

附件 3

《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱
-质谱法（征求意见稿）》
编制说明

《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱-质谱法》

标准编制组

二〇一八年一月

项目名称：水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱-质谱法

项目统一编号：2014-42

承担单位：大连市环境监测中心

编制组主要成员：付晓燕、李振国

环境标准研究所技术管理负责人：周羽化、任宁

环境监测司项目负责人：张宗祥

目 录

1	项目背景.....	1
1.1	任务来源.....	1
1.2	工作过程.....	1
2	标准制订的必要性分析.....	2
2.1	丁基黄原酸的环境危害.....	2
2.2	相关环保标准和环保工作的需要.....	3
3	国内外相关分析方法研究.....	4
3.1	主要国家、地区及国际组织相关分析方法研究.....	4
3.2	国内相关分析方法研究.....	5
3.3	丁基黄原酸方法标准现状与定位.....	6
4	标准制订的基本原则和技术路线.....	7
4.1	标准制订的基本原则.....	7
4.2	标准制订的技术路线.....	8
5	方法研究报告.....	10
5.1	方法研究的目标.....	10
5.2	方法原理.....	10
5.3	干扰与消除.....	10
5.4	试剂和材料.....	11
5.5	仪器和设备.....	13
5.6	样品.....	16
5.7	分析步骤.....	21
5.8	结果计算与表示.....	34
5.9	质量保证和质量控制.....	35
6	方法验证.....	36
6.1	方法验证方案.....	36
6.2	方法验证过程.....	39
6.3	方法验证结论.....	39
7	对专家意见的落实情况.....	40
7.1	标准开题论证会专家意见的落实情况.....	40
7.2	标准中期论证会专家意见的落实情况.....	41
7.3	标准征求意见稿技术审查会专家意见的落实情况.....	41
8	与开题报告的差异说明.....	42
9	参考文献.....	42
附 1	方法验证报告.....	44

《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱-质谱法》编制说明

1 项目背景

1.1 任务来源

2014年7月国家环境保护部办公厅发布了《关于开展2014年度国家环境保护标准项目实施工作的通知》（环办函〔2014〕411号）国家环保标准制订计划，下达了《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱-质谱法》标准制订任务，项目统一编号为2014-42，由大连市环境监测中心承担该标准的制订工作。

1.2 工作过程

1.2.1 成立标准编制组

2014年7月，大连市环境监测中心在接到《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱-质谱法》国家环保标准制订任务后，立即成立标准编制小组，小组成员包括多年从事液相色谱分析及研究的技术人员和熟悉标准制订工作的人员。

1.2.2 查询国内外相关标准和资料调研

2014年7月~8月，本标准编制组成员根据《国家环境保护标准制修订工作管理办法》（公告2006年第41号）的相关规定，查询和搜集国内外相关标准和文献资料，确立建立新标准的指导思想，对现有各种方法和监测工作需求开展广泛而深入的调查研究，对比、筛选后初步提出工作方案和标准研究技术路线，并形成开题报告和标准草案，制订初步的实验方案。

1.2.3 组织专家进行开题论证，确定标准制订技术路线和制订原则

2014年12月22日，在大连召开了标准的开题论证会，标准项目编制组提交项目的开题论证报告及标准文本草案，并对标准制订目标及技术方案进行了报告。开题论证专家组通过质询、讨论，认为本标准适用范围、主要内容及编制标准的技术路线较为合理可行，同时提出了具体修改意见。修改意见主要包括：①对国内环境监测系统实验室液相色谱质谱仪配备情况进行调研；②补充方法技术路线内容；③开展样品保存条件的研究实验；④针对黄药进行全扫描，确定干扰物质，定量方法为内标法；⑤选择覆盖质量标准和排放标准浓度范围的地表水和有代表性企业样品进行方法验证，多家实验室验证考虑仪器的覆盖性；⑥在确认实验条件时，注意是否存在样品基体效应。

1.2.4 开展实验室内验证实验

2015年1月~2016年10月，标准编制组根据开题论证会确定的技术方案和论证意见，

开展课题实验研究工作，对方法各项技术参数和条件进行优化实验，确定具体的标准方法技术细节及检出限、测定下限、实验室内的精密度等方法特性指标、质控指标，在此基础上编写方法标准草案和编制说明。

1.2.5 组织专家进行中期论证，确定方法验证方案

2016年11月12日，在大连进行了标准的中期论证会，组织专家论证，专家组听取了标准主编单位所作的标准文本和标准编制说明及方法验证方案介绍，经质询、讨论，形成意见包括：①补充黑臭水体水样实验，确定基体的影响；②样品保存时间补充4小时、8小时保存实验；③验证方案里精密度和准确度，采用地表水加标浓度为1.0 μg/L、10.0 μg/L、50.0 μg/L，生活污水和典型废水加标浓度20.0 μg/L、100.0 μg/L、500.0 μg/L。

1.2.6 组织方法验证、编写标准征求意见稿和编制说明

2016年12月至2017年3月组织6家有资质的实验室对该方法的适用性进行了方法验证，并编写了方法验证报告。

标准编制组于2017年5月编制完成标准征求意见稿、编制说明及方法验证报告，并上报环境监测司和标准研究所。

1.2.7 组织专家进行标准征求意见稿技术审查会

2017年8月24日，环境监测司在北京召开了标准征求意见稿技术审查会，组织专家论证，专家组听取了标准主编单位所作的标准文本和标准编制说明介绍，经质询、讨论，形成意见包括：①补充Na₂S₂O₃对样品保存的影响，根据实验结果确定样品的合理保存期；②完善典型过滤膜材对水样中丁基黄原酸测定的影响实验，推荐最佳过滤材质；③按照《环境监测分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010），《环境保护标准出版技术指南》（HJ 565-2010）的相关要求完善标准文本和编制说明。

1.2.8 补充实验，完善标准征求意见稿和编制说明

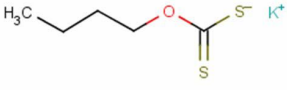
2017年8月25日至2017年9月6日，补充Na₂S₂O₃对样品的保存影响实验，完善典型过滤膜材对水样中丁基黄原酸测定的影响实验，完善标准征求意见稿和编制说明。9月8日将修改完善后的标准文本和编制说明提交标准研究所。

2 标准制订的必要性分析

2.1 丁基黄原酸的环境危害

2.1.1 丁基黄原酸的物理化学性质

丁基黄原酸盐（PBX）是黄原酸盐的一种，黄原酸盐是一组有机化合物的总称，俗称黄药，学名为烃基黄原酸盐，结构式为ROCSSMe，式中的R为烃基，Me为钠或钾离子，丁基

黄原酸钾的分子式为 $C_5H_9OS_2K$ ，结构式为 ，黄药在水中水解成黄原酸。

黄药是浅黄色至黄色粉状或棒粒状固体，密度为 $1.3\sim 1.7\text{ g/cm}^3$ ，熔点约 200°C ，有刺激性臭味。它有一定的毒性，易溶于水，并在水中解离，在酸性介质中黄原酸分解成醇和二硫化碳，能溶于5~6倍的乙醇，微溶于乙醚。其乙醇溶液遇热仍稳定，在水溶液中则分解。其固体强加热即分解为二硫化碳、二烷基硫及碳酸钾等。能与各种生物碱制成结晶化合物，于浓乙醇钾中加入二硫化碳进行中和制取^[1]。

2.1.2 丁基黄原酸的用途

丁基黄原酸盐是一种捕集能力较强的浮选药剂，广泛应用于各种有色金属矿的混合浮选，也适用于含有部分氧化的铜、铅矿石的浮选，还可用作湿法冶金沉淀剂及橡胶硫化促进剂^[2]。

2.1.3 丁基黄原酸的环境危害

丁基黄原酸盐的嗅觉阈为 0.005 mg/L ，浮选废水中的极少量残留即可使水质发臭、抑制水生生物生长，严重影响附近水域的生态平衡。从生态毒理学上讲，黄药是矿山和选矿厂使用的药剂中危害最大的。研究表明丁基黄原酸钠对草鱼胚胎、泥鳅胚胎、黑斑蛙胚胎等有强烈的致畸作用，畸形的主要症状为弯体和体表瘤状赘生物，瘤状赘生物溃破后可引起仔鱼死亡。有研究者用丁基黄原酸对泥鳅胚胎及黑斑蛙胚胎进行了毒性研究，试验时间 24 h ，不引起畸形的最高浓度是 0.32 mg/L ，在 3.2 mg/L 浓度以上畸形发生率达 100% 。除常见的畸形症状外，它还对发育、孵化和色素形成有滞缓作用。在高浓度下有急性毒性， 96 h TLm 值（半数忍受限度）为 18 mg/L 。对于黑斑蛙胚胎，试验时间 96 h 致畸阈浓度为 0.1 mg/L ，浓度在 10 mg/L 以上畸形率为 100% ^[3]。

黄药对人畜的毒性问题主要表现在伤及神经系统和肝脏器官，对造血系统也有不良影响。一般认为，在急性毒性试验中，黄药对中枢神经系统具有明显的抑制作用，动物可死于呼吸衰竭；在慢性毒性试验中病理改变，可导致肝脏和肾脏有不同程度的营养不良。由于选矿废水中的丁基黄原酸盐含量很高，而且丁基黄原酸盐具有极低的嗅觉阈和很强的毒性，因此不完全处理即排放会严重污染周围饮用水源，破坏附近水域生态平衡，危害人体健康，并给农、林、牧、渔业带来不同程度的危害。

2.2 相关环保标准和环保工作的需要

编制组对现行的各类环境质量和污水排放标准进行了查阅，涉及水质丁基黄原酸相

关环保标准和标准限值有：《地表水环境质量标准》（GB 3838-2002）中表3（集中式生活饮用水源地特定项目标准限值）规定丁基黄原酸标准限制为0.005 mg/L；《生活饮用水卫生标准》（GB 5749-2006）中表A.1（生活饮用水水质参考指标及限值）规定丁基黄原酸标准限制为0.001 mg/L；《上海市污水综合排放标准》（DB 31/199-2009）中表2（第二类污染物排放限值）丁基黄原酸排放限值分三类：特殊保护水域标准为不得检出，一级标准为0.02 mg/L，二级标准为0.05 mg/L；《辽宁省污水排放标准》（DB 21/1627-2008）中直接排放的水污染物中最高允许排放浓度为0.1 mg/L，排入污水处理厂的水污染物中最高允许排放浓度为0.5 mg/L，具体见表1。

表 1 丁基黄原酸的环境质量标准和污染物排放标准

标准	限值 (mg/L)		
《地表水环境质量标准》 (GB 3838-2002)	0.005		
《生活饮用水卫生标准》 (GB 5749-2006)	0.001		
上海市地方标准《污水综合排放标准》 (DB 31/199-2009)	特殊保护水域标准	一级标准	二级标准
	不得检出	0.02	0.05
《辽宁省污水排放标准》 (DB 21/1627-2008)	直接排放	排入污水处理厂	
	0.1	0.5	

近年来，随着我国工业的不断发展和部分矿产的过度开采，选矿废水给矿山周围的生态环境带来严重污染，对附近饮用水源存在潜在安全风险，为了配套现行环境质量和污水排放标准，制订新的标准方法势在必行。新方法采用直接进样-超高效液相色谱/质谱测定水中丁基黄原酸。该方法操作简单、快速，具有较高的准确度和精密度，本标准的实施对于增加丁基黄原酸的测定方法和提高为环境管理服务水平等方面均有重要意义。

3 国内外相关分析方法研究

3.1 主要国家、地区及国际组织相关分析方法研究

目前，美国 EPA和 ISO 有关标准中没有丁基黄原酸这一控制指标，到目前为止，未查到相关标准分析方法。现有丁基黄原酸分析方法多为行业标准，如日本有色金属行业国家标准方法（YS/T 271.1-1994）采用乙酸铅滴定法测定黄原酸盐含量。

查阅美国化学会等国外文献库，主要集中在黄原酸盐的表征以及副产物的研究，未查到有关丁基黄原酸测定的相关文献。

3.2 国内相关分析方法研究

丁基黄原酸在我国被列入相关质量标准和排放标准中。目前对该项目的检测方法有铜试剂亚铜分光光度法、萃取比色法、紫外分光光度法、离子选择电极法、原子吸收分光光度法、离子色谱法、液相色谱法、吹扫捕集气相色谱质谱法、液相色谱质谱法等^[4-12]，其原理和特点比较见表2。国内已发布的监测方法标准是铜试剂亚铜分光光度法（GB 5750.8-2006）和紫外分光光度法（HJ 756-2015），另外有色金属行业标准中也有《黄药化学分析方法 乙酸铅滴定法测定黄原酸盐含量》（YS/T 271.1-1994）。在研的标准方法包括吹扫捕集气相色谱质谱法（统一编号为2014-43）和液相色谱质谱法（统一编号为2014-42）。

表2 国内丁基黄原酸分析方法的比较

方法	原理	特点	测定范围	检出限	备注（出处）
铜试剂亚铜分光光度法	在pH=5.2时，在盐酸羟胺还原体系中，铜离子被还原为亚铜离子，水样中的丁基黄原酸与亚铜离子生成黄原酸亚铜后，用环己烷萃取，最后铜试剂作为显色剂，与丁基黄原酸亚铜作用，生成橙黄色的铜试剂亚铜，在436nm处进行比色定量。	测总量，操作相对简便，投资设备少，便于推广普及。技术难点：对技术经验要求高；但易受基体干扰，出现假阳性。	0~0.08 mg/L	0.002 mg/L	《生活饮用水标准检验方法有机物指标》（GB/T5750.8-2006）朱红霞,许秀艳等.铜试剂亚铜分光光度法测定丁基黄原酸方法的探讨[J],光谱实验室,2012.30(1):341-348.
紫外分光光度法	丁基黄原酸根在301nm处有最大吸收。	测总量，操作简便，可用于丁基黄原酸废水的检测。	0.5~12 mg/L	0.004 mg/L	《水质 丁基黄原酸的测定 紫外分光光度法》（HJ756-2015），标准起草单位是上海市环境监测中心。
乙酸铅滴定法	试样用水溶解，以亚硝基铁氰化钠为指示剂，用铁氰化钠氧化试样中的硫化物，再用乙酸铅滴定黄原酸盐，生成难溶于水的黄原酸铅沉淀，接近终点时，以玫瑰红酸钠为指示剂，继续滴定至肉红色为终点。	测总量，操作繁琐，需使用有毒有害试剂。适用于乙基、异丙基、正丁基、异丁基、戊基、异戊基及其他低碳烷基的钠黄药和钾黄药中的黄原酸盐的测定。一种黄原酸纯度的分析方法。	—	—	《黄药化学分析方法 乙酸铅滴定法测定黄原酸盐含量》（YS/T 271.1-1994）
超高效液相色谱-串联质谱法	水样经过滤后直接进样，通过超高效液相色谱仪分离后，用三重四极杆质谱仪在多反应（MRM）	测组分，抗干扰强，灵敏度高，是一种快速准确测定的方法。	0.05~100 μg/L	0.2 μg/L	刘景泰,李振国.超高效液相色谱-质谱法测定地表水中丁基黄原酸[J].中国

	模式下测定丁基黄原酸，以保留时间和特征离子峰定性，内标法定量。				环境监测，2012，28(5):76-78.
吹扫捕集气相色谱质谱法	丁基黄原酸在酸性条件下可分解成二硫化碳和丁醇，利用产物CS ₂ 难溶于水的性质，采用吹扫捕集气相色谱质谱法间接测定丁基黄原酸。	测总量，灵敏度高、检出限低，满足标准限值要求。	0.25~10 μg/L	0.07 μg/L	王美飞等. 吹扫捕集-气相色谱-质谱法测定水中痕量丁基黄原酸[J],中国环境监测,2011.27(增刊):12-14.
原子吸收分光光度法	以铜试剂亚铜分光光度法为基础，通过萃取液中铜在火焰原子吸收中响应信号的高低间接测定丁基黄原酸的含量。	测总量，不易受水样本体颜色的干扰，但应用于实际样品测定时本金属离子的干扰较明显，需要加入络合剂掩蔽。	0.02~0.08 mg/L	0.002 mg/L	朱红霞,梁宵等,火焰原子吸收法测定丁基黄原酸,中国测试,2015.41(5):42-45.
离子色谱法	离子交换	操作简便，速度快，所用仪器普及，且测定线性范围宽，适用范围广，抗干扰能力强。	0.008~2 mg/L	0.002 mg/L	方黎等.离子色谱法检测地表水中丁基黄原酸，现代科学仪器，011.2:72-73. 朱红霞,刀婿等,离子色谱法测定丁基黄原酸,中国测试,2015.41(4):36-38.
液相色谱法	极性分离	前处理过程简便快捷，直接将样品过膜后即可上机测定，且检测时间短，测定效率较高。	1~20 μg/L	0.8 μg/L	彭涛,王超等.超高效液相色谱法快速检测地表水中丁基黄原酸[J],中国环境监测,2013,29(2):65-68.
萃取比色法	酸性条件下，丁基黄原酸盐与SeCl ₄ 反应，生成一种黄色的不溶于水的油状络合物，其在268nm处有最大吸收峰，根据吸光度的强弱来定量测定水样中丁基黄原酸盐的含量。	过程繁琐，条件苛刻，使用有毒有害的有机溶剂。	0.5~10 mg/L	1.2 μg/L	展卫红,曹雷等.萃取比色法测定水中的丁基黄原酸盐,污染防治技术,2007.20(3):83-85.

3.3 丁基黄原酸方法标准现状与定位

标准编制组经过系统的文献调研、实际测定与多种方法的比对研究，对目前各监测方法的现状与定位认识如下：（1）在实际测试中，很多检验检测机构对铜试剂亚铜分光光度法难以掌握，操作繁杂，在试剂加入量、加入顺序、反应时间控制等方面对技术经验要求高，且大量使用有毒有害的有机溶剂，危害分析人员健康，易造成环境二次污染，但鉴于其普适

性高，宜保留发挥补充作用；（2）紫外分光光度法的检出限为0.004 mg/L，测定下限为0.016 mg/L，高于地表水环境质量标准对丁基黄原酸的限值要求，仅适用于测定黄原酸含量较高的地表水、地下水、生活污水和工业废水；（3）有色金属行业的《乙酸铅滴定法测定黄原酸盐含量》（YS/T 271.1-1994）的方法是一种测定黄药纯度的分析方法，灵敏度低，不适用于环境样品中低浓度黄原酸的测定；（4）超高效液相色谱-串联质谱法、吹扫捕集气相色谱质谱法以及液相色谱法作为新的方法，操作简单、检出限低，可进行丁基黄原酸的快速准确定量测定，将在环境监测方面发挥重要的作用；（5）超高效液相色谱-串联质谱法可以对丁基黄原酸准确定量，从而为执行环境质量标准与污染物排放标准提供更加准确可靠的依据，其他检测方法测定的都是黄原酸类物质，无法对丁基黄原酸准确性。

4 标准制订的基本原则和技术路线

4.1 标准制订的基本原则

本标准依据《国家环境保护标准制修订工作管理办法》、《标准编写规则 第4部分：化学分析方法》（GB/T 20001.4-2001）、《标准化工作导则》（GB/T 1.1-2000）及《环境监测分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010）的要求，参考国内同行业已使用的较成熟的参考文献。标准制（修）订的基本原则如下：

4.1.1 方法的检出限和测定范围满足相关环保标准和环保工作的要求

目前国家环境质量标准中涉及水质丁基黄原酸的相关环保标准和标准限值有：《地表水环境质量标准》（GB 3838-2002）中表3（集中式生活饮用水源地特定项目标准限值）规定丁基黄原酸标准限制为0.005 mg/L；《生活饮用水卫生标准》（GB 5749-2006）中表A.1（生活饮用水水质参考指标及限值）规定丁基黄原酸标准限制为0.001 mg/L；《上海市污水综合排放标准》（DB 31/199-2009）中表2（第二类污染物排放限值）丁基黄原酸排放限值分三类：特殊保护水域标准为不得检出，一级标准为0.02 mg/L，二级标准为0.05 mg/L；《辽宁省污水排放标准》（DB21/1627-2008）中直接排放的最高允许排放浓度为0.1 mg/L，排入污水处理厂的水污染物中最高允许排放浓度为0.5 mg/L，

本标准的方法检出限为0.2 μg/L，适用于地表水、地下水、工业废水和生活污水中丁基黄原酸的测定，因此完全可以确保本标准能满足国内相关环保标准和环保工作的要求。

4.1.2 方法准确可靠，满足各项方法特性指标的要求

6家方法验证实验室分别对丁基黄原酸的加标浓度为1.0 μg/L、10.0 μg/L和50.0 μg/L的地表水和加标浓度为20.0 μg/L、100 μg/L和500 μg/L的尾矿浸提废水和污水厂废水进行了6次重

复测定，实验室内相对标准偏差为地表水1.6%~10.8%，尾矿浸提废水和污水厂废水1.5%~8.1%；实验室间相对标准偏差为地表水1.0%~2.3%，尾矿浸提废水和污水厂废水0.5%~7.3%。加标回收率为地表水85.8%~99.0%，尾矿浸提废水和污水厂废水77.2%~113%，证明方法的精密度和准确度良好。同时也进行了单实验室内和6家实验室间的方法适用性检验实验，对不同城市的地表水、污水厂废水、特征废水等进行了不同浓度的加标样品测试。

4.1.3 方法具有普遍适用性，易于推广使用

本方法所需的分析仪器在全国范围内的地市级环境监测部门、高校、科研院所等非常普遍，且灵敏度高、检出限低，满足标准限值要求，操作简单易掌握，故该标准分析方法在全国范围内具备良好的普适性。

4.2 标准制订的技术路线

本标准的制订工作将严格执行《环境监测分析方法标准制修订技术导则》（HJ168-2010），在国内外相关文献的基础上，组织专家论证，拟定实验方案，开展实验，编制标准草案，通过方法验证试验，完成标准征求意见稿并进行汇总，编制标准文本送审稿和编制说明，完成标准报批稿的编制。本标准制订的技术路线，见图1。

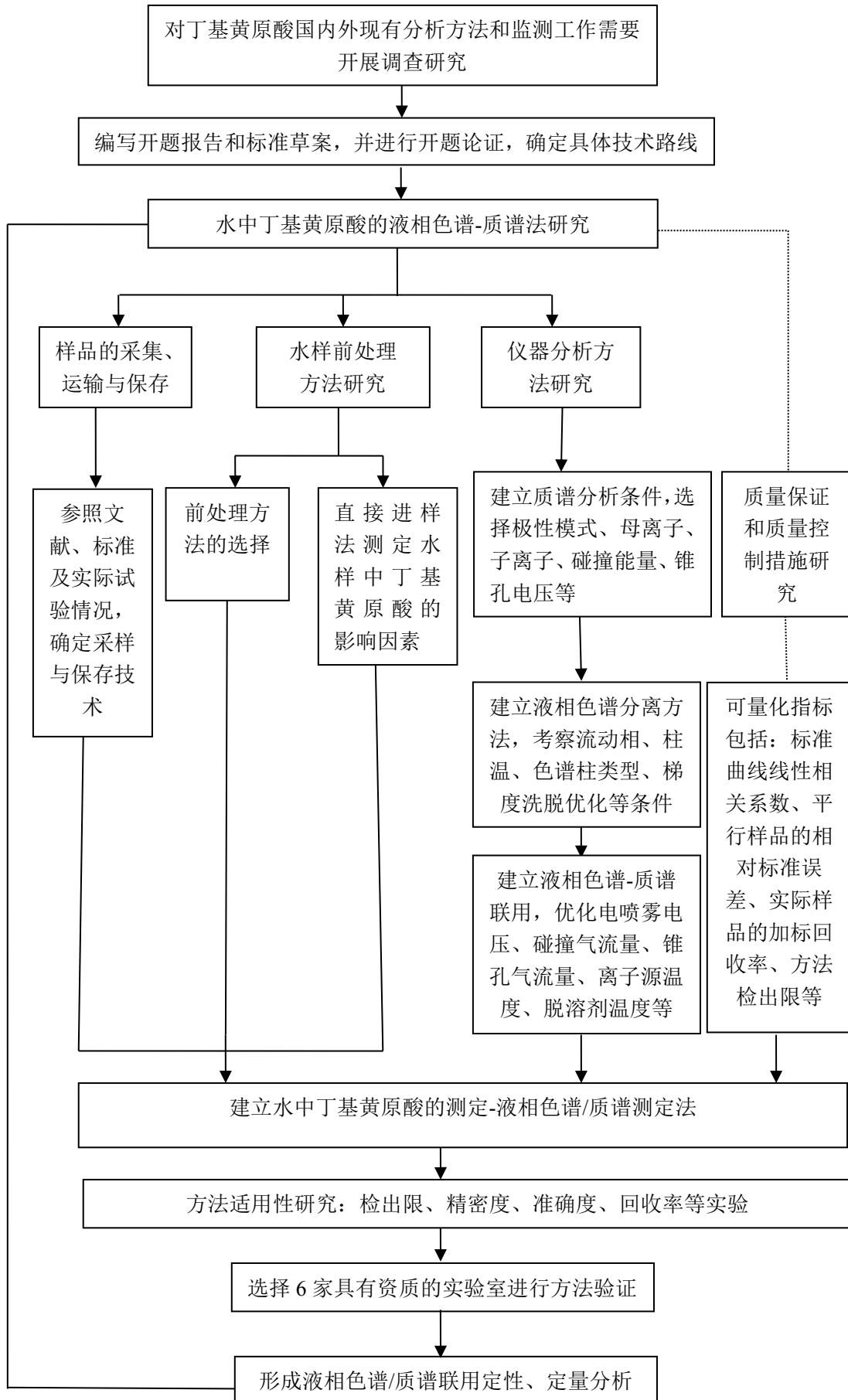


图 1 标准制订技术路线图

5 方法研究报告

5.1 方法研究的目标

建立适用于测定地表水、地下水、工业废水和生活污水中丁基黄原酸的液相色谱-质谱法。

本标准拟达到的特性指标：使方法检出限、精密度、准确度等指标满足《地表水环境质量标准》（GB 3838-2002）和其他污染物排放标准对丁基黄原酸的测定要求。

5.2 方法原理

水样中丁基黄原酸经液相色谱仪分离后，用串联质谱仪在多反应监测（MRM）条件下测定，根据保留时间和特征离子定性，内标法定量。

5.3 干扰与消除

在本方法规定条件下，乙基、戊基等其他黄原酸盐不干扰丁基黄原酸盐的测定，实验分析中测定的目标物是丁基黄原酸盐全量，包括正丁基黄原酸盐和异丁基黄原酸盐。

5.3.1 黄药混标测定

黄药主要成分为烷基黄原酸盐，目前选矿企业主要应用的是丁基黄原酸盐，其他烷基黄原酸盐在市面上很难得到并用来实验研究。经过多方询问调查，最终在新疆乌鲁木齐环境监察大队的配合下，得到三种选矿药品，分别为乙基、丁基、戊基黄原酸盐。配制混标（浓度乙基:丁基:戊基黄原酸=500 μg/L:500 μg/L:1000μg/L），其总离子流图及质谱全扫描图见图2，实验证明不同黄药之间的色谱行为一致，质谱检测没有干扰，同理因采用是质谱分析，其他黄原酸也不会存在干扰。

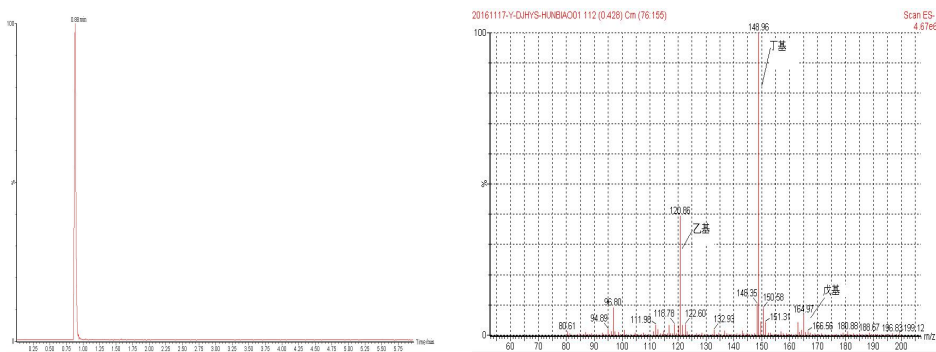


图 2 黄药混标总离子流图、质谱图

5.3.2 丁基黄原酸同分异构体测定

丁基黄原酸盐分为正丁基黄原酸盐和异丁基黄原酸盐,为考察实验分析中测定的目标物是否是丁基黄原酸盐全量,分别对正、异丁基黄原酸混标进行测定,混标浓度为正丁基:异丁基=100 $\mu\text{g/L}$:100 $\mu\text{g/L}$ 。其总离子流图及质谱全扫描图见图3、图4,正丁基黄原酸盐由百灵威购买,异丁基黄原酸盐由青岛新源化工助剂有限公司提供。

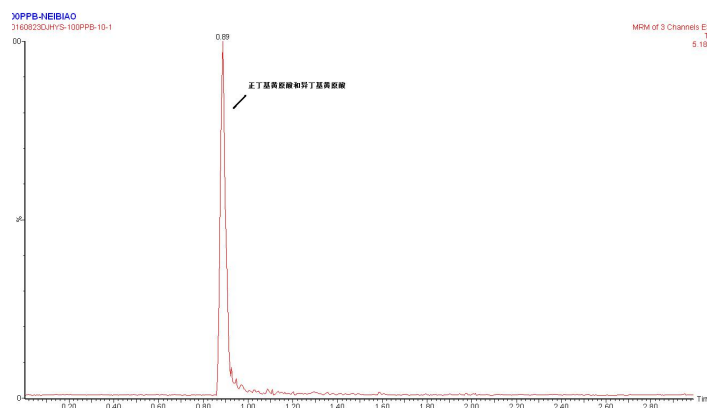


图3 丁基黄原酸（正丁基、异丁基）混标总离子流图

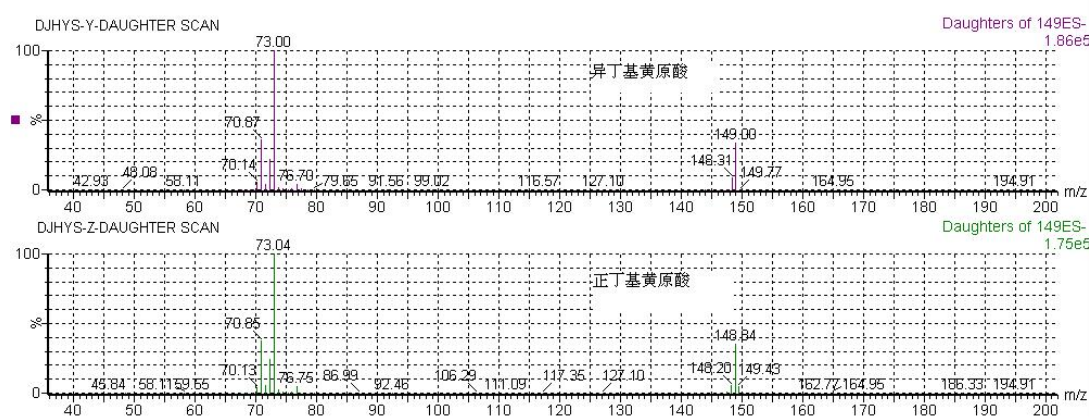


图4 丁基黄原酸（正丁基、异丁基）质谱图

实验证明正、异丁基黄原酸盐的色谱保留行为一致,在该方法的质谱条件下,定量定性离子一致,不同丁基黄原酸盐之间的检测通过目前的实验条件,无法分别测出正、异丁基黄原酸盐的具体含量,只能测定丁基黄原酸盐的总量,因此在此实验分析中测定的目标物是丁基黄原酸盐全量。

5.4 试剂和材料

5.4.1 丁基黄原酸标准贮备液 ($\rho(\text{C}_4\text{H}_9\text{OCSSH})=100 \text{ mg/L}$)

称取 0.0330 g 丁基黄原酸钾标准品 (纯度 $\geq 95\%$),置于 250 ml 棕色容量瓶内,加 3 滴氢氧化钠溶液 (0.4 g/ml) 使 pH 为 9~10,用水溶解、定容至 250 ml,丁基黄原酸的浓度 $\rho(\text{C}_4\text{H}_9\text{OCSSH})=100 \text{ mg/L}$,在 4 $^\circ\text{C}$ 冷藏避光保存。课题组分析了当天,以及在上述条件下放置了 7 d、10 d、14 d、20 d 和 25 d 的丁基黄原酸标准贮备液,用该贮备液配制成 50.0 $\mu\text{g/L}$

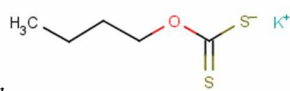
的溶液上机测试，其浓度变化见表3。浓度在20 d内变化不明显，故标准贮备液的存放时间设置为20 d。

表3 标准贮备液衰减测试数据

测试时间	当天	7 d	10 d	14 d	20 d	25 d
测试浓度	49.6 $\mu\text{g/L}$	49.3 $\mu\text{g/L}$	49.0 $\mu\text{g/L}$	48.8 $\mu\text{g/L}$	45.5 $\mu\text{g/L}$	39.8 $\mu\text{g/L}$
配制浓度	50.0 $\mu\text{g/L}$					

5.4.2 内标物的选择

同位素与待测组分在样品制备、色谱分离及质谱检测的全过程中具有相似的行为，受基体效应的影响也一致，因此同位素内标法是补偿基体效应最理想的方法。但考察国内外相关液相色谱-质谱标准及文献，未查到有关丁基黄原酸内标物的介绍。咨询百灵威、默克、Sigma以及安谱等试剂公司，未查到丁基黄原酸的同位素内标，且不提供订制。由于内标的选择标准为同位素、同系物或者其他结构性质相似但自然界中不存在的物质，因此丁基黄原酸的同系物由于在环境中存在，也无法作为内标物的选择。



由于丁基黄原酸钾的结构式为 CCCCOS(=S)S.[K+]，属于小分子有机酸类化合物，极性较强，在 C_{18} 色谱柱上保留较弱，因此选择与丁基黄原酸色谱分离条件相似的物质作为内标物进行测定。同时由于方法中质谱离子化选择电喷雾负离子电离方式，因此实验中尝试用 D_5 -氯霉素、2,4-二氯苯氧乙酸- $^{13}\text{C}_6$ 等化学结构和化学性质相似的物质进行测定。丁基黄原酸在酸性条件下不稳定，碱性条件下才容易电离，因此流动相需要选择弱碱性条件。而 D_5 -氯霉素在碱性条件下不稳定，最终选择较稳定的2,4-二氯苯氧乙酸- $^{13}\text{C}_6$ 为丁基黄原酸测定的内标物，丁基黄原酸和内标物的总离子流图和质谱图见图6。

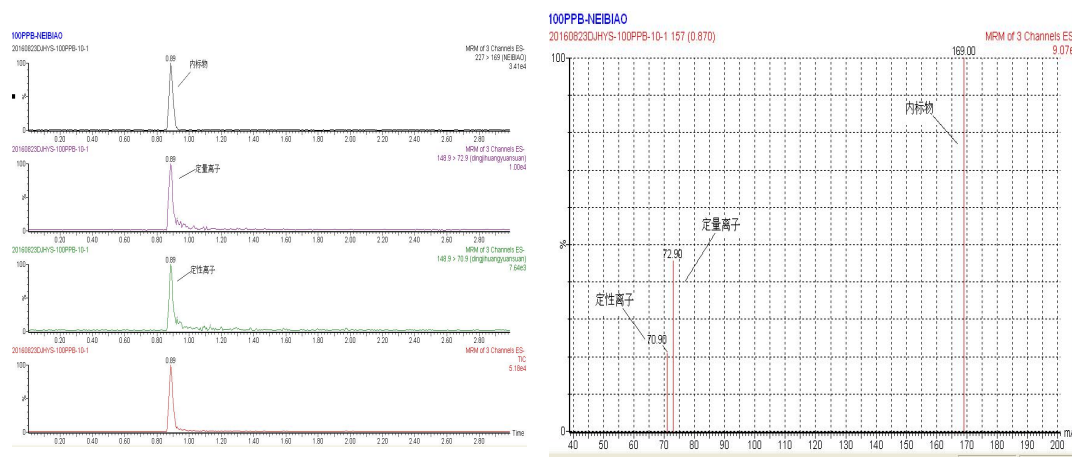


图6 丁基黄原酸和内标物的总离子流图和质谱图

5.5 仪器和设备

本实验所用仪器设备如下：超高液相色谱/三重四极杆串联质谱（Waters ACQUITY UPLC-TQD）；C₁₈液相色谱柱（waters, BEH C₁₈, 2.1 mm×50 mm, 1.7 μm）；天平（感量为0.0001 g）；水相微孔滤膜（孔径：0.22 μm, 材质：亲水性聚丙烯、玻璃纤维和亲水性PTFE）。

5.5.1 液质仪器的选择

近年来，随着色谱仪器的发展，高压（高效）液相色谱在液质联用仪中的应用逐步广泛，因为在小分子化合物的分析中高压（高效）液相色谱在较低的流速下实现了更好的柱效，与质谱部分具有更好的匹配性和兼容性，同时实现了更好的灵敏度、分离度及分析速度。质谱部分在小分子化合物的定量分析中三重四极杆串联质谱发挥着举足轻重的作用，相对于单级质谱而言，三重四极杆串联质谱具备更好的抗干扰能力和更高的灵敏度，尤其是针对基体复杂多变的环境样品。液相色谱-离子阱质谱技术和液相色谱-飞行时间质谱技术在化合物定性（如分子量的测定及分子结构式的推导等）方面应用广泛，在定量准确性和线性范围等方面不及液相色谱-三重四极杆质谱技术，而且该仪器价格昂贵，不易推广使用。2013年江苏省环境监测站张蓓蓓等调研了全国环境监测行业市级及以上监测单位液相色谱-质谱联用仪的配置情况（见表4），绝大多数单位均配备的是高压（高效）液相色谱-三重四极杆串联质谱，因此选用高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪。

表4 全国环境监测行业市级及以上监测单位液相色谱-质谱联用仪的配置情况

	单位	台数	液相类型		质谱类型	
			普通液相	高效（高压）液相	单级质谱	三重四极杆质谱
1	中国环境监测总站	1		√		√ Agilent
		1		√		√ AB
2	江苏省环境监测中心	2		√		√ AB
3	湖南省环境监测中心	1		√		√ AB
4	甘肃省环境监测站	1		√		√ waters
5	福建省环境监测站	1		√		√ Agilent
6	西藏自治区环境监测站	1		√		√ Agilent
7	湖北省环境监测中心	3		√		√ Agilent
8	福建省环境监测站	1		√		√ Agilent
9	江西省环境监测站	1		√		√ Agilent
10	广西壮族自治区环境监测站	1		√		√ Agilent
11	青海省环境监测站	1		√		√ waters
12	山西省环境监测站	1		√		√ waters
13	河北省环境监测站	1		√		√ waters
14	新疆区环境监测中心站	1		√		√ waters
15	辽宁省环境监测站	1		√		√ waters

16	吉林省环境监测中心	1		√		√ waters
17	黑龙江省环境监测中心	1		√		√ waters
18	海南省环境监测中心	1		√		√ AB
19	广东省环境监测中心	1		√		√ AB
20	江西省环境监测中心	1		√		√ waters
21	四川省环境监测站	1		√		√ waters
		1		√		√ AB
22	云南省环境监测中心	1		√		√ waters
23	贵州省环境监测站	1		√		√ waters
24	山东省环境监测中心站	1		√		√ Agilent
25	河南省环境监测中心	1		√		√ Thermo
26	南京市环境监测中心站	1		√		√ AB
27	无锡市环境监测中心站	1		√		√ AB
28	桂林市环境检测站	1		√		√ Agilent
29	济南市环境监测中心站	1		√		√ Agilent
30	深圳市环境监测中心站	1		√		√ AB
31	南阳市环境检测站	1		√		√ Agilent
32	镇江市环境监测中心站	1		√		√ AB
33	济宁市环境监测中心站	1		√		√ Agilent
34	合肥环境监测中心站	1		√		√ AB
35	江阴市环境监测站	1		√		√ AB
36	烟台市环境监测中心站	1		√		√ Agilent
37	上海市普陀区环境监测中心	1		√		√ AB
38	广元市环境监测站	1		√		√ AB
39	广州市环境监测站	1		√		√ Agilent
40	内江市环境保护监测站	1	√			√ Agilent
41	成都环境监测中心站	1		√		√ Agilent
42	泸州环境监测站	1		√		√ Agilent
43	宜宾环境监测站	1		√		√ Agilent
44	自贡环境监测站	1		√		√ Agilent
45	南充环境监测站	1		√		√ Agilent
46	厦门环境监测站	1		√		√ Agilent
47	福建省海洋环境与渔业资源监测中心	1		√		√ Agilent
48	大同市环境监测站	1		√		√ Agilent
49	江西南昌环境检测站	1		√		√ Agilent
50	呼伦贝尔环境监测中心	1		√		√ Agilent
51	保定市环境保护监测站	1		√		√ Agilent
52	鄂尔多斯环境保护中心监测站	1		√		√ Agilent
53	泰州市环境保护监测站	1		√		√ Agilent
54	柳州市环境检测站	1		√		√ Agilent
55	苏州市环境保护监测站	1		√		√ Agilent
56	常州市环境保护监测站	1		√		√ Agilent
57	玉溪市环境监测站	1		√		√ AB

58	汕头市环境监测中心	1		√		√ AB
59	贵阳市环境监测中心站	1		√		√ AB
60	合肥环境监测中心站	1		√		√ AB
61	新疆生产建设兵团环境监测站	1		√		√ AB
62	昆明市环境监测中心站	1		√		√ AB
63	兰州市环境监测站	1		√		√ waters
64	金昌市环境监测站	1		√		√ waters
65	宁夏区环境监测中心站	1		√		√ waters
66	银川市环境监测站	1		√		√ waters
67	石嘴山市环境监测站	1		√		√ waters
68	金昌市环境监测站	1		√		√ waters
69	临汾市环境监测站	1		√		√ waters
70	大同市环境监测站	1		√		√ waters
71	唐山市环境监测站	1		√		√ waters
72	秦皇岛市环境保护监测站	1		√		√ waters
73	西安市环境监测站	1		√		√ waters
74	渭南市环境监测站	1		√		√ waters
75	延安市环境监测站	1		√		√ waters
76	宝鸡市环境监测站	1		√		√ waters
77	鞍山市环境监测站	1		√		√ waters
78	大连市环境监测中心	1		√		√ waters
79	长春环境监测站	1		√		√ waters
80	内蒙古环境监测中心站	1		√		√ waters
81	包头市环境监测站	1		√		√ waters
82	洛阳环境监测站	1		√		√ waters
83	安阳环境监测站	1		√		√ waters
84	哈尔滨环境监测站	1		√		√ waters
85	牡丹江环境监测站	1		√		√ waters
86	齐齐哈尔环境监测站	1		√		√ waters
87	重庆市生态环境监测中心	4		√		√ Thermo

5.5.2 天平的选择

丁基黄原酸钾的分子量为188.35，配制丁基黄原酸标准贮备溶液： ρ （ C_4H_9OCSSH ）=100 mg/L，需要称取0.0330 g丁基黄原酸钾，置于250 ml棕色容量瓶内，加3滴氢氧化钠溶液（0.4 g/ml），用水溶解、定容，因此选用感量为0.0001 g的天平。

5.5.3 滤膜的选择

选择了0.22 μm 的五种不同材质滤膜：聚醚砜(PES)、尼龙、玻璃纤维、亲水性PTFE和亲水性聚丙烯滤膜，对空白加标样品进行分析，发现亲水性聚丙烯滤膜、玻璃纤维滤膜和亲水性PTFE滤膜样品通过率为90%~110%，聚醚砜样品通过率为70%~80%，而尼龙对丁基黄原酸的测定影响较大，样品通过率在10%左右，因此选择0.22 μm 的亲水性聚丙烯滤膜、玻璃纤维滤膜和亲水性PTFE滤膜更合适，具体见表5。

表 5 不同滤膜的选择

滤膜种类	聚醚砜	尼龙	玻璃纤维	亲水性 PTFE	亲水性聚丙烯
样品通过率	70%~80%	10%	90%~110%	95%~105%	90%~105%

5.6 样品

5.6.1 样品的采集

按照HJ/T 91地表水和污水监测技术规范、HJ/T 164地下水环境监测技术规范的相关规定进行样品的采集和保存。水样应采集在40 ml棕色玻璃容器中，采样瓶应完全注满不留气泡，采样后用氢氧化钠溶液或盐酸溶液将样品pH调至9~10。

5.6.2 样品的保存

参考《丁基黄原酸的测定 铜试剂亚铜分光光度法》（GB/T 5750.8-2006），样品采集在棕色玻璃容器中，丁基黄原酸在酸性条件下易分解，采样后用氢氧化钠溶液（4 mg/ml）或盐酸溶液(1+99 (V/V))调pH至9~10，水样应充满样品瓶并加盖密封，采样后应尽快分析，如若保存，需于4℃冷藏避光保存，48 h内分析完毕。

水样保存条件的选择：对碧流水库水样进行保存效果的影响试验，测定水样pH=7.60，分别加标至理论质量浓度约100 μg/L、20.0 μg/L和5.0 μg/L。每个浓度中取一份作为进行保存试验的原水样品，一份加盐酸溶液(1+99 (V/V))调至pH=5.00，另外两份分别用氢氧化钠溶液调节pH=10.0和pH=12.0，测定4种样品保存前的浓度，作为样品初始浓度，分别考察pH、光度、温度与时间对保存效果的影响。

（1）酸性条件：

高、中、低三种浓度的水样，用盐酸溶液调节至pH=5.00，丁基黄原酸均在10 min内完全分解。

（2）中性、弱碱性、强碱性条件：

高、中、低三种浓度的水样，用氢氧化钠溶液(4g/L)调节至pH=7.60, pH=10.0和pH=12.0, 100 μg/L、20.0 μg/L和5.0 μg/L水样保存结果分别见图7、图8、图9。

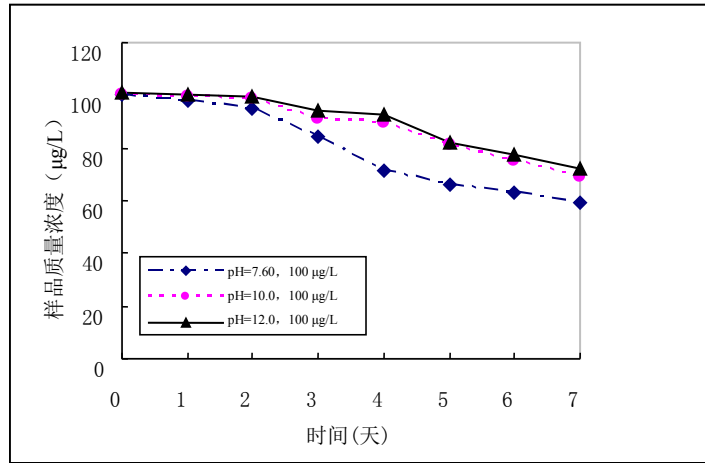


图 7 100 µg/L 水样保存效果图

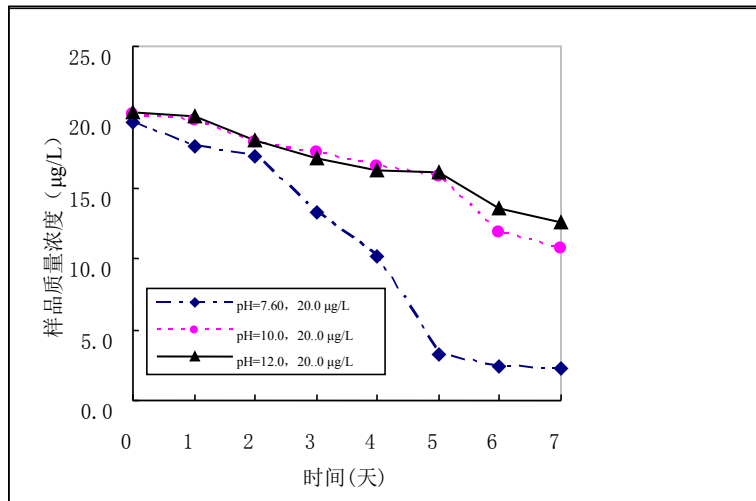


图 8 20.0 µg/L 水样保存效果图

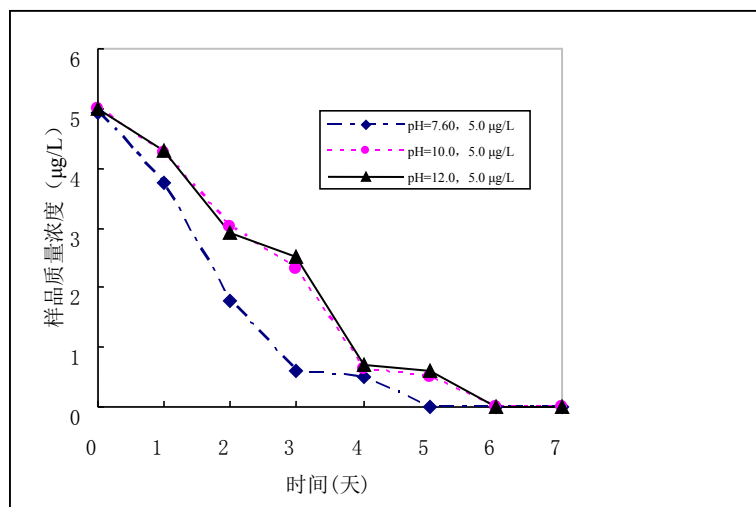


图 9 5.0 µg/L 水样保存效果图

通过对高、中、低三种浓度碧流河水样在不同pH时保存效果的考察，发现pH=7.60

的条件下，丁基黄原酸降解较快，pH=10.0和pH=12.0水样保存效果相似，但由于pH12.0的水样进样后，色谱峰拖尾严重，且影响后续进样色谱峰峰形，需要平衡很长时间，才能恢复正常的色谱行为，考虑色谱柱的使用寿命，因此选择pH≈10.0弱碱性为保存条件。不同pH水样进样总离子流图见图10。

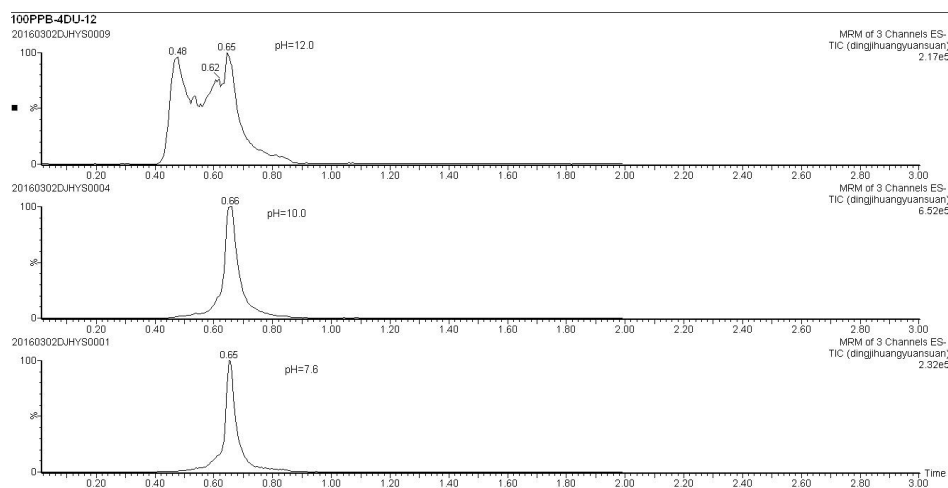


图 10 不同 pH 水样进样总离子流图

(3) 光照，温度影响：

对pH≈10.0碧流河水样进行保存效果的光照、温度影响试验。分别加标至理论质量浓度约100 μg/L、20.0 μg/L和5.0 μg/L。采用避光保存、光照保存、4℃冷藏避光保存三种保存方式，测定3种样品保存前的浓度，作为样品初始浓度。水样保存结果分别见图11、图12、图13。

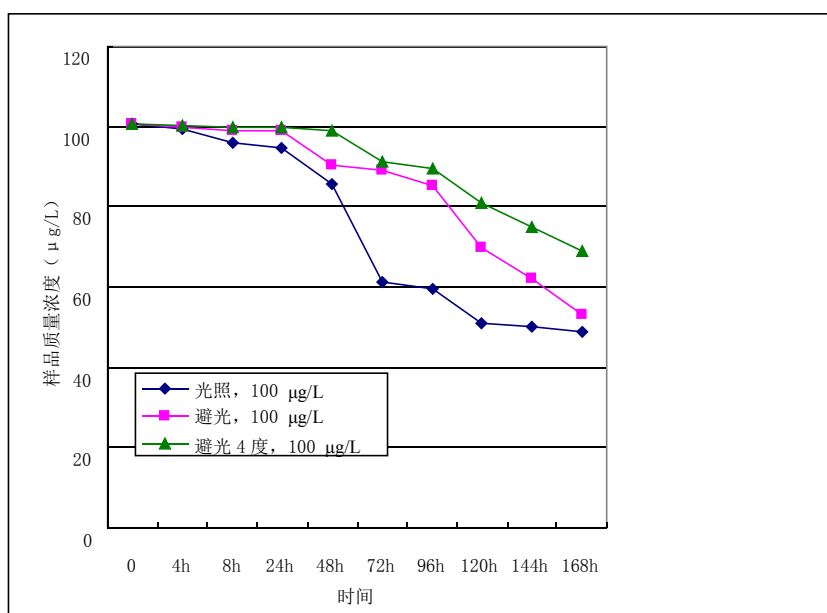


图 11 100 μg/L 水样保存效果图

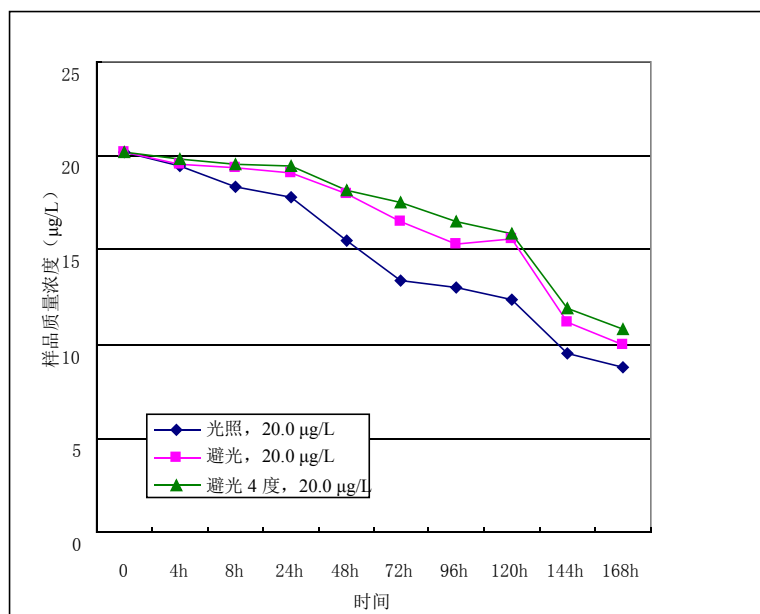


图 12 20.0 µg/L 水样保存效果图

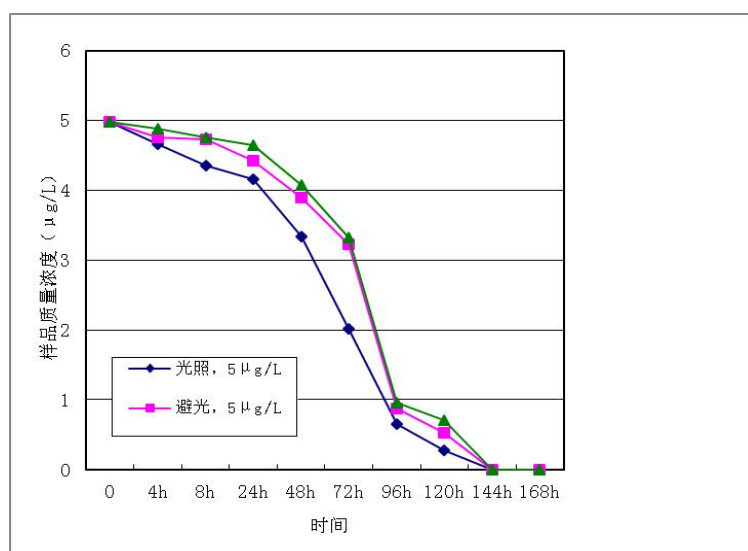


图 13 5.0 µg/L 水样保存效果图

通过对高、中、低浓度碧流河水样在不同pH、温度、光照等条件下的丁基黄原酸保存效果进行研究，证明水样在弱碱性条件下、4℃冷藏避光保存较稳定，其中高浓度水样中的丁基黄原酸降解速率较慢，但低浓度水样超过48 h后，降解超过20%，因此建议将水样调节至弱碱性pH 9~10，于4℃冷藏避光保存，48 h内分析完毕。

(4) Na₂S₂O₃保存效果影响：

向40 ml加标浓度为5.0 µg/L的碧流河水样中加入10 mg Na₂S₂O₃，调节pH 9~10，4℃冷藏避光保存，分别测定6天的保存效果实验，测定时发现Na₂S₂O₃的加入有助于样品保存，但是使色谱峰形变差，见图14。查阅相关文献，发现原因是由于Na₂S₂O₃与内标物2,4-二氯苯氧乙

酸-¹³C₆发生化学反应所导致，因此保存实验不适合加入Na₂S₂O₃。

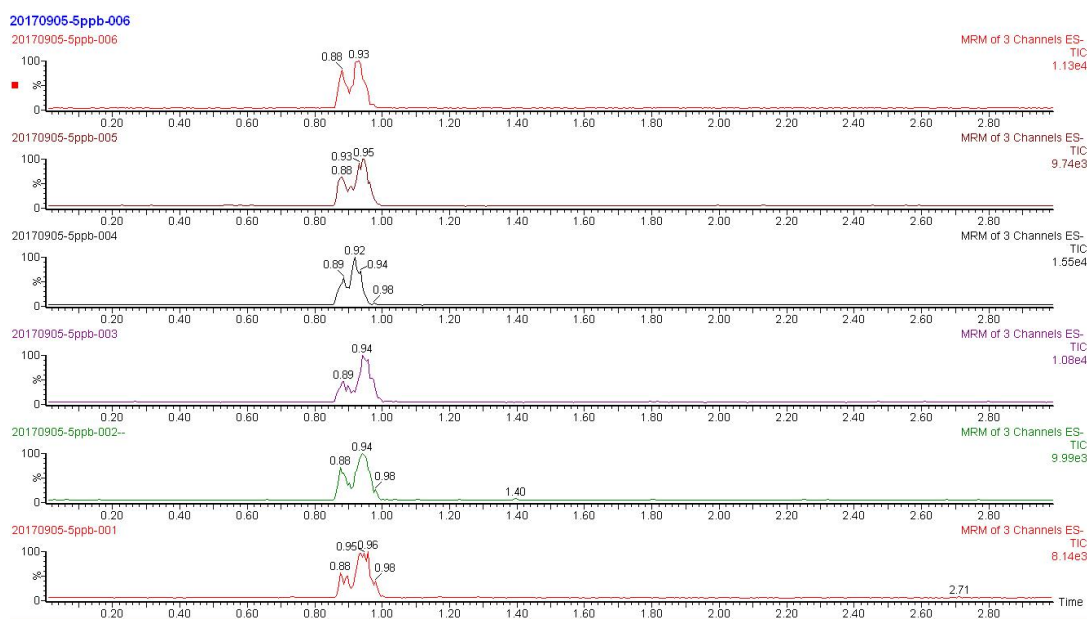


图 14 Na₂S₂O₃ 保存效果图

5.6.3 试样的制备

水样恢复至室温，测定其pH值，确保pH值为9~10，否则用氢氧化钠溶液调节，经0.22 μm滤膜过滤后，取水样1.0 ml，置于棕色样品瓶中，加入内标使用液10.0 μl，混匀待测。

由于丁基黄原酸在不同pH值时电离程度差别很大，因此样品测定时选择与校准曲线相近的pH范围，虽然水样采集时用氢氧化钠溶液或盐酸溶液将样品pH调至9~10，但由于水中微生物作用以及空气中CO₂等酸性气体的影响，水样放置一段时间后，pH值会降低至8左右，从而降低丁基黄原酸在质谱中的离子化效率，对测定结果产生负干扰，因此在试样制备时，需要再次测定其pH值，确保pH值为9~10，否则用氢氧化钠溶液调节。

5.6.4 采样容器的选择

比较四种不同材质的容器：棕色玻璃瓶、聚对苯二甲酸乙二醇酯瓶（PET）、聚丙烯瓶（PP）、聚乙烯瓶（PE），对同等浓度空白加标样品4℃冷藏避光放置24 h后进行分析，聚乙烯瓶（PE）保存效果最差，丁基黄原酸完全分解，具体回收效果见表6、图15。

表 6 不同采样容器的选择

容器材质	棕色玻璃瓶	PET	PP	PE
回收率	95%	30%	50%	0%

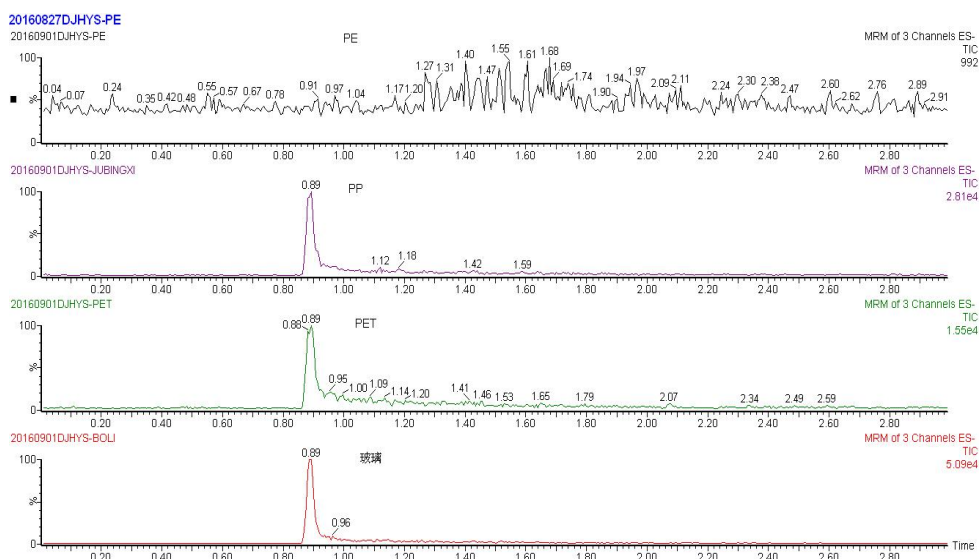


图 15 不同采样容器的选择

5.7 分析步骤

5.7.1 液相色谱分离条件的优化

(1) 色谱柱选择

根据丁基黄原酸的在弱碱性条件下易电离的性质及《环境样品分析新方法及应用》一书中推荐的色谱柱^[13]，本文试验了多种色谱柱，如常用的普通C₁₈反相色谱柱以及能耐受高pH的C₁₈色谱柱、Hilic水相柱进行实验分析，包括：①Waters Acquity UPLC BEH C₁₈柱（50 mm×2.1 mm，1.7 μm）②SHIMADZU Shim-pack FC-ODS柱(150mm×2.0 mm，3 μm)③Waters Acquity UPLC HSS T3柱（50 mm×2.1 mm，1.8 μm）④Waters Acquity UPLC BEH Amide柱（50 mm×2.1 mm，1.7 μm）。结果发现，柱③对丁基黄原酸的保留效果较差，峰拖尾严重，不能实现好的分析效果。柱④属于Hilic水相柱，高有机相进样时，保留效果介于柱①、柱③之间，但对进样溶剂要求至少50%的有机相，无法满足水样直接进样的需要。柱①和柱②对丁基黄原酸测定效果较好，峰形对称，响应强度高，考虑色谱柱需要耐受高pH，因此方法研究使用的是Waters Acquity UPLC BEH C₁₈（50 mm×2.1 mm，1.7 μm）色谱柱。

(2) 流动相的选择

在不同pH条件下，丁基黄原酸以中性分子、离子态或混合物存在，因此流动相pH对丁基黄原酸的色谱行为影响很大，是该研究的关键因素。实验考察了不同有机相甲醇/乙腈、乙腈-不同pH氨水溶液（7.1、8.0、9.0、9.5和10.0）等流动相对目标化合物保留行为的影响。结果表明，用乙腈-不同pH氨水溶液作为流动相时，目标化合物的峰形较好，保留时间较长，响应值较高；当氨水pH逐渐增加时，目标化合物的色谱峰峰形有较大改善，峰形变得更加

尖锐而对称。并且随着pH的提高，目标响应值明显升高，到pH9.5时，峰形最好，响应值最高，pH继续增大到10.0，色谱峰出现拖尾现象，响应值降低，因而实验选择乙腈-pH9.5的氨水溶液为流动相（见图16、图17）。

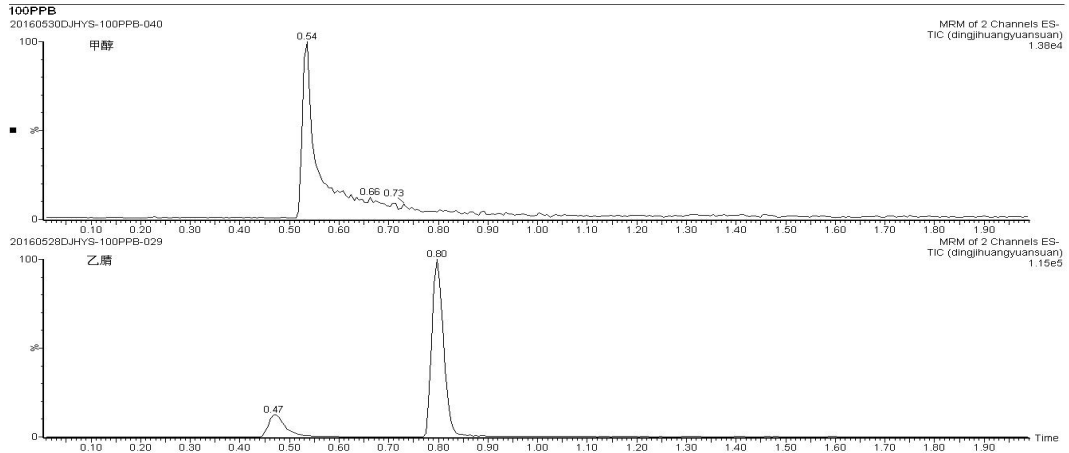


图 16 甲醇与乙腈流动相比较总离子流图

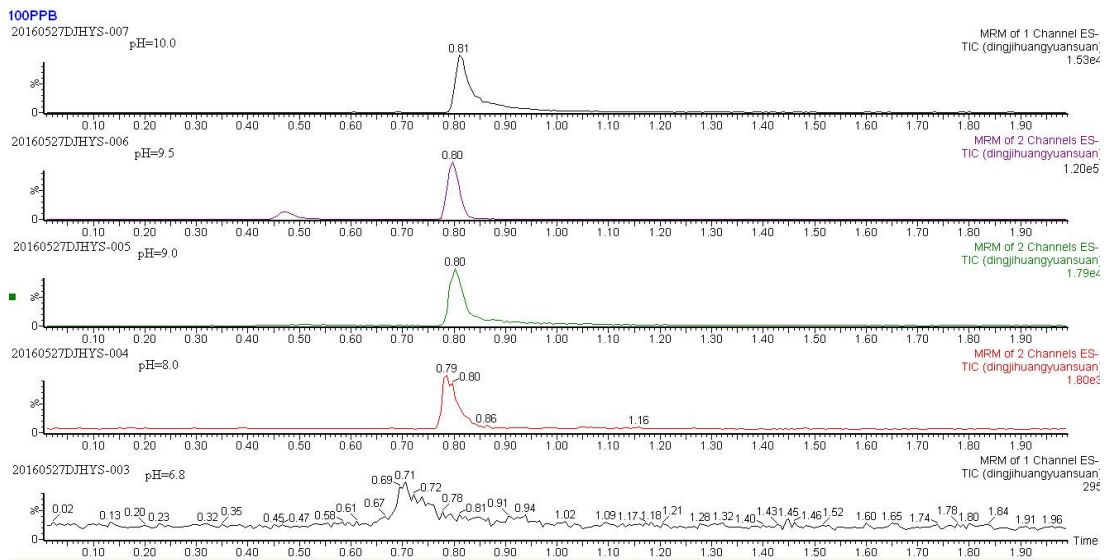


图 17 流动相 pH 选择总离子流图

选择相同浓度的丁基黄原酸标准溶液进行测定，流动相pH9.5的醋酸铵溶液和氨水溶液，醋酸铵溶液由于离子抑制效应，响应值比氨水溶液低10倍左右。比较总离子流图见图18。

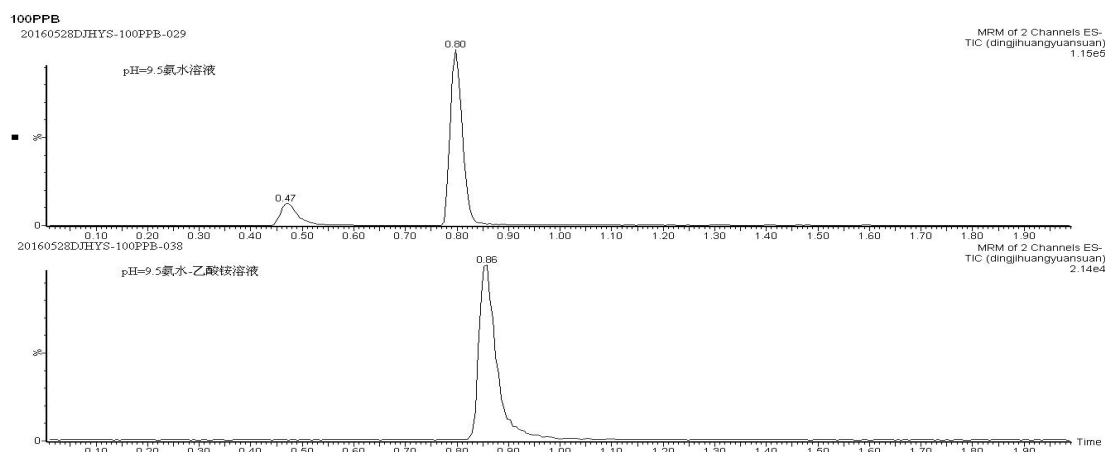


图 18 氨水/乙酸铵水相选择总离子流图

实验结果证明，选择乙腈-pH 9.5的氨水溶液，目标化合物几乎全部以离子态稳定存在，响应值最高。在C₁₈色谱柱的疏水作用力下，色谱行为一致，解决了出峰拖尾问题。因此综合考虑，最终选择乙腈-pH 9.5的氨水溶液为相流动相，此时响应值和色谱峰形均较为理想。实验还发现，随着时间的推移，由于氨水的缓慢挥发，流动相的pH逐渐下降，因此氨水需要用现配，不可长期保存。

(3) 流动相梯度的选择

丁基黄原酸为小分子强极性化合物，具有很高的水溶性，在C₁₈色谱柱上保留较弱。考察乙腈体积比由10%~90%变化对丁基黄原酸检测的影响，在有机相体积比10%时，峰形较宽，有机相体积比20%，峰形对称性最好，响应值最高。随着有机相体积比逐渐增加，保留时间逐渐缩短，有机相体积比90%时，丁基黄原酸在0.52 min出峰，流动相配比选择总离子流图见图19。实验结果证明，水相-有机相比80:20时，离子强度最高，灵敏度最高，峰形最佳，优先选择。最终，流动相采用乙腈和pH9.5的氨水溶液梯度洗脱，在1.5 min内保持有机相20%，1 min内梯度升至90%有机相，保持1 min使杂质快速流出，在0.5 min内降为20%有机相，平衡时间考虑不同仪器的要求，最终选择2 min，丁基黄原酸的在6 min内完成分析测定。

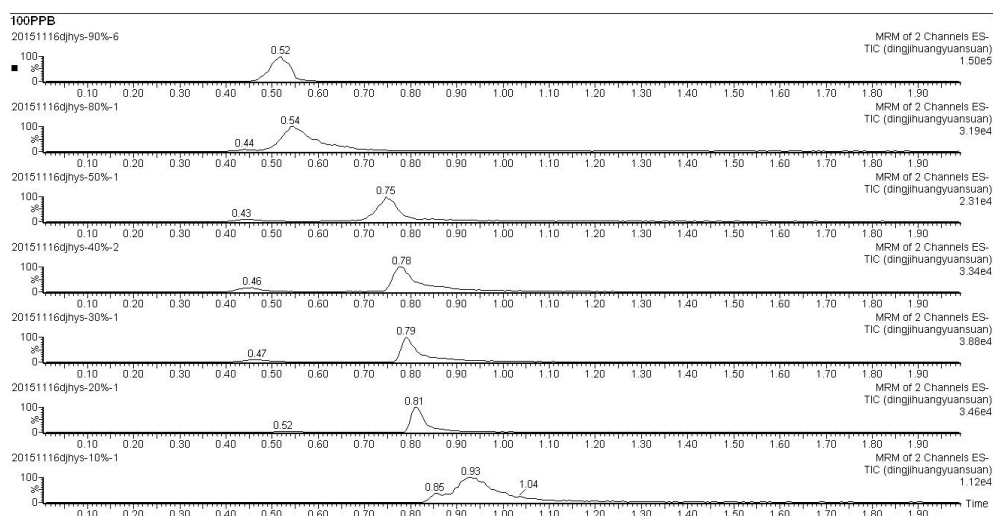


图 19 流动相配比的选择总离子流图

(4) 柱温的选择

在上述色谱柱和流动相确定的情况下,对柱温进行了考察,主要研究了25℃、30℃、35℃和40℃对化合物的响应和分离度的影响。结果发现,在柱温35℃和40℃条件下色谱峰形好,灵敏度高。但由于温度越低,柱压越大,考虑色谱柱的使用寿命以及分离效果,选择柱温为40℃。

5.7.2 质谱条件的优化

(1) 质谱参数的优化

根据丁基黄原酸的分子结构特征和化学电离性质,实验选择了(ESI⁻)离子化模式,多反应监测(MRM)。为了获得最佳的灵敏度和分离效果,将丁基黄原酸标准使用液500 μg/L作为调谐溶液,选择最优调谐方法,分别对电喷雾电压、离子源温度、锥孔气流量、锥孔电压、去溶剂温度、脱溶剂气流量、碰撞气流量、碰撞电压等条件进行优化,扫描范围为m/z 30-300。在经过多组不同碎裂电压、碰撞能量的选择试验后,通过MS scan,选择最佳锥孔电压22v,得到母离子148.9,使用Daughter scan选择特征子离子,调节碰撞能量,选择响应较高的2个子离子分别作为定性和定量离子,定量离子72.9,碰撞能量为11 ev;定性离子70.9,碰撞能量为17 ev;内标物2,4-二氯苯氧乙酸-¹³C₆定的母离子为227.0,碰撞能量为15 v;定量离子169.0,碰撞能量为10 ev;最终选择电喷雾电压:3000 V;离子源温度:120℃;脱溶剂温度:350℃;碰撞气流量:0.12 ml/min;脱溶剂气流量:650 L/h;锥孔气流量:50 L/h,最为理想的参数组合见表7,在此条件下,离子强度高,灵敏度高,峰形最佳。

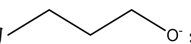
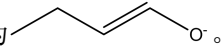
注:对于不同质谱仪器,参数可能存在差异,测定前应将质谱参数优化到最佳。

表 7 目标化合物的多反应监测条件

目标化合物	检测离子对 (m/z)	驻留时间 (ms)	锥孔电压 (V)	碰撞电压 (V)
丁基黄原酸	148.9→72.9*	20	22	11
	148.9→70.9	20	22	17
2,4-二氯苯氧乙酸- ¹³ C ₆	227.0→169.0*	20	15	10

注:带*的为定量离子对

(2) 特征子离子的确定

在三重四极杆质谱中,母离子 148.9,子离子 72.9,结构式为;子离子 70.9,根据反应机理,推断结构式为。但由于此类脱氢反应较少见,且丁基黄原酸属于小分子结构,碎片较少,为了确认推断结果,利用四极杆-飞行时间高分辨质谱

进行丁基黄原酸碎片离子扫描，最终确定丁基黄原酸的定量离子为 72.9，定性离子为 70.9。

裂解推测见下图 20、21、22，碎片结构推测见表 8。

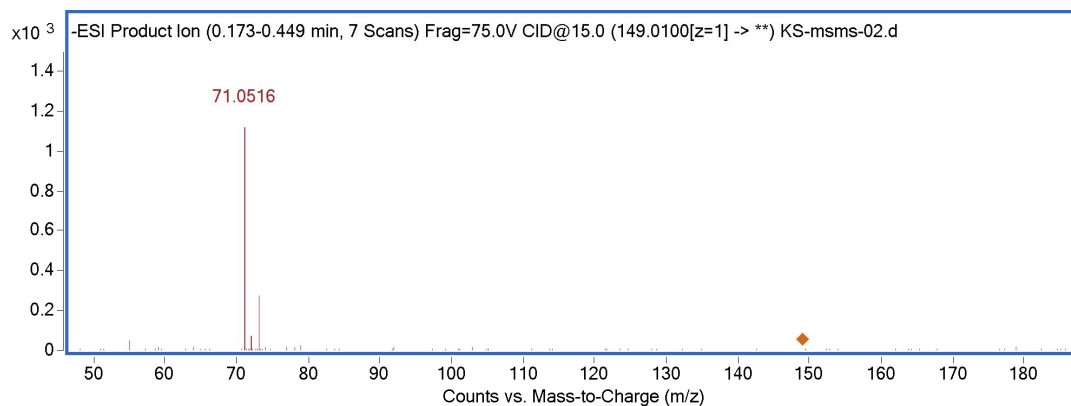


图 20 四极杆-飞行时间质谱一级电离碎片

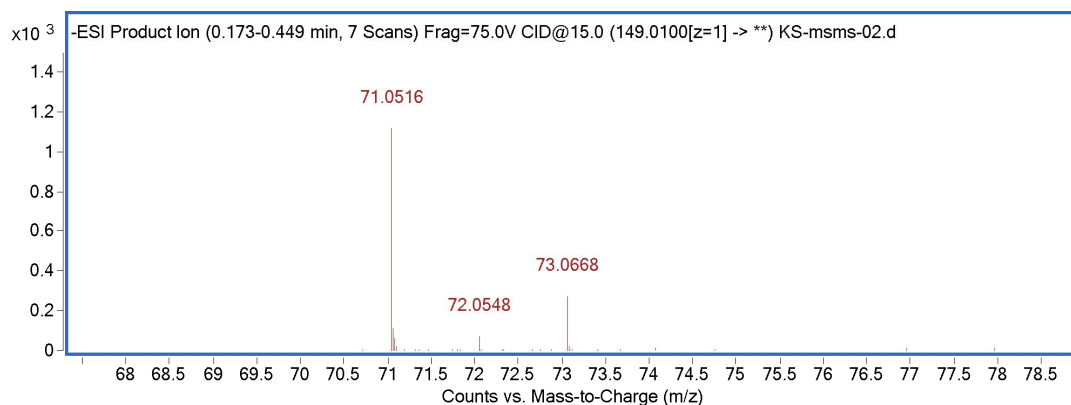


图 21 四极杆-飞行时间质谱一级电离碎片放大图

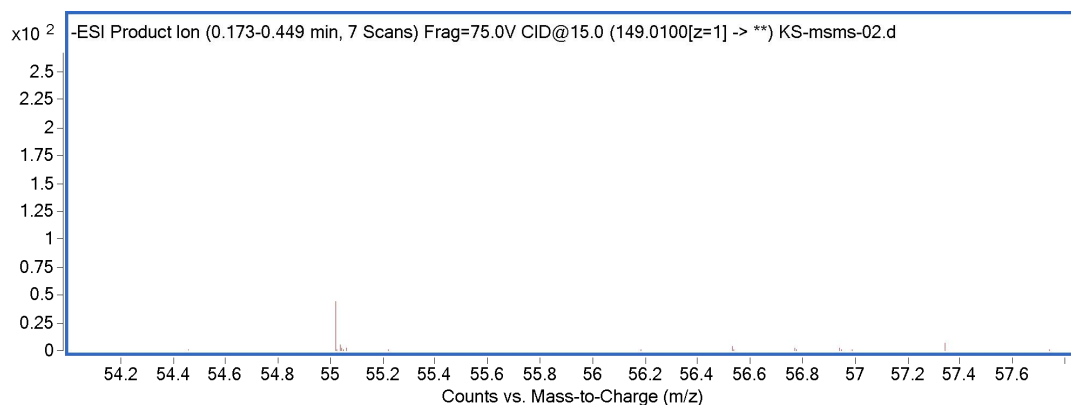


图 22 四极杆-飞行时间质谱二级电离碎片

表 8 碎片结构推测

碎片	碎片 1	碎片 2	碎片 3
m/z	71.0516	73.0668	55.0217
结构式	<chem>CCCC=O[O-]</chem>	<chem>CCCC[O-]</chem>	<chem>CC#CC[O-]</chem>

5.7.3 进样方式的选择

直接进样法：由于液相色谱质谱对丁基黄原酸的检测灵敏度较高，采用直接进样法，水样经0.22 μm滤膜过滤后直接进样，检出限为0.2 μg/L，测定下限为0.8 μg/L，完全满足环境质量和污染物排放标准对丁基黄原酸的监测要求。如果遇到较脏水样，由于污水综合排放标准中，一级排放标准的排放限值为0.02 mg/L，高于检出限100倍，可以采用pH=9.5氨水溶液稀释进样法进样。

固相萃取柱法：本课题组在实验之初，拟开发固相萃取法测定废水中丁基黄原酸，后在实验过程中发现，采用固相萃取法测定丁基黄原酸存在一定问题，具体原因如下：

(1) 通过策略

C₁₈固相萃取柱-由于本方法的检出限为0.2 μg/L，远低于地表水环境质量标准中规定的丁基黄原酸标准限值0.005 mg/L，因此样品不需要浓缩，考虑采用有净化作用的固相萃取柱。由于丁基黄原酸具有很强极性，C₁₈柱对其保留能力较弱，考虑采用通过策略达到样品净化的目的，但由于C₁₈柱对丁基黄原酸吸附不完全，对于纯水、地表水、污水厂废水和尾矿浸提废水加标回收率不稳定，且吸附的目标物难以洗脱。采用C₁₈柱时，废水最大回收率为28.4%，具体见表9、图23。实验证明C₁₈柱不能准确的进行定量分析，无法采用通过策略进行样品的准确分析测定。

表 9 C₁₈固相萃取柱对不同水样的加标回收率

水样种类	纯水	地表水	尾矿浸提废水
通过回收率	> 80%	30%~70%	< 5%
C ₁₈ 柱洗脱回收率	< 5%	< 20%	< 30%

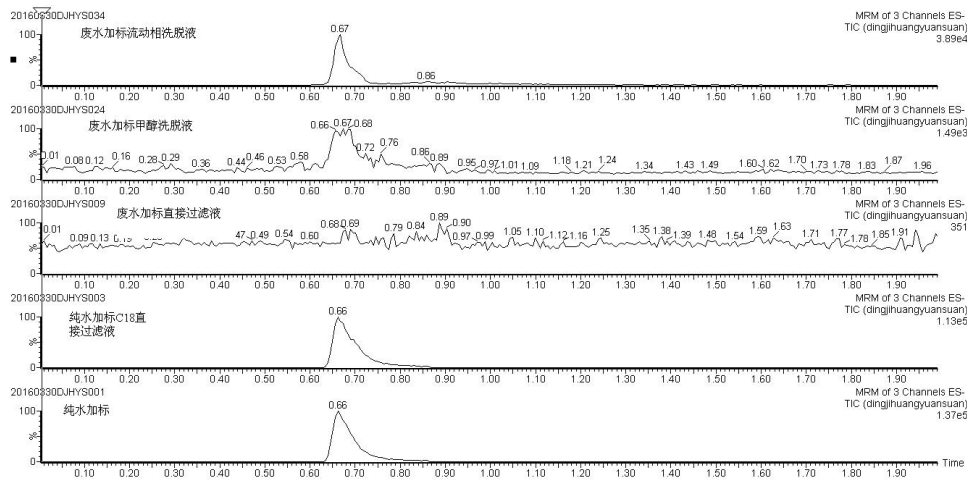


图 23 C₁₈固相萃取柱对不同水样的处理效果图

(2) 先吸附再洗脱

固相萃取柱的主要作用分为浓缩和净化。由于本方法直接进样法的检出限为0.2 µg/L，不需要浓缩即可满足环境质量标准0.005 mg/L和污染物排放标准对丁基黄原酸的监测要求，因此只选用固相萃取柱的净化功能。本实验分别考察了上样体积为10 ml时，HLB、MAX和WAX三种固相萃取柱的萃取效果。

a. HLB柱填料为亲水亲酯型聚合物，对丁基黄原酸样品可以完全吸附。用10 ml不同洗脱液甲醇、5%氨水/甲醇、乙腈、5%氨水/乙腈、二氯甲烷、二氯甲烷-丙酮（1:1，v/v）、二氯甲烷-正己烷（1:1，v/v）、正己烷/丙酮=（1:1，v/v）、甲醇/乙酸乙酯（1:1，v/v）、甲醇/丙酮（1:1，v/v）、流动相A/B=乙腈/水（氨水调pH 9.5）（20:80，v/v）均难以洗脱，其中洗脱液为流动相A/B=乙腈/水（氨水调pH 9.5）时，洗脱效果最好60%左右，其他均小于20%，具体分析结果见图24\表10。

表 10 HLB 柱-不同洗脱液对丁基黄原酸回收率的影响

丁基黄原酸	洗脱液										
	甲醇	5%氨水/甲醇	5%氨水/乙腈	二氯甲烷-丙酮（1:1，v/v）	正己烷/丙酮=（1:1，v/v）	甲醇/乙酸乙酯（1:1，v/v）	甲醇/丙酮=（1:1，v/v）	乙腈/水（氨水调pH9.5）（30:70，v/v）	乙腈/水（氨水调pH9.5）（20:80，v/v）	乙腈/水（氨水调pH9.5）（10:90，v/v）	水（氨水调pH9.5）
吸附率	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
回收率	<1%	3%	3%	<1%	<1%	<1%	20%	57%	60%	60%	55%

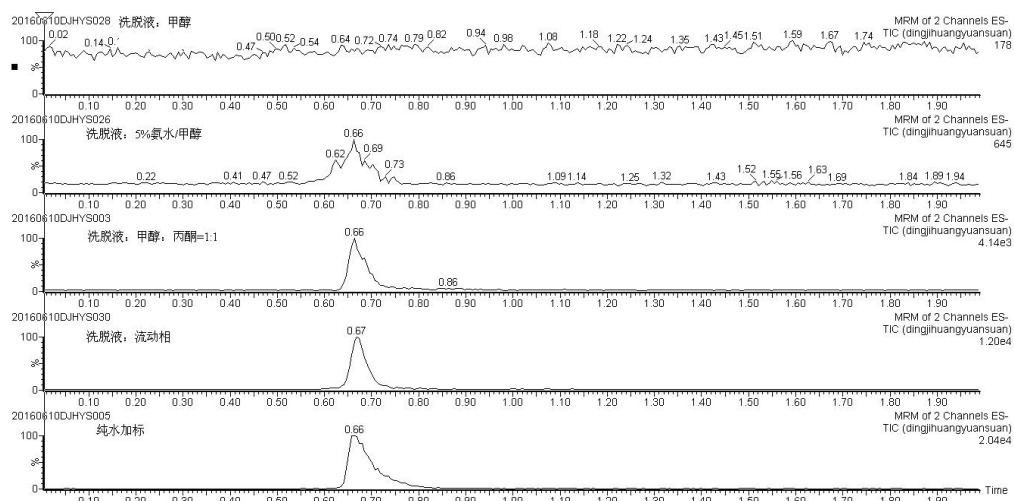


图 24 HLB 固相萃取柱洗脱液的选择

b. 根据丁基黄原酸属于弱酸性化合物的特点，选择MAX和WAX柱，清洗条件选择5%氨水清洗，洗脱液选择5 ml100%甲醇、2%甲酸-甲醇溶液。结果表明，MAX和WAX柱在这两种洗脱溶剂下回收率均很低。分析原因为100%甲醇做洗脱液、洗脱能力弱，无法将丁基黄原酸洗脱，而对于洗脱能力强的2%甲酸-甲醇溶液，由于丁基黄原酸在酸性条件下立即分解，致使回收率低，因此MAX和WAX柱不适合作为丁基黄原酸的净化柱。不同固相萃取柱的萃取效果见表11、图25。

表 11 不同阴离子交换柱对丁基黄原酸回收率的影响

丁基黄原酸	固相萃取柱	
	WAX	MAX
吸附率	100%	100%
甲醇洗脱回收率	0%	0%
2%甲酸-甲醇回收率	0%	0%

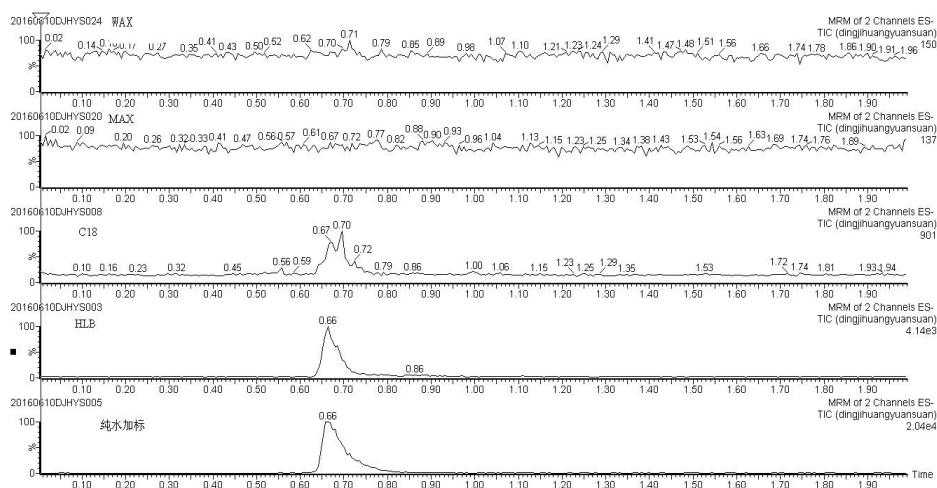


图 25 不同固相萃取柱的加标回收率比较

根据上述多个条件实验结果，以及查阅的相关文献，咨询waters、安捷伦等固相萃取柱应用工程师，安吉尔公司的丁基黄原酸样品实验以及中科院生态环境测试中心前期的丁基黄原酸实验工作，固相萃取法的目标物洗脱问题一直未能解决，机理不明确。由于本研究的直接进样法检出限为0.2 $\mu\text{g/L}$ ，远低于《生活饮用水卫生标准》（GB 5749-2006）规定的丁基黄原酸标准限制0.001 mg/L和《地表水环境质量标准》（GB 3838-2002）规定的丁基黄原酸的标准限值0.005 mg/L，因此综合考虑进样方式采用直接进样法或pH=9.5氨水溶液稀释后直接进样法测定。

5. 7. 4 悬浮物对丁基黄原酸测定的影响

为了考察悬浮物对丁基黄原酸测定的影响，分别对不同浓度的悬浮物水样进行测定，包括：超纯水、碧流河水库水、污水厂废水、尾矿浸提废水，各取10.0 ml水样，进行实际样品加标测定。丁基黄原酸的加标浓度为10.0 μg/L，用氢氧化钠溶液 ρ (NaOH) =4 mg/ml 调节水样pH 9~10，考察不同水样过滤前后悬浮物对丁基黄原酸测定的影响，计算回收率。实验证明悬浮物的存在对丁基黄原酸的测定基本没有影响，不同悬浮物浓度对丁基黄原酸测定的影响具体结果见表12。

表 12 不同悬浮物水样对加标回收率的影响

水样类型		超纯水 (μg/L)	碧流河水库水 (μg/L)	污水厂废水 (μg/L)	尾矿浸提废水 (μg/L)
悬浮物 (mg/L)		0	4.0	350	45.0
本底浓度		0	0	0	2.35
加标浓度		10.0	10.0	10.0	10.0
测定 结果	1	9.85	9.79	9.58	12.2
	2	9.73	9.94	9.69	11.9
	3	9.92	10.1	9.77	12.1
平均值		9.83	9.94	9.68	12.1
回收率 (%)		98.3	99.4	96.8	97.5

5.7.5 校准曲线的绘制

取一定量丁基黄原酸标准使用液（1.0 mg/L）于pH=9.5的氨水溶液中，制备7个浓度点的标准系列，丁基黄原酸的质量浓度分别为1.0 μg/L、2.0 μg/L、5.0 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L、50.0 μg/L和100 μg/L，每毫升标准系列溶液中加入10.0 μl内标使用液（1.0 mg/L），使内标的质量浓度为10.0 μg/L，贮存在棕色样品瓶中。

将标准系列溶液按浓度由低到高的顺序依次进样，以丁基黄原酸的峰面积（或峰高）与内标物的峰面积（或峰高）比值和内标物浓度的乘积为纵坐标，标准系列溶液中丁基黄原酸的质量浓度为横坐标，绘制校准曲线，回归方程按公式（1）计算。丁基黄原酸的线性范围、校准曲线及相关系数为 $y=11.1069x-2.16609$ ， $r=0.999$ ，见图26。

$$y = a + bx \quad (1)$$

式中：

y ——丁基黄原酸和内标物的峰面积（或峰高）的比值和内标物浓度的乘积；

a ——校准曲线截距；

b ——校准曲线斜率；

x——丁基黄原酸的浓度， $\mu\text{g/L}$ 。

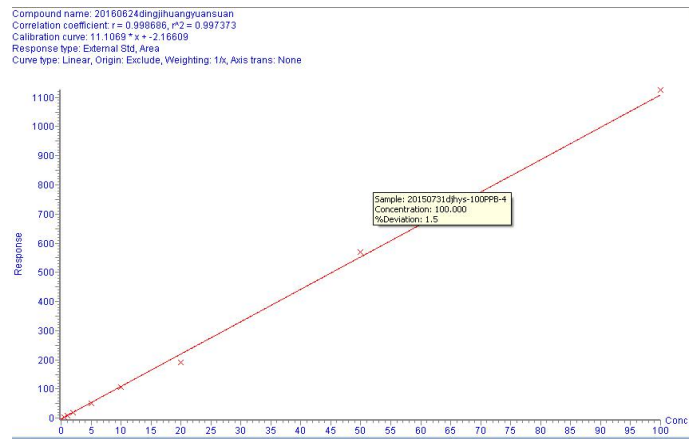


图 26 丁基黄原酸测定校准曲线

5.7.6 标准样品谱图

丁基黄原酸和内标物的总离子流图、质谱图，见图27。

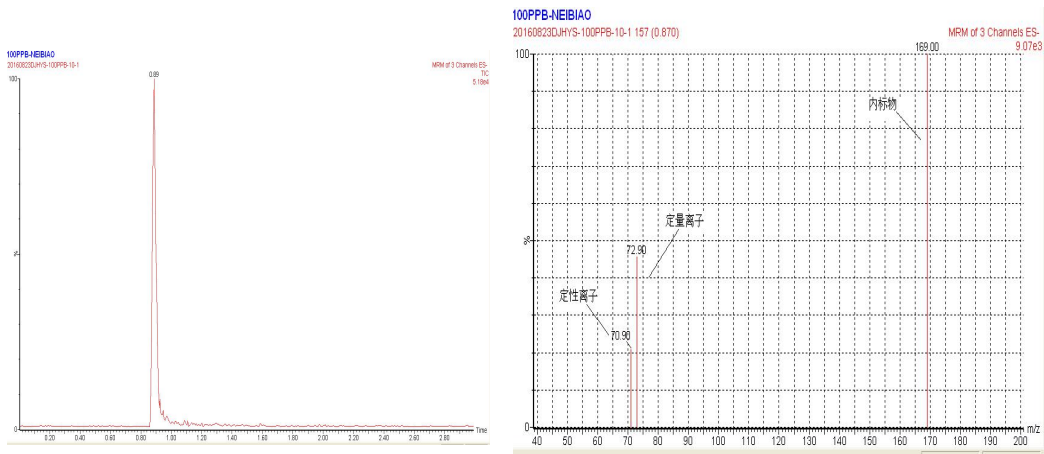


图 27 丁基黄原酸和内标物的总离子流图和质谱图

5.7.7 方法检出限的确定方法

按照《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱-质谱法》样品分析的全部步骤，对样品进行加标，然后重复 7 次平行测定，计算 7 次平行测定的标准偏差和方法检出限。按公式

$$\text{MDL} = t_{(n-1,0.99)} \times S \text{ 计算检出限。如果连续分析 7 个样品，在 99\% 的置信区间，此时 } t(6,0.99) = 3.143)$$

其中：

MDL—方法检出限；

$t(n-1,0.99)$ —为置信度为 99%、自由度为 $n-1$ 时的 t 值；

n—为样品的平行测定次数；

S—n次平行测定的标准偏差。

取丁基黄原酸标准溶液浓度为1.0 μg/L，按照标准方法的分析步骤平行测定7次，计算7次平行测定的标准偏差和方法检出限。得出方法的检出限和测定下限见表14。

表 14 方法检出限、测定下限测试数据表

平行样品编号		试样 (μg/L)
		丁基黄原酸
测定结果 (μg/L)	1	1.02
	2	0.89
	3	0.88
	4	0.96
	5	0.94
	6	1.03
	7	0.88
平均值 \bar{x}_i (μg/L)		0.94
标准偏差 s_i (μg/L)		0.064
t 值		3.143
检出限 (μg/L)		0.2
测定下限 (μg/L)		0.8

5.7.8 精密度和准确度的确定方法

分别对高、中、低浓度加标水样做6次平行测定，考察方法精密度和准确度，水样选取金矿下游地表水，尾矿浸提废水，污水厂废水，其中尾矿浸提废水中丁基黄原酸浓度为2.83 μg/L，其他水样均未检出。测定结果见表14~表19。实验室内相对标准偏差分别为地表水5.4%~10.1%，尾矿浸提废水1.7%~6.3%，污水厂废水1.8%~8.1%，说明方法的精密度良好。加标回收率地表水87.2%~98.6%，尾矿浸提废水77.5%~99.3%，污水厂废水78.8%~99.4%，说明方法的准确度良好。具体测试数据见表15-表20。

表 15 精密度测试数据（地表水）

平行号		试样		
		1.0 (μg/L)	10.0 (μg/L)	50.0 (μg/L)
测定结果 (μg/L)	1	0.83	9.09	51.8
	2	0.75	9.14	46.5

	3	0.91	10.2	50.4
	4	1.01	10.1	48.2
	5	0.84	9.27	46.4
	6	0.89	10.6	52.6
平均值 \bar{x}_i ($\mu\text{g/L}$)		0.87	9.71	49.3
标准偏差 S_i ($\mu\text{g/L}$)		0.088	0.621	2.676
相对标准偏差 RSD (%)		10.1	6.4	5.4

表 16 精密度测试数据（尾矿浸提废水）

平行号		试样		
		20.0 ($\mu\text{g/L}$)	100 ($\mu\text{g/L}$)	500 ($\mu\text{g/L}$)
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	17.8	99.5	494
	2	16.9	97.0	496
	3	18.9	104.1	509
	4	20.3	98.1	495
	5	18.0	95.3	511
	6	18.1	95.6	493
平均值 \bar{x}_i ($\mu\text{g/L}$)		18.3	98.2	499
标准偏差 S_i ($\mu\text{g/L}$)		1.154	3.279	8.317
相对标准偏差 RSD (%)		6.3	3.3	1.7

表 17 精密度测试数据（污水厂废水）

平行号		试样		
		20.0 ($\mu\text{g/L}$)	100 ($\mu\text{g/L}$)	500 ($\mu\text{g/L}$)
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	15.6	98.3	490
	2	18.1	93.7	494
	3	14.9	92.2	491
	4	14.7	95.1	503
	5	15.2	103	512
	6	16.1	94.8	493
平均值 \bar{x}_i ($\mu\text{g/L}$)		15.8	96.2	497
标准偏差 S_i ($\mu\text{g/L}$)		1.277	3.987	8.744
相对标准偏差 RSD (%)		8.1	4.1	1.8

表 18 实际样品加标测试数据（地表水）

平行号	实际样品 1
-----	--------

		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	0	0.83	0	9.09	0	51.8
	2	0	0.75	0	9.14	0	46.5
	3	0	0.91	0	10.2	0	50.4
	4	0	1.01	0	10.1	0	48.2
	5	0	0.84	0	9.27	0	46.4
	6	0	0.89	0	10.6	0	52.6
平均值 \bar{x}_i 、 \bar{y}_i ($\mu\text{g/L}$)		0	0.87	0	9.71	0	49.3
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		1.0		10.0		50.0	
加标回收率 P_i (%)		87.2		97.1		98.6	

表 19 实际样品加标测试数据 (尾矿浸提废水)

平行号		实际样品 2					
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	2.85	17.8	2.85	99.5	2.85	494
	2	2.80	16.9	2.80	97.0	2.80	496
	3	2.68	18.9	2.68	104	2.68	509
	4	2.92	20.3	2.92	98.1	2.92	495
	5	2.75	18.0	2.75	95.3	2.75	511
	6	2.95	18.1	2.95	95.6	2.95	493
平均值 \bar{x}_i 、 \bar{y}_i ($\mu\text{g/L}$)		2.83	18.3	2.83	98.2	2.83	499
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		20.0		100		500	
加标回收率 P_i (%)		77.5		95.4		99.3	

表 20 实际样品加标测试数据 (污水厂废水)

平行号		实际样品 3					
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品
测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	0	15.6	0	98.3	0	490
	2	0	18.1	0	93.7	0	494
	3	0	14.9	0	92.2	0	491
	4	0	14.7	0	95.1	0	503
	5	0	15.2	0	103	0	512
	6	0	16.1	0	94.8	0	493
平均值 \bar{x}_i 、 \bar{y}_i ($\mu\text{g/L}$)		0	15.8	0	96.2	0	497
加标量 μ ($\mu\text{g/L}$)		20.0		100		500	

加标回收率 P_i (%)	78.8	96.2	99.4
-----------------	------	------	------

5.8 结果计算与表示

5.8.1 丁基黄原酸的定性分析

按照表5中确定的丁基黄原酸的母离子和子离子进行检测，在相同实验条件下，试样中丁基黄原酸的保留时间与标准样品中丁基黄原酸的保留时间相对偏差的绝对值应小于2.5%；且待测样品中定性离子的相对丰度 (K_{sam} 见公式2) 与浓度接近的标准溶液中对应的定性离子相对丰度 (K_{std} 见公式3) 进行比较，所得偏差在表21规定的最大允许偏差范围内，则可判定为样品中存在丁基黄原酸。

$$K_{sam} = \frac{A_2}{A_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中：

- K_{sam} ——样品中丁基黄原酸定性离子的相对丰度，%；
- A_2 ——样品中丁基黄原酸定性离子对的峰面积（或峰高）；
- A_1 ——样品中丁基黄原酸定量离子对的峰面积（或峰高）。

$$K_{std} = \frac{A_{std2}}{A_{std1}} \times 100\% \quad (3)$$

式中：

- K_{std} ——标准样品中丁基黄原酸定性离子的相对丰度，%；
- A_{std2} ——标准样品中丁基黄原酸定性离子对的峰面积（或峰高）；
- A_{std1} ——标准样品中丁基黄原酸定量离子对的峰面积（或峰高）。

表 21 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

标准样品中丁基黄原酸定性离子的相对丰度 (K_{std}) /%	样品中丁基黄原酸定性离子的相对丰度 (K_{sam}) 最大允许偏差/%
$K_{std} > 50$	±20%
$20 < K_{std} \leq 50$	±25%
$10 < K_{std} \leq 20$	±30%
$K_{std} \leq 10$	±50%

5.8.2 丁基黄原酸的定量分析

丁基黄原酸经定性鉴别后，根据定量离子的峰面积（或峰高），用内标法计算。按公式（4）计算样品中丁基黄原酸的质量浓度（ $\mu\text{g/L}$ ）：

$$\rho = \rho_1 \times f \quad (4)$$

式中：

ρ ——样品中丁基黄原酸的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

ρ_1 ——从校准曲线上查得的样品中丁基黄原酸的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

f ——稀释倍数。

5.8.3 结果表示

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

5.9 质量保证和质量控制

现场采样按照按照HJ/T 91地表水和污水监测技术规范、HJ/T 164地下水环境监测技术规范的相关规定进行样品的采集和保存，从空白分析、校准、平行样和回收率指标等方面制订了质量保证和质量控制的建议和要求。

5.9.1 空白试验

每次分析至少测定一个实验室空白和一个全程序空白，实验室空白和全程序空白中检出丁基黄原酸的浓度不得超过方法的检出限。

每批样品应至少测定5%的空白样品，样品数量少于10个时，应至少测定一个实验室空白样品，其测定结果应低于方法检出限。

5.9.2 校准有效性检查

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

根据到目前为止发布的液相色谱质谱相关标准规定的校准曲线的相关系数 r 均 ≥ 0.995 ，曲线中间校核点测定结果与校准曲线相应点浓度的相对误差均 $\leq 20\%$ 。经过6家实验室验证，相关系数 r 的范围在0.996~0.999之间，均满足校准曲线的相关系数 $r \geq 0.995$ 的要求。6家实验室曲线中间校核点测定过程中，测定结果与校准曲线相应点浓度的相对误差在3.4%~8.1%之间，满足测定结果与校准曲线相应点浓度的相对误差 $\leq 20\%$ 。

5.9.3 精密度控制

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

根据到目前为止发布的液相色谱质谱相关标准规定平行双样测定结果的相对偏差均 $\leq 20\%$ ，经过6家实验室精密度实验验证，相对标准偏差 $\leq 10.8\%$ ，均满足平行双样测定结果的相对偏差要求。

5.9.4 准确度控制

每批样品应测定5%的基体加标样品，样品数量少于10个时，应至少测定一个基体加标

样品，加标回收率应在70%~120%之间。

根据到目前为止发布的液相色谱质谱相关标准规定的加标回收率范围均为70%~120%之间，经过6家实验室精密度实验验证，加标回收率的范围在77.2%~113%之间，均满足加标回收率在70%~120%之间要求。

6 方法验证

6.1 方法验证方案

6.1.1 验证单位及验证人员情况

本标准按照《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》HJ 168-2010的规定，选择6家有资质的实验室进行方法验证，参与方法验证的实验室分别是1.辽宁省环境监测实验中心、2.成都市环境监测中心站石化园区监测站、3.四川省环境监测总站、4.重庆市生态环境监测中心、5.辽宁省海洋水产科学研究院、6.江苏省环境监测中心。具体验证实验室及验证人员的基本情况见表22。

表 22 参与方法验证的实验室、验证人员的基本情况

单位	姓名	性别	年龄	职称或职务	所学专业	从事分析工作年限
辽宁省环境监测实验中心	徐天赐	男	31	工程师	分析化学	4年
成都市环境监测中心站石化园区监测站	张晓旭	男	27	工程师	环境科学与工程	4年
四川省环境监测总站	谢永洪	女	37	高级工程师	现代分离分析	8年
	潘乐丹	女	26	助理工程师	环境工程	4年
重庆市生态环境监测中心	郑璇	女	38	高级工程师	物理化学	8年
辽宁省海洋水产科学研究院	刘桂英	女	37	副研究员	分析化学	8年
江苏省环境监测中心	张蓓蓓	女	35	高级工程师	分析化学	10年
	史震宇	男	32	工程师	环境科学	6年

6.1.2 方法验证方案

按照《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010）的规定，组织6家有资质的实验室进行方法验证。根据影响方法的精密度和准确度的主要因素和数理统计学的要

求，编制方法验证方案，确定样品类型、含量水平、分析人员、分析设备、分析时间及重复测试次数等，验证单位按HJ 168-2010要求完成方法验证报告。方法验证报告主要包括检出限、精密度、准确度等验证数据。

(1) 分析条件

a、液相色谱仪参考条件

流动相：流动相A 乙腈-流动相B 水(氨水调pH≈9.5，现用现配)，

梯度洗脱程序见表23。

柱温：40℃

进样体积：10 μl

流速：0.2 ml/min

表 23 液相色谱流动相梯度洗脱程序

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	20	80
1.5	20	80
2.5	90	10
3.5	90	10
4	20	80
6	20	80

b、质谱仪参考条件

负离子模式 (ESI)，离子化电压：3000 V，离子源加热气体温度：120℃，检测方式为多反应监测 (MRM)，具体条件见表 24。

注：对于不同质谱仪器，参数可能存在差异，测定前应将质谱参数优化到最佳。

表 24 目标化合物的多反应监测条件

目标化合物	检测离子对 (m/z)	驻留时间 (ms)	锥孔电压 (V)	碰撞电压 (V)
丁基黄原酸	148.9→72.9*	20	22	11
	148.9→70.9	20	22	17
2,4-二氯苯氧乙酸- ¹³ C ₆	227.0→169.0*	20	15	10

注：带*的为定量离子对

(2) 标准系列配制

取一定量丁基黄原酸标准使用液 (1 mg/L) 于水中，制备5个浓度点的标准系列，丁基黄原酸的质量浓度分别为1.0 μg/L、5.0 μg/L、10.0 μg/L、50.0 μg/L和100 μg/L，每毫升标准系列溶液中加入10.0 μl内标标准使用液 (1.0 mg/L)，使内标的质量浓度为10.0 μg/L，贮存

在棕色样品瓶中，校准曲线需当天配制。

在仪器最佳工作条件下，由低浓度到高浓度依次对标准系列溶液进样，以丁基黄原酸的峰面积（或峰高）与内标物的峰面积（或峰高）比值和内标物浓度的乘积为纵坐标，标准系列溶液中丁基黄原酸的质量浓度为横坐标，绘制校准曲线，回归方程见公式（1）。

$$y = a + bx \quad (1)$$

式中：

y ——丁基黄原酸和内标物的峰面积（或峰高）的比值和内标物浓度的乘积；

a ——校准曲线截距；

b ——校准曲线斜率；

x ——丁基黄原酸的浓度， $\mu\text{g/L}$ 。

（3）检出限

采用 $1.0 \mu\text{g/L}$ 的浓度样品平行测定7次以上后计算平均值、标准偏差、相对标准偏差、检出限等各项参数。检出限按公式（2）计算。

$$MDL = t_{(n-1,0.99)} \times S \quad (2)$$

式中：

MDL——方法检出限；

t ——自由度为 $n-1$ ，置信度为99%时的 t 分布（单侧）；

n ——样品的平行测定次数；

S —— n 次平行测定的标准偏差。

（4）精密度

分别对高、中、低浓度水样或加标水样（包括地表水和代表性废水）做6次平行测定，其中地表水中丁基黄原酸加标浓度分别为 $1.0 \mu\text{g/L}$ 、 $10.0 \mu\text{g/L}$ 、 $50.0 \mu\text{g/L}$ ，污水厂废水和代表性废水中丁基黄原酸加标浓度分别为 $20.0 \mu\text{g/L}$ 、 $100 \mu\text{g/L}$ 、 $500 \mu\text{g/L}$ ，计算平均值、标准偏差及相对标准偏差。

（5）准确度

分别对高、中、低浓度水样或加标水样（包括地表水和代表性废水）做6次平行测定，其中地表水中丁基黄原酸加标浓度分别为 $1.0 \mu\text{g/L}$ 、 $10.0 \mu\text{g/L}$ 、 $50.0 \mu\text{g/L}$ ，污水厂废水和代表性废水中丁基黄原酸加标浓度分别为 $20.0 \mu\text{g/L}$ 、 $100 \mu\text{g/L}$ 、 $500 \mu\text{g/L}$ ，计算平均值、相对误差、加标回收率。

标准编制组对各验证实验室的数据进行汇总统计分析，计算其相对误差或加标回收率的均值及变动范围。

6.2 方法验证过程

6.2.1 方法验证的主要工作过程

(1) 通过筛选确定方法验证单位。按照方法验证方案准备实验用品，与验证单位确定验证时间。在方法验证前，参加验证的操作人员应熟悉和掌握方法原理、操作步骤及流程。方法验证过程中所用的试剂和材料、仪器和设备及分析步骤应符合方法相关要求。6家验证实验室依据《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱-质谱法》验证方案，进行精密度、准确度验证实验，同时进行了检出限的相关实验。确定验证报告提交时间。验证过程中遇到问题及时沟通、交流和解决。

(2) 《方法验证报告》见附1。

6.2.2 方法验证数据的取舍

(1) 检出限：由于不同品牌、不同型号液相色谱/质谱仪灵敏度可能会有差异，本标准在进行方法验证时，尽可能选择了覆盖市场的不同品牌液质联用仪，包括 Waters、Agilent、AB 以及 Thermo，获得的数据能够全面反映各种品牌型号仪器的检出限水平，将6家实验室测定结果的最大值，确定为本方法的检出限。

(2) 以本方法确定的4倍检出限为目标物的测定下限。

(3) 本课题组在进行方法验证报告数据统计时，采用 GB/T 6379.2-2004 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度）中的柯克伦检验和格拉布斯检验，数据未出现离群值，所有数据全部采用，未进行取舍。

(4) 方法精密度和准确度统计结果能满足方法特性指标要求。

6.3 方法验证结论

本课题组在进行方法验证报告数据统计时，所有数据全部采用，未进行取舍。6家实验室验证结果表明：

(1) 检出限及测定下限：《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》中目标化合物检出限数据进行汇总，该方法检出限为0.1 $\mu\text{g/L}$ ~0.2 $\mu\text{g/L}$ ，测定下限为0.4 $\mu\text{g/L}$ ~0.8 $\mu\text{g/L}$ ，测定下限小于0.005 mg/L，方法检出限满足环境质量标准对丁基黄原酸的限值规定。

(2) 对地表水，尾矿浸提废水，污水厂废水《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》低、中、高三种浓度丁基黄原酸的测定，实验室内相对标准偏差分别为地表水 5.4%~10.1%，尾矿浸提废水 1.7%~6.3%，污水厂废水 1.8%~8.1%，地表水中 1.0 $\mu\text{g/L}$ 、10.0 $\mu\text{g/L}$ 、50.0 $\mu\text{g/L}$ 测定方法精密度，实验室间相对标准偏差分别为 2.3%、1.9%、1.0%；

重复性限分别为 0.3 μg/L、1.4 μg/L、6.4 μg/L；再现性限分别为 0.3 μg/L、1.4 μg/L、6.4 μg/L；尾矿废水中 20.0 μg/L、100 μg/L、500 μg/L 测定方法精密度，实验室间相对标准偏差分别为 6.1%、1.5%、0.5%；重复性限分别为 3.8 μg/L、12.3 μg/L、31.9 μg/L；再现性限分别为 4.8 μg/L、12.3 μg/L、31.9 μg/L；污水厂废水中 20.0 μg/L、100 μg/L、500 μg/L 测定方法精密度，实验室间相对标准偏差分别为 7.3%、0.9%、0.9%；重复性限分别为 3.8 μg/L、14.8 μg/L、31.2 μg/L；再现性限分别为 5.5 μg/L、14.8 μg/L、31.2 μg/L。

(3) 对地表水，尾矿浸提废水，污水厂废水《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》中丁基黄原酸进行实际样品的测试，实验室内地表水样品加标回收率在87.2%~98.6%，实验室间低、中、高浓度加标回收率均值为89.5%、95.2%、98.0%，实验室间加标回收率相对偏差为2.1%、1.8%、1.0%，加标回收率最终值(89.5±4.2)%、(95.2±3.6)%、(98.0±2.0)%；实验室内尾矿浸提废水加标回收率在77.5%~99.3%，实验室间低、中、高加标回收率均值为83.5%、94.7%、99.0%，实验室间加标回收率相对偏差为5.8%、1.6%、0.5%；加标回收率最终值(83.5±11.5)%、(94.7±3.2)%、(99.0±1.0)%；实验室内污水厂废水样品加标回收率在78.8%~99.4%，实验室间低、中、高加标回收率均值为99.1%、97.3%、99.5%，实验室间加标回收率相对偏差为7.2%、0.9%、0.8%，加标回收率最终值(99.1±14.5)%、(97.3±1.8)%、(99.5±1.7)%。

本方法各项特性指标均达到预期要求。

《方法验证报告》见附1。

7 对专家意见的落实情况

7.1 标准开题论证会专家意见的落实情况

2014年12月，在大连进行标准开题论证，论证委员会通过了该标准的开题论证。提出了具体修改意见和建议：

- 1、对国内环境监测系统实验室液相色谱质谱仪配备情况进行调研；
- 2、补充方法技术路线内容；
- 3、开展样品保存条件的研究实验；
- 4、针对黄药进行全扫描，确定干扰物质，定量方法为内标法；
- 5、选择覆盖质量标准和排放标准浓度范围的地表水和有代表性企业样品进行方法验证，多家实验室验证考虑仪器的覆盖性；
- 6、在确认实验条件时，注意是否存在样品基体效应。

针对上述专家意见，通过文献查阅及相关试验验证，对专家意见的落实情况如下：

- 1、对国内环境监测系统实验室液相色谱质谱仪配备情况进行调研；
见编制说明 5.5.1。
- 2、补充方法技术路线内容；
见编制说明 4.2。
- 3、开展样品保存条件的研究实验；
见编制说明 5.6.2。
- 4、针对黄药进行全扫描，确定干扰物质，定量方法为内标法；
黄药全扫描见编制说明 5.3.1；
内标法相关内容见 5.4.3 和 5.8.2。
- 5、选择覆盖质量标准和排放标准浓度范围的地表水和有代表性企业样品进行方法验证，多家实验室验证考虑仪器的覆盖性；
选择了三种实际水样进行验证，包括：地表水、尾矿浸提废水和污水厂废水；
验证仪器品牌包括：Waters, Agilent, AB 和赛默飞。
- 6、在确认实验条件时，注意是否存在样品基体效应。
选择了三种实际水样进行实际样品加标试验，加标回收率均满足 70%~120%之间，实验表明可以通过调节水样 pH 至 9~10 减少基体效应。

7.2 标准中期论证会专家意见的落实情况

2016 年 11 月，在大连进行标准中期论证，专家组听取了标准主编单位所作的标准文本和标准编制说明及方法验证方案介绍，形成意见包括：

- 1、补充黑臭水体水样实验，确定基体的影响；
- 2、样品保存时间补充 4 小时、8 小时保存实验；
- 3、验证方案里精密度和准确度，采用地表水加标浓度为 1.0 $\mu\text{g/L}$ 、10.0 $\mu\text{g/L}$ 、50.0 $\mu\text{g/L}$ ，生活污水和典型废水加标浓度 20.0 $\mu\text{g/L}$ 、100.0 $\mu\text{g/L}$ 、500.0 $\mu\text{g/L}$ 。

针对上述专家意见，通过文献查阅及相关试验验证，对专家意见的落实情况如下：

- 1、补充黑臭水体水样实验，确定基体的影响；
补充了污水厂入口水样分析，并进行了 6 家实验室间验证，加标回收率范围 90%~115%，基体影响不明显。
- 2、样品保存时间补充 4 小时、8 小时保存实验；
见编制说明 5.6.2。
- 3、验证方案里精密度和准确度采用地表水加标浓度为 1.0 $\mu\text{g/L}$ 、10.0 $\mu\text{g/L}$ 、50.0 $\mu\text{g/L}$ ，生活污水和典型废水加标浓度 20.0 $\mu\text{g/L}$ 、100.0 $\mu\text{g/L}$ 、500.0 $\mu\text{g/L}$ 。
见编制说明 6.1.2。

7.3 标准征求意见稿技术审查会专家意见的落实情况

2017 年 8 月 24 日，在北京进行了标准征求意见稿技术审查会，专家组听取了标准主编

单位所作的标准文本和标准编制说明介绍，形成意见包括：

- 1、补充 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 对样品保存的影响，根据实验结果确定样品的合理保存期；
- 2、完善典型过滤膜材对水样中丁基黄原酸测定的影响实验，推荐最佳过滤材质；
- 3、按照《环境监测分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010），《环境保护标准出版技术指南》（HJ 565-2010）的相关要求完善标准文本和编制说明。

针对上述专家意见，通过文献查阅及相关试验验证，对专家意见的落实情况如下：

- 1、补充 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 对样品保存的影响，根据实验结果确定样品的合理保存期；
 - (1) 向 40 ml 加标浓度为 5.0 $\mu\text{g/L}$ 的碧流水样中加入 10 mg $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ，调节 pH 9~10，4℃冷藏避光保存，分别测定 6 天的保存效果实验，测定时发现 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 的加入有助于样品保存，但是使色谱峰形变差，见图 14。查阅相关文献，发现原因是由于 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 与内标物 2,4-二氯苯氧乙酸- $^{13}\text{C}_6$ 发生化学反应所导致，因此保存实验不适合加入 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 。具体见编制说明 5.6.2。
 - (2) 对低浓度 5 $\mu\text{g/L}$ 丁基黄原酸水样进行保存效果实验，将水样 pH 调至 9~10，4℃冷藏避光保存，平行测定 6 次，取平均值，发现低浓度水样超过 48 h 后，降解超过 20%，因此建议将水样调节至 pH 9~10，于 4℃冷藏避光保存，48 h 内分析完毕。
- 2、完善典型过滤膜材对水样中丁基黄原酸测定的影响实验，推荐最佳过滤材质；

测定了 0.22 μm 玻璃纤维滤膜和亲水性 PTFE 滤膜对水样中丁基黄原酸测定的影响实验，最终滤膜推荐孔径为 0.22 μm 的亲水性聚丙烯滤膜、玻璃纤维滤膜、亲水性 PTFE 滤膜或其它等效材质滤膜。具体见编制说明 5.5.3。
- 3、按照《环境监测分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010），《环境保护标准出版技术指南》（HJ 565-2010）的相关要求完善标准文本和编制说明。

完善了标准文本和编制说明中的文字表述以及格式。

8 与开题报告的差异说明

本方法标准的主要技术内容与开题报告的设想之间的差异主要有以下两点：

- (1) 开题报告中拟选用的定量方法为外标法，后因液相色谱质谱法的特殊性，且为保证每次测定结果的准确性，故最终选用 2,4-二氯苯氧乙酸- $^{13}\text{C}_6$ 做内标的内标法定量。
- (2) 开题报告中液相条件选用的等度洗脱，后为提高结果准确性，消除实际样品的杂质干扰，最终选用梯度洗脱。

9 参考文献

- [1] 张萌，柳建设. 臭氧氧化浮选药剂丁基黄原酸钾反应动力学研究 [J]. 环境科学学

- 报, 2011, 31(3):511—517.
- [2] 鞠海燕, 黄春文, 罗文海等. 金属矿山酸性废水危害及治理技术的现状与对策[J]. 环境污染与防治, 2008, 23(2):41—44.
- [3] 张甫英. 浮选剂丁基黄原酸钠对草鱼早期发育阶段的毒性效应[J]. 水生生物学报, 1995, 19(2):104—109.
- [4] GB/T 5750.8/43—2006 丁基黄原酸铜试剂亚铜分光光度法[S]. 北京:中国标准出版社, 2007.
- [5] 《水质丁基黄原酸的测定紫外分光光度法》(HJ 756-2015) [S].
- [6] 贺心然, 曹雷, 展卫红等. 萃取比色法测定水中的丁基黄原酸盐[J]. 污染防治技术. 2007, 20
- [7] 陈燮. 浮选尾矿水中微量丁基黄原酸钠的测定[J]. 环境保护. 1995, (10)
- [8] 俞永庆. 离子选择性电极测定选矿“废水”中的微量丁基黄原酸盐[J]. 化学通报, 1982, 148(3):20-21
- [9] 代岚. 阴极溶出伏安法测定黄原酸盐[J]. 辽宁化工. 2003, 32(4)
- [10] 刘景泰, 李振国. 超高效液相色谱—质谱法测定地表水中丁基黄原酸[J]. 中国环境监测, 2012, 28(5):76—78.
- [11] 彭涛, 王超, 吕怡兵等. 超高效液相色谱法快速检测地表水中丁基黄原酸[J]. 中国环境监测, 2013, 29(2):65—68.
- [12] 杨丽莉, 王美飞, 李娟等. 顶空-气象色谱-质谱法测定水中痕量丁基黄原酸[J]. 中国环境监测, 2012, 28(5):64—66.
- [13] 杨坪. 环境样品分析新方法及其应用[M]. 北京:科学出版社, 2010:149—151.

附 1

方法验证报告

方法名称 水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱-质谱法

项目主编单位： 大连市环境监测中心

验证单位： 辽宁省环境监测实验中心、成都市环境监测中心站石化园区监测站、四川省环境监测总站、重庆市生态环境监测中心、辽宁省海洋水产科学研究院、江苏省环境监测中心

项目负责人及职称： 付晓燕 工程师

通讯地址： 大连市沙河口区连山街58号 电话： 13591336138

报告编写人及职称： 付晓燕 工程师

报告日期： 2017 年 5 月 18 日

1 原始测试数据

本标准按照《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》HJ 168-2010 的规定，选择 6 家有资质的实验室进行方法验证，参与方法验证的实验室分别是 1.辽宁省环境监测实验中心、2.成都市环境监测中心站石化园区监测站、3.四川省环境监测总站、4.重庆市生态环境监测中心、5.辽宁省海洋水产科学研究院、6.江苏省环境监测中心(以下编号同)。具体验证实验室及验证人员的基本情况，见附表 1~3。

1.1 实验室基本情况

表 1 参加验证的人员情况登记表

单位	姓名	性别	年龄	职称或职务	所学专业	从事分析工作年限
辽宁省环境监测实验中心	徐天赐	男	31	工程师	分析化学	4 年
成都市环境监测中心站石化园区监测站	张晓旭	男	27	工程师	环境科学与工程	4 年
四川省环境监测总站	谢永洪	女	37	高级工程师	现代分离分析	8 年
	潘乐丹	女	26	助理工程师	环境工程	4 年
重庆市生态环境监测中心	郑璇	女	38	高级工程师	物理化学	8 年
辽宁省海洋水产科学研究院	刘桂英	女	37	副研究员	分析化学	8 年
江苏省环境监测中心	张蓓蓓	女	35	高级工程师	分析化学	10 年
	史震宇	男	32	工程师	环境科学	6 年

表 2 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	仪器出厂编号	性能状况	验证单位
高效液相色谱质谱联用仪	Waters UPLC-XEVO-TQD	QCA332	良好	辽宁省环境监测实验中心
液相色谱三重四极杆联用仪	Agilent Triple Quad LC/MS/MS6460	SG16167303	良好	成都市环境监测中心站 石化园区监测站
液相色谱质谱仪	LC-20A/4000Q TRAP	L20234813588/24585101103	良好	四川省环境监测总站
高效液相色谱质谱联用仪	TSQ QUANTUM ACCESS AX	TQU02806	良好	重庆市生态环境监测中心
超高效液相色谱质谱联用仪	Waters UPLC-XEVO-TQD	QCA370	良好	辽宁省海洋水产科学研究院

高效液相色谱 质谱联用仪	AB QTRAP 5500	AU28871203	良好	江苏省环境监测 中心
-----------------	---------------	------------	----	---------------

表 3 使用试剂及溶剂登记表

名称	生产厂家、规格	纯化处理方法	验证单位
乙腈	Sigma、HPLC 级	/	辽宁省环境监测实验中心
氨水	天津市科密欧化学试剂 有限公司、优级纯	/	辽宁省环境监测实验中心
乙腈	Honeywell、HPLC 级	/	成都市环境监测中心站 石化园区监测站
氨水	成都市科龙化工试剂厂、 优级纯	/	成都市环境监测中心站 石化园区监测站
乙腈	Fisher Scientific、HPLC 级	/	四川省环境监测总站
氨水	天津市科密欧化学试剂 有限公司、优级纯	/	四川省环境监测总站
乙腈	DUSHKAN、HPLC 级	/	重庆市生态环境监测中心
氨水	天津市科密欧化学试剂 有限公司、优级纯	/	重庆市生态环境监测中心
乙腈	Fisher、HPLC 级	/	辽宁省海洋水产科学研究院
氨水	Fisher、质谱级	/	辽宁省海洋水产科学研究院
乙腈	Merck、农残级	/	江苏省环境监测中心
氨水	天津市科密欧化学试剂 有限公司、优级纯	/	江苏省环境监测中心

1.2 方法检出限、测定下限测试数据

下表为 6 家实验室对《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》中目标化合物检出限、测定下限数据进行汇总，其结果见附表 4。

表 4 方法检出限、测定下限汇总表

单位：μg/L

平行样品编号		实验室号					
		1	2	3	4	5	6
测定结果	1	1.08	1.06	1.01	1.04	1.02	1.05
	2	1.07	1.01	0.96	0.95	1.05	1.02
	3	1.06	1.05	1.04	1.05	1.08	0.95
	4	0.97	0.94	1.05	0.94	0.96	0.93
	5	0.94	0.96	0.97	0.98	0.94	1.04
	6	0.98	0.98	0.95	0.93	0.97	0.94
	7	0.92	0.91	1.02	0.99	0.92	0.99
平均值		1.00	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
标准偏差		0.066	0.056	0.040	0.052	0.060	0.049
t 值		3.143					
检出限 (μg/L)		0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2

测定下限 (µg/L)	0.8	0.8	0.4	0.8	0.8	0.8
-------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----

结论：通过对 6 家实验室对《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》中目标化合物检出限数据进行汇总，该方法检出限为 0.1 µg/L~0.2 µg/L，测定下限为 0.4 µg/L~0.8 µg/L，测定下限小于 0.005 mg/L，方法检出限满足环境质量标准对丁基黄原酸的限值规定。方法检出限选用 6 家实验室中测定的最大值，即 0.2 µg/L，测定下限为 0.8 µg/L。

1.3 方法精密度测试原始数据

下表为6家实验室对地表水，尾矿浸提废水，污水厂废水《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》中丁基黄原酸精密度数据进行汇总，其结果见附表5~附表7。

表 5 地表水加标精密度测试原始数据

实验室编号	加标量 (µg/L)	第一次测定 (µg/L)	第二次测定 (µg/L)	第三次测定 (µg/L)	第四次测定 (µg/L)	第五次测定 (µg/L)	第六次测定 (µg/L)	平均值 \bar{x}_i (µg/L)	标准偏差 s_i (µg/L)	相对标准偏差 RSD (%)
1	1.0	0.88	0.79	0.94	1.03	0.80	0.94	0.90	0.092	10.3
	10.0	9.03	9.06	9.24	9.85	10.2	10.3	9.60	0.554	5.8
	50.0	47.8	51.5	52.4	46.2	47.4	51.6	49.5	2.65	5.3
2	1.0	1.03	0.84	0.87	1.01	0.90	0.78	0.91	0.098	10.8
	10.0	9.24	9.11	9.28	9.45	10.2	8.75	9.34	0.483	5.2
	50.0	51.2	49.6	44.6	50.7	48.5	50.6	49.2	2.450	5.0
3	1.0	0.81	0.83	0.86	1.07	0.96	0.94	0.91	0.098	10.7
	10.0	9.71	9.7	9.25	10.1	10.0	10.2	9.83	0.348	3.5
	50.0	47.7	47.5	49.1	47.5	47.9	49.1	48.1	0.763	1.6
4	1.0	1.02	0.83	0.85	0.75	0.89	0.81	0.86	0.092	10.7
	10.0	9.26	9.17	9.56	9.08	10.5	9.45	9.50	0.519	5.5
	50.0	46.7	51.9	47.8	46.6	51.2	48.5	48.8	2.27	4.6
5	1.0	0.92	0.83	0.79	1.05	0.83	0.88	0.88	0.093	10.6
	10.0	9.12	9.07	9.02	9.78	9.85	10.3	9.52	0.529	5.6
	50.0	48.5	52.1	49.6	45.7	46.9	51.6	49.1	2.540	5.2
6	1.0	1.03	0.79	0.89	0.93	0.83	1.01	0.91	0.096	10.5
	10.0	9.11	9.15	9.01	9.04	10.2	9.58	9.35	0.466	5.0
	50.0	51.8	47.9	51.9	48.2	45.9	49.9	49.3	2.370	4.8

通过 6 家实验室对地表水《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》中丁基黄原酸检

测精密度进行汇总，1.0 µg/L 浓度标准溶液测试的标准偏差为 0.092 µg/L~0.098 µg/L，相对标准偏差为 10.3%~10.8%；10.0 µg/L 浓度标准溶液测试的标准偏差为 0.348 µg/L~0.554 µg/L，相对标准偏差为 3.5%~5.8%；50.0 µg/L 浓度标准溶液测试的标准偏差为 0.763 µg/L~2.65µg/L，相对标准偏差为 1.6%~5.3%。

表 6 尾矿浸提废水加标精密度测试原始数据

实验室编号	加标量 (µg/L)	第一次测定 (µg/L)	第二次测定 (µg/L)	第三次测定 (µg/L)	第四次测定 (µg/L)	第五次测定 (µg/L)	第六次测定 (µg/L)	平均值 \bar{x}_i (µg/L)	标准偏差 s_i (µg/L)	相对标准偏差 RSD (%)
1	20.0	21.0	18.9	22.0	21.0	18.1	19.7	20.1	1.50	7.4
	100	96.8	99.1	92.1	104	96.3	102	98.3	4.14	4.2
	500	496	499	508	505	482	515	501	11.1	2.2
2	20.0	18.2	17.5	18.9	19.2	17.5	21.1	18.7	1.35	7.2
	100	94.5	98.6	101	97.2	96.5	86.6	95.7	4.97	5.2
	500	503	493	501	493	479	518	498	13.0	2.6
3	20.0	21.7	21.7	20.8	20.3	20.1	21.4	21.0	0.70	3.4
	100	102	100	95.4	102	102	101	100	2.47	2.5
	500	504	491	509	508	494	503	502	7.4	1.5
4	20.0	20.4	17.2	19.3	18.5	17.3	16.5	18.2	1.47	8.1
	100	95.2	92.1	102	94.9	93.5	101	96.5	4.08	4.2
	500	496	487	503	501	484	510	497	9.9	2.0
5	20.0	17.6	17.9	18.3	19.5	20.5	16.8	18.4	1.35	7.3
	100	98.9	94.2	100.0	95.6	92.3	103	97.3	4.00	4.1
	500	493	483	504	502	485	513	497	11.7	2.4
6	20.0	19.5	20.2	18.8	22.4	19.5	21.9	20.4	1.45	7.1
	100	95.6	91.2	92.1	104	105	94.8	97.1	5.96	6.1
	500	496	503	498	475	482	514	495	14.2	2.9

通过 6 家实验室对尾矿浸提废水《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》中丁基黄原酸检测精密度进行汇总，20.0 µg/L 浓度标准溶液测试的标准偏差为 0.7 µg/L~1.50 µg/L，相对标准偏差为 3.4%~8.1%；100 µg/L 浓度标准溶液测试的标准偏差为 2.47 µg/L~5.96µg/L，相对标准偏差为 2.5%~6.1%；500 µg/L 浓度标准溶液测试的标准偏差为 7.4 µg/L~14.2 µg/L，

相对标准偏差为 1.5%~2.9%。

表 7 污水厂废水加标精密度测试原始数据

实验室编号	加标量 (μg/L)	第一次测定 (μg/L)	第二次测定 (μg/L)	第三次测定 (μg/L)	第四次测定 (μg/L)	第五次测定 (μg/L)	第六次测定 (μg/L)	平均值 \bar{x}_i (μg/L)	标准偏差 s_i (μg/L)	相对标准偏差 RSD (%)
1	20.0	17.2	19.2	17.9	20.9	17.3	17.3	18.3	1.46	8.0
	100	104	91.8	95.3	92.1	108	93.7	97.3	6.63	6.8
	500	505	482	516	508	512	496	503	12.2	2.4
2	20.0	19.5	21.8	19.3	17.3	19.9	18.2	19.3	1.54	8.0
	100	92.8	98.6	103	91.2	102	94.6	97.0	4.91	5.1
	500	501	498	499	508	492	476	496	10.9	2.2
3	20.0	20.3	22.9	23.8	23.4	21.9	23.2	22.6	1.29	5.7
	100	97.0	94.8	93.6	90.6	99.4	99.0	95.7	3.39	3.5
	500	499	491	488	495	467	502	490	12.5	2.6
4	20.0	19.5	20.8	18.9	19.1	18.8	21.2	19.7	1.03	5.2
	100	95.6	94.8	103	93.2	105	96.8	98.1	4.78	4.9
	500	504	493	507	511	492	486	499	9.87	2.0
5	20.0	19.3	20.2	18.2	20.6	17.1	21.1	19.4	1.53	7.9
	100	92.3	105	96.2	93.5	107	94.2	98.0	6.33	6.5
	500	491	506	511	507	495	482	499	11.2	2.2
6	20.0	17.9	19.2	21.6	18.9	20.6	19.3	19.6	1.31	6.7
	100	103	95.6	98.5	92.6	104	92.8	97.8	4.96	5.1
	500	498	504	512	501	494	483	499	9.79	2.0

通过 6 家实验室对污水厂废水《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》中丁基黄原酸检测精密度进行汇总，20.0 μg/L 浓度标准溶液测试的标准偏差为 1.03 μg/L~1.53 μg/L，相对标准偏差为 5.2%~8.0%；100 μg/L 浓度标准溶液测试的标准偏差为 3.39 μg/L~6.63 μg/L，相对标准偏差为 3.5%~6.8%；500 μg/L 浓度标准溶液测试的标准偏差为 9.79 μg/L~12.52 μg/L，相对标准偏差为 2.0%~2.6%。

1.4 方法准确度测试原始数据

下表为 6 家实验室对地表水，尾矿浸提废水，污水厂废水《水质 丁基黄原酸的测定 液相

色谱质谱法》中丁基黄原酸精密度数据进行汇总，其结果见附表8~附表10。

表 8 地表水准确度测试原始数据

实验室编号	样品类型	第一次测定 (µg/L)	第二次测定 (µg/L)	第三次测定 (µg/L)	第四次测定 (µg/L)	第五次测定 (µg/L)	第六次测定 (µg/L)	平均值 \bar{x}_i (µg/L)	加标量 (µg/L)	加标回收率 (%)
1	样品	0	0	0	0	0	0	0	/	/
	加标样品	0.88	0.79	0.94	1.03	0.80	0.94	0.90	1.0	89.7
	加标样品	9.03	9.06	9.24	9.85	10.2	10.3	9.60	10.0	96.0
	加标样品	47.8	51.5	52.4	46.2	47.4	51.6	49.5	50.0	99.0
2	样品	0	0	0	0	0	0	0	/	/
	加标样品	1.03	0.84	0.87	1.01	0.90	0.78	0.91	1.0	90.5
	加标样品	9.24	9.11	9.28	9.45	10.2	8.75	9.34	10.0	93.4
	加标样品	51.2	49.6	44.6	50.7	48.5	50.6	49.2	50.0	98.4
3	样品	0	0	0	0	0	0	0	/	/
	加标样品	0.81	0.83	0.86	1.07	0.96	0.94	0.91	1.0	91.2
	加标样品	9.71	9.70	9.25	10.1	10.0	10.2	9.83	10.0	98.3
	加标样品	47.7	47.5	49.1	47.5	47.9	49.1	48.1	50.0	96.3
4	样品	0	0	0	0	0	0	0	/	/
	加标样品	1.02	0.83	0.85	0.75	0.89	0.81	0.86	1.0	85.8
	加标样品	9.26	9.17	9.56	9.08	10.5	9.45	9.50	10.0	95.0
	加标样品	46.7	51.9	47.8	46.6	51.2	48.5	48.8	50.0	97.6

5	样品	0	0	0	0	0	0	0	/	/
	加标样品	0.92	0.83	0.79	1.05	0.83	0.88	0.88	1.0	88.3
	加标样品	9.12	9.07	9.02	9.78	9.85	10.3	9.52	10.0	95.2
	加标样品	48.5	52.1	49.6	45.7	46.9	51.6	49.1	50.0	98.1
6	样品	0	0	0	0	0	0	0	/	/
	加标样品	1.03	0.79	0.89	0.93	0.83	1.01	0.91	1.0	91.3
	加标样品	9.11	9.15	9.01	9.04	10.2	9.58	9.35	10.0	93.5
	加标样品	51.8	47.9	51.9	48.2	45.9	49.9	49.3	50.0	98.5

通过对 6 家实验室对地表水《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》中丁基黄原酸进行实际样品的加标测试，加标浓度为 1.0 $\mu\text{g/L}$ 实际样品回收率差为 85.8%~91.3%；加标浓度为 10.0 $\mu\text{g/L}$ 实际样品回收率差为 93.4%~98.3%；加标浓度为 50.0 $\mu\text{g/L}$ 实际样品回收率差为 96.3%~99.0%。

表 9 尾矿浸提废水加标准确度测试原始数据

实验室编号	样品类型	第一次测定 ($\mu\text{g/L}$)	第二次测定 ($\mu\text{g/L}$)	第三次测定 ($\mu\text{g/L}$)	第四次测定 ($\mu\text{g/L}$)	第五次测定 ($\mu\text{g/L}$)	第六次测定 ($\mu\text{g/L}$)	平均值 \bar{x}_i ($\mu\text{g/L}$)	加标量 ($\mu\text{g/L}$)	加标回收率 (%)
1	样品	2.64	2.97	2.82	2.95	2.77	3.05	2.87	/	/
	加标样品	21.0	18.9	22.0	21.0	18.1	19.7	20.1	20.0	86.3
	加标样品	96.8	99.1	92.1	104	96.3	102	98.3	100	95.4
	加标样品	496	499	508	505	482	515	501	500	99.5
2	样品	2.56	2.41	2.65	2.75	2.94	3.16	2.75	/	/
	加标样品	18.2	17.5	18.9	19.2	17.5	21.1	18.7	20.0	79.9
	加标	94.5	98.6	101	97.2	96.5	86.6	95.7	100	93.0

	样品									
	加标样品	503	493	501	493	479	518	498	500	99.0
3	样品	2.59	2.38	2.62	2.75	3.18	3.09	2.77	/	/
	加标样品	21.7	21.7	20.8	20.3	20.1	21.4	21.0	20.0	91.2
	加标样品	102	100	95.4	102	102	101	100	100	97.5
	加标样品	504	491	509	508	494	503	502	500	99.7
4	样品	2.55	2.59	2.59	2.78	3.15	2.89	2.76	/	/
	加标样品	20.4	17.2	19.3	18.5	17.3	16.5	18.2	20.0	77.2
	加标样品	95.2	92.1	102	94.9	93.5	101	96.5	100	93.7
	加标样品	496	487	503	501	484	510	497	500	98.8
5	样品	2.38	2.65	2.72	2.84	3.06	2.88	2.76	/	/
	加标样品	17.6	17.9	18.3	19.5	20.5	16.8	18.4	20.0	78.4
	加标样品	98.9	94.2	100.0	95.6	92.3	103	97.3	100	94.5
	加标样品	493	483	504	502	485	513	497	500	98.8
6	样品	2.55	2.47	2.68	2.98	3.11	2.97	2.79	/	/
	加标样品	19.5	20.2	18.8	22.4	19.5	21.9	20.4	20.0	88.0
	加标样品	95.6	91.2	92.1	104	105	94.8	97.1	100	94.3
	加标样品	496	503	498	475	482	514	495	500	98.4

通过对 6 家实验室对尾矿浸提废水《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》中丁基黄原酸进行实际样品的加标测试，加标浓度为 20.0 $\mu\text{g/L}$ 实际样品回收率差为 77.2%~91.2%；加标浓度为 100 $\mu\text{g/L}$ 实际样品回收率差为 93.0%~97.5%；加标浓度为 500 $\mu\text{g/L}$ 实际样品回收率差为 98.4%~99.7%。

表 10 污水厂废水加标准确度测试原始数据

实验室编号	样品类型	第一次测定 (μg/L)	第二次测定 (μg/L)	第三次测定 (μg/L)	第四次测定 (μg/L)	第五次测定 (μg/L)	第六次测定 (μg/L)	平均值 \bar{x}_i (μg/L)	加标量 (μg/L)	加标回收率 (%)
1	样品	0	0	0	0	0	0	0	/	/
	加标样品	17.2	19.2	17.9	20.9	17.3	17.3	18.3	20.0	91.5
	加标样品	104	91.8	95.3	92.1	108	93.7	97.3	100	97.3
	加标样品	505	482	516	508	512	496	503	500	101
2	样品	0	0	0	0	0	0	0	/	/
	加标样品	19.5	21.8	19.3	17.3	19.9	18.2	19.33	20.0	96.7
	加标样品	92.8	98.6	103	91.2	102	94.6	97.0	100	97.0
	加标样品	501	498	499	508	492	476	496	500	99.1
3	样品	0	0	0	0	0	0	0	/	/
	加标样品	20.3	22.9	23.8	23.4	21.9	23.2	22.6	20.0	113
	加标样品	97.0	94.8	93.6	90.6	99.0	99.4	95.7	100	95.7
	加标样品	499	491	488	495	467	502	490	500	98.1
4	样品	0	0	0	0	0	0	0	/	/
	加标样品	19.5	20.8	18.9	19.1	18.8	21.2	19.72	20.0	98.6
	加标样品	95.6	94.8	103	93.2	105	96.8	98.1	100	98.1
	加标样品	504	493	507	511	492	486	499	500	99.8

5	样品	0	0	0	0	0	0	0	/	/
	加标样品	19.3	20.2	18.2	20.6	17.1	21.1	19.42	20.0	97.1
	加标样品	92.3	105	96.2	93.5	107	94.2	98.0	100	98.0
	加标样品	491	506	511	507	495	482	499	500	99.7
6	样品	0	0	0	0	0	0	0	/	/
	加标样品	17.9	19.2	21.6	18.9	20.6	19.3	19.6	20.0	97.9
	加标样品	103	95.6	98.5	92.6	104	92.8	97.8	100	97.8
	加标样品	498	504	512	501	494	483	499	500	99.7

通过对 6 家实验室对污水厂废水《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》中丁基黄原酸进行实际样品的加标测试，加标浓度为 20.0 $\mu\text{g/L}$ 实际样品回收率差为 91.5%~113%；加标浓度为 100 $\mu\text{g/L}$ 实际样品回收率差为 95.7%~98.1%；加标浓度为 500 $\mu\text{g/L}$ 实际样品回收率差为 98.1%~101%。

1.5 其它需要说明的问题

无。

2 方法验证数据汇总

2.1 方法检出限、测定下限数据汇总

对6家实验室方法验证结果中检出限的统计，其结果如下附表11。

表 11 方法检出限、测定下限汇总表

单位： $\mu\text{g/L}$

实验室编号	试样	
	检出限	测定下限
1	0.2	0.8
2	0.2	0.8
3	0.1	0.4
4	0.2	0.8
5	0.2	0.8
6	0.2	0.8

结论：通过对6家实验室对《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》中目标化合物检出限数据进行汇总，该方法检出限为0.1 $\mu\text{g/L}$ ~0.2 $\mu\text{g/L}$ ，测定下限为0.4 $\mu\text{g/L}$ ~0.8 $\mu\text{g/L}$ ，测

定下限小于0.005 mg/L，方法检出限满足环境质量标准对丁基黄原酸的限值规定。方法检出限选用6家实验室中测定的最大值，即0.2 μg/L，测定下限为0.8 μg/L。

2.2 方法精密度数据汇总

对6家实验室方法验证结果中精密度的统计，其结果如下附表12-14：

表 12 地表水中丁基黄原酸方法精密度数据汇总表 单位：μg/L

实验室号	低浓度 (1.0)			中浓度 (10.0)			高浓度 (50.0)		
	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)
1	0.90	0.092	10.3	9.60	0.554	5.8	49.5	2.65	5.3
2	0.91	0.098	10.8	9.34	0.483	5.2	49.2	2.45	5.0
3	0.91	0.098	10.7	9.83	0.348	3.5	48.1	0.763	1.6
4	0.86	0.092	10.7	9.50	0.519	5.5	48.8	2.27	4.6
5	0.88	0.093	10.6	9.52	0.529	5.6	49.1	2.54	5.2
6	0.91	0.096	10.5	9.35	0.466	5.0	49.3	2.37	4.8
\bar{x}	0.90			9.52			49.0		
S'	0.02			0.18			0.50		
RSD' (%)	2.3			1.9			1.0		
重复性限 r	0.3			1.4			6.4		
再现性限 R	0.3			1.4			6.4		

表 13 尾矿浸提废水中丁基黄原酸方法精密度数据汇总表 单位：μg/L

实验室号	低浓度 (20.0)			中浓度 (100)			高浓度 (500)		
	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)
1	20.1	1.50	7.4	98.3	4.14	4.2	501	11.1	2.2
2	18.7	1.35	7.2	95.7	4.97	5.2	498	13.0	2.6
3	21.0	0.70	3.4	100	2.47	2.5	502	7.4	1.5
4	18.2	1.47	8.1	96.5	4.08	4.2	497	9.9	2.0
5	18.4	1.35	7.3	97.3	4.00	4.1	497	11.7	2.4
6	20.4	1.45	7.1	97.1	5.96	6.1	495	14.2	2.9
\bar{x}	19.5			97.5			498		
S'	1.18			1.51			2.66		
RSD' (%)	6.1			1.5			0.5		
重复性限 r	3.7			12.3			31.9		

再现性 限 R	4.7	12.3	31.9
------------	-----	------	------

表 14 污水厂废水中丁基黄原酸方法精密度数据汇总表

单位: $\mu\text{g/L}$

实验 室号	低浓度 (20.0)			中浓度 (100)			高浓度 (500)		
	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)	\bar{x}_i	S_i	RSD _i (%)
1	18.3	1.46	8.0	97.3	6.63	6.8	503	12.22	2.4
2	19.3	1.54	8.0	97.0	4.91	5.1	496	10.93	2.2
3	22.6	1.29	5.7	95.7	3.39	3.5	490	12.52	2.6
4	19.7	1.03	5.2	98.1	4.78	4.9	499	9.87	2.0
5	19.4	1.53	7.9	98.0	6.33	6.5	499	11.18	2.2
6	19.6	1.31	6.7	97.8	4.96	5.1	499	9.79	2.0
\bar{x}	19.8			97.3			498		
S'	1.45			0.90			4.37		
RSD' (%)	7.3			0.9			0.9		
重复性 限 r	3.8			14.8			31.2		
再现性 限 R	5.4			14.8			31.2		

结论: 通过 6 家实验室对地表水, 尾矿浸提废水, 污水厂废水《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》低、中、高三种浓度丁基黄原酸的测定, 实验室内相对标准偏差分别为地表水 5.4%~10.1%, 尾矿浸提废水 1.7%~6.3%, 污水厂废水 1.8%~8.1%, 地表水中 1.0 $\mu\text{g/L}$ 、10.0 $\mu\text{g/L}$ 、50.0 $\mu\text{g/L}$ 测定方法精密度, 实验室间相对标准偏差分别为 2.3%、1.9%、1.0%; 重复性限分别为 0.3 $\mu\text{g/L}$ 、1.4 $\mu\text{g/L}$ 、6.4 $\mu\text{g/L}$; 再现性限分别为 0.3 $\mu\text{g/L}$ 、1.4 $\mu\text{g/L}$ 、6.4 $\mu\text{g/L}$; 尾矿浸提废水中 20.0 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、500 $\mu\text{g/L}$ 测定方法精密度, 实验室间相对标准偏差分别为 6.1%、1.5%、0.5%; 重复性限分别为 3.7 $\mu\text{g/L}$ 、12.3 $\mu\text{g/L}$ 、31.9 $\mu\text{g/L}$; 再现性限分别为 4.7 $\mu\text{g/L}$ 、12.3 $\mu\text{g/L}$ 、31.9 $\mu\text{g/L}$; 污水厂废水中 20.0 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、500 $\mu\text{g/L}$ 测定方法精密度, 实验室间相对标准偏差分别为 7.3%、0.9%、0.9%; 重复性限分别为 3.8 $\mu\text{g/L}$ 、14.8 $\mu\text{g/L}$ 、31.2 $\mu\text{g/L}$; 再现性限分别为 5.4 $\mu\text{g/L}$ 、14.8 $\mu\text{g/L}$ 、31.2 $\mu\text{g/L}$ 。

2.3 方法准确度数据汇总

对 6 家实验室方法验证结果中准确度的统计, 其结果如下附表 15

表 15 方法准确度数据汇总表

单位: $\mu\text{g/L}$

样品名称	地表水			尾矿浸提废水			污水厂废水		
	低浓度 (1.0)	中浓度 (10.0)	高浓度 (50.0)	低浓度 (20.0)	中浓度 (100)	高浓度 (500)	低浓度 (20.0)	中浓度 (100)	高浓度 (500)
实验室号	加标回收率 P_i (%)								
1	89.7	96.0	99.0	86.3	95.4	99.5	91.5	97.3	100.6
2	90.5	93.4	98.4	79.9	93.0	99.0	96.7	97.0	99.1
3	91.2	98.3	96.3	91.2	97.5	99.7	113	95.7	98.1
4	85.8	95.0	97.6	77.2	93.7	98.8	98.6	98.1	99.8
5	88.3	95.2	98.1	78.4	94.5	98.8	97.1	98.0	99.7
6	91.3	93.5	98.5	88.0	94.3	98.4	97.9	97.8	99.7
\bar{P} (%)	89.5	95.2	98.0	83.5	94.7	99.0	99.1	97.3	99.5
$S\bar{P}$ (%)	2.1	1.8	1.0	5.8	1.6	0.5	7.2	0.9	0.8

结论: 通过对6家实验室对地表水, 尾矿浸提废水, 污水厂废水《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》中丁基黄原酸进行实际样品的测试, 实验室内地表水样品加标回收率在87.2%~98.6%, 实验室间低、中、高加标回收率均值为89.5%、95.2%、98.0%, 实验室间加标回收率相对偏差为2.1%、1.8%、1.0%; 实验室内尾矿浸提废水加标回收率在77.5%~99.3%, 实验室间低、中、高加标回收率均值为83.5%、94.7%、99.0%, 实验室间加标回收率相对偏差为5.8%、1.6%、0.5%; 实验室内污水厂废水样品加标回收率在78.8%~99.4%, 实验室间低、中、高加标回收率均值为99.1%、97.3%、99.5%, 实验室间加标回收率相对偏差为7.2%、0.9%、0.8%。

3 方法验证结论

本课题组在进行方法验证报告数据统计时, 所有数据全部采用, 未进行取舍。6家实验室验证结果表明:

(1) 检出限及测定下限: 《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》中目标化合物检出限数据进行汇总, 该方法检出限为0.1 $\mu\text{g/L}$ ~0.2 $\mu\text{g/L}$, 测定下限为0.4 $\mu\text{g/L}$ ~0.8 $\mu\text{g/L}$, 测定下限小于0.005 mg/L, 方法检出限满足环境质量标准对丁基黄原酸的限值规定。

(2) 对地表水, 尾矿浸提废水, 污水厂废水《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》低、中、高三种浓度丁基黄原酸的测定, 实验室内相对标准偏差分别为地表水5.4%~10.1%, 尾矿浸提废水1.7%~6.3%, 污水厂废水1.8%~8.1%, 地表水中1.0 $\mu\text{g/L}$ 、

10.0 µg/L、50.0 µg/L 测定方法精密度，实验室间相对标准偏差分别为 2.3%、1.9%、1.0%；重复性限分别为 0.3 µg/L、1.4 µg/L、6.4 µg/L；再现性限分别为 0.3 µg/L、1.4 µg/L、6.4 µg/L；尾矿废水中 20.0 µg/L、100 µg/L、500 µg/L 测定方法精密度，实验室间相对标准偏差分别为 6.1%、1.5%、0.5%；重复性限分别为 3.8 µg/L、12.3 µg/L、31.9 µg/L；再现性限分别为 4.8 µg/L、12.3 µg/L、31.9 µg/L；污水厂废水中 20.0 µg/L、100 µg/L、500 µg/L 测定方法精密度，实验室间相对标准偏差分别为 7.3%、0.9%、0.9%；重复性限分别为 3.8 µg/L、14.8 µg/L、31.2 µg/L；再现性限分别为 5.5 µg/L、14.8 µg/L、31.2 µg/L。

(3) 对地表水，尾矿浸提废水，污水厂废水《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱质谱法》中丁基黄原酸进行实际样品的测试，实验室内地表水样品加标回收率在87.2%~98.6%，实验室间低、中、高浓度加标回收率均值为89.5%、95.2%、98.0%，实验室间加标回收率相对偏差为2.1%、1.8%、1.0%，加标回收率最终值 $(89.5 \pm 4.2) \%$ 、 $(95.2 \pm 3.6) \%$ 、 $(98.0 \pm 2.0) \%$ ；实验室内尾矿浸提废水加标回收率在77.5%~99.3%，实验室间低、中、高加标回收率均值为83.5%、94.7%、99.0%，实验室间加标回收率相对偏差为5.8%、1.6%、0.5%；加标回收率最终值 $(83.5 \pm 11.6) \%$ 、 $(94.7 \pm 3.2) \%$ 、 $(99.0 \pm 1.0) \%$ ；实验室内污水厂废水样品加标回收率在78.8%~99.4%，实验室间低、中、高加标回收率均值为99.1%、97.3%、99.5%，实验室间加标回收率相对偏差为7.2%、0.9%、0.8%，加标回收率最终值 $(99.1 \pm 14.4) \%$ 、 $(97.3 \pm 1.8) \%$ 、 $(99.5 \pm 1.6) \%$ 。