

中华人民共和国国家标准

水质 苯并(a)芘的测定 乙酰化滤纸层析荧光分光光度法

GB 11895—89

Water quality—Determination of benzo(a)-
pyrene—Acetylated paper chromatography
with fluorescence spectrophotometric method

1 主题内容与适用范围

本方法规定了测定水质中苯并(a)芘〔以下简称 B(a)P〕的方法。

本标准适用于饮用水、地面水、生活污水、工业废水。最低检出浓度为 0.004 $\mu\text{g/L}$ 。

注意：B(a)P 是一种由五个环构成的多环芳烃，它是多环芳烃类的强致癌代表物。基于 B(a)P 的强致癌性，按本标准方法分析时必须戴抗有机溶剂的手套，操作应在白搪瓷盘中进行（如溶液转移、定容、点样等）。室内应避免阳光直接照射，通风良好。

2 原理

水中多环芳烃及环己烷可溶物经环己烷萃取（水样必须充分摇匀），萃取液用无水硫酸钠脱水、浓缩，而后经乙酰化滤纸分离。分离后的 B(a)P 用荧光分光光度计测定。

3 试剂

除另有说明外，分析时均使用分析纯试剂和蒸馏水。

3.1 B(a)P 标准溶液的配制：称取 5.00 mg 固体标准 B(a)P 于 50 mL 容量瓶中〔因 B(a)P 是强致癌物，为了减少污染，以少转移为好〕，用少量苯溶解后，加环己烷至标线，其浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 。将此贮备液用环己烷稀释成 10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准使用液，避光贮于冰箱中。

3.2 乙酰化滤纸的制备：把 15×30 cm 的层析滤纸 15 至 20 张卷成高 15 cm 的圆筒状，逐张放入 1 000 mL 高型烧杯中，杯壁与靠杯的第一张纸间插入一根玻璃棒，杯中间放一枚玻璃熔封的电磁搅拌铁芯。在通风柜中，沿杯壁慢慢倒入乙酰化剂（由苯+乙酸酐+浓硫酸=750 mL+250 mL+0.5 mL 混合配制），磁力恒温搅拌器的温度保持 55±1℃，连续反应 6 h。取出乙酰化滤纸，用自来水漂洗 3~4 次，再用蒸馏水漂洗 2~3 次，晾干。次日用无水乙醇浸泡 4 h 后，取出乙酰化滤纸，晾干压平，备用。

3.3 环己烷，重蒸。用荧光分光光度计检查：在荧光激发波长 367 nm，狭缝 10 nm；荧光发射狭缝 2 nm，波长 405 nm 应无峰出现。

3.4 丙酮，重蒸。

3.5 甲醇。

3.6 乙醚。

3.7 苯，重蒸。

3.8 乙酸酐。

3.9 硫酸， $\rho=1.84\text{ g/mL}$ 。

国家环境保护局 1989-12-25 批准

1990-07-01 实施

3.10 无水硫酸钠。

3.11 二甲基亚砜(DMSO):用前先用环己烷萃取两次(500 mL 二甲基亚砜加 50 mL 环己烷萃取)。弃去环己烷后备用。

4 仪器

常用实验室设备和下列仪器。

- 4.1 备有紫外激发和荧光分光的荧光分光光度计,光程为 10 mm 的石英比色皿。
- 4.2 紫外分析仪(带 365 nm 或 254 nm 的滤光片)。
- 4.3 康氏振荡器。
- 4.4 磁力恒温搅拌器。
- 4.5 立式离心机,转速为 4 000 r/min。
- 4.6 分液漏斗,1 L、3 L、100 mL。活塞上禁用油性润滑剂,活塞直接用水或有机溶剂润滑即可。
- 4.7 锥形瓶,250 mL。具磨口玻璃塞。
- 4.8 恒温水浴锅。
- 4.9 层析缸。
- 4.10 具磨口塞刻度离心管,5 mL。
- 4.11 点样用玻璃毛细管(自制)。
- 4.12 分析天平,感量 0.01 mg。

5 样品保存

水样应贮于玻璃瓶中并避光,当日(24 h 内)用环己烷萃取,环己烷萃取液放入冰箱中保存。

6 步骤

6.1 样品和标样的预处理

6.1.1 清洁水和地面水萃取

取充分混匀的清洁水样 2 000 mL 放入 3 000 mL 分液漏斗中,用环己烷萃取两次,每次用 50 mL,在康氏振荡器上每次振荡 3 min,取下放气,静置半小时,待分层后,将两次环己烷萃取液收集于具塞锥形瓶中,弃去水相部分。

6.1.2 工业废水的萃取

取混匀的工业废水样 1 000 mL,放入 1 000 mL 分液漏斗中,每次用 50 mL 环己烷萃取两次,在康氏振荡器上每次振荡 3 min,取下放气,静置半小时,待分层后,将两次环己烷萃取液收集于具塞锥形瓶中,弃去水相部分。

6.1.3 脱水、浓缩

在(上述)环己烷萃取液中加入无水硫酸钠(约 20~50 g),静置至完全脱水(约 1~2 h),至具塞锥形瓶底部无水为止。如果环己烷萃取液颜色比较深,则将脱水后环己烷定容至 100 mL,分取其一定体积浓缩;如果颜色不深则全部浓缩。在温度为 70~75℃ 用 KD 浓缩器减压浓缩至近干,用苯洗涤浓缩管壁三次,每次用 3 滴,再浓缩至 0.05 mL,以备纸层析用。

6.1.4 纸层析分离

在乙酰化滤纸 30 cm 长的下端 3 cm 处,用铅笔画一横线,横线两端各留出 1.5 cm,以 2.4 cm 的间隔将标准 B(a)P 与样品浓缩液用玻璃毛细管交叉点样。点样斑点直径不超过 3~4 mm。点样过程中用冷风吹干。每支浓缩管洗两次,每次用一滴苯,全部点在纸上。将点过样的层析滤纸挂在层析缸内架子上,加入展开剂(甲醇+乙醚+蒸馏水=4+4+1(体积比)),直到滤纸下端浸入展开剂 1 cm 为止。加盖,用透明胶纸密封。于暗室中展开 2~4 h。取出层析滤纸,在紫外分析仪照射下用铅笔圈出标样 B(a)P 斑

点以及样品中与其高度 (R_f 值) 相同的紫蓝色斑点范围。

剪下用铅笔圈出的斑点, 剪成小条, 分别放入 5 mL 具塞离心管中。在 105~110℃ 烘箱中烘 10 min (亦可在干燥器中或干净空气中晾干)。在干燥器内冷却后, 加入丙酮至标线。用手振荡 1 min 后, 以 3 000 r/min 的速度离心 2 min。上清液留待测量用。

6.2 测定

将标准 B(a)P 斑点和样品斑点的丙酮洗脱液分别注入 10 mm 的石英比色皿中, 在激发、发射狭缝分别为 10 nm、2 nm, 激发波长为 367 nm 处, 测其发射波长 402 nm、405 nm、408 nm 处的荧光强度 F 。

7 结果的表示

用窄基线法按下列公式计算出标准 B(a)P 和样品 B(a)P 的相对荧光强度, 再计算出 B(a)P 的含量 C (用相对比较计算法)。

$$\text{相对荧光强度 } F = F_{405\text{nm}} - \frac{F_{402\text{nm}} + F_{408\text{nm}}}{2}$$

$$C = \frac{M \times F_{\text{样品}}}{F_{\text{标准}} \times V} \times R$$

式中: C —— 水样 B(a)P 含量, $\mu\text{g/L}$;

M —— 标准 B(a)P 点样量, μg ;

$F_{\text{标准}}$ —— 标准 B(a)P 的相对荧光强度;

$F_{\text{样品}}$ —— 样品斑点的相对荧光强度;

V —— 水样体积, L;

R —— 环己烷提取液总体积与浓缩时所取的环己烷提取液的体积之比值。

8 精密度与准确度

8.1 精密度

五个实验室自行配制的含有 B(a)P 近似 0.2 $\mu\text{g/L}$ 的焦化废水的精密度见表 1。

表 1 精密度

实验室编号	$\bar{x}_1$	CV, %
1	0.230	6.9
2	0.199	8.0
3	0.213	13.0
4	0.202	6.6
5	0.179	4.2

8.2 准确度

两种工业废水的加标回收率见表 2、表 3。

表 2 焦化废水加标回收结果

实验室编号	η	CV, %
1	107.0	6.9
2	93.3	8.0

续表 2

实验室编号	η	CV, %
3	121.0	13.0
4	99.0	6.6
5	73.3	4.2

表 3 沥青废水加标回收结果

实验室编号	η	CV, %
1	79.8	4.4
2	83.0	12
3	81.4	7.6
4	93.3	6.2

附 录 A
对除去 B(a)P 干扰物的说明
(补充件)

A1 石油、含油废水按下面操作进行

将上述(6.1.2)100 mL 环己烷萃取液定容后取出 20 mL,放入 100 mL 分液漏斗。用 DMSO 萃取 2 次,每次 5 mL,用手振荡 2 min,注意放气,静置半小时。待分层后收集两次萃取的 DMSO 液于另一个 100 mL 分液漏斗中,弃去环己烷液。于盛有 10 mL DMSO 液的分液漏斗中加入事先用冰冷却过的 1 : 1 HCl 15 mL,冷却至室温,再用环己烷反萃取两次,每次 5 mL,用手振荡 2 min,注意放气。合并两次环己烷萃取液 10 mL 于另一个 100 mL 分液漏斗中,加 5 mL 15% NaOH 溶液洗一次,振荡两分钟,弃去 NaOH 液层。再用蒸馏水洗 2~3 次,每次 15 mL,直至洗涤后的蒸馏水 pH=7,弃去水相,将环己烷萃取液加无水硫酸钠脱水后,在 KD 浓缩器上浓缩。以下步骤包括乙酰化滤纸层析分离,荧光分光光度计测量,计算与(7)相同。

A2 测量后的 B(a)P 丙酮洗脱液切勿随意丢弃,可放入通风柜中专用大烧杯中,统一处理。

A3 本实验均应在避免阳光直接照射下进行。

A4 所用玻璃器皿必须用洗液浸泡 4 h 以后洗涤。

附加说明:

本标准由国家环保局标准处提出。

本标准由北京市环境保护监测中心负责起草。

本标准主要起草人孙辰。

本标准委托中国环境监测总站负责解释。