

DB37

山东省地方标准

DB37/T 4158—2020

水质 环境激素类化合物的测定 固相萃取-液相色谱-串联质谱法

Water quality—Determination of environmental hormones—Solid phase
extraction-Liquid chromatography-Tandem mass spectrometry

2020 - 09 - 25 发布

2020 - 10 - 25 实施

山东省市场监督管理局 发布

目 次

前言 II

1 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 2

7 分析步骤 3

8 结果计算与表示 6

9 精密度和准确度 7

10 质量保证和质量控制 7

附录 A（资料性附录） 方法的精密度和准确度 8

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准由山东省住房和城乡建设厅提出并组织实施。

本标准由山东省城镇给水排水标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：山东省城市供排水水质监测中心、济南市疾病预防控制中心、山东珞珈计量检测有限公司、山东省分析测试中心、国家城市供水水质监测网青岛监测站、中国兵器工业集团第五三研究所。

本标准主要起草人：贾瑞宝、孙韶华、赵清华、宋艳、刘莉、于志刚、赵汝松、王晓芳、高岩立、荀其宁、梁玉、徐桂菊、刘仲。

水质 环境激素类化合物的测定 固相萃取-液相色谱-串联质谱法

警告：实验中使用的溶剂和试剂均具有一定的毒性，对健康具有潜在的危害，应尽量避免与这些化学品的直接接触。样品制备过程应在通风橱中进行，操作时应按规定要求佩戴防护器具，避免接触皮肤和衣物。

1 范围

本标准规定了测定生活饮用水及其水源水中的环境激素类化合物的固相萃取-液相色谱-串联质谱法。

本标准适用于生活饮用水及其水源水的17 β -雌二醇、雌三醇、17 α -炔雌醇、壬基酚、4-正辛基酚、双酚A、四溴双酚A、雌酮、己烯雌酚、三氯生和三氯卡班等11种环境激素类化合物的测定。

若取水样1 000 mL，浓缩至1 mL，则方法检出限分别为：17 β -雌二醇、雌三醇、17 α -炔雌醇、壬基酚、4-正辛基酚、双酚A、四溴双酚A均为2 ng/L，雌酮、己烯雌酚、三氯生、三氯卡班均为0.2 ng/L；测定下限分别为：17 β -雌二醇、雌三醇、17 α -炔雌醇、壬基酚、4-正辛基酚、双酚A、四溴双酚A均为8 ng/L，雌酮、己烯雌酚、三氯生、三氯卡班均为0.8 ng/L。

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 5750.2—2006 生活饮用水标准检验方法 水样的采集与保存

GB/T 5750.3—2006 生活饮用水标准检验方法 水质分析质量控制

GB/T 32465 化学分析方法验证确认和内部质量控制要求

GB/T 33087 仪器分析用高纯水规格及试验方法

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

3 方法原理

本方法采用固相萃取柱对水中的11种环境激素类物质进行浓缩富集，用洗脱液（二氯甲烷/丙酮）洗脱保留在萃取柱上的环境激素类物质，然后用液相色谱-串联质谱仪进行定性和定量分析。

4 试剂和材料

4.1 固相萃取柱：HLB（6 mL，200 mg）或等效固相萃取柱。

4.2 高纯水：水质满足 GB/T 33087 的规定。

4.3 硫酸（H₂SO₄）：优级纯。

4.4 二氯甲烷（CH₂Cl₂）：色谱纯。

- 4.5 丙酮 (CH_3COCH_3)：色谱纯。
- 4.6 载气：高纯氮(>99.999%)。
- 4.7 乙腈 ($\text{C}_2\text{H}_5\text{N}$)：色谱纯。
- 4.8 甲醇 (CH_3OH)：色谱纯。
- 4.9 环境激素类标准物质：17 β -雌二醇、雌三醇、17 α -炔雌醇、壬基酚、4-正辛基酚、双酚 A、四溴双酚 A、雌酮、己烯雌酚、三氯生、三氯卡班等标准物质，纯度 $\geq 98\%$ ，有证标准物质。
- 4.10 7 种环境激素的标准贮备液： $\rho = 10.0 \text{ mg/L}$ 。分别称取一定量 17 β -雌二醇、雌三醇、17 α -炔雌醇、壬基酚、4-正辛基酚、双酚 A、四溴双酚 A 的标准品 (4.9)，用甲醇 (4.8) 溶解并稀释成浓度为 10 mg/L 的标准贮备液，于 4°C 以下冷藏密封避光保存。
- 4.11 4 种环境激素的标准贮备液： $\rho = 1.0 \text{ mg/L}$ 。称取一定量的雌酮、己烯雌酚、三氯生、三氯卡班 (4.9) 的标准品，用甲醇 (4.8) 溶解并稀释成浓度为 1.0 mg/L 的标准贮备液。
- 4.12 7 种环境激素的标准使用液： $\rho = 1.0 \text{ mg/L}$ 。取 $1000 \mu\text{L}$ 17 β -雌二醇、雌三醇、17 α -炔雌醇、壬基酚、4-正辛基酚、双酚 A、四溴双酚 A 的标准贮备液 (4.10)，用甲醇 (4.8) 稀释并定容至 10 mL ，配制 1 mg/L 的标准使用液。于 4°C 以下冷藏密封避光保存。
- 4.13 4 种环境激素的标准使用液： $\rho = 0.1 \text{ mg/L}$ 。取 $1000 \mu\text{L}$ 雌酮、己烯雌酚、三氯生、三氯卡班的标准贮备液 (4.11)，用甲醇 (4.8) 稀释并定容至 10 mL ，配制 0.1 mg/L 的标准使用液。于 4°C 以下冷藏密封避光保存。

5 仪器和设备

- 5.1 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源。
- 5.2 色谱柱： C_{18} 填料或者等效色谱柱。
- 5.3 固相萃取装置。
- 5.4 氮吹浓缩装置。
- 5.5 样品瓶： 2 mL ，棕色玻璃瓶。
- 5.6 采样瓶：棕色玻璃瓶，具玻璃塞。
- 5.7 微量注射器： $100 \mu\text{L}$ 和 $1000 \mu\text{L}$ 。
- 5.8 容量瓶： 10 mL 。

6 样品

6.1 样品采集与保存

按照 HJ 91 和 HJ/T 164 的相关规定采集样品。用采样瓶 (5.6) 采集样品。

按照 GB/T 5750.2—2006 的相关规定贮存样品。样品采集后在 4°C 下冷藏避光保存，24 h 内完成前处理，7 d 内完成样品分析。若水样中存在残留氯，加入抗坏血酸去除余氯。

6.2 试样制备

6.2.1 活化

依次用 6 mL 甲醇 (4.8)、 6 mL 高纯水 (4.2) 对固相萃取柱 (4.1) 进行活化。

6.2.2 样品富集

量取1 000 mL水样，加入硫酸（4.3）调节pH为5左右，以10 mL/min流速通过活化后的固相萃取柱，完成固相萃取富集。

6.2.3 淋洗

用10 mL高纯水（4.2）以10 mL/min流速淋洗萃取柱，淋洗完成后用氮气吹干。

6.2.4 洗脱

用10 mL二氯甲烷（4.4）/丙酮（4.5）（V:V =7:3）以1 mL/min流速洗脱吸附在固相萃取柱上的被测组分，收集洗脱液至浓缩管，氮气吹至近干，用1 mL乙腈（4.7）/高纯水（4.2）（V:V =3:2）定容，保存在样品瓶（5.5）中待测。

6.3 空白试样制备

用高纯水（4.2）代替样品，按照与样品（6.2）相同的步骤制备空白试样。

7 分析步骤

7.1 液相色谱条件

- 7.1.1 流动相：A相——乙腈（4.7），B相——高纯水（4.2）。
- 7.1.2 洗脱模式及洗脱流速：采用梯度洗脱，洗脱速率为0.2 mL/min，洗脱条件如表1所示。
- 7.1.3 柱温：40℃。
- 7.1.4 进样体积：20 μL。

表1 流动相梯度条件

时间 min	A相 %	B相 %
0	60	40
3	95	5
4	95	5
4.1	60	40
15	60	40

7.2 质谱条件

- 7.2.1 离子源：电喷雾离子源，负离子模式。
- 7.2.2 离子源温度：350℃。
- 7.2.3 扫描方式：MRM，多反应监测条件见表2。

表2 质谱参考参数设置

扫描时间	物质名称	母离子	子离子	Fragment V	CE V
0 min	17β-雌二醇	271.2	183*	185	40
			145**	185	40

表 2 质谱参考参数设置 (续)

扫描时间	物质名称	母离子	子离子	Fragment V	CE V
0 min	17 α -炔雌醇	295.2	159*	180	36
			145**	180	40
	雌三醇	287.2	171*	190	38
			143**	190	55
	雌酮	269.2	183*	185	40
			145**	185	38
	己烯雌酚	267.2	251*	145	20
			237**	145	25
4 min	双酚 A	227.2	211*	140	30
			133**	140	35
	四溴双酚 A	538.8	443.8*	140	35
			415.9**	140	45
	三氯卡班	313	160*	100	10
			126**	100	25
	三氯生	287	35*	75	5
7.5 min	壬基酚	219.2	147*	140	20
			133**	140	20
	4-正辛基酚	205.2	106*	120	15

注：带*为定量离子，带**为定性离子。

7.3 校准曲线的绘制

7.3.1 本方法使用外标法定量。

7.3.2 校准系列的配制：取 6 个 10 mL 容量瓶，依次准确加入 0.08 mL、0.10 mL、0.20 mL、0.40 mL、0.80 mL、1.00 mL 的 17 β -雌二醇、雌三醇、17 α -炔雌醇、壬基酚、4-正辛基酚、双酚 A、四溴双酚 A 的标准使用液 (4.12) 和雌酮、己烯雌酚、三氯生、三氯卡班的标准使用液 (4.13)，用乙腈 (4.7) / 高纯水 (4.2) (V:V=3:2)，定容至刻度，配制成浓度为 8 μ g/L、10 μ g/L、20 μ g/L、40 μ g/L、80 μ g/L、100 μ g/L 的 17 β -雌二醇、雌三醇、17 α -炔雌醇、壬基酚、4-正辛基酚、双酚 A、四溴双酚 A 和 0.8 μ g/L、1 μ g/L、2 μ g/L、4 μ g/L、8 μ g/L、10 μ g/L 的雌酮、己烯雌酚、三氯生、三氯卡班校准系列溶液。

7.3.3 按照浓度从低到高的顺序上机测定，以浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标绘制校准曲线。

7.4 样品测定

7.4.1 采用自动进样器进样，进样量为 20 μ L。

7.4.2 将 6.2 处理后的试样上机测定。

7.4.3 环境激素类化合物的 MRM 色谱图见图 1 所示。

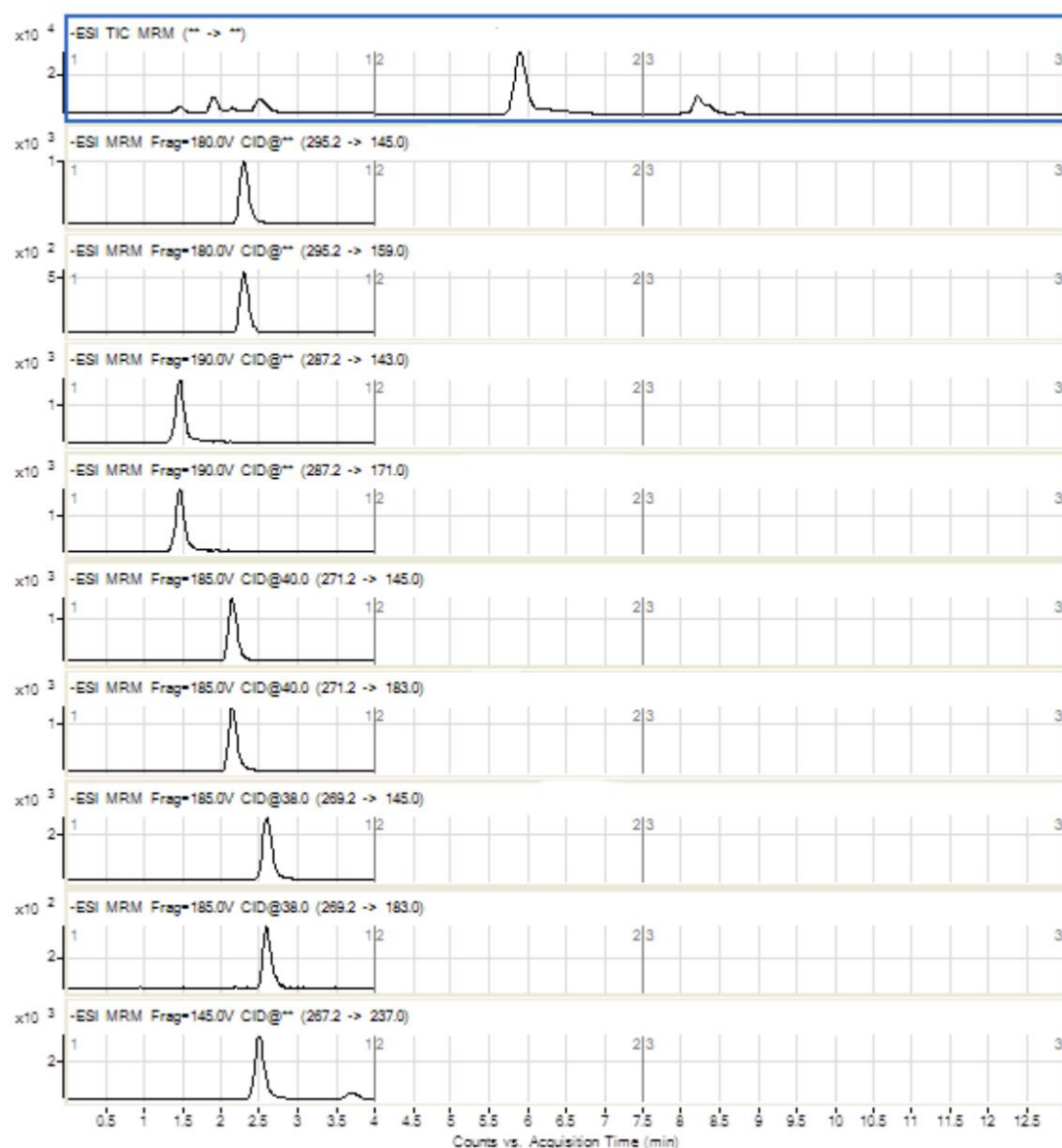


图1 各类环境雌激素的 MRM 谱图

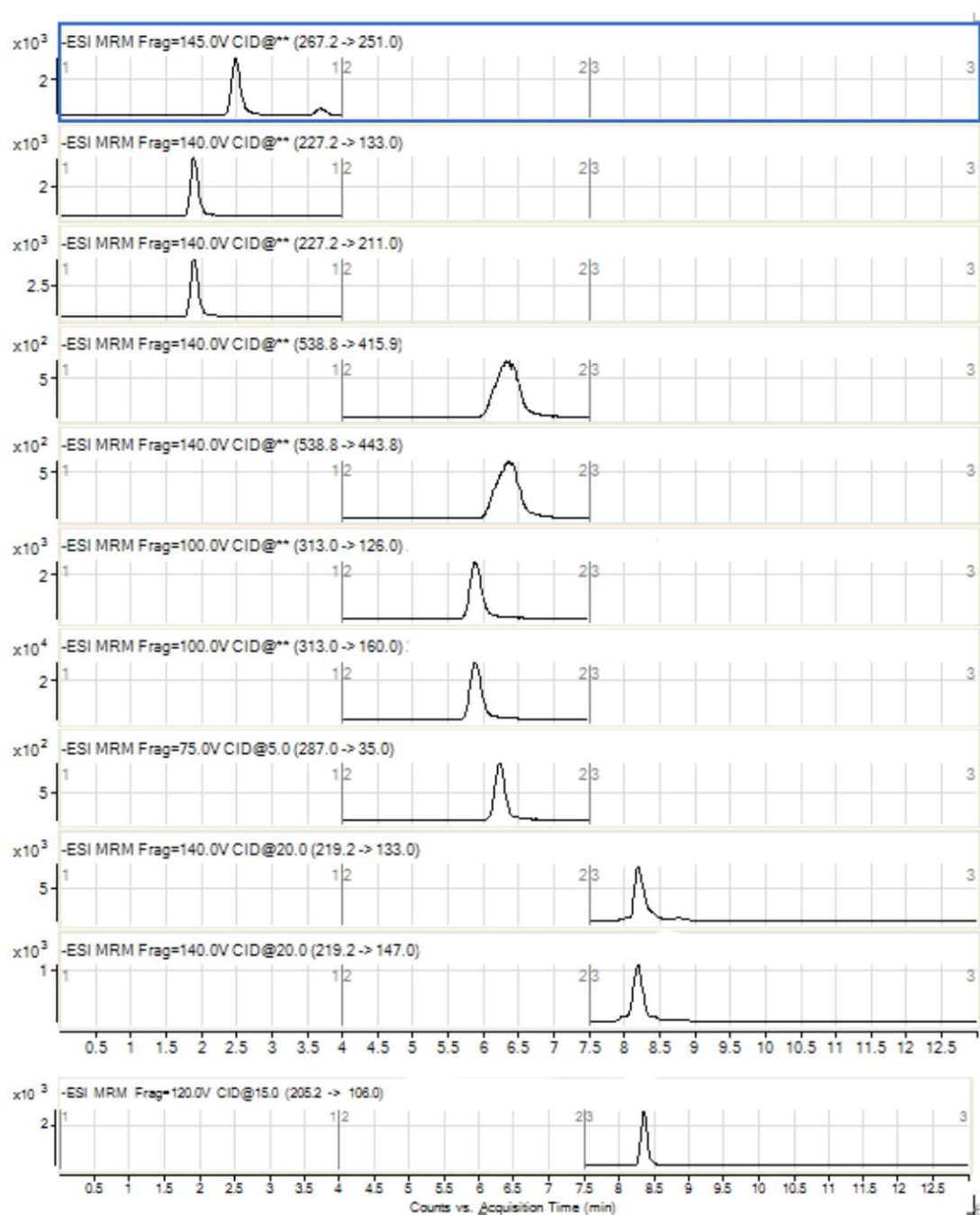


图1 各类环境雌激素的 MRM 谱图（续）

7.5 空白试样测定

按照与样品测定（7.4）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 定性结果

根据环境激素类物质MRM色谱图中的保留时间和特征离子对进行定性分析。

8.2 定量结果

根据定量离子的峰面积外标法定量。样品中环境激素类物质的质量浓度 ρ_x 按照公式（1）计算，测定结果位数的保留与测定下限一致，最多保留三位有效数字。

$$\rho_x = \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- ρ_x ——样品中组分质量浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；
- ρ_o ——固相萃取洗脱液质量浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；
- V_t ——固相萃取洗脱液浓缩后定容体积，单位为毫升（mL）；
- V_s ——水样体积，单位为毫升（mL）。

9 精密度和准确度

9.1 精密度

3家实验室分别对17 β -雌二醇、雌三醇、17 α -炔雌醇、壬基酚、4-正辛基酚、双酚A、四溴双酚A、雌酮、己烯雌酚、三氯生、三氯卡班等11种环境激素进行低、中、高浓度的纯水、地表水、地下水、出厂水和管网水加标样品进行测定，实验室内的相对标准偏差为1.2%~26%，参见附录表A.1~表A.2。

9.2 准确度

3家实验室分别对17 β -雌二醇、雌三醇、17 α -炔雌醇、壬基酚、4-正辛基酚、双酚A、四溴双酚A、雌酮、己烯雌酚、三氯生、三氯卡班等11种环境激素进行低、中、高浓度的地表水、地下水、出厂水和管网水加标样品进行测定，加标回收率为73.1%~96.2%，参见附录表A.1~表A.2。

10 质量保证和质量控制

10.1 空白试验

每批样品应做空白试验，测定结果不能超过方法的检出限。

10.2 校准曲线要求

分析样品之前，应建立能够覆盖样品浓度范围的至少6个浓度点的校准曲线，曲线的相关系数 r^2 应大于0.995。

10.3 平行样

平行双样测定结果的相对偏差满足GB/T 5750.3—2006的要求。

10.4 基体加标

基体加标样品的加标回收率范围满足GB/T 32465的要求。

附 录 A
(资料性附录)
方法的精密度和准确度

表A.1 7种环境激素类化合物的精密度与准确度

样 品	加标量 ng/L	加标回收率 %							实验室内相对标准偏差 %						
		四溴双酚 A	雌三醇	双酚 A	17 β -雌二 醇	炔雌醇	辛基酚	壬基酚	四溴双酚 A	雌三醇	双酚 A	17 β -雌二 醇	炔雌醇	辛基酚	壬基酚
纯 水	5.0~10	91.0~ 124	83.0~ 92.1	82.4~ 111	76.6~113	66.0~ 73.5	75.8~ 88.5	62.8~ 108	4.2~16	3.2~ 9.8	2.2~ 6.9	2.5~12	3.0~22	4.9~ 14	4.2~19
	10~20	75.0~ 128	80.6~ 98.7	82.3~ 108	72.0~110	54.9~ 90.4	84.4~ 99.4	86.1~ 111	1.8~5.1	2.6~ 6.5	1.4~11	2.3~15	2.8~16	2.6~ 18	6.7~26
	20~50	78.4~ 117	66.9~ 98.4	72.2~ 105	64.8~86.5	40.9~ 96.4	71.0~ 94.6	63.0~ 94.4	1.2~6.8	4.5~ 9.2	4.3~12	2.7~12	6.7~14	3.3~ 10	5.7~19
地 表 水	5.0~10	76.4~ 90.0	76.4~ 91.2	90.0~ 110	55.4~90.0	58.3~ 90.0	75.2~ 90.0	90.0~ 114	6.3~15	2.4~10	1.3~ 4.9	2.8~13	4.2~12	5.4~ 12	3.9~19
	10~20	66.8~ 105	81.4~ 86.9	88.0~ 91.3	67.2~98.4	66.7~ 81.4	95.2~ 96.7	95.0~ 119	2.9~5.3	3.0~ 7.4	2.5~ 4.2	3.0~8.1	4.0~ 8.1	3.5~ 7.4	10~11
	20~50	63.3~ 94.7	69.5~ 91.4	68.3~ 93.6	70.6~104	64.4~ 92.1	84.9~ 90.0	67.2~ 95.6	1.6~5.2	3.2~11	4.0~10	3.6~5.0	5.0~ 8.4	5.8~ 8.2	9.5~10

表 A.1 7 种环境激素类化合物的精密度与准确度（续）

样品	加标量 ng/L	加标回收率 %							实验室内相对标准偏差 %						
		四溴双酚 A	雌三醇	双酚 A	17 β -雌二 醇	炔雌醇	辛基酚	壬基酚	四溴双酚 A	雌三醇	双酚 A	17 β -雌二 醇	炔雌醇	辛基酚	壬基酚
地下水	5.0~10	73.8~ 90.0	79.1~ 90.2	90.0~ 109	74.1~90.0	61.5~ 100	89.6~ 90.0	90.0~ 122	3.8~11	4.1~16	2.2~ 4.2	1.5~21	3.3~20	4.9~ 14	3.0~25
	10~20	66.8~ 99.0	61.4~ 91.6	84.5~ 102	62.7~82.2	55.1~ 77.4	93.8~ 97.8	53.2~ 103	4.6~5.7	4.7~ 6.4	3.9~ 5.8	4.5~7.8	3.2~16	7.3~ 8.8	6.8~14
	20~50	63.3~ 84.8	84.4~ 94.9	74.3~ 99.8	76.9~85.4	64.4~ 91.3	77.4~ 98.6	80.7~ 100	5.0~6.1	3.8~ 5.2	3.6~10	3.2~8.1	6.2~10	5.9~ 6.2	7.7~16
出厂水	5.0~10	63.4~ 105	70.6~ 90.1	77.6~ 107	76.0~90.0	69.0~ 90.0	88.0~ 100	90.0~ 104	8.5~12	4.8~13	1.0~ 4.5	4.7~22	8.7~36	4.0~ 6.9	5.9~ 9.2
	10~20	72.2~ 92.2	73.3~ 87.8	74.2~ 93.8	74.5~85.5	53.3~ 78.6	76.1~ 96.4	93.4~ 103	5.1~7.4	2.8~ 5.7	1.3~ 6.9	4.6~7.0	5.2~20	5.2~ 5.9	4.1~13
	20~50	56.3~ 80.5	67.8~ 91.4	68.6~ 89.0	64.1~91.4	40.9~ 104	72.2~ 74.8	53.3~ 104	7.6~9.4	3.1~ 4.2	3.2~ 8.0	3.6~11	10~13	4.0~ 6.4	6.1~13
管网水	5.0~10	67.6~ 98.8	62.9~ 100	81.4~ 108	50.2~100	70.4~ 101	85.9~ 100	100~111	7.3~12	4.0~12	2.1~ 6.6	8.7~13	6.4~14	2.5~ 10	5.7~22
	10~20	72.2~ 96.3	79.9~ 91.8	86.3~ 93.3	65.0~83.3	64.5~ 80.3	81.2~ 91.4	100~109	2.9~9.1	3.2~ 8.0	2.6~ 4.1	2.8~6.4	5.3~12	2.5~ 6.8	5.9~14
	20~50	60.2~ 81.0	71.5~ 92.3	73.5~ 95.9	71.5~84.5	58.0~ 95.0	71.2~ 74.5	69.0~ 96.4	5.0~7.8	2.8~ 4.8	4.0~ 5.8	2.0~9.5	6.6~12	5.4~ 7.5	5.4~ 8.2

表A.2 4种环境激素类化合物的精密度与准确度

样品	加标量 ng/L	加标回收率 %				实验室内相对标准偏差 %			
		雌酮	三氯生	三氯卡班	己烯雌酚	雌酮	三氯生	三氯卡班	己烯雌酚
纯水	0.5~2.0	55.8~72.3	86.8~99.8	51.2~98.1	67.1~96.2	1.4~9.6	5.2~6.6	2.4~4.6	2.6~11
	2.0~4.0	70.9~98.4	81.9~95.6	57.7~88.4	52.6~70.5	1.4~7.2	3.0~4.9	1.3~4.7	2.6~5.5
	4.0~20	78.4~89.6	76.2~92.3	50.7~101	77.4~86.5	2.3~12	1.5~7.0	1.9~2.8	1.8~3.4
地表水	0.5~2.0	62.1~89.7	87.4~90.0	75.6~90.0	70.5~90.3	5.7~9.7	2.0~6.3	1.5~4.4	3.2~14
	2.0~4.0	66.1~92.6	88.0~91.3	97.5~114	54.2~71.1	4.2~4.6	5.5~7.6	1.6~4.3	1.2~12
	4.0~20	71.9~102	69.0~93.6	104~109	72.2~104	2.4~6.1	3.8~4.8	2.0~5.1	2.6~7.4
地下水	0.5~2.0	77.7~91.0	81.1~90.0	85.0~90.0	72.2~89.0	1.7~9.0	3.2~7.2	1.9~2.7	3.4~22
	2.0~4.0	78.5~89.3	88.9~91.9	49.8~82.3	68.9~82.3	1.8~3.5	3.8~5.6	1.3~2.6	1.8~19
	4.0~20	81.0~92.4	74.7~98.2	58.4~90.0	61.4~90.0	1.2~6.1	3.2~4.3	1.6~3.7	2.6~7.5
出厂水	0.5~2.0	84.3~90.0	83.0~90.0	90.0~106	72.8~90.0	1.8~14	2.9~12	2.0~2.3	3.0~19
	2.0~4.0	64.3~78.9	78.0~89.4	88.3~90.5	56.8~71.9	2.0~8.4	3.1~5.6	1.2~5.4	2.4~25
	4.0~20	65.7~86.3	61.3~87.8	82.7~97.2	51.1~87.8	2.3~4.2	4.2~6.1	1.8~2.1	2.6~16
管网水	0.5~2.0	79.3~96.0	78.0~100	100~103	72.8~100	1.2~15	2.7~7.6	2.4~3.5	2.8~14
	2.0~4.0	63.0~91.6	85.8~91.9	89.7~99.5	67.2~70.9	1.6~5.4	6.0~23	2.1~8.0	3.5~12
	4.0~20	74.8~100	80.2~89.2	92.2~94.5	61.7~85.9	1.3~3.8	2.6~6.8	1.2~2.0	1.1~12