

F-HZ-HJ-SZ-0041

水质—苯并(a)芘的测定—乙酰化滤纸层析荧光光度法

1 范围

本方法测定水质中苯并(a)芘(以下简称B(a)P)。

本方法适用于饮用水、地面水、生活污水、工业污水、工业废水,最低检出浓度为0.004 μ 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5.0mg固体标准B(a)P于50mL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 μ g/mL。将此贮备液用环己烷稀释成10 μ 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 \times 30cm的层析滤纸15至20张卷成高15cm的圆筒状,逐张放入1000mL高型烧杯中,杯壁与靠杯的第一张纸间插一根玻璃棒,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=750mL+250mL+0.5mL混合配制成),磁力恒温搅拌器的温度保持 $55\pm 1^{\circ}\text{C}$,连续反应6h,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4h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367nm,狭缝10nm;荧光发射狭缝2nm,波长405nm应先无峰出现。

3.4 丙酮,重蒸。

3.5 甲醇。

3.6 乙醇。

3.7 苯,重蒸。

3.8 乙酸酐。

3.9 硫酸, $\rho=1.84\text{g/mL}$ 。

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(500mL二甲基亚砜加50mL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10mm的石英比色皿。

4.2 紫外分析仪(带365nm或254nm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4000r/min。

4.6 分液漏斗,1L、3L、100mL。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,250mL。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，5mL。
- 4.11 点样用玻璃毛细管（自制）。
- 4.12 分析天平，感量 0.01mg。

5 样品保存

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

6 操作步骤

6.1 样品和标样的预处理

6.1.1 清洁水和地面水萃取

取充分混合的清洁水样 2000mL 放入 3000mL 分液漏斗中，用环己烷萃取两次，每次用 50mL，在康氏振荡器上每次振荡 3min，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 1000mL，放入 1000mL 分液漏斗中，每次用 50mL 环己烷萃取两次，在康氏振荡器上每次振荡 3min，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 20~50g），静置至完全脱水（约 1~2h），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 100mL，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 0.05mL，以备纸层析用。

6.1.4 纸层析分离

在乙酰化滤纸 30cm 长的下端 3cm 处。用铅笔画一横线，横线两端各留出 1.5cm，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 1cm 为止。加盖，用透明胶纸密封。于暗室中展开 2~4h。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 5mL 具塞离心管中。在 105~110℃烘箱中烘 10min（亦可在干燥器中或干净空气中晾干）。在干燥内冷却后，加入丙酮至标线。用手振荡 1min 后，以 300r/min 速度离心 2min。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 10mm 的石英比色皿中，在激发、发射狭缝分别为 10nm、2nm，激发波长为 367nm 处，测其发射波长 402nm、405nm、408 nm 处的荧光强度 F 。

7 结果计算

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）。

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

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

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	平均值	变动系数，%
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 2、表 3。

表 2 焦化废水加标回收结果

实验室编号	加标回收率，平均值	变动系数，%
1	107.0	6.9
2	93.3	8.0
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	加标回收率，平均值	变动系数，%
1	79.8	4.4
2	83.0	12
3	81.4	7.6
4	93.3	6.2

9 参考文献

GB 11895-1989。

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）100mL 环己烷萃取液定容后取出 20mL，放入 100mL 分液漏斗。用 DMSO 萃取 2 次，每次 5mL，用手振荡 2min，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 100mL 分液漏斗中，弃去环己烷液，于另一个 10mL DMSO 液的分液漏斗

中,加入事先用冰冷却过的 1:1HCl 15mL,冷却至室温,再用环己烷反萃取 2 次,每次 5 mL,用手振荡 2min,注意放气。合并两次环己烷萃取液 10mL 于另一个 100mL 分液漏斗中,加入 5mL15%NaOH 溶液洗一次,振荡两分钟,弃 NaOH 液层,再用蒸馏水先洗 2~3 次,每次 15mL,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 4h 以后洗涤。