

DB 21

辽宁省地方标准

DB 21/T XXXX—XXXX

水质 双酚类化合物的测定 高效液相色谱法

Water quality - Determination of bisphenol compounds
- High performance liquid chromatography

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

辽宁省市场监督管理局 发布

目 次

前言	II
1 适用范围	1
2 规范性引用文件	1
3 方法原理	1
4 试剂和材料	1
5 仪器和设备	2
6 样品	3
7 分析步骤	4
8 结果计算与表示	5
9 准确度	6
10 质量保证和质量控制	6
11 废物处置	7
12 注意事项	7
附录 A（规范性） 方法的检出限和测定下限	8
附录 B（资料性） 方法的准确度	9

前 言

为贯彻《中华人民共和国环境保护法》《中华人民共和国水污染防治法》，防治生态环境污染，改善生态环境质量，规范水中双酚类化合物的测定方法，制定本文件。

本文件为首次发布。

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件结构和起草规则》的规定起草。本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由辽宁省生态环境厅提出并归口。

本文件主要起草单位：辽宁省葫芦岛生态环境监测中心。

本文件主要起草人：张哲、杨惠、宋大英、赵宇、张明洋、付晓燕、付征宇、苑芷茜、陶冶、么洪波、郭振江、王文华、于志辉、张旭鸿、张立剑、李赫、李玉博、付娆、于群、滕维新。

本文件发布实施后，任何单位和个人如有问题和意见建议，均可以通过来电和来函等方式进行反馈，我们将及时答复并认真处理，根据实际情况依法进行评估及复审。

归口管理部门通讯地址：辽宁省生态环境厅（辽宁省沈阳市浑南区双园路30号甲），联系电话：024-62788591。

标准起草单位通讯地址：辽宁省葫芦岛生态环境监测中心（辽宁省葫芦岛市龙港区龙湾大街24号），联系电话：0429-6661596。

水质 双酚类化合物的测定 高效液相色谱法

警告：实验中所使用的甲醇、乙腈、双酚类化合物、丙酮属于有毒有机物，实验操作时应避免接触皮肤和衣物，溶液配制过程应在通风橱内进行，操作时应按规定要求佩戴防护器具，避免吸入呼吸道、接触皮肤和衣物。

1 适用范围

本文件规定了测定水中双酚类化合物的高效液相色谱法。

本文件适用于地表水、地下水、生活污水和工业废水中双酚A、双酚B、双酚AP、双酚Z、四甲基双酚A、双酚P等6种双酚类化合物的测定。

当取样体积为250 ml，试样的定容体积为1.0 ml，进样体积为20 μ l时，方法检出限为0.03 μ g/L~ 0.06 μ g/L，测定下限为0.12 μ g/L ~ 0.24 μ g/L。详见附录A。

2 规范性引用文件

本文件引用了下列文件或其中的条款。凡是注明日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是未注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

HJ 91.1 污水监测技术规范

HJ 91.2 地表水环境质量监测技术规范

HJ 164 地下水环境监测技术规范

HJ 168 环境监测分析方法标准制定技术导则

HJ 493 水质 样品的保存和管理技术规定

3 方法原理

水中的双酚类化合物在酸性条件下，经固相萃取富集、净化、洗脱、浓缩后使用具有荧光检测器的高效液相色谱仪测定，根据保留时间定性，外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有说明，分析时均使用符合国家标准和分析纯试剂，实验用水为新制备的不含目标化合物的超纯水；实验中所使用的玻璃器具需要用去污剂清洗、自来水冲洗和超纯水淋洗，自然晾干，以除去可能来自于环境中的双酚类化合物。为避免双酚物的污染，实验过程中尽量不使用塑料制品，确需使用的塑料或其他材质的制品，应进行空白试验。

4.1 硫代硫酸钠 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$): 优级纯。

4.2 盐酸 (HCl) : ρ (HCl) =1.19 g/ml, 优级纯。

4.3 盐酸溶液: φ (HCl) =50%

量取 100 ml 盐酸 (4.2), 缓慢加入到 100 ml 实验用水中, 混匀。

4.4 甲醇 (CH₃OH) : 色谱纯。

4.5 甲醇溶液: φ (CH₃OH) =30%。

分别量取 30ml 甲醇 (4.4) 和 70 ml 实验用水, 混匀。

4.6 乙腈 (CH₃CN) : 色谱纯。

4.7 超纯水: 电阻率>18.2 M Ω ·cm (25 °C), 不含目标化合物。

4.8 二氯甲烷 (CH₂Cl₂) : 农残级。

4.9 丙酮 (CH₃COCH₃) : 农残级。

4.10 双酚 A: 纯度为 \geq 99.9%。

4.11 双酚 B: 纯度为 \geq 99.23%。

4.12 双酚 P: 纯度为 \geq 97.4%。

4.13 双酚 Z: 纯度为 \geq 99.6%。

4.14 双酚 AP: 纯度为 \geq 99.9%。

4.15 四甲基双酚 A: 纯度为 \geq 99.9%。

4.16 双酚类标准贮备液: ρ =1000 μ g/ml。

分别称取 0.0100 g 双酚 A (4.10)、双酚 B (4.11)、双酚 P (4.12)、双酚 Z (4.13)、双酚 AP (4.14) 和四甲基双酚 A (4.15) 置于 50 ml 玻璃烧杯中, 加少量甲醇 (4.4) 溶解, 转移至 10 ml 容量瓶中, 用甲醇 (4.4) 稀释至标线, 混匀。制备的标准贮备液于 4 °C 以下冷藏、密封、避光保存, 保存期为 1 年。也可购买市售有证标准溶液, 按标准溶液证书保存。

4.17 双酚类标准中间液: ρ =100 μ g/ml。

准确移取 1.00 ml 双酚类标准贮备液 (4.16) 于 10 ml 容量瓶中, 用甲醇 (4.4) 定容至标线, 标准中间液于 4 °C 以下, 冷藏、密封、避光保存, 保存期为 6 个月。

4.18 双酚类标准使用液: ρ =10 μ g/ml。

准确移取 1.00 ml 双酚类标准中间液 (4.17) 于 10 ml 容量瓶中, 用甲醇 (4.4) 定容至标线, 标准使用液于 4 °C 以下, 冷藏、密封、避光保存, 保存期为 6 个月。

4.19 石英滤膜: 孔径为 0.45 μ m, 使用前在 400 °C 的马弗炉中烘烤 2 h。

4.20 针头过滤器: 有机系, 孔径为 0.45 μ m, 经甲醇 (4.4) 清洗晾干, 确保没有目标物。

4.21 氮气: 纯度 \geq 99.99%。

5 仪器和设备

5.1 采样瓶: 250 ml, 棕色细口玻璃瓶, 配玻璃塞。使用前可用实验用水、丙酮 (4.9) 依次清洗。

- 5.2 高效液相色谱仪：具荧光检测器。
- 5.3 色谱柱：填料粒径 5 μm ，柱长 25 cm，内径 4.6 mm 的 C_{18} 反相色谱柱，或其他等效色谱柱。
- 5.4 浓缩装置：氮吹仪或其他性能相当的浓缩装置。
- 5.5 固相萃取装置：自动或手动固相萃取仪，可连固相萃取柱。
- 5.6 固相萃取柱：500 mg/6 ml，聚丙烯或者玻璃材质，填料为 C_{18} 或苯乙烯和二乙烯苯共聚物，或其他等效固相萃取柱。
- 5.7 玻璃注射器：5 ml。
- 5.8 微量注射器：50 μl 、100 μl 、250 μl 、1000 μl 。
- 5.9 量筒：50 ml、100 ml、250 ml。
- 5.10 玻璃烧杯：50 ml、250 ml。
- 5.11 容量瓶：10 ml。
- 5.12 过滤装置：配有砂芯滤器和真空泵，抽滤压力勿超过 -50 kPa。
- 5.13 样品超声波提取仪：超声频率不低于 40kHz，具备水温监控功能，保证样品充分接受超声萃取。
- 5.14 一般实验室常用仪器和设备。

6 样品

6.1 样品的采集与保存

按照 HJ 91.1、HJ 91.2、HJ 164 的相关规定进行样品采集和保存。用采样瓶（5.1）采集样品，如样品中含有余氯，需向 250 ml 样品中加入硫代硫酸钠（4.1）去除干扰，加 50% 盐酸溶液（4.3）调节样品 pH 值为 1~2。样品应充满 250 ml 采样瓶（5.1）并加盖密封，于 4 $^{\circ}\text{C}$ 以下冷藏、避光保存，7 d 内完成分析。

每批次样品应至少采集 1 个全程序空白样品，将 250 ml 实验用水放入样品瓶中密封，并带到采样现场，与采样样品瓶同时开盖和密封，之后随样品运回实验室。

6.2 试样的制备

6.2.1 过滤

准确量取 250 ml 样品经石英滤膜（4.19）过滤，滤液置于 250 ml 玻璃烧杯（5.10）中，全部用于固相萃取。过滤后的石英滤膜放入 10 ml 玻璃管中，加入适量甲醇（4.4）使滤膜完全浸没于甲醇中，超声提取 10 min，将超声提取液经针头过滤器（4.20）过滤后收集至浓缩瓶中。

注：若样品中不存在肉眼可见的悬浮物，无需过滤，准确量取 250 ml 样品进行固相萃取即可。

6.2.2 固相萃取

1) 柱活化

依次用 5 ml 甲醇（4.4）和 5 ml 超纯水活化固相萃取柱（5.6），在活化过程中，应确保固相萃取柱中填料表面不露出液面。

2) 上样

将过滤后的样品（6.2.1），以3 ml/min~5 ml/min的流速通过固相萃取柱。

3) 淋洗

上样结束后，用10 ml甲醇溶液（4.5）淋洗固相萃取柱（5.6），去除固相萃取柱上的杂质，然后用氮气（4.21）吹干固相萃取柱。

4) 洗脱

以2 ml/min~4 ml/min的流速，分别用2 ml甲醇（4.4）和5 ml二氯甲烷（4.8）洗脱，收集洗脱液至浓缩瓶中。

注1：其他固相萃取的方式，经验证满足要求，也可适用于本方法。

6.2.3 浓缩

将提取液（6.2.1）和洗脱液（6.2.2）合并后，用浓缩装置（5.4）浓缩到0.5~1 ml，加入3 ml甲醇（4.4），再浓缩至约1 ml，将溶剂完全置换为甲醇后，用甲醇（4.4）定容至1.0 ml，用针头过滤器（4.20）过滤后待测。

注：置换溶剂时，不要将溶剂吹干，重复置换操作 2~3次。

6.3 空白试样的制备

6.3.1 实验室空白

用实验用水代替样品，按照与试样的制备（6.2）相同的操作步骤，制备实验室空白试样。

6.3.2 全程序空白

全程序空白样品（6.1），按照与试样的制备（6.2）相同的操作步骤，制备全程序空白试样。

7 分析步骤

7.1 色谱参考条件

流动相A：乙腈（4.6）70%，流动相B：实验用水30%；柱温：30 °C；进样体积：20 μL；荧光检测器：激发波长227 nm，发射波长313 nm；梯度洗脱程序见表1。

表 1 梯度洗脱程序

时间 (min)	流速 (mL/min)	流动相A (%)	流动相B (%)
0.0	1.0	70	30
2.0	1.0	70	30
3.0	0.7	70	30
10.0	0.7	70	30
注：不具自动清洗程序的仪器，可在10min后延长2~3min的清洗平衡时间。			

7.2 标准曲线的建立

移取一定量的双酚类标准使用液（4.18），用甲醇（4.4）逐级稀释，配制至少5个浓度点的标准系列，各组份质量浓度分别为50.0 μg/L、100 μg/L、250 μg/L、500 μg/L、1000 μg/L（此为参考浓度），

按照色谱参考条件（7.1），由低浓度到高浓度依次进样，以目标化合物浓度为横坐标，以峰面积（或峰高）为纵坐标，建立荧光检测器的标准曲线。

7.3 试样的测定

将制备好的试样（6.2），按照与绘制工作曲线相同的测定条件（7.2）进行测定。当试样浓度超出标准曲线浓度范围时，应适当稀释后测定。

7.4 空白试验

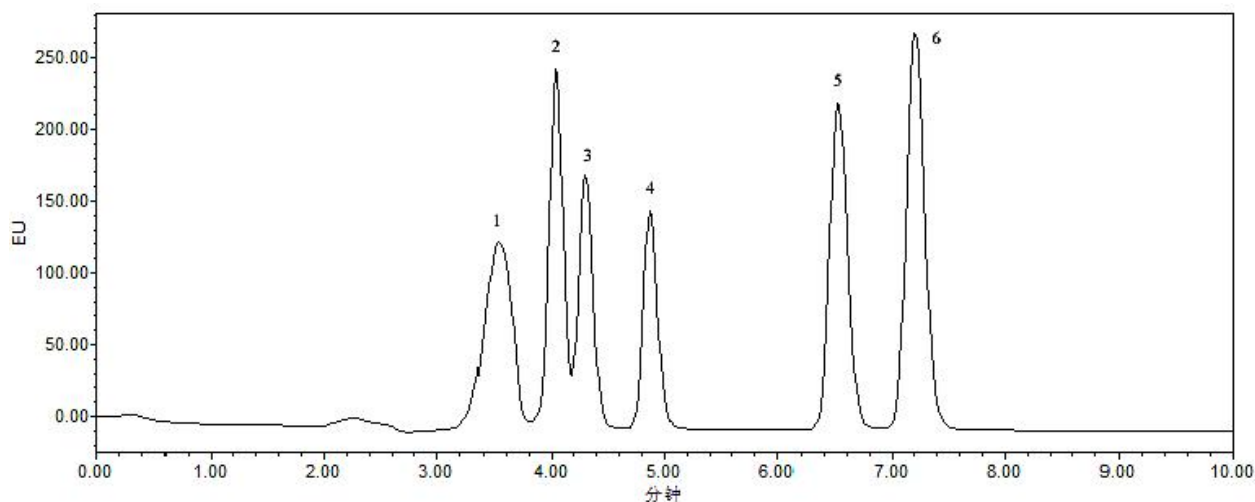
按照与试样的测定（7.3）相同的步骤，进行空白试样（6.3）的测定。

8 结果计算与表示

8.1 定性分析

根据样品中目标化合物与标准系列中目标化合物的保留时间进行定性。必要时可以用高效液相色谱-质谱仪做进一步确认。

在本文件规定的色谱参考条件（7.1）下，目标化合物的标准色谱图见图1。



1—双酚 A；2—双酚 B；3—双酚 AP；4—双酚 Z；5—四甲基双酚 A；6—双酚 P。

图 1 双酚类化合物标准色谱图（ $\rho=500 \mu\text{g/L}$ ）

8.2 结果计算

样品中目标化合物的浓度，按照公式（1）进行计算。

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

式中： ρ —样品中目标化合物的浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

ρ_1 —由标准曲线计算所得的目标化合物浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

V_1 —试样的定容体积，ml；

V —取样体积，ml；

D —试样的稀释倍数。

注：当试样浓度超出标准曲线的范围，应对试样进行稀释。

8.3 结果表示

测定结果小数点后的位数与方法检出限一致，最多保留3位有效数字。

9 准确度

9.1 精密度

3家实验室分别对加标样品进行6次重复测定，加标量分别为实验用水0.050 μg、地下水0.200 μg和工业废水0.750 μg。

实验室内相对标准偏差分别为：1.7%~9.0%，0.30%~8.7%，0.20%~5.5%。

实验室间相对标准偏差分别为：2.3%~16%，8.8%~16%，1.5%~9.6%。

重复性限范围分别为：0.01 μg ~0.01 μg，0.02 μg ~0.03 μg，0.04 μg ~0.07 μg。

再现性限范围分别为：0.01 μg ~0.02 μg，0.05 μg ~0.08 μg，0.07 μg ~0.2 μg。

精密度结果参见附录B中表B.1。

9.2 正确度

3家实验室分别对加标样品进行6次重复测定，加标量分别为实验用水0.050 μg、地下水0.200 μg、地表水0.500 μg、生活污水0.500 μg和工业废水0.750 μg。

实验用水加标回收率范围为：71.3%~109%，加标回收率最终值为95.0%±19.3%。

地下水加标回收率范围为：70.2%~105%，加标回收率最终值为89.7%±21.6%。

地表水加标回收率范围为：72.5%~111%，加标回收率最终值为92.6%±22.1%。

生活污水加标回收率范围为：61.2%~107%，加标回收率最终值为85.6%±25.5%。

工业废水加标回收率范围为：73.4%~101%，加标回收率最终值为85.4%±15.1%。

正确度结果参见附录B中表B.2。

10 质量保证和质量控制

10.1 空白试验

每20个样品或批次（≤20个样品）应至少测定1个实验室空白样品和1个全程序空白样品，测定结果应小于方法检出限。

10.2 标准曲线

每批样品应绘制标准曲线，标准曲线相关系数应≥0.999，否则应查找原因，重新绘制标准曲线。

每分析20个样品或批次（≤20个样品）应测定1个标准曲线中间浓度点，其测定结果与标准曲线该点浓度的相对误差应在±20%以内，否则应重新绘制标准曲线。

10.3 平行样测定

每20个样品或批次（≤20个样品）应至少分析1组平行样，平行样的相对偏差应在±20%以内。

10.4 基体加标

每20个样品或每批次（≤20个样品）应做1个基体加标样，基体加标回收率应控制在60%~120%之间。

11 废物处置

实验过程中产生的废液及分析后的高浓度样品应分类收集，集中保管，并做好相应标识，依法委托有资质的单位进行处理。

12 注意事项

在样品采集、前处理及分析过程中不得使用含有目标化合物的器皿及耗材。

附 录 A
(规范性附录)
方法的检出限和测定下限

采用高效液相色谱法，当取样体积为250 ml，试样的定容体积为1.0 ml，进样体积为20 μ l时，本方法中目标化合物的检出限和测定下限结果见表A.1。

表 A.1 方法检出限和测定下限

序号	化合物名称	英文简称	CAS No.	检出限 (μ g/L)	测定下限 (μ g/L)
1	双酚A	BPA	80-05-7	0.04	0.16
2	双酚B	BPB	77-40-7	0.04	0.16
3	双酚AP	BPAP	1571-75-1	0.05	0.20
4	双酚Z	BPZ	843-55-0	0.06	0.24
5	四甲基双酚A	TMBPA	5613-46-7	0.03	0.12
6	双酚P	BPP	2167-51-3	0.05	0.20

附 录 B
(资料性附录)
方法的准确度

采用高效液相色谱法，测定不同浓度加标样品的精密度和正确度，方法精密度结果见表B.1，方法正确度结果见表B.2。

表 B.1 精密度汇总表

化合物名称	样品类型	加标量 (μg)	平均值 (μg)	实验室内相对 标准偏差 (%)	实验室间相对 标准偏差 (%)	重复性限 (μg)	再现性限 (μg)
双酚A	实验用水	0.050	0.050	3.2~6.4	8.6	0.01	0.01
	地下水	0.200	0.191	0.3~6.0	14	0.02	0.08
	废水	0.750	0.688	0.2~4.6	7.9	0.06	0.16
双酚B	实验用水	0.050	0.051	3.7~6.3	4.7	0.01	0.01
	地下水	0.200	0.180	0.4~8.7	15	0.03	0.08
	废水	0.750	0.698	0.3~5.0	9.6	0.06	0.20
双酚AP	实验用水	0.050	0.050	4.4~7.3	2.3	0.01	0.01
	地下水	0.200	0.183	1.9~6.4	14	0.03	0.07
	废水	0.750	0.676	0.8~3.0	8.2	0.04	0.16
双酚Z	实验用水	0.050	0.045	4.5~9.0	4.0	0.01	0.01
	地下水	0.200	0.188	2.2~6.0	8.8	0.03	0.05
	废水	0.750	0.713	1.1~5.1	6.7	0.06	0.14
四甲基双酚A	实验用水	0.050	0.047	4.1~4.9	14	0.01	0.02
	地下水	0.200	0.170	2.7~7.9	12	0.03	0.06
	废水	0.750	0.699	1.6~5.5	1.5	0.07	0.07
双酚P	实验用水	0.050	0.043	1.7~7.7	16	0.01	0.02
	地下水	0.200	0.170	5.2~8.1	16	0.03	0.08
	废水	0.750	0.643	2.7~5.0	6.8	0.07	0.13

表 B.2 正确度汇总表

化合物名称	样品类型	加标量 (μg)	回收率范围 (%)	\bar{P} (%)	$S_{\bar{P}}$ (%)	$\bar{P} \pm 2S_{\bar{P}}$ (%)
双酚A	实验用水	0.050	91.7~109	100	8.7	100±17.4
	地下水	0.200	79.0~105	92.6	13.0	92.6±26.0
	地表水	0.500	87.4~107	97.7	9.8	97.7±19.6
	生活污水	0.500	86.5~98.7	93.3	6.2	93.3±12.4
	工业废水	0.750	83.3~100	88.9	9.7	88.9±19.4
双酚B	实验用水	0.050	97.0~107	102	4.8	102±9.6
	地下水	0.200	74.5~101	89.8	13.7	89.8±27.4
	地表水	0.500	96.7~105	99.7	4.6	99.7±9.2
	生活污水	0.500	78.1~104	92.6	13.2	92.6±26.4
	工业废水	0.750	79.8~101	89.8	10.6	89.8±21.2
双酚AP	实验用水	0.050	98.0~102	99.6	2.1	99.6±4.2
	地下水	0.200	78.8~103	91.4	12.3	91.4±24.6
	地表水	0.500	84.4~101	93.4	8.3	93.4±16.6
	生活污水	0.500	81.5~99.2	89.0	9.2	89.0±18.4
	工业废水	0.750	79.9~95.7	88.7	8.1	88.7±16.2
双酚Z	实验用水	0.050	87.3~94.7	90.9	3.7	90.9±7.4
	地下水	0.200	84.7~101	94.1	8.3	94.1±16.6
	地表水	0.500	94.0~111	100	9.8	100±19.6
	生活污水	0.500	84.5~107	90.9	13.7	90.9±27.4
	工业废水	0.750	77.7~87.9	83.3	5.2	83.3±10.4
四甲基双酚A	实验用水	0.050	81.0~107	93.9	13.0	93.9±26.0
	地下水	0.200	73.2~91.0	84.9	10.1	84.9±20.2
	地表水	0.500	89.3~94.3	91.5	2.6	91.5±5.2
	生活污水	0.500	78.4~87.8	81.9	5.2	81.9±10.4
	工业废水	0.750	81.9~82.8	82.4	0.4	82.4±0.8
双酚P	实验用水	0.050	71.3~94.7	83.6	11.7	83.6±23.4
	地下水	0.200	70.2~97.9	85.2	14.0	85.2±28.0
	地表水	0.500	72.6~75.6	73.6	1.8	73.6±3.6
	生活污水	0.500	61.2~72.1	65.6	5.7	65.6±11.4
	工业废水	0.750	73.4~86.6	79.3	6.7	79.3±13.4