ICS 13.060.01

Z 16

DB61

陕 西 省 地 方 标 准

DB 61/ T 563—2013

水质 丙烯酰胺的测定 高效液相色谱-质谱/质谱法

2013 - 01 - 07 发布

2013 - 03 - 01 实施

陕西省质量技术监督局 发布

前 言

本标准由陕西省环境监测中心站提出。

本标准由陕西省环境保护厅归口。

本标准起草单位：陕西省环境监测中心站。

本标准主要起草人：黄国全、许锋、李合义、吴卫东、周弛。

本标准由陕西省环境监测中心站负责解释。

本标准为首次发布。

水质 丙烯酰胺的测定

高效液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本标准规定了测定水中丙烯酰胺的高效液相色谱-质谱/质谱法的方法原理、试剂和材料、仪器和设备、样品、分析步骤、结果计算等要求。

本标准适用于饮用水源地地表水、地下水中丙烯酰胺的测定。

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，仅所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 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法

3 方法原理

采用固相萃取技术富集样品中的丙烯酰胺，用甲醇洗脱，洗脱液浓缩后，用高效液相色谱串联质谱仪检测，外标法定量。

4 试剂和材料

4.1 水：符合 GB/T 6682-2008 中规定的一级水。

4.2 甲醇：液相色谱纯。

4.3 甲酸：液相色谱纯。

4.4 丙烯酰胺标准贮备： $\rho=1000$ mg/L。

介质为甲醇，4℃冰箱中冷藏保存。

4.5 丙烯酰胺标准中间液： $\rho=1.0$ mg/L。

以水为溶剂，将丙烯酰胺标准贮备液(4.4)适当稀释，4℃冰箱中保存，保存期为7 d。

4.6 丙烯酰胺标准使用液： $\rho=100$ $\mu\text{g/L}$ 。

准确吸取10 mL丙烯酰胺标准中间液(4.5)于100 mL容量瓶中，用水定容，摇匀。现用现配。

4.7 微孔滤膜：0.45 μm ，水系。

4.8 固相萃取小柱：Plus AC-2，400 mg/85 μm ，或其它性能相当者。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱串联质谱仪(三重四级杆质谱)，配电喷雾离子源(ESI)。

5.2 氮吹浓缩仪。

5.3 固相萃取装置。

6 样品

6.1 样品测定范围

样品体积为10 mL时，方法的检出限为0.008 $\mu\text{g/L}$ ，测定下限为0.032 $\mu\text{g/L}$ ，测定上限为2.5 $\mu\text{g/L}$ 。

6.2 样品采集与贮存

样品应采集在棕色玻璃瓶中。采样前用待测水样将样品瓶清洗2次~3次。采集的水样应充满样品瓶并加盖密封，及时分析。如需保存，应避光，4 $^{\circ}\text{C}$ 以下冷藏，48 h内分析。

7 分析步骤

7.1 样品预处理

7.1.1 固相萃取小柱的活化：将固相萃取小柱(4.8)安装在固相萃取装置(5.3)上，依此用10 mL 甲醇(4.2)、10mL 水活化固相萃取小柱，流速控制在1 mL/min，整个活化过程应保持柱体润湿。

7.1.2 样品富集：取10 mL 水样(富集所用水样体积根据水质情况可适当增减)以1 mL/min的流速流过已活化好的固相萃取小柱，弃去流出液。

7.1.3 干燥：真空抽滤15 min 或高纯氮气吹固相萃取小柱10 min，使柱干燥。

7.1.4 洗脱与浓缩：用10 mL 甲醇以1 mL/min的流速洗脱样品，收集洗脱液。采用氮吹浓缩至近干，用水定容至1 mL，过微孔滤膜(4.7)，待测。

7.2 色谱条件

7.2.1 色谱柱：填料为5 μm ODS，柱长15 cm，内径2.1 mm的反相色谱柱或其他性能相近的色谱柱。

7.2.2 流动相：流动相A为0.1%甲酸溶液，流动相B为甲醇，梯度洗脱见表1。

7.2.3 流速：400 $\mu\text{L/min}$ 。

7.2.4 柱温：40 $^{\circ}\text{C}$ 。

7.2.5 进样量：50 μL 。

7.3 质谱条件

离子源：电喷雾(ESI)，扫描方式：正离子，监测方式：多反应监测(MRM)。

具体参数见附录A。

表1 流动相梯度洗脱程序

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	99	1
0.40	99	1
2.50	40	60
2.51	99	1
5.00	99	1

7.4 标准曲线的绘制

准确移取一定量的丙烯酰胺标准使用液(4.6)至水中,配制浓度分别为0.2 μg/L、0.5 μg/L、1.0 μg/L、2.0 μg/L、4.0 μg/L、8.0 μg/L、16.0 μg/L、25.0 μg/L的标准系列。按照上述液相色谱-质谱/质谱条件测定标准工作溶液,以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。

7.5 样品测定

样品按所建立方法进行测试,记录色谱峰的保留时间和峰面积。

7.6 空白实验

用水代替样品,按样品测定相同的步骤分析。

8 结果计算

8.1 定性分析

在相同实验条件下,样品与标准工作液中待测物质的色谱峰相对保留时间在2.5%以内,并且在扣除背景后的样品色谱图中,所选择的离子对均出现,同时与标准品的相对丰度允许偏差不超过表2规定的范围,则可判断样品中存在对应的被测物。

表2 流动相梯度洗脱程序

相对丰度/(%, 基峰)	液相色谱-质谱/质谱定性时相对离子丰度最大允许误差
>50	± 20%
大于 20 至小于等于 50	± 25%
大于 10 至小于等于 20	± 30%
≤10	± 50%

8.2 定量分析

样品中丙烯酰胺的含量按公式(1)计算:

$$\rho = (Y - a)V_t / (K \times V_s) \dots \dots \dots (1)$$

式中:

ρ ——水样中丙烯酰胺的浓度,单位为微克每升(μg/L);

Y ——水样中丙烯酰胺的峰面积;

a ——校准曲线截距;

V_t ——洗脱液浓缩定容后的体积,单位为毫升(mL);

V_s ——水样体积,单位为毫升(mL);

K ——校准曲线斜率。

9 精密度与准确度

9.1 精密度

6家实验室分别对0.040 $\mu\text{g/L}$ 和2.00 $\mu\text{g/L}$ 的样品进行了测定，实验室内相对标准偏差为5.6%~9.1%、6.7%~11.7%；实验室间相对标准偏差分别为6.3%和2.8%。

9.2 准确度

6家实验室分别对加标后浓度为0.040 $\mu\text{g/L}$ 和2.00 $\mu\text{g/L}$ 的样品进行测定，加标回收率分别为70.0%~97.5%、73.0%~98.0%。

10 注意事项

- 10.1 丙烯酰胺有毒，实验过程中应做好防护。
- 10.2 样品通过固相萃取小柱后，必须用氮气吹干固相萃取小柱或者抽气至干，否则会降低该方法回收率。
- 10.3 质谱仪应定期校正质量轴，防止质量数发生漂移。

附 录 A
(资料性附录)

丙烯酸胺 HPLC-MS/MS 方法特征选择离子及质谱参数

表A.1 丙烯酸胺 HPLC-MS/MS 方法特征选择离子及质谱参数

名称	母离子/(m/Z)	子离子/(m/Z)	管状透镜电压/V	碰撞能量/V
丙烯酸胺	72.4	55.5*	65	11
	72.4	43.5	65	18
<p>注1: 其他参数: 喷雾电压: 3500 V, 鞘气压: 35 psi, 辅助气压: 10 arb, 碰撞气: 1.5 mTorr离子传输管温度: 350 ℃, 吹扫气压: 0 psi。</p> <p>注2: 表A.1中带*的离子为定量离子; 对于不同质谱仪器, 仪器参数可能存在差异, 测定前应将质谱参数优化至最佳。</p>				