mL PBST 缓冲液(10.1.2.3.9)淋洗滤膜,抽吸 PBST 缓冲液。
- j) 于载玻片上滴 1 滴 DABCO-甘油(10.1.2.3.6),将滤膜平移至载玻片上。在滤膜上滴一滴 DABCOk)甘油(10.1.2.3.6),盖上盖玻片,盖玻片内不应有气泡。

10.1.2.6.5 镜检计数:打开荧光显微镜和汞灯,预热 15 min。先在 400 倍 FITC 模式下观察发现目标物,再转换至 DAPI 模式下观察。当 FITC 与 DAPI 染色特征均符合染色特征时,在 1 000 倍 DIC 模式下观察内部结构进一步证实,对全膜计数。

贾第鞭毛虫孢囊呈椭圆形,直径 8 μm~14 μm,宽 7 μm~10 μm,在荧光显微镜 FITC 模式下孢囊壁发出苹果绿色荧光,在 DAPI 模式下,卵囊内出现 1~4 个蓝色细胞核,在 1 000 倍 DIC 模式下能看到浮雕状的孢囊内部结构。

隐孢子虫卵囊呈圆形或椭圆形,直径 2 μm~6 μm,在荧光显微镜 FITC 模式下卵囊壁发出苹果绿色荧光,在 DAPI 模式下,卵囊内出现 1~4 个蓝色细胞核,在 1 000 倍 DIC 模式下能看到浮雕状的卵囊内部结构。

三种模式下贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊显微照片,见图 44。



说明:
1——贾第鞭毛虫孢囊;
2——隐孢子虫卵囊。

图 44 三种模式下贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊显微照片

10.1.2.7 结果计算

10.1.2.7.1 每升样品中的孢(卵)囊数

每升水样中孢囊或卵囊数目的计算见式(52):

$$Y = \frac{X \times V}{V_1 \times V_2} \dots\dots\dots (52)$$

式中:

- Y ——每升水样中孢囊或卵囊数目;
- X ——显微镜计数所得的孢囊或卵囊数目;
- V ——离心浓缩后再悬浮的体积,单位为毫升(mL);
- V₁ ——计数样本的体积,单位为毫升(mL);
- V₂ ——过滤后水样的体积,单位为升(L)。

10.1.2.7.2 相对标准偏差的计算

水样中孢囊或卵囊数目计算的相对标准偏差计算见式(53):

$$RSD = \frac{N \times \sqrt{(X_i - \bar{X})^2 / (N - 1)}}{\sum X_i} \dots\dots\dots (53)$$

式中:

- RSD ——水样中孢囊或卵囊数目计算的相对标准偏差;
- \bar{X} ——水样加标回收“两虫”数目的平均值;
- X_i ——水样加标回收“两虫”的数目;
- N ——测定次数。

10.1.2.8 质量控制

10.1.2.8.1 免疫荧光质量控制

10.1.2.8.1.1 免疫荧光质量控制是对免疫荧光试剂盒的质量控制,每批样品应进行一次。它由阴性对照和阳性对照两个试验组成。

10.1.2.8.1.2 阴性对照:将一张孔径为 1 μm 的滤膜(10.1.2.4.18)小心平放在载玻片(10.1.2.4.13)上。在滤膜上加 50 μL 纯水。对该滤膜进行免疫荧光染色,对整个滤膜面进行镜检计数,不应检出贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊。

10.1.2.8.1.3 阳性对照:将一张孔径为 1 μm 的滤膜(10.1.2.4.18)小心平放在载玻片(10.1.2.4.13)上。将储存的原虫置于涡旋器上振荡 2 min。在滤膜中小心加入 20 μL 贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊的阳性样本。对滤膜进行免疫荧光染色,镜检,应找到至少 50%符合形态特征且染色效果规则均匀的孢囊和卵囊。

10.1.2.8.2 全程质量控制

10.1.2.8.2.1 全程质量控制是对从采样到镜检的全过程进行质量控制,每三个月应进行一次。它由阴性对照和阳性对照两个试验组成。

10.1.2.8.2.2 阴性对照:加入 20 L 纯水到洁净的样品瓶中。通过样品富集,洗脱,离心,甲醛-乙酸乙酯离心纯化,免疫荧光染色,镜检计数等分析步骤,镜检时不应在 PTFE 膜上检出隐孢子虫卵囊和贾第鞭毛虫孢囊。

10.1.2.8.2.3 阳性对照:为了做阳性对照,应在 20 L 纯水中加入已知数量的贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊。用血球计数器和用染色的载玻片,测定 20 L 纯水中加入的贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊。

阳性对照先对原虫接种液计数,再对纯水加标样进行分析。

原虫接种液计数方法:慢速涡旋两虫储备液 2 min。在一个装有 10 mL 纯水的烧杯中加入一定量的贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊,使贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊最终浓度均约为每毫升 5×10^3 个。用磁力搅拌器搅拌该孢囊和卵囊溶液 30 min。在滤膜(10.1.2.4.18)上均匀加入适量(约含 250 个孢囊和卵囊)该溶液,经免疫荧光染色,用血球计数器测定该溶液的孢囊和卵囊浓度。重复 5 次。计算 5 次镜检结果的相对标准偏差。若相对标准偏差小于等于 25%,则认为该浓度正确且可用。若相对标准偏差大于 25%,则应制备新的标准溶液且依上述方法重新测定孢囊和卵囊浓度。

阳性对照分析方法:在装有 20 L 纯水的样品瓶中加入 100~500 个贾第鞭毛虫孢囊和隐孢子虫卵囊,充分混匀。用淘洗滤芯富集样品,富集完毕后,再用 6 L 纯水分 3 次冲洗同一样品瓶,将洗脱的纯水富集于同一滤芯中。隐孢子虫卵囊的回收率应为 24%~100%,相对标准偏差应小于等于 55%;贾第鞭毛虫孢囊的回收率范围应为 24%~100%,相对标准偏差应小于等于 49%。不在此范围的,应检查所有设备和试剂,并检查各实验步骤是否有误。

10.1.2.9 精密度和准确度

10.1.2.9.1 精密度:4 个实验室分别向 10 L 纯水,20 L 水源水和出厂水样品中加入 100 个贾第鞭毛虫和 100 个隐孢子虫,其相对标准偏差见表 91。

表 91 隐孢子虫和贾第鞭毛虫测定结果的精密度

目标物	加标卵(孢)囊/个	相对标准偏差/%		
		纯水	水源水	出厂水
隐孢子虫	100	11~21	2.6~19	6.7~21
贾第鞭毛虫	100	8.2~21	15~30	15~28

10.1.2.9.2 准确度:4 个实验室分别向 10 L 纯水,20 L 水源水和出厂水样品中加入 100 个贾第鞭毛虫和 100 个隐孢子虫,其回收率见表 92。

表 92 隐孢子虫和贾第鞭毛虫测定结果的准确度

目标物	加标卵(孢)囊/个	回收率/%		
		纯水	水源水	出厂水
隐孢子虫	100	27~32	18~23	17~23
贾第鞭毛虫	100	27~33	16~23	19~30

10.2 隐孢子虫

10.2.1 滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法

按 10.1.1 的要求。

10.2.2 滤囊浓缩/密度梯度分离荧光抗体法

按 10.1.2 的要求。

10.3 粪性链球菌

10.3.1 发酵法

10.3.1.1 适用范围

本方法规定了用发酵法测定城镇供水及其水源水中的粪性链球菌。

本方法适用于城镇供水及其水源水中粪性链球菌的测定。

10.3.1.2 原理

将水样接种于含叠氮化钠的葡萄糖液态培养基中,叠氮化钠可抑制一般革兰氏阴性细菌的生长,能在此种培养液中生长的菌体可认为是粪性链球菌推测试验阳性。取推测试验为阳性的培养液移至 Pfrizer 培养基上做确信试验,能在 Pfrizer 培养基上有棕色晕轮的棕黑色菌落生成,则表示粪性链球菌的证实试验为阳性。

10.3.1.3 试剂和材料

10.3.1.3.1 叠氮化物葡萄糖液态培养基:分别称取 4.5 g 牛肉膏、15 g 胰胨或聚胨、0.2 g 叠氮化钠、7.5 g 葡萄糖和 7.5 g 氯化钠于烧杯中,加入约 900 mL 蒸馏水,加热溶解,用蒸馏水稀释至 1 000 mL,调节 pH 值使其灭菌后为 7.2 ± 0.1 ,分装于试管内,用高压灭菌器在 121°C 灭菌 15 min。

上述各组分取 2 倍量为双倍强度培养基。

10.3.1.3.2 Pfrizer 选择性肠球菌琼脂培养基:分别称取 20.0 g 蛋白胨、5.0 g 酵母膏、10.0 g 3 号胆盐、5.0 g 氯化钠、1.0 g 柠檬酸钠、1.0 g 七叶苷、0.5 g 柠檬酸铁铵、25.0 g 叠氮化钠和 15.0 g 琼脂,加入约 900 mL 蒸馏水,加热溶解,用蒸馏水稀释至 1 000 mL,调节 pH 值使其灭菌后为 7.2 ± 0.1 ,分装于试管内, 121°C 灭菌 15 min。

10.3.1.4 仪器

10.3.1.4.1 高压蒸气灭菌器。

10.3.1.4.2 恒温培养箱。

10.3.1.4.3 冰箱。

10.3.1.4.4 试管:18 mm×180 mm。

10.3.1.4.5 刻度吸管:1 mL,10 mL。

10.3.1.4.6 酒精灯。

10.3.1.4.7 量筒。

10.3.1.4.8 培养皿。

10.3.1.5 分析步骤

10.3.1.5.1 推测试验

10.3.1.5.1.1 接种不同量的被检水样于一组叠氮化物葡萄糖液态培养基(10.3.1.3.1)中;接种 1 mL 或更少的水样于单倍强度的液态培养基 10 mL 中,接种 10 mL 的水样于双倍浓度的液态培养基 10 mL 中,接种量的多少与数目应依水样的特性而有所变化,接种量宜为 1 mL 的十进倍数。

10.3.1.5.1.2 接种过的试管应在 35 °C±0.5 °C 的恒温培养箱内培养 24 h±2 h 后检查每一支试管是否有浑浊,如果浑浊不明显,应继续培养到 48 h±3 h 后进行检查。

10.3.1.5.2 确信试验

10.3.1.5.2.1 经过 24 h 或 48 h 培养而显示浑浊的所有的叠氮化物葡萄糖液态培养基试管应进一步做确信试验。

10.3.1.5.2.2 从推测试验为阳性的试管内取一些培养液,划线转移到培养皿中,其内盛有 pfrizer 选择性肠球菌琼脂培养基(10.3.1.3.2),培养皿在 35 °C±0.5 °C 倒置培养 24 h±2 h,具有棕色晕轮的棕黑色菌落生成则显示粪性链球菌存在。

10.3.1.6 最大可能数(MPN 值)的计算及记录

根据确信试验的阳性管数查最可能数(MPN)表(见表 93),即可得 100 mL 水样中的粪链球菌的最可能数。

对表中未被列入的组合,以及当试管数和稀释情况不同时,可用式(54)计算:

$$MPN/100 \text{ mL} = \frac{\text{阳性试管数} \times 100}{\sqrt{\text{阳性试管中的水样毫升数} \times \text{全部试管中的水样毫升数}}} \dots\dots(54)$$

表 93 最可能数(MPN)表

出现阳性份数			每 100 mL 水样中 细菌的最可能数	95%可信限值	
10 mL 管	1 mL 管	0.1 mL 管		下限	上限
0	0	0	<2		
0	0	1	2	<0.5	7
0	1	0	2	<0.5	7
0	2	0	4	<0.5	11
1	0	0	2	<0.5	7
1	0	1	4	<0.5	11
1	1	0	4	<0.5	11
1	1	1	6	<0.5	15
1	2	0	6	<0.5	15

表 93 (续)

出现阳性份数			每 100 mL 水样中 细菌的最可能数	95%可信限值	
10 mL 管	1 mL 管	0.1 mL 管		下限	上限
2	0	0	5	<0.5	13
2	0	1	7	1	17
2	1	0	7	1	17
2	1	1	9	2	21
2	2	0	9	2	21
2	3	0	12	3	28
3	0	0	8	1	19
3	0	1	11	2	25
3	1	0	11	2	25
3	1	1	14	4	34
3	2	0	14	4	34
3	2	1	17	5	46
3	3	0	17	5	46
4	0	0	13	3	31
4	0	1	17	5	46
4	1	0	17	5	46
4	1	1	21	7	63
4	1	2	26	9	78
4	2	0	22	7	67
4	2	1	26	9	78
4	3	0	27	9	80
4	3	1	33	11	93
4	4	0	34	12	93
5	0	0	23	7	70
5	0	1	34	11	89
5	0	2	43	15	110
5	1	0	33	11	93
5	1	1	46	16	120
5	1	2	63	21	150
5	2	0	49	17	130
5	2	1	70	23	170
5	2	2	94	23	220
5	3	0	79	25	190

表 93 (续)

出现阳性份数			每 100 mL 水样中 细菌的最可能数	95%可信限值	
10 mL 管	1 mL 管	0.1 mL 管		下限	上限
5	3	1	110	31	250
5	3	2	140	37	310
5	3	3	180	44	500
5	4	0	130	35	300
5	4	1	170	43	190
5	4	2	220	57	700
5	4	3	280	90	850
5	4	4	350	120	1 000
5	5	0	240	68	750
5	5	1	350	120	1 000
5	5	2	540	180	1 400
5	5	3	920	300	3 200
5	5	4	1 600	640	5 800
5	5	5	≥2 400		

注：上表为接 5 份 10 mL 水样、5 份 1 mL 水样、5 份 0.1 mL 水样时，不同阳性及阴性情况下 100 mL 水样中细菌数的最可能数和 95%可信限值。

10.3.2 滤膜法

10.3.2.1 适用范围

本方法规定了用滤膜法测定城镇供水及其水源水中的粪性链球菌。

本标准适用于城镇供水及其水源水中粪性链球菌的测定。

10.3.2.2 方法

将水样用孔径小于 0.45 μm 的滤膜过滤，并将滤膜移至 KF 链球菌琼脂培养基上，于 35 °C ± 0.5 °C 恒温箱中培养 48 h，如果有红色或粉红色菌落生长，应将菌落接种于脑-心浸萃琼脂培养基上做进一步的确信试验，如过氧化氢酶反应为阴性并能在 45 °C 脑-心萃琼脂培养基上生成菌落，则证实粪性链球菌的存在，其检测结果为阳性。如过氧化氢酶反应为阳性，则证实粪链球菌为阴性，即无粪链球菌存在。

10.3.2.3 试剂和材料

10.3.2.3.1 KF 链球菌琼脂培养基：分别称取 10.0 g 3 号胰胨或聚胨、20.0 g 麦芽糖、1.0 g 乳糖、10.0 g 酵母浸膏、5.0 g 氯化钠、0.4 g 叠氮化钠、10.0 g 甘油磷酸钠和 20.0 g 琼脂于烧杯中，加入 1 000 mL 蒸馏水，置于沸水浴内加热，以溶解其中的琼脂，待完全溶解后再加热 5 min，然后冷却，温度降到 50 °C 或 60 °C 时，于 100 mL 培养基内再加 1 mL 的 1% 无菌的氯化三苯基四氮唑溶液（用 0.22 μm 滤膜过滤除菌，用 10% 的 Na₂CO₃ 溶液将 pH 值调到 7.2）。培养基于 45 °C ~ 50 °C 保存，到灌入平皿之前不可超过 4 h，有培养基的平皿应在 2 °C ~ 10 °C 保存。保存期为 30 d。

10.3.2.3.2 脑-心浸萃液态培养基:分别称取 200 g 幼牛脑的浸萃、2.0 g 葡萄糖、250 g 牛心的浸萃、5.0 g 氯化钠、10.0 g 胰胨和 2.5 g 磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)于烧杯中,加入 1 000 mL 蒸馏水,加热溶解,调节 pH 值使其灭菌后为 7.4。

10.3.2.3.3 脑-心浸萃琼脂培养基:配制本培养基时,除了与脑-心浸萃液态培养基(10.3.2.3.2)相同的成分外,再加入 15.0 g 的琼脂,灭菌后的 pH 值应为 7.4,分装到试管中做成斜面培养基。

10.3.2.4 仪器

10.3.2.4.1 抽滤设备。

10.3.2.4.2 显微镜:10 倍~15 倍。

10.3.2.4.3 滤器。

10.3.2.4.4 无齿镊子。

10.3.2.4.5 滤膜:孔径 0.45 μm 和 0.22 μm ,直径根据滤器规格而定,常用的有 3.5 cm 和 4.7 cm 两种。

10.3.2.4.6 其他仪器同多管发酵法。

10.3.2.5 测定步骤

10.3.2.5.1 推测试验

10.3.2.5.1.1 水样过滤:根据水质情况决定过滤水样量,水样量以滤过一张无菌滤膜后能产生 20 到 100 个菌落为宜。滤膜经过滤后应直接转移到培养基上,滤膜和培养基之间不应夹留空气泡。

10.3.2.5.1.2 培养:将培养皿倒置,在 $35\text{ }^\circ\text{C}\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$ 培养 48 h。

10.3.2.5.1.3 计数:粪性链球菌菌落在滤膜上呈现大小不等的红色或粉红色菌落,可用一台低倍(10~15 倍)的双筒、广野的解剖显微镜或其他功效相同的光学器械,计数每 100 mL 水样中的粪性链球菌落数。

10.3.2.5.2 确信试验

10.3.2.5.2.1 从滤膜上挑取典型的菌落,接种到脑-心浸萃琼脂培养基斜面上,在 $35\text{ }^\circ\text{C}\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$ 培养 24 h~48 h。如果有菌落生长,则继续 10.3.2.5.2.2 和 10.3.2.5.2.3 的步骤。

10.3.2.5.2.2 以接种环从脑-心浸萃琼脂培养基斜面上挑取一典型菌落到一片清洁的载玻片上,加几滴新鲜的 3% 过氧化氢到载玻片的涂抹菌液上,如果没有气泡发生,就显示过氧化氢酶反应为阴性,则菌落可视为粪性链球菌,则继续如下的确信过程。如果有气泡发生,则过氧化氢酶反应为阳性,因此菌落不属于粪性链球菌,确信试验到此即可停止。

10.3.2.5.2.3 以接种环从脑-心浸萃琼脂培养基上转移一典型菌落到脑-心浸萃液态培养基内,在 $45\text{ }^\circ\text{C}$ 培养 48 h。此外,同时转移一典型菌落培养到胆汁液态培养基中,在 $35\text{ }^\circ\text{C}$ 培养 3 d。胆汁液态培养基由 40 mL 无菌的 10% 牛胆液加入 60 mL 无菌的脑-心浸萃液态培养基中配成。

10.3.2.5.2.4 转移到上述培养基后,同时做一空白对照,便于观察培养基是否浑浊,若培养基变浑浊,则表明菌落能得到繁殖,结果为阳性,证实存在粪性链球菌。

10.3.2.6 结果计数

水样中经证实的粪性链球菌菌落数的计算见式(63):

$$\text{CFU}/100\text{ mL} = \frac{N}{V} \times 100 \quad \dots\dots\dots(55)$$

式中:

CFU —— 水样的粪性链球菌菌落数;

N ——水样中数出经证实的粪性链球菌菌落数；

V ——过滤的水样体积，单位为毫升(mL)。

10.4 亚硫酸盐还原厌氧菌(梭状芽胞杆菌)孢子

10.4.1 液体培养基增菌法

10.4.1.1 适用范围

本方法规定了用液体培养基增菌法测定城镇供水及水源水中亚硫酸盐还原厌氧细菌孢子。

本方法适用于城镇供水及水源水中亚硫酸盐还原厌氧菌孢子的测定。

10.4.1.2 原理

取一定体积的水样。首先用加热法选择水样中的孢子，加热时间应足以杀死营养型细菌。将水样接种于培养液中，然后于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 厌氧培养 $44\text{ h}\pm 4\text{ h}$ 。由于亚硫酸盐还原厌氧菌能把培养液中的亚硫酸盐还原为硫化铁(II)是黑色沉淀，则培养液变黑为阳性。

10.4.1.3 试剂和材料

10.4.1.3.1 单一强度基本培养基。其配制方法包括下列步骤：

- a) 将 10 g 蛋白胨、10 g 牛肉膏、5 g 乙酸钠(含水)和 1.5 g 酵母浸膏混合于 800 mL 蒸馏水中。
- b) 用 200 mL 蒸馏水制备淀粉溶液：称取 1 g 淀粉，先用少量的蒸馏水调成浆糊状；再将剩余的蒸馏水加热至沸，在搅拌中慢慢倒入浆糊状淀粉中。将此淀粉液与上述混合液(10.4.1.3.1a)混合，加热至沸，使全部溶解。
- c) 再加入 1 g 葡萄糖和 0.5 g L-半胱氨酸盐酸盐，使其溶解。
- d) 用氢氧化钠溶液($c=1\text{ mol/L}$)调节 pH 值至 7.1~7.2，分装 10 mL 培养基溶液到 25 mL 带盖螺口玻璃瓶中，冷却后，拧紧瓶盖。
- e) $121\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 15 min。

10.4.1.3.2 双强度基本培养基：制备双强度基本培养基的过程与单一强度的基本培养基相同，但水的体积要减少一半。将 10 mL 或 50 mL 双强度培养基溶液分别加在 25 mL 或 100 mL 螺口瓶中， $121\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压下灭菌 15 min。

10.4.1.3.3 亚硫酸钠溶液：将 4 g 无水亚硫酸钠(Na_2SO_3)溶于 100 mL 水中，用 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤除菌。保存温度 $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。保存期为 14 d。

10.4.1.3.4 柠檬酸铁溶液：将 7 g 柠檬酸铁($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$)溶于 100 mL 水中，用 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤除菌。保存温度 $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，保存期为 14 d。

10.4.1.3.5 完全培养基。其配制方法包括下列步骤：

- a) 将等体积的亚硫酸钠溶液(10.4.1.3.3)和柠檬酸铁溶液(10.4.1.3.4)混合。
- b) 在每瓶单一强度培养基中各加入 0.5 mL 的混合溶液(10.4.1.3.5a)，此培养基应重新在沸水浴上加热 15 min 并冷却。
- c) 在每瓶 10 mL 的双强度培养基中各加入 0.4 mL 的混合溶液(10.4.1.3.5a)，50 mL 的双强度培养基中各加入 2 mL 的混合溶液(10.4.1.3.5a)，此培养基应重新在沸水浴上加热 15 min 并冷却。

10.4.1.4 仪器

10.4.1.4.1 恒温培养箱：温度 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

10.4.1.4.2 细菌过滤器。

10.4.1.4.3 恒温水浴锅。

10.4.1.4.4 螺口带盖玻璃瓶:100 mL 和 25 mL。

10.4.1.4.5 移液管:100 mL、50 mL、10 mL 和 1 mL。

10.4.1.4.6 试管:150 mm×13 mm。

10.4.1.4.7 接种环。

10.4.1.5 分析步骤

10.4.1.5.1 孢子的选择:水样在试验前应放置于 $75\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中,加热 15 min,用同样带盖螺口瓶子作空白,检查加热温度。

10.4.1.5.2 接种与培养包括下列分析步骤:

- a) 将 50 mL 水样置于含 50 mL 双强度完全培养基(10.4.1.3.5 c)的 100 mL 螺口瓶中。
- b) 向 5 个含有 10 mL 双强度完全培养基(10.4.1.3.5 c)的 25 mL 螺口瓶中,加入 10 mL 水样。
- c) 向 5 个含有 10 mL 单一强度完全培养基(10.4.1.3.5 b)的 25 mL 螺口瓶中,加入 1 mL 水样。
- d) 如果有必要,可向 5 个含有 10 mL 单一强度完全培养基(10.4.1.3.5 b)的 25 mL 螺口瓶中分别加入 1 mL 稀释度为 1~10 倍的水样稀释液。
- e) 为定性检验 100 mL 水样而无需进行最可能数(MPN)计算时,可向含有 100 mL 双强度完全培养基(10.4.1.3.5 c)的 200 mL 螺口瓶中加入 100 mL 水样。
- f) 如有必要,可将单一强度完全培养基(10.4.1.3.5 b)加至瓶颈处,以保证瓶中残留极少量的空气。
- g) 拧紧瓶盖,将瓶密封,于无氧条件下培养。
- h) 在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $44\text{ h}\pm 4\text{ h}$ 。

由于培养中可产生气体,在密封的大体积玻璃容器中培养时可能发生爆炸,应选用较坚固的玻璃容器。在接种前,将烧红的铁丝置于瓶内培养基中密封,可有助于厌氧培养。

10.4.1.5.3 观察结果:瓶子内部变黑则表明亚硫酸盐还原厌氧菌孢子为阳性。

10.4.1.6 计数及报告结果

根据试验阳性的瓶数,查 MPN 表(见表 94 和表 95),即可得 100 mL 水样中的亚硫酸盐还原厌氧菌孢子数,乘 10 即为 1 000 mL 水样中的亚硫酸盐还原厌氧菌孢子数。

表 94 亚硫酸盐还原厌氧菌孢子最可能数(MPN)检数表

接种量/mL			MPN (每 100 mL)	接种量/mL			MPN (每 100 mL)
50	10	1		50	10	1	
0	0	0	<1	1	2	1	7
0	0	1	1	1	2	2	10
0	0	2	2	1	2	3	12
0	1	0	1	1	3	0	8
0	1	1	2	1	3	1	11
0	1	2	3	1	3	2	14
0	2	0	2	1	3	3	18
0	2	1	3	1	3	4	21
0	2	2	4	1	4	0	13
0	3	0	3	1	4	1	17
0	3	1	5	1	4	2	22
0	4	0	5	1	4	3	28
1	0	0	1	1	4	4	35
1	0	1	3	1	4	5	43
1	0	2	4	1	5	0	24
1	0	3	6	1	5	1	35
1	1	0	3	1	5	2	54
1	1	1	5	1	5	3	92
1	1	2	7	1	5	4	161
1	1	3	9	1	5	5	>180
1	2	0	5				

注：总接种量 105 mL,其中 1 份 50 mL 水样、5 份 10 mL 水样、5 份 1 mL 水样。

表 95 亚硫酸盐还原厌氧菌孢子最可能数(MPN)检数表

接种量/mL			MPN (每 100 mL)	接种量/mL			MPN (每 100 mL)
10	1	0.1		10	1	0.1	
0	0	0	<2	4	3	0	27
0	1	0	2	4	3	1	33
0	2	0	4	4	4	0	34
1	0	0	2	5	0	0	23
1	0	1	4	5	0	1	31
1	1	0	4	5	0	2	43
1	1	1	6	5	1	0	33
2	0	0	5	5	1	1	46
2	0	1	7	5	1	2	63
2	1	0	7	5	2	0	49
2	1	1	9	5	2	1	70
2	2	0	9	5	2	2	94
2	3	0	12	5	3	0	79
3	0	0	8	5	3	1	110
3	0	1	11	5	3	2	140
3	1	0	11	5	3	3	180
3	1	1	14	5	4	0	130
3	2	0	14	5	4	1	170
3	2	1	17	5	4	2	220
3	3	0	17	5	4	3	280
4	0	0	13	5	4	4	350
4	0	1	17	5	5	0	240
4	1	0	17	5	5	1	350
4	1	1	21	5	5	2	540
4	1	2	26	5	5	3	920
4	2	0	22	5	5	4	1 600
4	2	1	26	5	5	5	>1 800

注：总接种量 55.5 mL，其中 5 份 10 mL 水样、5 份 1 mL 水样、5 份 0.1 mL 水样。

10.4.2 滤膜法

10.4.2.1 适用范围

本方法规定了用滤膜法测定城镇供水及水源水中的亚硫酸盐还原厌氧细菌孢子。
本方法适用于城镇供水及水源水中亚硫酸盐还原厌氧菌孢子的测定。

10.4.2.2 原理

取一定体积的水样。首先用加热法选择水样中的孢子,加热时间应足以杀死营养型细菌。把水样通过滤膜过滤,使细菌孢子截留于膜上。将滤膜置于专用的选择性培养基(亚硫酸盐-铁-琼脂)上,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 厌氧培养 $20\text{ h}\pm 4\text{ h}$ 及 $44\text{ h}\pm 4\text{ h}$ 计数黑色菌落。

10.4.2.3 试剂和材料

10.4.2.3.1 基本培养基:亚硫酸盐-铁-琼脂培养基。分别称取 3 g 牛肉膏、 10 g 蛋白胨、 5 g 氯化钠和 15 g 琼脂,加入适量蒸馏水,在水浴中加热至溶解,用蒸馏水稀释至 1 L ,用 1 mol/L 的氢氧化钠溶液调pH值至 7.6 ± 0.1 ,然后每一试管中注入 18 mL 培养基, $121\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 20 min 。凝固后保存于冰箱中。

10.4.2.3.2 亚硫酸钠溶液:称取 10 g 无水亚硫酸钠(Na_2SO_3),溶于 100 mL 水中,用 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤灭菌。于 $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,保存期为 14 d 。

10.4.2.3.3 硫酸亚铁溶液:称取 8 g 硫酸亚铁晶体(FeSO_4),溶于 100 mL 水中,用 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤灭菌。于 $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,保存期为 14 d 。

10.4.2.3.4 完全培养基:亚硫酸盐-铁-琼脂培养基。使用前将基本培养基(10.4.2.3.1)融化。向试管中加入融化后的 18 mL 基本培养基(10.4.2.3.1),再注入 1 mL 亚硫酸钠溶液(10.4.2.3.2)和 5 滴硫酸亚铁溶液(10.4.2.3.3)。

10.4.2.3.5 替代培养基:胰蛋白胨-亚硫酸盐-琼脂培养基。分别称取 15 g 胰蛋白胨(Tryptose)、 5 g 大豆蛋白胨(Soytone)、 5 g 酵母浸膏、 1 g 焦亚硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$)、 1 g 柠檬酸铁铵和 15 g 琼脂于 1 L 烧杯中,加入约 900 mL 蒸馏水,在水浴中加热至溶解,再以蒸馏水稀释至 1 L ,在 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时用 1 mol/L 的氢氧化钠溶液调pH值至 7.6 ± 0.1 ,然后注入试管中,每管培养基 18 mL , $121\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 15 min 。于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,保存期为 14 d 。

10.4.2.4 仪器

10.4.2.4.1 培养箱:温度 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

10.4.2.4.2 抽滤设备。

10.4.2.4.3 水浴锅。

10.4.2.4.4 滤膜过滤器。

10.4.2.4.5 无齿镊子。

10.4.2.4.6 三角瓶: 2 L 。

10.4.2.4.7 试管: $160\text{ mm}\times 16\text{ mm}$ 。

10.4.2.4.8 移液管: 10 mL 。

10.4.2.4.9 烧杯: 1 L 。

10.4.2.4.10 培养皿。

10.4.2.4.11 滤膜:孔径 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 。

10.4.2.5 分析步骤

10.4.2.5.1 滤膜灭菌:将滤膜放入烧杯中,加入蒸馏水,置于沸水浴中煮沸灭菌 3 次,每次 15 min 。前两次煮沸后应更换水洗涤 2 次~ 3 次,以除去残留溶剂。

10.4.2.5.2 滤器灭菌:视滤器质地采用干热(酒精棉球火焰)或湿热灭菌。

10.4.2.5.3 孢子的选择:水样在试验前应放置于水浴锅中, $75\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加热 15 min 。用同样的水样瓶

作空白,用温度计检查加热温度。

10.4.2.5.4 接种与培养包括下列分析步骤:

- a) 水样的过滤量应适当:对于饮用水、泉水、井水、海水、地面水和梭状芽孢杆菌轻度污染的水,取 100 mL 过滤;对污染严重的水或废水,可用无菌水稀释后检测。
- b) 调配一定的稀释度,使在滤膜上生长的黑色菌落分离,而更易于计数。
- c) 水样过滤后,用无菌镊子将滤膜过滤面朝下,置于培养皿中,同时使滤膜下无气泡。小心地将 18 mL 约 50 °C 的完全培养基(10.4.2.3.4)或替代培养基(10.4.2.3.5)倾注于培养皿中的膜上。在形成培养基层后,于 37 °C ± 1 °C 厌氧培养 20 h ± 4 h 和 44 h ± 4 h。如果使用厌氧瓶或厌氧培养箱,滤膜可放置在琼脂面上,且滤膜面向上。

10.4.2.5.5 观察结果:培养 20 h ± 4 h 和 44 h ± 4 h 后,计数所有黑色菌落。

10.4.2.6 分析结果的表述

试验报告应说明所使用的方法,单位体积水样中亚硫酸盐还原厌氧菌培养 44 h ± 4 h 的孢子数;孢子数太多,黑色菌落连在一起而难以计数,可采用 20 h ± 4 h 培养时间的孢子大约数目。结果以 CFU/100 mL 计。

11 综合指标

11.1 城镇供水的致突变物

11.1.1 适用范围

采用鼠伤寒沙门氏菌/哺乳动物微粒体酶试验。本方法规定了用鼠伤寒沙门氏菌/哺乳动物微粒体酶试验测定城镇供水的致突变物。

本方法适用于城镇供水及其源水水质致突变物的测定。

本方法规定以 2 L 为接种的最高检测水样体积。

11.1.2 原理

人工诱变鼠伤寒沙门氏菌突变株(即组氨酸营养缺陷型),在无组氨酸的培养基上不能生长,如受到致突变物的作用,使其基因发生变化而回复突变为原来的野生型,即使在缺乏组氨酸的条件下也能生长,见图 45。致突变物包括直接致突变物和间接致突变物,间接致突变物需代谢活化后具有致突变性。

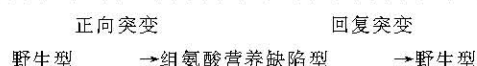


图 45 水中致突变物对鼠伤寒沙门氏菌的作用

11.1.3 试剂和材料

11.1.3.1 营养肉汤:分别称取 5 g 牛肉浸膏、10 g 蛋白胨、5 g 氯化钠,与 1 000 mL 蒸馏水混合后,加热溶解,用饱和 NaOH 溶液调节 pH 值至 7.2,分装于试管中,每管 10 mL。经 121 °C 高压湿热灭菌 20 min。于 4 °C 保存,供增菌使用,保存期为 7 d。

11.1.3.2 V-B 液:依次称取 10 g 柠檬酸(C₆H₈O₇ · H₂O)、65.5 g 磷酸氢二钾(K₂HPO₄ · 3H₂O)、17.5 g 磷酸氢铵钠(NaNH₄HPO₄ · 4H₂O)、1.0 g 硫酸镁(MgSO₄ · 7H₂O),分别在少量蒸馏水中溶解,稀释至 500 mL。硫酸镁溶液在最后缓慢加入以防止产生沉淀,经滤纸过滤后,于 4 °C 冷藏保存。

11.1.3.3 底层培养基:将 100 mL V-B 液(11.1.3.2)用饱和 NaOH 溶液调节 pH 值至 7.0。另将 20 g 葡

葡萄糖溶于100 mL蒸馏水中,若溶液变黄应弃去重配。两者于115 °C灭菌10 min。称取17 g琼脂于800 mL蒸馏水中煮沸溶化,121 °C灭菌20 min,凉至80 °C左右,将前两者倒入混匀。浇制平板,每皿25 mL。于4 °C冷藏保存,保存期为14 d。

11.1.3.4 0.5 mmol/L的L-组氨酸-0.5 mmol/L的D-生物素溶液:分别称取7.8 mg L-组氨酸(FW155.7)[或10.5 mg L-组氨酸盐酸盐(FW209.63)]和12.4 mg D-生物素,混匀溶解,于4 °C保存,保存期为14 d。

11.1.3.5 L-组氨酸溶液($c=0.1$ mol/L):称取1.56 g L-组氨酸(FW155.7)[或2.10 g L-组氨酸盐酸盐(FW209.63)],与100 mL蒸馏水混匀溶解,于4 °C冷藏保存。

11.1.3.6 营养琼脂:称取16 g琼脂于1 000 mL营养肉汤(11.1.3.1)中,加热煮沸,用饱和NaOH溶液调节pH值至7.2~7.4,121 °C高压灭菌20 min。于4 °C保存,保存期为14 d。

11.1.3.7 H⁻顶层培养基:分别称取0.6 g琼脂和0.5 g氯化钠,于100 mL蒸馏水中溶解,加热煮沸,以每支试管2.5 mL分装,加塞,121 °C高压灭菌20 min。于4 °C保存,保存期为14 d。

11.1.3.8 H⁺顶层培养基:将100 mL加热溶化了的H⁻顶层培养基加入10 mL L-组氨酸溶液(11.1.3.5)中,混匀,趁热以每支试管2.5 mL分装,加塞,121 °C高压灭菌20 min。于4 °C保存,保存期为14 d。

11.1.3.9 顶层培养基:将100 mL加热溶化了的H⁻顶层培养基(11.1.3.7)加入0.5 mol/L的L-组氨酸-0.5 mmol/L的D-生物素溶液(11.1.3.4)中,混匀,趁热以每支试管2.5 mL分装,加塞,121 °C高压灭菌20 min。于4 °C保存,保存期为14 d。

11.1.3.10 0.2 mol/L磷酸钠缓冲液(pH7.4):取81 mL 0.2 mol/L磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)和19 mL 0.2 mol/L磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)混合均匀。pH值小于7.4时,用0.2 mol/L磷酸氢二钠调节至7.4,115 °C高压灭菌10 min。于4 °C保存。

11.1.3.11 氨苄青霉素碱性溶液:称取80 mg氨苄青霉素,用10 mL 0.02 mol/L氢氧化钠溶液溶解。临用时无菌操作配制。

11.1.3.12 氨苄青霉素平板:在1 000 mL底层培养基中加入10 mL 0.5%的L-组氨酸盐酸盐溶液,或8.17 mL 0.5%的L-组氨酸溶液,6 mL 0.5 mmol/L D-生物素溶液,121 °C高压灭菌20 min后,加入1.9 mL氨苄青霉素碱性溶液,混匀浇制平板,供挑选菌种用。

11.1.3.13 结晶紫溶液(1 g/L):称取0.1 g结晶紫,溶于100 mL蒸馏水中。避光保存。

11.1.3.14 苦酮酸溶液(4.0 mg/mL)或敌克松溶液(0.5 mg/mL):称取400 mg苦酮酸或50 mg敌克松,于100 mL蒸馏水中溶解。本试剂TA 98(-S9或+S9)作阳性对照用。

11.1.3.15 环磷酰胺溶液(20 mg/mL):称取2 g环磷酰胺,于100 mL蒸馏水中溶解。本试剂TA 100(-S9或+S9)作阳性对照用。

11.1.3.16 S-9:使用体重200 g左右的健康雄性大鼠,用玉米油稀释的多氯联苯(或aroclor-1254,浓度为200 mg/mL,剂量为100 mg/kg)腹腔注射一次。诱导5 d后,断头处死大鼠,无菌取出肝脏,放入烧杯中称重。按每克肝脏加入0.15 mol/L KCl溶液3 mL,连同烧杯移入冰水中,用消毒剪刀剪碎肝脏,在玻璃匀浆器内制成肝匀浆,在高速冷冻离心机上以9000 g(速度12 000 r/min)10 min。吸出上清液即为S-9,分装小试管,每管2 mL,放-80 °C或-20 °C冰箱保存。应无菌操作,制备后,应用接种环挑出少许在营养琼脂板上涂布,37 °C、24 h培养检验应为无菌。用间接致癌物(黄曲霉素B或2-氨基苊)鉴定其生物活性,方可使用。

11.1.3.17 S-9混合液:称取0.27 g辅酶II(NADPH),用少量灭菌蒸馏水溶解,再依次加入32 mL S-9、2 mL MgCl₂溶液(0.4 mol/L)、2 mL KCl溶液(1.65 mol/L)和5 mL 6-磷酸葡萄糖溶液(1 mol/L),用灭菌蒸馏水稀释至100 mL。临用时无菌低温配制,于4 °C保存,其活性可保持4 h~5 h。配制S-9混合液所用各组分,除S-9外,均应配制后灭菌,于4 °C保存。

11.1.3.18 2-氨基苄溶液($\rho=2$ mg/L):准确称取 2 mg 2-氨基苄,用二甲基亚砜(DMSO)溶解,稀释至 1 000 mL。

11.1.3.19 丙酮:色谱纯。

11.1.3.20 乙醚:色谱纯。

11.1.3.21 甲醇:色谱纯。

11.1.4 仪器

11.1.4.1 高压蒸气灭菌器。

11.1.4.2 干热灭菌箱。

11.1.4.3 恒温箱。

11.1.4.4 普通冰箱。

11.1.4.5 高速冷冻离心机:12 000 r/min。

11.1.4.6 -80 °C低温冰箱或液氮罐。

11.1.4.7 超净工作台。

11.1.4.8 恒温水浴锅。

11.1.4.9 真空泵。

11.1.4.10 自动菌落计数器。

11.1.4.11 微量加液器或微量注射器:100 μ L~500 μ L。

11.1.4.12 试管、 $\phi 90$ 平皿、分度吸管:置于干热灭菌箱 160 °C,灭菌 8 h。

11.1.4.13 振荡培养箱。

11.1.5 试验菌种的选用、鉴定与保存

11.1.5.1 菌种的选用

鉴于 TA98,TA100 菌种特性变异小,不易丢失、且能分别测试移码型突变和碱基置换型突变,因此本试验宜采用 TA98,TA100 作为测试菌种。

11.1.5.2 菌种鉴定

11.1.5.2.1 增菌液的制备:将菌种接种于 10 mL 已灭菌的营养肉汤(11.1.3.1)中,37 °C 振荡培养 14 h~16 h 至每毫升活菌数不少于 $1 \times 10^9 \sim 2 \times 10^9$ 个。

11.1.5.2.2 组氨酸缺陷型鉴定:将各装有 2.5 mLH⁻ 顶层培养基(11.1.3.7)的 3 支试管中分别加入 0.1 mL 增菌液,分别倒入底层培养基平板,37 °C 培养 48 h。将各装有 2.5 mLH⁺ 顶层培养基(11.1.3.8)的 3 支试管中分别加入 0.1 mL 增菌液,分别倒入底层培养基平板,37 °C 培养 48 h。

结果判定:在有组氨酸的培养基上应成菌膜状,而在无组氨酸的培养基上,除自发回变菌落外无菌膜,说明受试菌株为组氨酸缺陷型。

11.1.5.2.3 深度粗糙突变(rfa)特性的鉴定——结晶紫抑菌试验:用接种环或无菌滤纸将 0.1 mL 增菌液涂布于营养琼脂平板上,将无菌滤纸片($\phi=6$ mm)放入营养琼脂平皿中央,用移液器在滤纸片上滴加 10 μ L 0.1%结晶紫水溶液(11.1.3.13),37 °C 培养 24 h。一式两份。

结果判定:具有深度粗糙变异的菌株在滤纸片处出现直径大于 1 mm 的抑菌环。

11.1.5.2.4 抗氨苄青霉素特性(R 因子)鉴定——抗氨苄青霉素试验:用接种环将增菌液在营养琼脂平板上划线,再用接种环蘸上氨苄青霉素碱性溶液与其交叉划线,37 °C 培养 18 h~24 h。

结果判定:无 R 因子的菌株在交叉处有抑菌带,有 R 因子者则无。

11.1.5.2.5 紫外线敏感特性的鉴定(Δ uvrB 突变)——紫外线损伤修复试验:用接种环将增菌液在营养琼脂平板上划线,平板的一半用黑纸遮盖,置紫外灯下(15 W,距离 33 cm)照射 8 s,37 °C 培养 24 h。

结果判定:切除修复系统缺损(Δ uvrB)的菌株受辐射后不生长,野生型则生长。

11.1.5.2.6 自发回变特性的鉴定:在无菌的 2.5 mL 顶层培养基(11.1.3.9)加入 0.1 mL 增菌液倒入底层培养基平板上,37 °C 培养 48 h,计数菌落数。一式三份。

结果判定:观察每皿自发回变数。TA98 应在 15~50 个/皿,TA100 应在 75~200 个/皿范围内。

11.1.5.2.7 回变特性-阳性对照:在无菌的 2.5 mL 顶层培养基中加入 1 mL 增菌液并加入 0.1 mL 阳性物后倒入底层培养基平板上,37 °C 培养 48 h。一式三份。

结果判定:出现大于 2 倍以上自发回变数密集菌落者为突变试验阳性。

11.1.5.3 菌种的保存

11.1.5.3.1 10 mL 增菌液中加入 1 mL 二甲基亚砷(DMSO),在 -60 °C ~ -80 °C 可保存 6 个月~12 个月。

11.1.5.3.2 营养琼脂斜面增菌保存,在 4 °C 可保存 3 个月。

11.1.6 分析步骤

11.1.6.1 水样浓缩液的制备

11.1.6.1.1 XAD-2 树脂的处理:应用重蒸馏水洗去市售 XAD-2 树脂所含氯化物,弃去浮于上层的树脂。用甲醇将水洗去。依次用丙酮、乙醚、甲醇各蒸馏回流 8 h。保存在甲醇中。

11.1.6.1.2 安装 XAD-2 树脂柱:将处理好的树脂倒入一支高 45 cm、直径 2.5 cm 的玻璃柱内,树脂体积 20 mL,在玻璃柱底部及树脂柱上部放入经丙酮、乙醚、甲醇蒸馏回流过的玻璃棉以支撑树脂并截留杂质。用 1 000 mL 蒸馏水冲洗树脂柱。

11.1.6.1.3 水样的采集、吸附及滤水量:清洁的容器采集水样后,静置高处数小时使水中悬浮物沉淀并使溶解氧稳定,经加氯消毒的水要先用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 脱氯。用虹吸法将 60 L 水样以流速为 40 mL/min 通过树脂柱。

11.1.6.1.4 有机物的洗脱、浓缩、保存:水样过柱吸附后用氮气吹干树脂柱。每次用 10 mL 丙酮或丙酮-甲醇混合液(3+7),以 3 mL/min 流速通过树脂柱,重复 3 次,收集洗脱液于三角烧瓶。用 5 g 无水硫酸钠过滤脱水后,倒入 K-D 浓缩器浓缩至 2 mL 左右。放入真空干燥器抽负压将溶剂蒸干,并保存在真空干燥器内。浓缩物应尽快使用,用时加 DMSO 定容至 3.0 mL,为原液,并稀释至原液的 1/2、1/4 浓度,则原液、1/2 原液浓度溶液、1/4 原液浓度溶液各 0.10 mL 分别相当于水样 2.0 L、1.0 L、0.5 L。

11.1.6.2 试验方法和步骤

11.1.6.2.1 试验方法:平板掺入法。

11.1.6.2.2 平板掺入法包括下列步骤:

- a) 增菌培养方法同菌种鉴定。
- b) 培养基制备:提前一天制备底层培养基平板若干个,放入 37 °C 温箱内培养过夜,去除水分并验证无菌。试验当天融化顶层培养基(11.1.3.9),45 °C 水浴保存。
- c) 接种培养:在每管顶层培养基中加入 0.1 mL 增菌液、0.1 mL 相当于一定水样体积的浓缩液,需活化时再加入 0.4 mL S-9 混合液(11.1.3.17),混匀后倒入底层培养基(11.1.3.3)上铺匀。37 °C \pm 1 °C 培养 48 h,接种 3 个水样体积,每个剂量的接种水样,做三个平行测定。

- d) 对照:自发回变和阳性对照做三个平行测定。自发回变每皿加 0.1 mL DMSO,阳性对照每皿加 0.1 mL 阳性对照物。

11.1.7 结果分析及评价

11.1.7.1 对待测物的每个剂量及阳性对照,应列出每皿的实际回变菌落数及平均数,其中三个平行样回变菌落数相对标准偏差应小于 30%。

11.1.7.2 在 1~2 个接种水样体积下,在背景菌苔生长良好的条件下,其回变菌落数是自发回变数的两倍及两倍以上,且有剂量-反应关系者,定为阳性,否则即为致突变阴性。

11.1.8 质量控制

11.1.8.1 每次试验前后都应用 20% 的新洁尔灭清洁无菌室。

11.1.8.2 每批培养基均应做灭菌完全试验。

11.1.8.3 琼脂与葡萄糖不应一同高压,不应产生弱致突变性,影响试验结果。

11.1.8.4 若考虑水平中悬浮物吸附的致突变物,应连同悬浮物一同通过 XAD 树脂过滤。

11.1.8.5 每次试验应当测定待测物和 S-9 混合液的无菌性,并应确定对阳性对照物的反应性,测试菌株自发回变数应在确定的范围内且变化较小。

11.1.9 安全

11.1.9.1 做完试验后一切带菌的器皿、培养基应及时经 121 °C 高压灭菌 20 min。

11.1.9.2 应严格保管、使用阳性物,121 °C 高压灭菌 20 min 后销毁。

城镇供水水质标准检验方法

中国标准出版社