

附件 5

《水质 丙烯酰胺的测定 高效液相色谱-三重四极杆质谱法（征求意见稿）》 编制说明

《水质 丙烯酰胺的测定 高效液相色谱-三重四极杆质谱法》

标准编制组

二〇二四年五月

项目名称：水质 丙烯酰胺的测定 高效液相色谱-三重四极杆质谱法

项目统一编号：2020-L-56

承担单位：中国环境监测总站、浙江省生态环境监测中心

编制组主要成员：王 超、王 静、周菁清、陈 烨、袁 懋、

刘铮铮

环境标准研究所技术管理负责人：裴淑玮、余若祯

生态环境监测司项目负责人：楚宝临

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.....	3
2.1	丙烯酰胺的基本性质.....	3
2.2	丙烯酰胺的工业用途及来源.....	3
2.3	丙烯酰胺的环境危害.....	4
2.4	相关生态环境标准和生态环境管理工作的需要.....	4
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标准.....	4
3.2	国内标准和仪器普及情况.....	5
3.3	文献资料研究.....	8
3.4	与本标准的关系.....	9
4	标准制订的基本原则和技术路线.....	10
4.1	标准制订的基本原则.....	10
4.2	标准制订的技术路线.....	10
5	方法研究报告.....	13
5.1	方法研究的目标.....	13
5.2	方法原理.....	13
5.3	试剂和材料.....	13
5.4	仪器和设备.....	14
5.5	样品.....	14
5.6	分析步骤.....	17
5.7	结果计算.....	28
5.8	质量保证和质量控制.....	29
5.9	实验室内方法的特性指标确定.....	30
6	方法比对.....	32
7	方法验证.....	35
8	与开题报告的差异说明.....	38
9	征求意见稿技术审查情况.....	38
10	参考文献.....	39
	附件一 方法验证报告.....	41

《水质 丙烯酰胺的测定 高效液相色谱-三重四极杆质谱法 (征求意见稿)》编制说明

1 项目背景

1.1 任务来源

2020年10月10日,生态环境部生态环境监测司发布了《关于开展<海洋微塑料监测技术规范>等35项标准规范制修订工作的通知》(监测函〔2020〕73号文),下达了绿色通道项目《水质 丙烯酰胺的测定 高效液相色谱-三重四极杆质谱法》(项目统一编号:2020-L-56)标准的制订工作任务。

任务承担单位为中国环境监测总站、浙江省生态环境监测中心。

1.2 工作过程

1.2.1 成立标准编制组

2020年10月,在标准制修订任务下达后,中国环境监测总站、浙江省生态环境监测中心成立了标准编制组,成员中包括有多年有机分析工作经验的技术人员。在标准项目立项前,标准编制组成员开展系统的实验室内方法研究以及6家实验室验证工作,形成了标准文本草案及编制说明。由于本标准是绿色通道立项标准,已有较好的编制基础,按规定不需要进行开题论证,所以标准编制组在已有的基础上,进一步开展文献调研以及实验研究。

1.2.2 工作调研及资料查询

2019年8月~9月,根据《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010)的相关规定,查阅了中国学术期刊网络出版总库、中国重要会议论文全文数据库,检索了国际标准化组织、我国排放标准及分析方法标准、美国EPA等国外标准分析方法,在此基础上确定了标准制订原则和技术路线。

1.2.3 实验室内的方法研究

2019年9月,标准编制组总结已有的研究成果和实践经验,进一步开展分析方法优化,完成实验室内分析方法性能数据,初步形成了标准文本和编制说明。2021年,标准编制组根据要求增加废水样品分析,开展海水、废水样品的方法研究。

1.2.4 方法验证工作

2019年9月~2019年10月,组织6家具备分析仪器设备且具有相关资质的实验室进行方法验证,统一派发了标准溶液和标准样品,开展了地下水、地表水方法验证工作。标准编制组进行了各实验室数据的汇总和数据的数理分析工作,编写完成了方法验证报告。2021年4月~9月,按照要求,组织6家实验室补充了海水、生活污水和工业废水样品方法验证,

进一步完善方法验证报告。

1.2.5 编写标准征求意见稿和编制说明

2019年10月，完成标准文本和编制说明编写。2021年7月~9月，根据补充的实验室方法研究以及6家实验室方法验证结果，对标准征求意见稿和编制说明进行完善。

1.2.6 征求意见稿技术审查会

2022年10月26日，生态环境部生态环境监测司以视频会议形式组织召开标准征求意见稿的技术审查会。专家组通过本标准征求意见稿的技术审查，建议按照修改意见完善后，提请公开征求意见：（1）标准文本中进一步完善干扰和消除的相关内容，试剂和材料中补充离子柱的规格、类型；（2）编制说明中补充水样 pH 值对保存时间的影响，基体干扰消除的试验结果及悬浮物对测定结果的影响；（3）按照《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2020）和《环境保护标准编制出版技术指南》（HJ 565-2010）对标准文本和编制说明进行编辑性修改。

按照专家意见，编制组对标准文本和编制说明进一步修改完善，形成征求意见稿和编制说明。征求意见稿技术审查会意见汇总情况及落实情况见表1。

表1 历次审查意见和落实情况汇总表

工作阶段	专家意见	落实情况
征求意见稿技术审查会 2022年10月	标准文本中进一步完善干扰和消除的相关内容，试剂和材料中补充离子柱的规格、类型。	已落实。在“4 干扰和消除”中，补充说明基质抑制效应的情况“信号响应抑制 60%以上”，以及离子交换小柱具体为氢型阳离子交换小柱。在“5 试剂和材料”中，补充“5.12 氢型阳离子交换柱：1.0 ml, 填料为磺化交联的苯乙烯二乙烯基苯共聚物。”
	编制说明中补充水样 pH 值对保存时间的影响，基体干扰消除的试验结果及悬浮物对测定结果的影响。	已落实。关于水样 pH 值对保存时间的影响研究见“5.5.1 采集与保存”，研究不同水样 pH 值对保存的影响，确定水样保存 pH 值为 2~7。 关于基体干扰消除的试验结果研究见“5.6.4 水样的基质效应”，研究不同离子交换柱以及 C18 小柱对基质效应的影响，确定氢型阳离子交换小柱可有效降低水样的基体抑制效应。 关于悬浮物对测定结果的影响结果研究见编制说明“5.6.3 水样中悬浮物的影响”，选择悬浮物含量不同水样进行加标试验，确定水样

工作阶段	专家意见	落实情况
		中悬浮物对丙烯酰胺分析的影响可以忽略。
	按照《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2020）和《环境保护标准编制出版技术指南》（HJ 565-2010）对标准文本和编制说明进行编辑性修改。	已落实。按照《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2020）和《环境保护标准编制出版技术指南》（HJ 565-2010）要求，对标准文本和编制说明进一步修改完善。

2 标准制订的必要性分析

2.1 丙烯酰胺的基本性质

丙烯酰胺 (Acrylamide, CAS 号 79-06-01) 是一种不饱和酰胺, 分子式为 $\text{CH}_2=\text{CHCONH}_2$, 相对分子量 71.08, 分子结构见图 1。常温下, 丙烯酰胺为白色晶体, 熔点 $84.5\text{ }^\circ\text{C}$, 溶于水、丙酮、乙醇, 微溶于甲苯, 不溶于苯。在室温下相对稳定, 在熔点或紫外光照射下易聚合, 在酸碱环境中可水解成丙烯酸。遇高热、明火或氧化剂可引起燃烧发生爆炸。

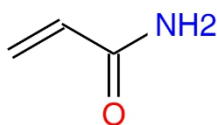
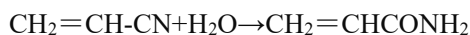


图 1 丙烯酰胺的分子结构

2.2 丙烯酰胺的工业用途及来源

丙烯酰胺主要是通过丙烯腈与水混合再加入有骨架铜催化剂的反应釜, 在 $85\text{ }^\circ\text{C}\sim 125\text{ }^\circ\text{C}$ 和 $0.3\text{ MPa}\sim 0.4\text{ MPa}$ 压力下直接水合反应生成。反应后过滤循环催化剂, 然后将反应液加热浓缩, 将气体冷凝回收未反应的丙烯腈, 丙烯酰胺水溶液经浓缩、冷却得丙烯酰胺结晶。反应方程式为:



丙烯酰胺是一种用途广泛的重要有机化工原料, 广泛用于制造水溶性聚合物: 聚丙烯酰胺共聚物^[1]。我国目前超过 90% 的丙烯酰胺单体用于此生产。以丙烯酰胺为单体合成的产品中, 聚丙烯酰胺具有较好的稳定、絮凝作用, 在污水处理、石油开采、造纸工业等行业都有十分广泛的应用, 素有“百业助剂”之称。除了工业生产排放外, 食品加工过程中容易产生丙烯酰胺。2002 年瑞典研究人员发现富含碳水化合物低蛋白质的植物性食物在油炸及焙烤等高温 ($>120\text{ }^\circ\text{C}$) 烹饪处理下容易产生丙烯酰胺^[2]。食品中丙烯酰胺的形成是一个多级反应过程, 目前多数学者认为美拉德反应中天冬酰胺和还原糖是形成丙烯酰胺的关键因素^[3]。

2.3 丙烯酰胺的环境危害

由于丙烯酰胺具有很强的水溶性，人类生产、生活中排放的丙烯酰胺可直接进入河流湖泊，或淋溶进入地下水。绝大部分丙烯酰胺进入环境后，通过水体或食物链直接或间接进入人体或生物圈，进而影响人体及生物圈安全。人体可通过消化道、呼吸道、皮肤黏膜等多种途径接触丙烯酰胺。丙烯酰胺是一个具有亲电基团的有机小分子，水溶性极强，可通过皮肤、黏膜、呼吸道、胃肠道等进入体内，食物中的丙烯酰胺通过肠道完整的吸收，而环境中暴露的丙烯酰胺约 25% 被皮肤吸收^[4]。吸收后的丙烯酰胺通过血液循环系统广泛分布于体内各个组织^[5]。

丙烯酰胺的毒性主要包括神经毒性、生殖毒性、遗传毒性、免疫毒性及潜在致癌性，目前在人体中得到证实的是神经毒性^[6]。丙烯酰胺中毒者主要的症状体征为皮肤脱皮红斑、四肢麻木、手足多汗、体重减轻及远端触痛觉减退、深反射减退等神经功能受损的症状^[7]。动物实验研究发现丙烯酰胺进入机体会影响动物的生育能力，影响大鼠的精子数量及形态，引起睾丸组织病变^[8]。丙烯酰胺的免疫毒性体现在损伤胸腺和脾脏等免疫器官，从而抑制细胞免疫功能^[9]。由于丙烯酰胺的致癌性，1994 年丙烯酰胺就被国际癌症机构列为 2A 类致癌物^[10]。

2.4 相关生态环境标准和生态环境管理工作的需要

《地表水环境质量标准》（GB 3838-2002）规定集中式饮用水源地水中丙烯酰胺的标准限值为 0.5 $\mu\text{g/L}$ 。《生活饮用水卫生标准》（GB 5749-2022）规定了生活饮用水中丙烯酰胺的标准限值为 0.5 $\mu\text{g/L}$ 。《地下水质量标准》（GB/T 14848-2017）、《海水水质标准》（GB 3097-1997）均没有对丙烯酰胺做具体要求。

我国的污水综合排放标准（GB 8978-1996）没有涉及丙烯酰胺。而《石油化学工业污染物排放标准》（GB 31571-2015）规定废水的有机特征污染物包含丙烯酰胺，排放限值为 5 $\mu\text{g/L}$ 。

现有的水中丙烯酰胺分析国家标准方法是衍生化-GC/ECD，适用于地表水、地下水、工业废水和生活污水，未包括海水，而且该方法存在不足之处，比如方法过程繁琐复杂、溴化衍生效率不稳定、产生毒性大的污染物等。

通过本标准的制定，可以有效满足上述质量和排放标准的管理需求。

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标准

国外关于水中丙烯酰胺的标准分析方法不多，美国、德国有相应的标准方法（见表 2）。美国 EPA 有两个标准方法：Method 8032A 和 Method 8316。Method 8032A 的方法内容是水样经饱和溴水溴化，无水硫酸钠盐析，乙酸乙酯萃取，硅酸镁小柱净化后，用 GC-ECD 检测，应用于水和废水中丙烯酰胺的分析。EPA Method 8316 的方法内容是水样直接进样液相色谱，经分离后紫外检测器检测，可用于水和废水中丙烯酰胺的分析。该方法采用的色谱柱为 C₁₈ 反相色谱柱（4.6 mm×250 mm, 10 μm ），对于丙烯酰胺储备液的保存条件为 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存，最多可保存 6 个月。德国的标准方法为 DIN 38413-6，方法内容为水样经活性炭小柱

富集后，用高效液相色谱-串联质谱检测，用于水、污水中丙烯酰胺的分析。该方法采用 C₁₈ 色谱柱分离，三重四极杆质谱仪的电喷雾正离子模式检测。

其他关于丙烯酰胺的标准方法是针对食品，比如咖啡、薯片。相关的标准方法有 ISO 18862:2016 Coffee and coffee products — Determination of acrylamide — Methods using HPLC-MS/MS and GC-MS after derivatization、DIN EN 16618: Food analysis - Determination of acrylamide in food by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS)等，采用的技术手段为 HPLC-MS/MS 和衍生化-GC-MS。

表 2 国外关于水中丙烯酰胺分析的标准

国家	标准名称	发布时间	适用水体	前处理方法	分析仪器	样品量	检出限
美国	METHOD 8316 acrylamide, acrylonitrile and acrolein by high performance liquid chromatography (HPLC)	1994	未明确	直接进样	HPLC-UV	200 μl	10 μg/L
	METHOD 8032A acrylamide by gas chromatography	1996	水	丙烯酰胺与新生溴发生加成反应，用乙酸乙酯提取反应产物。	GC/ECD	50 ml	0.032 μg/L
德国	DIN 38413-6 German standard methods for the examination of water, waste water and sludge - single components (group P) - part 6: determination of acrylamide - method using high performance liquid chromatography with mass spectrometric detection (HPLC-MS/MS)	2007	水和废水	活性炭小柱富集	HPLC-MS/MS	100 ml~500 ml	>0.034 μg/L

3.2 国内标准和仪器普及情况

3.2.1 国内相关标准

国内关于水体丙烯酰胺分析的标准方法有两种类型的方法（见表 3）。第一类为将丙烯酰胺衍生化后 GC-ECD 分析的标准，具体分析过程为在 pH 值为 1~2 条件下，丙烯酰胺与新生溴发生加成反应，生成二溴丙酰胺。用乙酸乙酯萃取二溴丙酰胺，经无水硫酸钠干燥、浓缩、定容后，用 GC-ECD 检测。卫生部在 1989 年发布的标准（GB/T 11936-1989）仅适用于水源水，检出限较高，为 0.15 μg/L；在 2023 年发布的国家标准 GB/T 5750.8-2023 中，相关方法的适用范围生活饮用水和（或）水源水，检出限为 0.05 μg/L。2014 年，原环保部

发布的标准 HJ 697-2014 将适用范围扩大至地表水、地下水、工业废水和生活污水，从而有效满足《地表水环境质量标准》（GB 3838-2002）和《石油化学工业污染物排放标准》（GB 31571-2015）的需求，检出限为 0.07 $\mu\text{g/L}$ 。

衍生化-GC/ECD 法是水中丙烯酰胺分析的经典方法。由于气相色谱仪相比液相色谱仪较早成为比较成熟的商品化产品，因而在环境监测中广泛应用于水中各类有机污染物分析。丙烯酰胺的极性极强且难以气化，无法直接用气相色谱法分析，只能通过复杂繁琐的衍生化方法，使丙烯酰胺生成衍生物，才能采用气相色谱仪分析；另外还需要对水样进行液液萃取浓缩富集，以达到足够的检测灵敏度。为了让溴化加成反应完全，衍生化中产生的溴需要过量，过量的溴毒性较大，对于人体健康构成危险。总的来说，衍生化-GC/ECD 法是国内通用的分析方法，可以满足丙烯酰胺的检测需要，但是该方法存在明显的缺点，方法繁琐复杂、溴化衍生效率不稳定、产生毒性大的污染物、易出现假阳性结果等，而且对分析人员不友好，并非相对理想的分析方法。

另一类标准方法是采用固相萃取技术富集水样中丙烯酰胺，经洗脱浓缩后上 LC-MS/MS 分析。在 2023 年发布的国家标准 GB/T 5750.8-2023 中，相关方法的适用范围为生活饮用水，检出限为 0.02 $\mu\text{g/L}$ 。陕西省在 2013 年发布了相关的地方标准 DB61/T 563-2013，适用范围仅限于饮用水源地地表水、地下水，检出限为 0.008 $\mu\text{g/L}$ 。相对衍生化-GC/ECD 法，固相萃取-LC-MS/MS 法的操作相对简单，而且不涉及高毒性的溴。该标准的固萃过程仅实现 10 倍浓缩，取得的检出限已远低于相关标准要求。因此，从检测灵敏度角度，可不用固萃浓缩，直接进样分析就可以满足检测要求。

表 3 国内关于水中丙烯酰胺分析的标准情况

单位	标准名称	发布时间	适用水体	前处理方法	分析仪器	样品量	检出限
卫生部	GB/T 11936-1989 水源水中丙烯酰胺卫生检验标准方法 气相色谱法	1989	水源水	丙烯酰胺与新生溴发生加成反应，用乙酸乙酯提取反应产物。	GC/ECD	100 ml	0.15 $\mu\text{g/L}$
	GB/T 5750.8-2023 生活饮用水标准检验方法 第 8 部分： 有机物指标	2023	生活饮用水和（或）水源水	丙烯酰胺与新生溴发生加成反应，用乙酸乙酯提取反应产物。	GC/ECD	100 ml	0.05 $\mu\text{g/L}$
			生活饮用水	固相萃取富集水样中丙烯酰胺，用甲醇洗脱，洗脱液浓缩。	LC-MS/MS	100 ml	0.02 $\mu\text{g/L}$
原环保部	HJ 697-2014 水质 丙烯酰胺的测定 气相色谱法	2014	地表水、地下水、工业废水和生活污水	丙烯酰胺与新生溴发生加成反应，用乙酸乙酯提取反应产物。	GC/ECD	100 ml	0.07 $\mu\text{g/L}$

单位	标准名称	发布时间	适用水体	前处理方法	分析仪器	样品量	检出限
陕西	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	饮用水源地地表水、地下水	固相萃取富集水样中丙烯酰胺，用甲醇洗脱，洗脱液浓缩。	LC-MS/MS	10 ml	0.008 µg/L

《生活饮用水标准检验方法有机物指标 第8部分：有机指标》（GB/T 5750.8-2023）规定水样的采集是“用磨口玻璃瓶采集样品，采集后进行溴化、萃取液可放冰箱内可保存7 d”。《水质 丙烯酰胺的测定 气相色谱法》（HJ 697-2014）规定了水样的采集和保存：“参照 HJ/T 91 和 HJ/T 164 的相关规定采集样品。用洁净的磨口玻璃瓶或具特氟龙材质隔垫的棕色螺纹口玻璃瓶采集 250 ml 样品，于 2 °C~5 °C 下保存，7 d 内完成萃取，萃取液可保存 30 d”。《水质 丙烯酰胺的测定 高效液相色谱-质谱/质谱法》（DB 61/T 563-2013）规定采用棕色玻璃瓶采样，采集的水样应充满样品瓶并加盖密封，在避光 4 °C 以下最多冷藏保存 48 h。

《水质 丙烯酰胺的测定 高效液相色谱-质谱/质谱法》（DB 61/T 563-2013）提供了 LC-MS/MS 分析条件。色谱条件：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；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；流速：400 µl/min；柱温：40 °C；进样量：50 µl。主要的质谱条件：离子源：电喷雾（ESI）；扫描方式：正离子；监测方式：多反应监测（MRM）；定量离子对为 72.4 > 55.5，定性离子对为 72.4 > 43.5。

3.2.2 液相色谱-三重四极杆质谱标准和仪器普及情况

随着液相色谱质谱技术的迅速发展，越来越多技术人员采用液相色谱质谱技术开展分析测试。在食品药品领域，液相色谱质谱法已经明显多于气相色谱类方法，而在环境监测领域，虽然有机污染物分析还是以气相色谱类方法为主，但是近年来陆续已经发布不少采用液相色谱质谱法的标准分析方法，比如《水质 4 种硝基酚类化合物的测定 液相色谱-三重四极杆质谱法》（HJ 1049-2019）、《水质 17 种苯胺类化合物的测定 液相色谱-三重四极杆质谱法》（HJ 1048-2019）、《水质 氨基甲酸酯类农药的测定 超高效液相色谱-三重四极杆质谱法》（HJ 827-2017）、《水质 丁基黄原酸的测定 液相色谱-三重四极杆串联质谱法》（HJ 1002-2018）、《土壤和沉积物 氨基甲酸酯类农药的测定 高效液相色谱-三重四极杆质谱法》（HJ 961-2018）、《水质 4 种硝基酚类化合物的测定 液相色谱-三重四极杆质谱法等》（HJ 1049-2019）等，另外微囊藻毒素等相关标准方法正在制订中。总之，液相色谱质谱法的独特优势，比如适合极性、难挥发、热不稳定的污染物，可直接进水样分析等，使其在水体有机污染物分析中有越来越广阔的应用前景。

另一方面，目前液相色谱质谱仪在环境监测系统已比较普及，省级站、省会城市站几乎都具备了液相色谱质谱仪，地市监测站陆续配备液相色谱质谱仪。各地配置的液相色谱质谱仪主要为液相色谱-三重四极杆质谱仪，该仪器为最常用定量分析仪器，除此之外，还有一

些监测中心（站）配置了液相色谱-高分辨质谱仪，比如 HPLC/Q-TOF，用于污染物定性分析及未知污染物分析等。现阶段国内监测系统配置的液相色谱质谱仪几乎为国外进口设备，近年来国产仪器厂商开始生产销售液相色谱质谱仪。液相色谱质谱仪的普及为本标准的应用推广提供了坚实的硬件基础。

本标准采用的液相色谱-三重四极杆质谱仪，在环境监测领域已经较为普及，为本标准方法的推广应用奠定了基础。而已发布的各类液相色谱质谱标准方法，在质谱定量定性技术要求、注意事项等方面，可为本标准的制定提供重要的参考。

3.3 文献资料研究

文献报道的关于水中丙烯酰胺的分析方法有衍生化-GC/ECD、衍生化-GC/MS、衍生化-LC/UV、直接进样-LC/MS 等。1972 年，Croll 和 Simkins 首先报道了痕量丙烯酰胺的检测方法^[11]。该方法过程为通过对水样中的丙烯酰胺进行紫外光照射-溴化反应，用乙酸乙酯将反应产物 2,3-二溴丙酰胺提取，GC-ECD 检测。当采用 100 ml 水样进行分析，该方法的检出限为 0.1 $\mu\text{g/L}$ ，可满足相关检测需求。由于该方法 2,3-二溴丙酰胺的生成量受水质状况、紫外光强度以及其他反应条件的影响，为了克服衍生化反应条件带来的变化，Croll 和 Simkins 建议需要制定一个严格的标准化操作程序。1976 年，Hashimoto 认为上述方法存在一些不足之处，比如 2,3-二溴丙酰胺的生成率比较低，而且受样品状况影响；溴化反应容易受到铵离子的干扰；在处理大批量样品时，使用紫外灯不够方便；无法通过净化过程完全去除干扰。他对该方法进行优化，对于溴化反应采用离子化反应代替自由基反应，采用小体积乙酸乙酯即可有效提取溴化产物，提高了回收率，采用的水样体积为 50 ml，检出限低至 0.032 $\mu\text{g/L}$ ^[12]。另外，实验中海水样品或 8%铵离子未对方法产生干扰。吕康乐等人采用溴化衍生-三重四极杆气质联用法测定地表水中丙烯酰胺，采用的水样体积为 100 ml，方法检出限为 0.08 $\mu\text{g/L}$ ^[13]。

除了气相色谱方法，液相色谱类方法可用于分析丙烯酰胺，主要包括液相色谱紫外检测法和液相色谱质谱法。在液相色谱类方法中，丙烯酰胺可以经过衍生化反应后得到检测，或者无需衍生化分析。1979 年，Brown 和 Rhead 认为 ECD 检测器容易受到污染，而且长时间使用后维护麻烦，灵敏度容易下降，因此参考 Hashimoto 的溴化反应条件，采用了液相色谱紫外检测器来分析，采用的水样体积为 100 ml，方法检出限为 0.2 $\mu\text{g/L}$ ^[14]。罗毅等主编的《地表水环境质量监测实用分析方法》包括了固相萃取-液相色谱法测定水体中丙烯酰胺^[15]。中国环境监测总站建立该方法的作业指导书，并通过持证上岗考核和计量认证。该方法原理是采用实验室制备的活性炭固相萃取小柱萃取水中丙烯酰胺，采用超高效液相色谱紫外检测器检测，检测波长为 205 nm。该方法的仪器检出限为 1 $\mu\text{g/L}$ ，当水样的取样量为 200 ml 时，方法检出限 0.005 $\mu\text{g/L}$ 。

随着液相色谱质谱技术的成熟以及仪器的普及，关于液相色谱质谱法检测水中丙烯酰胺的文献报道越来越多。由于液相色谱质谱法的检测灵敏度高，抗干扰能力强，因此水样无需复杂的前处理，可直接进入液相色谱质谱仪分析。Marin 等比较了液相色谱质谱法 3 种离子源（ESI、APCI 和 Ion Sabre APCI）分析水中丙烯酰胺的情况，发现 3 种离子源均能达到 0.1 $\mu\text{g/L}$ ，APCI 的基质干扰要小于 ESI，而采用 Ion Sabre APCI 的基质干扰最小，检出限低至

0.03 $\mu\text{g/L}$ ^[16]。关于直接进样-LC/MS 方法分析丙烯酰胺的国内文献报道已不少^[17-23]，该方法的应用已非常成熟。该方法中丙烯酰胺的检出限在 0.025 $\mu\text{g/L}$ ~0.21 $\mu\text{g/L}$ 之间，满足现有的环境管理需求。

液相色谱质谱法中采用的最多质谱为三重四极杆质谱仪。关于离子化方式，多数采用电喷雾正离子化模式（ESI+），偶尔见大气压电离正模式（APCI+）。丙烯酰胺在三重四极杆质谱中的离子化途径见图 2 所示。丙烯酰胺母离子（ m/z 72）可分别丢掉 $-\text{NH}_3$ 、 $-\text{H}_2\text{O}$ 、 $-\text{C}_2\text{H}_4$ 得到 m/z 55、 m/z 54、 m/z 44 的碎片离子， m/z 55、 m/z 54 可分别进一步丢掉 CO、CNH 得到 m/z 27 碎片离子。丙烯酰胺质谱检测中涉及的离子对有 $72>55$ 、 $72>44$ 、 $72>27$ 等，主要以 $72>55$ 作为定量离子。定量的方式有外标法和内标法，内标法采用的同位素内标有丙烯酰胺- d_3 。

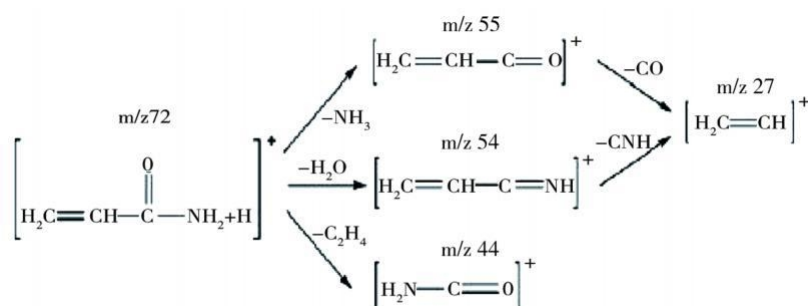


图 2 LC/MS 分析中丙烯酰胺的离子化途径^[21]

液相色谱质谱法中常采用的分离模式是反相模式，采用的液相色谱仪有高效液相色谱仪以及近年来迅速发展的超高效液相色谱仪。关于流动相种类，多数采用甲醇/水作为流动相，在流动相中加入一定浓度甲酸（水相中比例为 0.1%）可显著提高离子化效率。关于流动相洗脱条件，有等度洗脱和梯度洗脱两种方式，采用梯度洗脱方式可对色谱柱进行清洗，保持色谱柱良好的性能。关于色谱柱，常用的 C_{18} 色谱柱可用于丙烯酰胺的分离，由于丙烯酰胺的极性很强，在 C_{18} 色谱柱的保留能力相对较弱，因此一般使用有机相浓度较低的流动相条件。

3.4 与本标准的关系

国外的标准方法没有相关直接进样-液相色谱/质谱法，无法供本标准直接参考，但是美国 EPA Method 8316 在储备液保存条件和时间方面，德国 DIN 38413-6 在液相色谱质谱分析条件等方面可为本标准提供参考。

通过对国内现有的标准方法进行调查分析，确定本标准需要弥补现有标准方法的不足，同时达到一样的适用范围以及相当的方法性能。已有的国内丙烯酰胺标准方法 HJ 697-2014 在样品采集和保存条件，DB 61/T 563-2013 在仪器分析条件等方面取得的研究成果，可为本标准的研究提供了重要参考。此外，本标准方法还需要与现有的标准方法进行方法比对实验，确定相应环节的技术要求。

调研国内外相关分析方法的文献资料可为确定本标准技术路线提供支持。调研结果显示直接进样-LC/MS 方法的检出限可满足我国相关标准的需求。文献资料中涉及直接进样

-LC/MS 方法的条件，包括液相色谱条件和质谱条件，以及方法研究的成果均可为本标准的研究提供很好的参考和借鉴。

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

(1) 方法的检出限和测定范围满足相关生态环境标准和生态环境管理工作的要求

现有的《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002)和《石油化学工业污染物排放标准》(GB 31571-2015)规定了丙烯酰胺的标准限值。本标准的测定下限至少要达到最低的标准限值(0.5 μg/L)，对应的方法检出限需要低于 0.125 μg/L，以保证检出限和测定范围满足标准要求。

(2) 方法准确可靠，满足各项方法特征指标的要求

方法准确可靠，各项方法特性指标至少达到与《水质 丙烯酰胺的测定 气相色谱法》(HJ 697-2014)大致相当水平，标准曲线的相关系数 ≥ 0.995 ，方法实验室间和实验室内相对标准偏差小于 30%，加标回收率为 70%~130%。

(3) 方法具有普遍适用性，易于推广使用

方法操作步骤简易，使用的试剂材料和仪器设备常见，使用不同类型的仪器进行验证，使方法具有普遍适用性，易于推广使用。所采用的液相色谱-三重四极杆质谱仪在全国监测系统已经大量配置，而且直接进样法无需复杂的前处理，只需进行过滤操作，易于技术人员掌握操作。

4.2 标准制订的技术路线

本标准拟采用的分析技术为直接进样-液相色谱三重四极杆质谱法。国内外文献调研显示水样经过过滤后可直接进行液相色谱三重四极杆质谱法分析，方法性能参数满足相关标准要求。通过采用直接进样法，水中丙烯酰胺分析非常省时省力，可有效克服衍生化-GC/ECD 方法的不足之处。在本标准制订中，需要特别考察直接进样法对于不同水体的适用性。如直接进样法可以实现不同水体的分析，则对水样不需要采取复杂的净化措施。

本标准拟采用内标法进行定量。由于本标准采用直接进样方法，水样中的基质可能会对丙烯酰胺的质谱信号产生显著影响，而且不同种类水样的影响差异可能比较大。如采用外标法定量分析，定量准确度难以保证。在样品中加入丙烯酰胺同位素内标，采用内标法定量，可有效消除水样基质干扰以及质谱分析过程变化，大大提高分析的准确度。此外，丙烯酰胺同位素内标已经有不少商品化产品，可供选择。

本标准制订的技术路线图见图 3 所示。梳理现行的水体环境质量标准以及污染物排放标准关于丙烯酰胺的标准限值，确定制订的标准需满足相应的监测需求。通过国内外相关标准及文献调研，确定拟采用的分析方法。在实验室内进行方法研究，在色谱质谱条件、过滤条件、样品基质效应、样品采集与保存条件等方面开展具体研究，确定方法的具体技术参数。对于建立的方法，在实验室内进行方法性能研究，包括方法检出限、精密度和正确度。将本标准方法与《水质 丙烯酰胺的测定 气相色谱法》(HJ 697-2014)进行方法比对实验。

选择具有不同厂家的液相色谱-三重四极杆质谱仪的 6 家实验室进行方法验证，考察方法检出限、空白加标实验精密度和正确度、实际水样加标实验的精密度和正确度，其中实际水样包括了地下水、地表水、海水、工业废水（石化废水）、生活污水。对方法验证数据进行汇总分析，完成标准文本和编制说明的编写。

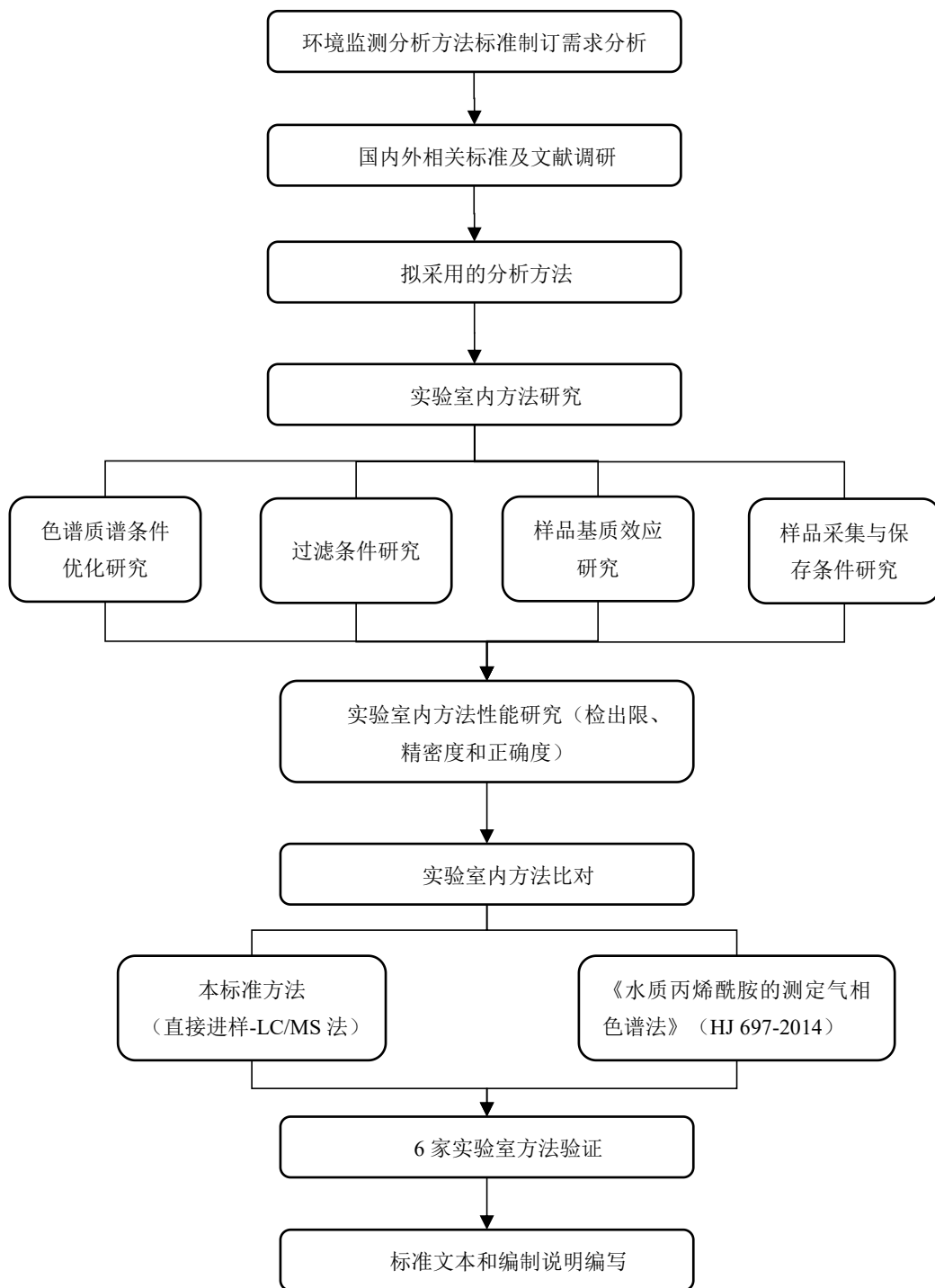


图 3 方法编制的技术路线图

5 方法研究报告

5.1 方法研究的目标

为满足丙烯酰胺的监测需求，本标准拟满足地表水、地下水、生活污水、工业废水和海水的测定，并通过实际样品的验证实验证明适用性。

本方法的检出限、测定范围、精密度和准确度拟至少与《水质 丙烯酰胺的测定 气相色谱法》（HJ 697-2014）大致相当，达到检出限小于 0.07 $\mu\text{g/L}$ ，方法实验室间和实验室内相对标准偏差小于 30%，加标回收率为 70%~130%。

5.2 方法原理

水样经过滤后直接采用高效液相色谱-三重四极杆质谱仪进行分析，选用丙烯酰胺特征碎片离子进行定性和定量分析，内标法定量，根据保留时间、定性定量离子丰度比定性分析。文献资料调研显示直接进样/液相色谱-三重四极杆质谱法用于水样分析已比较成熟，本标准采用该技术手段，通过方法优化研究以及大量实际样品分析测试确认该技术手段的可行性，方法性能可以满足相关质量标准和排放标准的要求。对于基质复杂的水样，可采用稀释或离子交换小柱净化等预处理。虽然萃取浓缩前处理方法可进一步降低方法的检出限，但是增加分析成本以及操作复杂性，鉴于直接进样法可满足要求，故本标准不采用。

5.3 试剂和材料

5.3.1 甲醇（ CH_3OH ）：液相色谱级。

普通的分析纯试剂无法满足分析需求，必须使用液相色谱级或更高级别的试剂。

5.3.2 甲酸（ HCOOH ）：液相色谱级。

用于配制流动相和调节水样 pH 值。

5.3.3 氨水（ $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ ）： $w \in [25\%, 28\%]$ 。

用于调节水样 pH 值。

5.3.4 甲酸水溶液： $\rho(\text{HCOOH})=0.1\%$ 。

移取 1 ml 甲酸（5.3.2）于预先加入适量纯水的 1 L 容量瓶中，用纯水定容。

5.3.5 丙烯酰胺标准贮备液， $\rho(\text{C}_3\text{H}_5\text{NO})=100 \text{ mg/L}$ 。

市售标准 100 mg/L，按标准溶液证书要求保存。

5.3.6 丙烯酰胺标准中间液， $\rho(\text{C}_3\text{H}_5\text{NO})=1.00 \text{ mg/L}$ 。

取 0.10 ml 标样于 10 ml 容量瓶中，用甲醇稀释至标线，浓度为 1.00 mg/L。标准中间液保存实验结果见表 4。标准使用液浓度在试验期 60 d 内偏差为 2.1%，认为 60 d 内浓度保持稳定，因此本标准规定标准中间液可在 $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 以下冷冻保存 60 d。

表 4 标准中间液的保存实验

保存时间	1 天	10 天	30 天	60 天
丙烯酰胺（mg/L）	1.0	1.0	0.97	0.96

5.3.7 丙烯酰胺使用液： $\rho(\text{C}_3\text{H}_5\text{NO})=100\ \mu\text{g/L}$ 。

取 1.0 ml 标准使用液（5.6）于 10 ml 容量瓶中，用纯水定容，混匀。临用现配。

5.3.8 丙烯酰胺内标标准（丙烯酰胺- d_3 ）贮备液， $\rho(\text{C}_3\text{H}_5\text{NO}-d_3)=100\ \text{mg/L}$ 。

市售标准 100 mg/L，按标准溶液证书要求保存。

5.3.9 丙烯酰胺内标标准使用液， $\rho(\text{C}_3\text{H}_5\text{NO}-d_3)=1.00\ \text{mg/L}$ 。

取 100 μl 标样于 10 ml 容量瓶中，用甲醇稀释至标线，浓度为 1.0 mg/L。内标标准使用液参考同浓度的标准中间液，规定在 $-18\ ^\circ\text{C}$ 以下冷冻保存 60 d。

5.3.10 针式过滤器：0.22 μm ，滤膜材质为亲水聚四氟乙烯。

5.3.11 氮气：纯度 $\geq 99.999\%$ ，用于高效液相色谱-三重四极杆质谱仪。

5.3.12 氢型阳离子交换柱：1.0 ml，填料为磺化交联的苯乙烯二乙烯基苯共聚物。

5.4 仪器和设备

5.4.1 高效液相色谱-三重四极杆质谱仪

质谱仪规定用三重四极杆质谱仪。三重四极杆质谱可以提供目标化合物分子离子峰和二级碎片，是非常经典的用于定量和定性分析的质谱仪，而单极质谱只能提供目标化合物分子离子峰。因此三重四极杆质谱能有效降低分析的假阳性概率，更适合环境样品中痕量化合物的分析。目前环境监测部门使用最多的液相色谱质谱仪为液相色谱-三重四极杆质谱仪。

本标准还要求质谱仪配备电喷雾离子源，该离子源为三重四极杆质谱仪的常规配置，适用于丙烯酰胺的离子化。

5.4.2 色谱柱

本标准提供了填料粒径为 1.7 μm ，柱长为 100 mm，内径为 2.1 mm 的 C_{18} 色谱柱，供参考使用。对于其他性能相近的色谱柱，通过优化后亦可使用。

5.4.3 棕色采样瓶

由于采用直接进样分析方法，本标准所需水样体积较少。根据丙烯酰胺的理化性质，水样需要避光密封。因此，本标准规定采用 100 ml 具聚四氟乙烯衬垫瓶盖的螺口棕色玻璃瓶或棕色具塞磨口瓶。

5.4.4 一般实验室常用仪器和设备

比如涡旋振荡器、超声波清洗器、流动相抽滤装置、冰箱等。

5.5 样品

5.5.1 采集与保存

按照 GB 17378.3、HJ 91.1、HJ 91.2、HJ 164 和 HJ 442.3 的相关规定采集代表性物质，采集的样品保存在洁净、不存在干扰物的具塞棕色玻璃瓶内。《水质 丙烯酰胺的测定 气相色谱法》（HJ 697-2014）中规定在 $0\sim 4\ ^\circ\text{C}$ 条件下，水样可保存 7 d，未对水样 pH 值有明确要求。

编制组采用地表水和废水（加标后浓度分别为 2.0 $\mu\text{g/L}$ 和 10.0 $\mu\text{g/L}$ ），首先查看不同 pH 条件下，丙烯酰胺的信号响应情况（见图 4）。结果显示在 pH 值 2 至 7 条件下，地表水和废水的丙烯酰胺信号响应较高，分别为标样的 67%~88%和 58%~65%，而当 pH 值在 8 至 11 条件下，地表水和废水的丙烯酰胺信号响应明显下降，分别为标样的 22%~34%和 0%~4.1%。

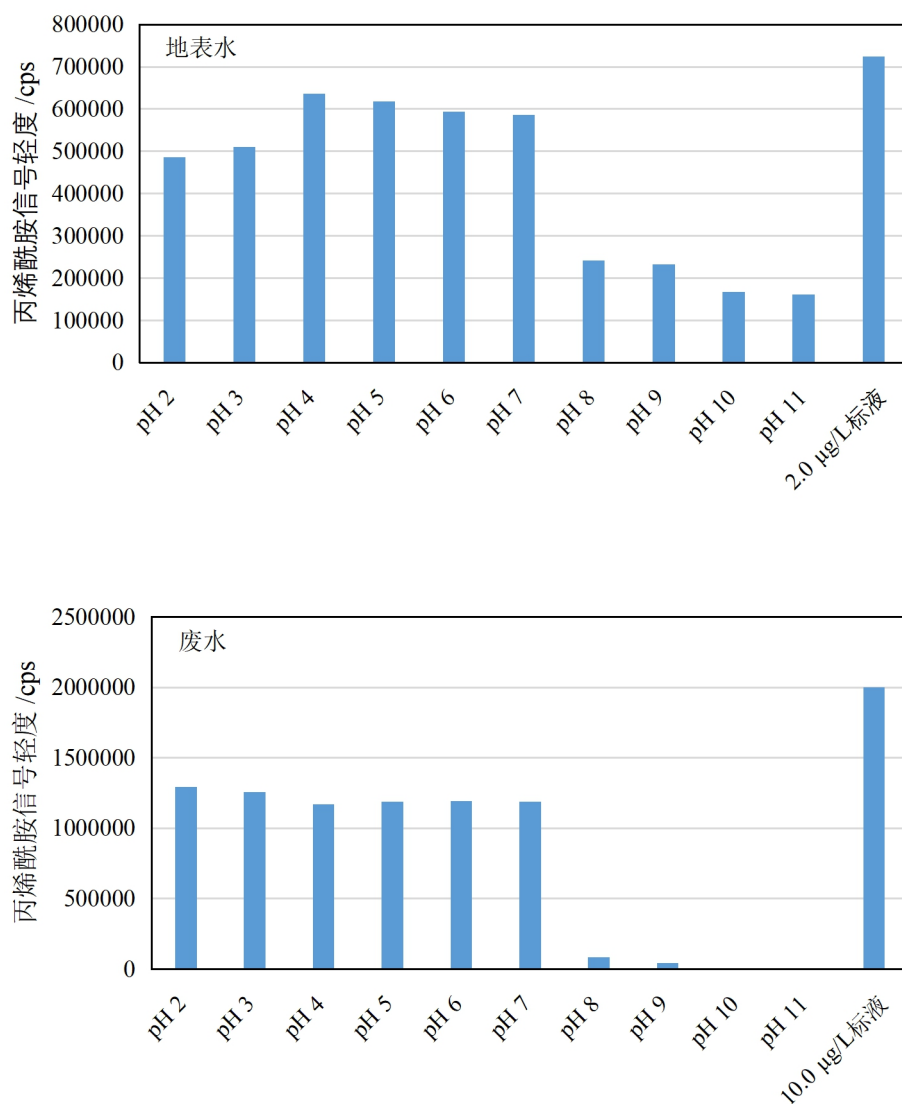


图 4 不同 pH 条件下地表水和废水中丙烯酰胺的信号响应

基于上述结果，编制组选择 pH 值 2 至 7 条件，分别对地表水和废水（加标后浓度分别为 2.0 $\mu\text{g/L}$ 和 10.0 $\mu\text{g/L}$ ），进一步开展保存时间的研究。结果（图 5）显示 1~20 天内，地表水和废水中丙烯酰胺的绝大部分回收率在 80%~100%之间。为考虑不同来源水样基质复杂程度不同，本标准从严控制，规定样品采集后需调节 pH 值至 2~7 之间，于 0~4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏避光保存，15 d 内完成分析。

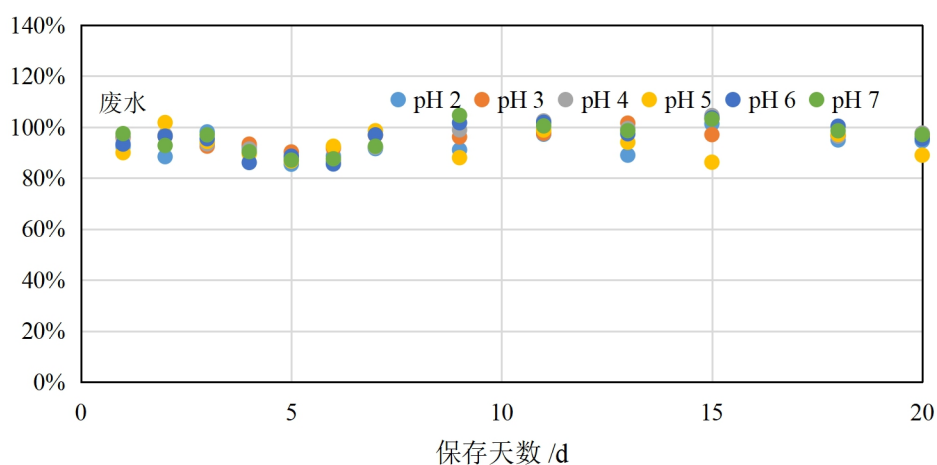
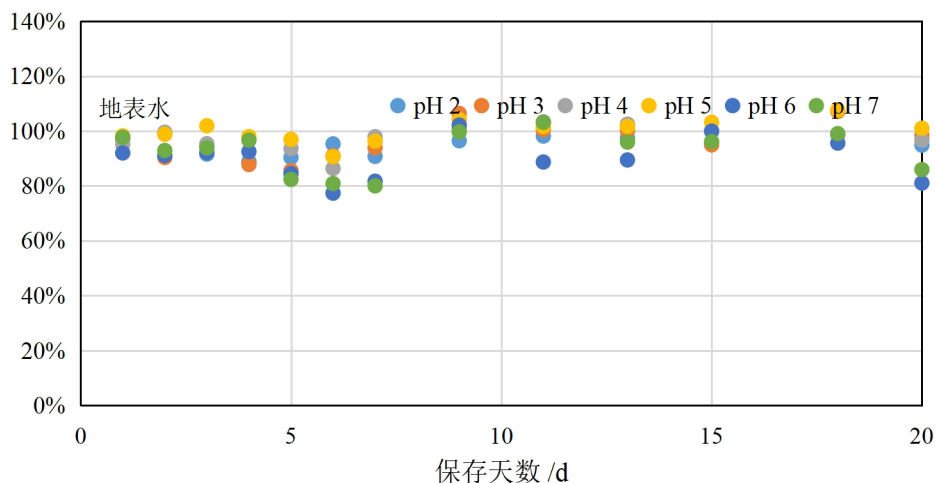


图 5 不同 pH 值条件下地表水和废水样品的保存情况

5.5.2 样品的制备

丙烯酰胺具有强极性和水溶性，在水体中的存在形式是溶于水中，几乎不吸附在颗粒物。因此，本标准采用对样品进行简单过滤后直接进样进行仪器分析。滤膜材质的不同可能影响丙烯酰胺测试结果的准确性。所选择的滤膜应对丙烯酰胺不发生吸附且不会析出干扰物质。本实验比较了 3 种常见的水样过滤用的 0.22 μm 滤膜：亲水聚四氟乙烯膜、尼龙膜、玻璃纤维膜，考察采用不同材质的滤膜过滤对丙烯酰胺回收率的影响，见表 5。结果显示采用的 3 种材质滤膜过滤，丙烯酰胺的回收率较好，且未出现干扰物质。因此，本标准规定上述 3 种滤膜均可用于水样的过滤。

表 5 不同材质滤膜过滤对丙烯酰胺回收率的影响

目标化合物	亲水聚四氟乙烯	尼龙膜	玻璃纤维膜
丙烯酰胺回收率 (%)	96.9	100	107

5.6 分析步骤

5.6.1 质谱条件优化

5.6.1.1 质谱调谐

质谱仪的日常维护极为重要，直接关系质谱的性能好坏及稳定性。应定期、开关机或维修后进行质谱调谐，保证仪器处于正常状态。

5.6.1.2 质谱参数优化

本标准使用高效液相色谱-三重四极杆质谱法，使用多反应模式进行定量分析。因为普通单极质谱仪使用 1 个特征离子对丙烯酰胺进行定性定量分析，而三重四极杆质谱法的多反应监测模式采用了多个离子对对丙烯酰胺进行定性定量分析，可大大降低分析的假阳性概率，提高分析的准确度。

高效液相色谱-三重四极杆质谱主要使用的电离源有电喷雾源和大气压化学源，前者适合分析有一定极性的目标化合物，后者适合分析极性较弱的化合物。由于丙烯酰胺有较强的极性，故选择电喷雾源。根据丙烯酰胺的分子结构，结合文献调研和实验研究，选用电喷雾正离子化方式对丙烯酰胺进行检测。

对质谱仪进行多种参数优化的目的是提高分析方法的灵敏度。在建立丙烯酰胺的质谱分析方法前，必须要研究丙烯酰胺的质谱行为。配制丙烯酰胺标准溶液，用蠕动泵直接进样质谱，改变质谱的锥孔电压，观察丙烯酰胺分子离子峰响应。一级质谱中丙烯酰胺产生的分子离子峰为 $[M+H]^+$ ， m/z 为 72。通过优化毛细管电压、锥孔电压、脱溶剂气温度和流量、锥孔气流量使丙烯酰胺分子离子峰信号最强。然后打开碰撞气，对 $[M+H]^+$ 分子离子进行碰撞裂解。通过改变碰撞气能量，观察特征碎片的强度，确定定性和定量用的碎片离子，以及碎片强度最大时的碰撞气能量。结果显示，丙烯酰胺分子离子经过裂解可产生信号较强的 m/z 55.1 和 m/z 44.0 的碎片离子，与文献资料一致。经过优化，确定丙烯酰胺及同位素的关键质谱条件见表 6。不同浓度水平离子丰度比的变异情况见表 7，结果表明各浓度点的离子对丰度比相对标准偏差为 6.2%，说明不同浓度点离子对丰度比较为稳定。不同厂家的质谱条件差别很大，本标准质谱条件为参考条件。

表 6 丙烯酰胺及同位素的关键质谱条件

编号	化合物	监测离子对 (m/z)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (V)
1	丙烯酰胺	72.0>55.1*	30	15
		72.0>44.0	30	18
2	丙烯酰胺- d_3	75.1>58.0*	40	17
		75.1>44.0	40	30

注：带*为定量离子对

表 7 丙烯酰胺不同浓度水平离子丰度比的变异情况

浓度梯度 ($\mu\text{g/L}$)	不同监测离子对 (m/z) 的离子丰度比 (%)	
	72.0>55.1*	72.0>44.0
2.00	100	6.69
5.00	100	5.75
7.50	100	6.27
20.0	100	6.16
RSD (%)	/	6.2

5.6.2 色谱条件优化

5.6.2.1 流动相的选择

LC-MS/MS 分析丙烯酰胺方法常用的流动相为甲醇/水。为提高丙烯酰胺在质谱中离子化效率，提高分析灵敏度，可在水相中加入适量的有机酸（甲酸）或有机铵盐（乙酸铵）。编制组以 $0.1 \mu\text{g/L}$ 标准溶液为例，研究了不同流动相组合对丙烯酰胺灵敏度的影响。以甲醇/5 mM 乙酸铵流动相的丙烯酰胺峰面积为参照，对其他流动相条件下丙烯酰胺峰面积进行归一化处理。结果显示采用甲醇/0.1%甲酸时丙烯酰胺有较高的信号响应，为甲醇/5 mM 乙酸铵的 2 倍，故本标准确定流动相为甲醇/0.1%甲酸。

本标准涉及的化合物只有丙烯酰胺 1 个化合物，而且丙烯酰胺不存在同分异构体，因此 LC/MS 方法对于色谱分离条件要求不高，采用等度洗脱方式一般可以满足分析要求。然后，由于本标准使用直接进样的方式，没有净化过程，如果采用等度洗脱条件，水样中保留能力强的化合物会在色谱柱上累积，干扰色谱分离过程，降低色谱柱的寿命。通过采用梯度洗脱的方法，等丙烯酰胺流出后使用较高浓度有机相冲洗色谱柱，保证分析过程的稳定，提高色谱柱的使用寿命。编制组对流动相的梯度洗脱条件进行优化，分别使用初始有机相比例为 2%、5%、10%、15%、20% 进行梯度洗脱，优化结果见图 6，使用初始有机相比例为 2% 时丙烯酰胺的保留时间最长且峰型、基线等最合适。使丙烯酰胺在适当的时间出峰，避免其他杂质对丙烯酰胺离子化的干扰，同时使丙烯酰胺能尽快出峰，减少分析时间，实现又快又好的分离。最终确定的梯度洗脱条件见表 8，流速为 0.3 ml/min 。

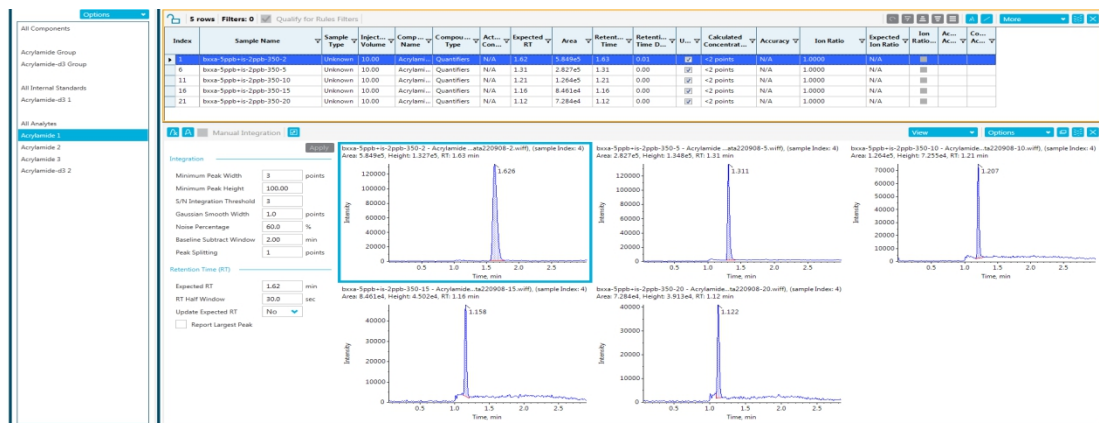


图 6 流动相的梯度洗脱条件优化情况

表 8 梯度洗脱条件

时间 (min)	甲酸水体积分数 (%)	甲醇体积分数 (%)
0	98	2
1.5	98	2
2.0	5	95
3.0	5	95
4.0	98	2
6.0	98	2

5.6.2.2 色谱柱的选择

十八烷基硅烷键合填料 (C₁₈) 是常用的反相液相色谱柱填料, 适用于非极性或极性比较弱的化合物的分析。极性较强的化合物在 C₁₈ 色谱柱上无保留或弱保留, 保留时间很短。对于基质复杂的样品, 采用直接进样分析时, 需要采用低有机相浓度的流动相, 使样品有一定的保留时间, 得到较好的分离, 避免干扰物与丙烯酰胺共流出, 造成干扰。除了采用低有机相浓度的流动相, 随着色谱柱材料的发展, 近年来推出适用于极性较强物质分离的色谱柱填料, 比如低碳载量的 C₁₈ 色谱柱、无 C₁₈ 的硅胶色谱柱。这些色谱柱对于极性强的化合物的保留能力要高于普通的 C₁₈ 色谱柱。

考虑丙烯酰胺溶于水, 极性较强, 编制组采用流动相甲醇/0.1%甲酸梯度洗脱条件, 研究了基质复杂的废水样品中丙烯酰胺在不同色谱柱上的出峰情况。编制组选择的 3 种色谱柱情况如下: (1) 普通 C₁₈ 色谱柱 (ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱: 2.1 mm*100 mm, 1.7 μm), 碳载量为 18%, (2) 低碳载量的 C₁₈ 色谱柱 (ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱: 2.1 mm*100 mm, 1.8 μm), 碳载量为 11%, (3) 无 C₁₈ 的硅胶色谱柱 (ACQUITY UPLC BEH HILIC 色谱柱: 2.1 mm*100 mm, 1.7 μm), 碳载量 0%。结果见图 7。在普通 C₁₈ 色谱柱上, 丙烯酰胺的保留时间为 1.41 min。在低碳载量的 C₁₈ 色谱柱上, 丙烯酰胺的保留时间为 1.56 min, 保留能力明显高于普通 C₁₈ 色谱柱。在两种 C₁₈ 色谱柱上, 丙烯酰胺保留时间附近基线

很平稳,说明丙烯酰胺和废水杂质可得到较好的分离,峰形尖锐。在无 C₁₈ 的硅胶色谱柱上,丙烯酰胺的保留能力不强,保留时间为 1.11 min,而且基线背景噪音很大,响应低。因此,无 C₁₈ 的硅胶色谱柱不适合水中丙烯酰胺的直接进样分析。

根据上述实验结果,编制组确定本标准采用 C₁₈ 色谱柱,不采用硅胶色谱柱。

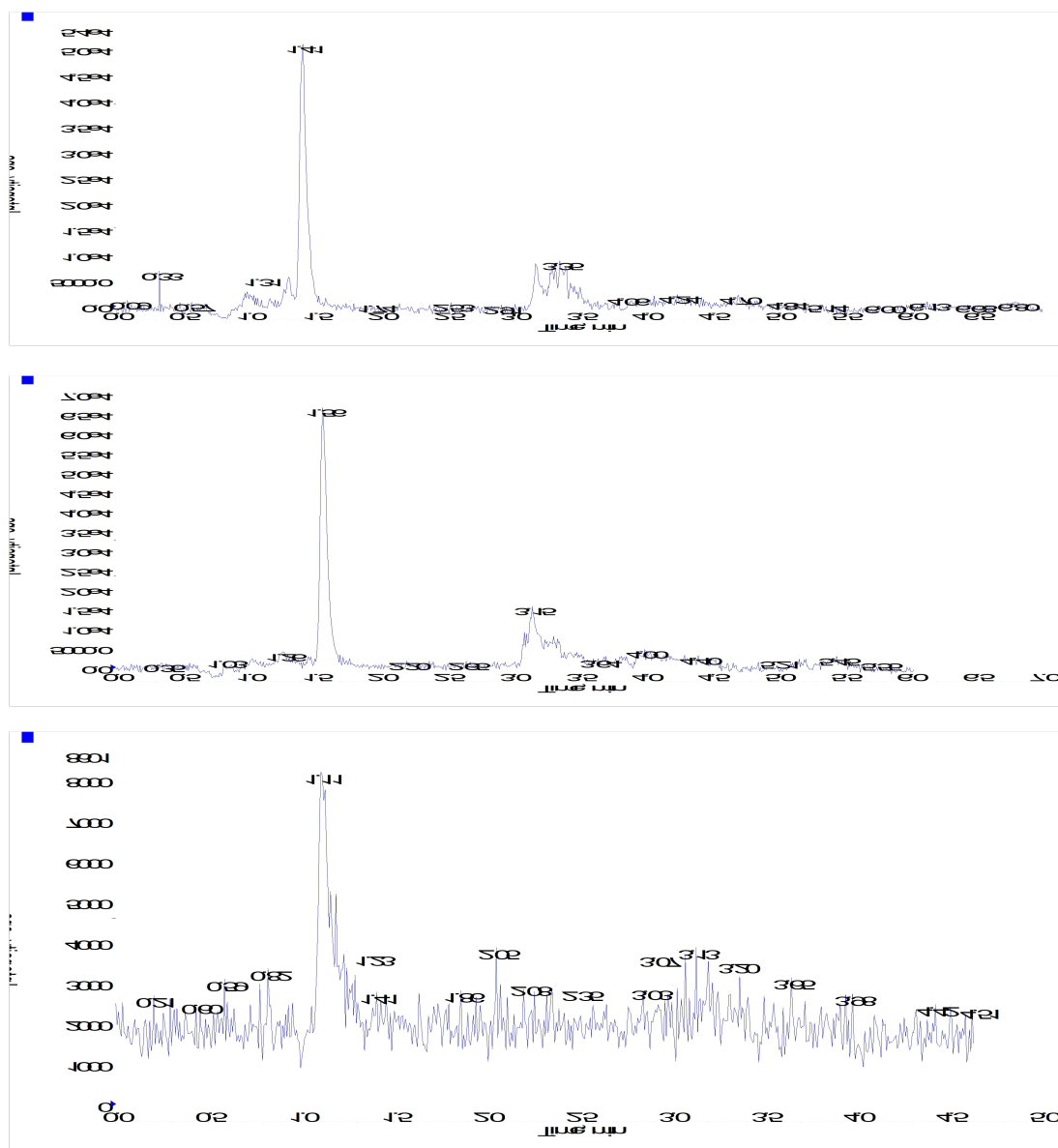


图 7 不同填料色谱柱上丙烯酰胺的出峰情况 (上: 普通 C₁₈ 色谱柱, 中: 低碳载量 C₁₈ 色谱柱, 下: 硅胶色谱柱)

5.6.3 水样中悬浮物的影响

选择悬浮物含量不同水样(地表水、地下水及废水,未检出丙烯酰胺),分别加标 2 μg/L 或 10 μg/L,查看水中悬浮物对分析的影响,结果见表 9。结果显示对于悬浮物浓度在 <4 至 3780 mg/L 的水样,丙烯酰胺的加标回收率良好,在 97.1%~112%之间,说明水样中悬浮物对丙烯酰胺分析的影响可以忽略。

表9 水中悬浮物对丙烯酰胺分析的影响

样品及编号	悬浮物浓度 (mg/L)	加标浓度 (μg/L)	回收浓度 (μg/L)	回收率 (%)
地表水 1	49	2.0	2.2	109
地表水 2	35	2.0	2.0	101
地表水 3	76	2.0	2.1	106
地下水 1	128	2.0	2.2	111
地下水 2	<4	2.0	2.0	101
地下水 3	9	2.0	2.2	108
地下水 4	38	2.0	2.1	106
工业废水 1	3780	10.0	10.1	101
工业废水 2	34	10.0	10.9	109
工业废水 3	3530	10.0	9.7	97.1
工业废水 4	218	10.0	10.5	105
工业废水 5	158	10.0	11.2	112
工业废水 6	79	10.0	10.8	108
工业废水 7	204	10.0	9.9	99.5

5.6.4 水样的基质效应

因为本标准采取直接进样方法，所以对于液相色谱-三重四极杆质谱法，降低或消除水样基质效应尤为重要。有研究通过调节流动相溶剂强度使丙烯酰胺保留时间与基质效应出现的时间段错开，可避开基质效应；通过在流动相加入一定浓度甲酸，可显著降低实际水样分析中的基质效应^[23]。编制组选取了典型的地表水样、地下水样、海水、生活污水和工业废水样品，加入丙烯酰胺标准溶液至浓度为 0.5 μg/L（海水加标浓度为 2.0 μg/L），过滤后直接进样分析，不进行同位素校正，考察不同水样的基质效应。本实验采用样品中丙烯酰胺的响应与标准溶液中丙烯酰胺的比值来衡量样品的基质效应，计算公式（1）如下：

$$ME = A_1/A_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中：ME——基质效应，%；

A_0 ——丙烯酰胺标准溶液测得的峰面积；

A_1 ——水样经前处理后添加相同浓度的丙烯酰胺测得的峰面积。

当 ME 等于 100% 时，不存在基质效应；ME 大于 100% 时，基质效应表现为基质增强效应；而 ME 小于 100% 时，基质效应表现为基质抑制效应。

5 类水体的实验结果见表 10。10 个地表水样品包括水库水、湖泊水和河流水，ME 为 78%~94%，说明地表水的基质效应为弱基质抑制效应。9 个地下水样品中，除了 1 个样品的 ME 为 112%，其余 8 个样品为 24%~94%，说明地下水的基质效应主要为基质抑制效应，不同地下水的基质抑制效应差异很大，最低基质抑制效应为 24%。1 个海水样品的基质抑制效应为 34%。废水样品包括了工业污水处理厂、生活污水处理厂、石化企业、丙烯酰胺生产企业的废水。结果显示除了 1 个生活污水处理厂废水有一定的基质增强效应 (ME 为 137%)，

大部分废水样品存在一定的基质抑制效应，部分废水样品的基质抑制效显著（11%~37%）。

表 10 不同种类水样的基质效应

样品类型		样品编号	样品性状	水样基质效应 ME (%)
地表水	水库水	水库水-1	无色、澄清	94
		水库水-2	无色、澄清	90
		水库水-3	无色、澄清	90
		水库水-4	无色、澄清	91
	湖泊水	湖泊水-1	无色、澄清	86
		湖泊水-2	无色、澄清	78
	河流水	河流水-1	无色、澄清	85
		河流水-2	无色、澄清	90
		河流水-3	微黄、澄清	78
		河流水-4	微黄、澄清	87
地下水	/	地下水-1	无色、澄清	112
		地下水-2	无色、澄清	84
		地下水-3	无色、澄清	94
		地下水-4	无色、澄清	79
		地下水-5	微黄、微浑	50
		地下水-6	微黄、微浑	57
		地下水-7	微黄、微浑	74
		地下水-8	灰色、微浑	57
		地下水-9	黑色、微浑	24
海水	/	海水-1	微黄、澄清	34
废水	工业污水处理厂	工业污水处理厂废水-1	微黄、澄清	68
		工业污水处理厂废水-2	微黄、澄清	66
	生活污水厂	生活污水厂废水-1	微黄、澄清	137
		生活污水厂废水-2	微黑、微浑	22
		生活污水厂废水-3	微黑、微浑	37
	石化企业	石化企业废水-1	微黄、微浑	17
		石化废水-2	微黄、微浑	11
丙烯酰胺生产企业	丙烯酰胺生产企业废水-1	微黄、微浑	20	

对于存在弱基质抑制效应或增强效应的水样，通过采用同位素内标方法，可以保证分析结果的准确性。对于强基质抑制效应的水样（如 $ME < 40\%$ ），仅采用同位素稀释方法还不能保证分析结果的准确性。水样的强基质抑制效应会严重降低方法的检出限，可能会出现假

阴性结果。通过对水样进行稀释，可有效降低干扰物的浓度，从而降低基质效应。本实验将出现强基质抑制效应的水样稀释 10 倍，查看水样基质效应的变化情况，结果见表 11。结果显示通过将复杂基质的水样稀释 10 倍，可将水样基质效应保持在 64%~119%。通过对水样进行稀释，可有效降低复杂基质对仪器的影响。

表 11 水样稀释对基质效应的影响

样品编号	水样基质效应 ME (%)	
	未稀释	稀释 10 倍
地下水 9	24	64
生活污水处理厂废水-2	22	103
生活污水处理厂废水-3	37	96
石化企业废水-1	17	103
石化废水-2	11	119
丙烯酰胺生产企业废水-1	20	92

本实验选择存在明显基质抑制效应的石化废水和海水样品，分别进行 0、2、10、50、100 倍稀释，进一步考察不同稀释倍数对于基质效应的影响，结果见图 8。通过提高水样稀释倍数，可减少水样基质抑制效应。将水样稀释 2~10 倍，水样基质抑制效应显著降低。超过 10 倍稀释后，水样基质抑制效应缓慢降低，到水样稀释 50 倍后，基质抑制效应基本保持稳定。因此，对于强基质抑制效应的水样，同时考虑到稀释倍数过大会降低灵敏度，因此可稀释 2~10 倍再进行直接进样分析。《海水水质标准》(GB 3097-1997) 没有对丙烯酰胺的浓度限值做具体要求。我国的污水综合排放标准(GB 8978-1996) 没有涉及丙烯酰胺。而《石油化学工业污染物排放标准》(GB 31571-2015) 规定废水的有机特征污染物包含丙烯酰胺，排放限值为 5 $\mu\text{g/L}$ ，本标准方法检出限为 0.02 $\mu\text{g/L}$ ，因此对于存在显著基质抑制效应的石化废水样品可进行 2~10 倍的稀释，降低基质效应。

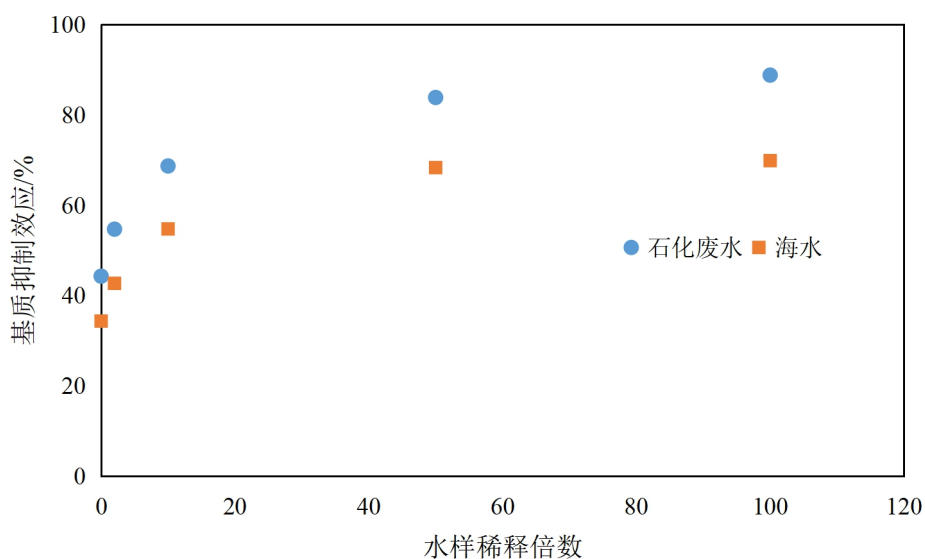


图 8 不同水样稀释倍数对基质抑制效应的影响

除了采用样品稀释减少基质效应外,还可以对样品进行净化,去除引起基质效应的杂质。水样中的各类可溶性离子是丙烯酰胺基质效应的重要来源。本实验选择了 75 个地下水样品,测试了基质效应,同时测试了水样的 pH 值、氨氮、硫酸盐、氯化物、亚硝酸盐(以 N 计)、硝酸盐(以 N 计)、氟化物、 Na^+ 、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} ,采用 SPSS 软件进行相关性分析。75 个地下水样品分别在 49%~104%之间。SPSS 相关性分析结果见表 12。丙烯酰胺基质效应与 Na^+ 、 K^+ 、氯化物呈现极显著的强负相关,相关系数分别为-0.517、-0.433、-0.513、-0.390。丙烯酰胺基质效应主要与丙烯酰胺在离子源中的离子化效率有关。水样中的杂质可影响目标化合物在电喷雾离子化(ESI)过程中液滴电荷多少以及在表面分布情况、改变液滴粘度及表面张力进而影响液滴形成及溶剂挥发等^[24]。由于 ESI 中丙烯酰胺形成的是正离子,水样中的 Na^+ 、 K^+ 等正离子以及有机物(以高锰酸盐指数体现)可直接与其竞争性离子化,从而影响离子化效率,产生基质效应。氯化物不会参与竞争性离子化,但是水样中主要的离子为 Cl^- 、 Na^+ 、 K^+ ,由于电荷平衡的关系,氯化物与丙烯酰胺基质效应成极显著的负相关,此外氯化物也可能通过影响液滴的性质产生作用。

表 12 丙烯酰胺基质效应的 Spearman 相关性分析

相关性指标	pH 值	氨氮	硫酸盐	氯化物	亚硝酸盐	硝酸盐
相关系数	0.003	-0.285*	-0.254*	-0.513**	0.009	-0.06
Sig. (双侧)	0.978	0.013	0.028	0	0.941	0.609
相关性指标	氟化物	NH_4^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Na^+
相关系数	-0.247*	-0.247*	-0.433**	-0.254*	-0.217	-0.517**
Sig. (双侧)	0.032	0.033	0	0.028	0.062	0
注: *: 显著相关, **极显著相关						

本实验选择离子含量较高的海水为典型复杂水样,研究通过离子交换柱前后丙烯酰胺基质效应的变化。通过离子交换柱去除水样中可溶性离子,减少基质效应。现有相关的离子交换柱有 H 型前处理离子交换柱 (H 柱)、Ag 型前处理离子交换柱 (Ag 柱)、Ba 型前处理离子交换柱 (Ba 柱) 等。H 柱的填料为 H 型强酸性阳离子交换树脂,可去除样品基体中的碱土金属离子、过渡金属离子和碳酸根离子。Ag 柱的填料为以银形式存在的高容量磺化阳离子交换树脂,可去除样品基体中的氯化物、溴化物和碘化物。Ba 柱的填料为苯乙烯基、磺酸钡形式的树脂,可去除样品基质中的高浓度硫酸盐。

具体实验过程如下: (1) 样品制备: 取 5 ml 海水样品于样品瓶中,加入 100 $\mu\text{g/L}$ 丙烯酰胺使用液 100 μl , 混匀配制丙烯酰胺浓度为 2 $\mu\text{g/L}$ 的海水样品; (2) 离子交换柱 (规格 1 mL) 活化: 使用前用 5 ml 纯水以约 2 ml/min 的流速分别通过 Ag+Ba 型前处理离子交换柱、H 型前处理离子交换柱小柱以及 H 型、Ag 型和 Ba 型前处理离子交换柱; (3) 上样: 分别将制备好的海水样品以约 2 ml/min 的流速过活化后的 Ag 型、Ba 型前处理离子交换柱, H 型前处理离子交换柱, H 型、Ag 型和 Ba 型前处理离子交换柱, 将 3 种方式过柱得到的水样分别取 1 ml 至进样瓶中, 加入内标, 上机测定。

结果见图 9。未进行前处理的水样基质效应为 34%, 存在严重的基质抑制效应。过 Ag 型、Ba 型离子交换柱后的水样基质效应未见明显变化。过 H 型离子交换柱后的水样基质效应有明显增加 (75%), 水样的基质抑制效应得到明显减轻。连续过 H 型、Ag 型和 Ba 型离子交换柱后的水样基质效应同样得到显著减轻 (63%)。结果表明通过去除水样 Na^+ 、 K^+ 等碱土金属离子等离子, 可改善水样的基体抑制效应, 而通过去除水样的氯化物、硫酸盐等离子, 无法改善水样的基体抑制效应。此外, 经过纯水加标 (加标浓度为 2 $\mu\text{g/L}$) 过 H 型离子交换柱验证, 平均回收率为 89.6%, 因此说明过 H 型离子交换柱对目标化合物回收率影响较小。因此, 对于较高盐度产生的基质抑制效应, 除了进行水样稀释外, 还可以采用 H 型离子交换柱处理水样, 降低水样的基体抑制效应。

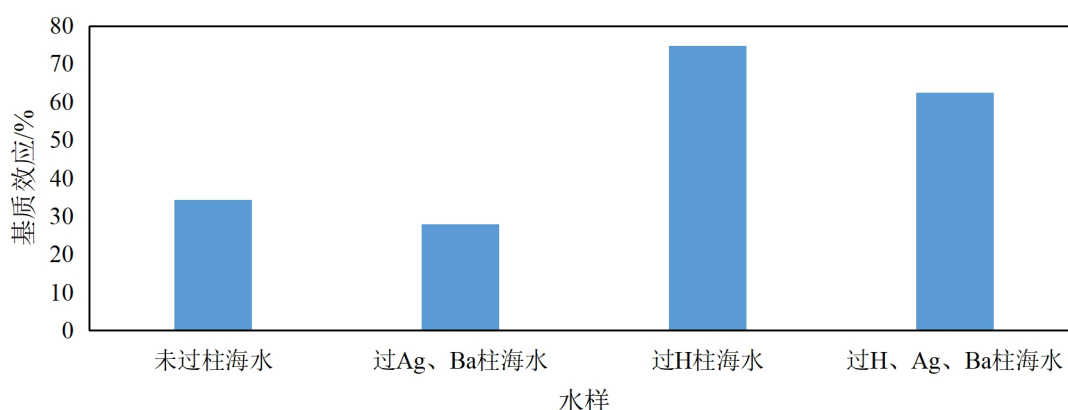


图 9 水样过离子交换小柱对基质效应的影响

除了采用离子交换柱去除样品中的离子干扰外, 编制组考察采用 C_{18} 小柱去除样品基质中的有机物干扰, 查看对基质效应的影响。取 5 ml 地表水和废水样品于样品瓶中, 分别经

过 C₁₈ 小柱，取 1 ml 至进样瓶中，加入标准溶液和内标混匀，上机测定。结果（表 13）显示水样过 C₁₈ 小柱对改善样品基质效应的效果有限，过 C₁₈ 小柱还会增加大部分样品的基质抑制效应。因此，本研究确定不用 C₁₈ 小柱去除基质效应干扰。

表 13 水样过 C₁₈ 小柱对基质效应的影响

样品	样品未过 C ₁₈ 小柱 (n=3)		样品过 C ₁₈ 小柱 (n=3)	
	平均基质效应 (%)	RSD (%)	平均基质效应 (%)	RSD (%)
地表水 1	227	6.0	180	17.4
地表水 2	110	3.6	94.7	2.5
地表水 3	95.0	5.3	87.3	3.3
废水 1	115	4.1	110	2.4
废水 2	111	3.3	82.1	2.0
废水 3	100	1.0	85.9	3.2

5.6.5 校准

5.6.5.1 校准曲线的建立

《地表水环境质量标准》（GB 3838-2002）规定丙烯酰胺标准限值为 0.5 μg/L。通过实验得到本方法的检出限为 0.02 μg/L，测定下限为 0.08 μg/L。根据测定下限，采用二次去离子水分别配制浓度为 0.10 μg/L、2.0 μg/L、5.0 μg/L、7.50 μg/L、20.0 μg/L 的标准系列。

编制组以 2.0 μg/L 为代表，0~4 °C 冷藏避光保存，研究校准溶液的保存时间，见图 10 所示。结果显示 30 天内，校准溶液的回收率在 82.5%~105% 之间，浓度相对标准偏差为 8.3%，说明丙烯酰胺校准溶液在此条件下能保存 30 天。

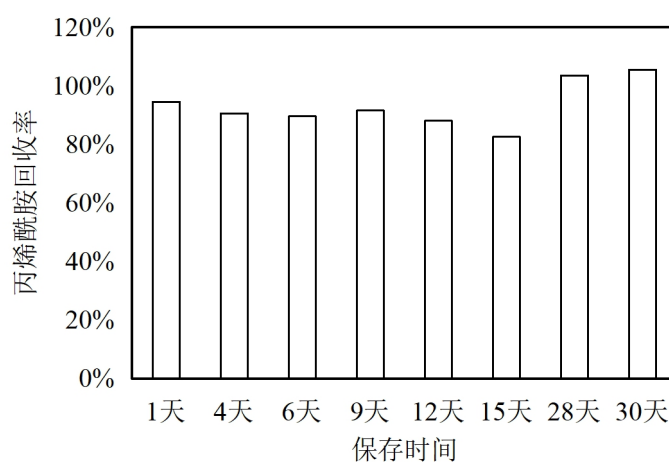
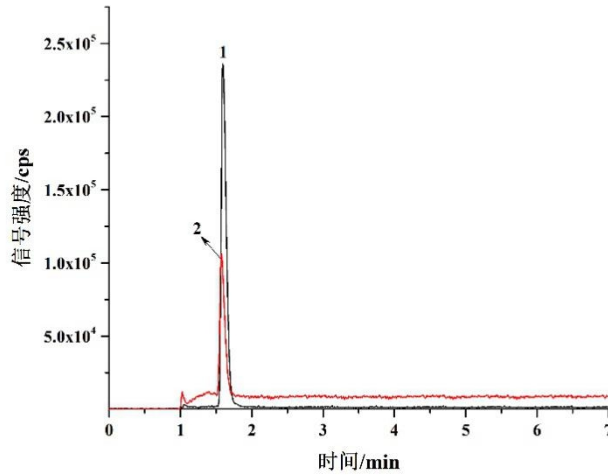


图 10 校准溶液的保存实验

5.6.5.2 总离子色谱图

丙烯酰胺标准溶液总离子色谱图见图 11。



1——丙烯酰胺, 2——丙烯酰胺- d_3

图 11 丙烯酰胺及内标的总离子色谱图

5.6.6 实际样品分析

编制组分析了我国几个典型河流、湖泊以及地下水的水样,应用本标准方法分析了水样中丙烯酰胺的含量(表 14)。结果显示只有 2 个点位河流水样检出丙烯酰胺,浓度分别为 0.21 $\mu\text{g/L}$ 和 0.06 $\mu\text{g/L}$,大部分实际水样中丙烯酰胺的含量均小于方法检出限(0.01 $\mu\text{g/L}$)典型水样中。实际水样分析表明本标准方法可用于实际水样的丙烯酰胺分析。

表 14 实际水样中丙烯酰胺的浓度 ($\mu\text{g/L}$)

水样来源	点位	丙烯酰胺	水样来源	点位	丙烯酰胺
海河	永金引河	ND	黄河 山西段	迎泽大桥	ND
	东堤头	ND		上兰	ND
	华北闸	ND		杨兴河	ND
	潘庄	ND		寨上	ND
	老安甸	ND		水库	ND
	李家牌	ND		难上	ND
	韩村闸	ND		清徐	0.21
青海湖	湖心	ND		温南	0.06
钱塘江	钱塘江-1	ND		小店桥	ND
	钱塘江-2	ND		韩桥	ND
	钱塘江-3	ND	长江三峡-武 汉段	汉南区	ND
	钱塘江-4	ND		军山大桥	ND
	钱塘江-5	ND		三屯口	ND
	钱塘江-6	ND		白沙洲	ND
	钱塘江-7	ND		汉江口上游	ND

水样来源	点位	丙烯酰胺	水样来源	点位	丙烯酰胺
	钱塘江-8	ND		天兴洲上游	ND
	钱塘江-9	ND		武钢	ND
	钱塘江-10	ND		新洲区	ND
	钱塘江-11	ND		三峡大坝上	ND
地下水	嘉兴-1	ND		三峡大坝下	ND
	嘉兴-2	ND	—	—	
	嘉兴-3	ND	—	—	
	嘉兴-4	0.06	—	—	

5.6.7 空白试验

在分析样品的同时应做空白试验,按照与试样测定相同的仪器条件进行空白试样的测定。本方法的前处理过程中使用的玻璃器皿材质和有机溶剂均不含有丙烯酰胺。仪器进样系统、色谱柱系统及连接管路也不含有丙烯酰胺,因此正常情况下,本方法的实验室内空白是小于检出限的。唯一可能就是玻璃器皿被高浓度样品污染,一旦存在交叉污染,必须对所有可能引起污染的器皿进行有效清洗。

5.7 结果计算

5.7.1 定性分析

根据试样中丙烯酰胺和标准溶液中丙烯酰胺的保留时间、定性离子对、定量离子对进行定性。标准编制组采用超高效液相色谱,保留时间一般均小于 10 min。根据编制组在方法实验中对保留时间的变化情况进行研究。结果显示标准溶液中丙烯酰胺保留时间和试样中丙烯酰胺保留时间偏差 0.05 min 左右。考虑不同仪器的差别,本标准规定,在相同的实验条件下试样中丙烯酰胺保留时间和标准溶液中该组分的保留时间偏差小于等于 0.2 min。

目标化合物离子的相对丰度经常用于质谱的定性分析,具体是将样品中各组分定性离子的相对丰度 K_{sam} 与浓度接近的标准溶液中定性离子相对丰度 K_{std} 进行比较。近期发布的高效液相色谱三重四极杆质谱法标准方法 (HJ 1183-2021、HJ 1048-2019、HJ 1049-2019、HJ 1002-2018、HJ 827-2017) 对基于离子相对丰度的定性分析方法有统一的规定。本标准参考上述标准,采用相同的定性方法。当离子相对丰度符合表 15 规定,即可判定为样品中存在丙烯酰胺。

样品中丙烯酰胺定性离子相对丰度按照公式 (4) 计算。

$$K_{\text{sam}} = \frac{A_2}{A_1} \times 100\% \quad (4)$$

式中: K_{sam} ——样品中丙烯酰胺定性离子的相对丰度, %;

A_2 ——样品中丙烯酰胺定性离子对的峰面积 (或峰高);

A_1 ——样品中丙烯酰胺定量离子对的峰面积 (或峰高)。

标准溶液中丙烯酰胺定性离子相对丰度按照公式 (5) 计算。

$$K_{\text{std}} = \frac{A_{\text{std2}}}{A_{\text{std1}}} \times 100\% \quad (5)$$

式中： K_{std} ——标准溶液中丙烯酰胺定性离子的相对丰度，%；

A_{std2} ——标准溶液中丙烯酰胺定性离子对的峰面积（或峰高）；

A_{std1} ——标准溶液中丙烯酰胺定量离子对的峰面积（或峰高）。

表 15 定性确认时相对离子丰度的最大允许偏差单位%

指标	评价标准			
标准样品中丙烯酰胺的定性离子的相对离子丰度 K_{std}	$K_{\text{std}} > 50$	$20 < K_{\text{std}} \leq 50$	$10 < K_{\text{std}} \leq 20$	$K_{\text{std}} \leq 10$
样品中丙烯酰胺的定性离子的相对离子丰度 K_{sam} 的最大允许偏差	± 20	± 25	± 30	± 50

5.7.2 定量分析

使用校准曲线计算试样中丙烯酰胺的含量。

5.7.3 结果计算

样品中丙烯酰胺的质量浓度按照公式（6）进行计算：

$$\rho = \rho_1 \times D \quad (6)$$

式中： ρ ——样品中丙烯酰胺的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

ρ_1 ——试样中丙烯酰胺的浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

D ——稀释倍数。

5.7.4 结果表示

测定结果小数点后位数与方法检出限保持一致，最多保留 3 位有效数字。

5.8 质量保证和质量控制

5.8.1 空白

每 20 个样品或每批次（少于 20 个样品/批）至少分析 1 个实验室空白或全程序空白，空白测试结果应低于方法检出限。

在分析样品的同时应做空白试验，即用纯水作为实际样品，按相同步骤分析，检查分析过程中是否有污染。本方法的前处理过程中使用的器皿材质和有机溶剂均不含有丙烯酰胺。仪器进样系统、色谱柱系统及连接管路也不含有丙烯酰胺，因此正常情况下，本方法的实验室内空白是小于检出限的。6 家实验室验证结果显示空白样品值均小于方法检出限。

5.8.2 校准

由于质谱稳定性较普通检测器差，因此规定每次样品分析前先绘制校准曲线。EPA 8000 规定相关系数 ≥ 0.995 。6 家实验室的验证结果（附表 32）显示校准曲线的线性回归系数在 0.9995~0.9999 之间。因此，本标准规定校准曲线的线性回归系数 ≥ 0.995 。

参考 EPA 536-2007 以及国内液相色谱质谱标准，选择校准曲线的中间浓度点进行连续校准，每分析 10 个样品或每批次（少于 10 个样品/批）和样品分析结束进行 1 次连续校准，丙烯酰胺测定结果相对误差在 $\pm 20\%$ ，校准曲线仍可使用。如果超过这个范围，重新绘制校准曲线。

参考 EPA 536-2007 以及国内液相色谱质谱标准，连续校准时同时检查内标响应，内标响应与初始校准时内标响应平均值比较，相对误差在 $\pm 50\%$ ，否则应对质谱进行维护。

5.8.3 基体加标

根据 6 家实验室的验证结果（附表 34），不同种类水样的回收率在 81.0%~121%范围。本标准适当放宽，规定实际水样的加标回收率需要在 70%~130%范围。

5.8.4 平行样

实验室内标准偏差为 0.2%~18%，因此适当放宽，平行样相对偏差小于 25%。

5.9 实验室内方法的特性指标确定

5.9.1 方法检出限

由于空白试验中未检出目标物，因此按照《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2020）中“A.1.1 方法检出限的一般确定方法”中“b）空白试验中未检测出目标物”要求，直接用空白加标方法来确定方法检出限。具体方法为连续分析 7 个加标的 10.0 ml 纯水（加标后浓度为 0.05 $\mu\text{g/L}$ ），7 次测定结果的标准偏差与 99%置信水平的 t 值之积为检出限，测定下限规定为 4 倍检出限。结果（见表 16）显示计算得到的检出限为 0.01 $\mu\text{g/L}$ 。实验中所用的加标浓度（0.05 $\mu\text{g/L}$ ）为检出限的 5 倍，满足了 HJ 168 中关于加标浓度或含量为检出限 3~5 倍的要求。因此，计算出来的检出限是合理的。而实验室内的丙烯酰胺仪器检出限为 0.01 $\mu\text{g/L}$ 。综合确定实验室内的丙烯酰胺方法检出限为 0.01 $\mu\text{g/L}$ ，测定下限为 0.04 $\mu\text{g/L}$ 。仪器检出限按照 3 倍信噪比对应浓度计，为 0.01 $\mu\text{g/L}$ ，实验室的的计算的方法检出限等于仪器检出限，所以最终确定方法检出限为计算的方法检出限。

表 16 检出限和测定下限

平行号		丙烯酰胺
测定 结果 ($\mu\text{g/L}$)	1	0.04
	2	0.05
	3	0.04
	4	0.04
	5	0.04
	6	0.05

平行号	丙烯酰胺
7	0.05
平均值 \bar{x}_i ($\mu\text{g/L}$)	0.05
标准偏差 S_i ($\mu\text{g/L}$)	0.003
t 值	3.143
检出限 ($\mu\text{g/L}$)	0.01
测定下限 ($\mu\text{g/L}$)	0.04

5.9.2 空白加标

取 10.0 ml 纯水，分别加入 1.0 ng、50.0 ng、100.0 ng、200 ng 丙烯酰胺，样品中丙烯酰胺浓度分别为 0.10 $\mu\text{g/L}$ 、5.00 $\mu\text{g/L}$ 、10.0 $\mu\text{g/L}$ 、20.0 $\mu\text{g/L}$ ，上机测定，结果见表 17 和 18。丙烯酰胺实验室内相对标准偏差为 1.0%~6.7%，加标回收率为 100%~102%。

表 17 空白加标实验室内精密度

化合物	加标量 ($\mu\text{g/L}$)	测定结果 ($\mu\text{g/L}$)						平均值 ($\mu\text{g/L}$)	相对标准偏差 (%)
		1	2	3	4	5	6		
丙烯酰胺	0.10	0.10	0.10	0.10	0.09	0.11	0.10	0.10	6.7
丙烯酰胺	5.00	5.10	5.13	5.09	5.06	5.00	4.96	5.06	1.2
丙烯酰胺	10.0	10.0	10.0	9.85	9.83	10.0	10.1	9.95	1.0
丙烯酰胺	20.0	20.1	20.1	20.6	20.5	20.6	20.9	20.4	1.5

表 18 空白加标实验室内准确度

化合物	加标量 ($\mu\text{g/L}$)	测定结果 ($\mu\text{g/L}$)						空白加标样品测试均值 ($\mu\text{g/L}$)	$S_{\bar{P}}$ (%)	\bar{P} (%)
		1	2	3	4	5	6			
丙烯酰胺	0.10	0.10	0.10	0.10	0.09	0.11	0.10	0.10	6.8	101
丙烯酰胺	5.00	5.10	5.13	5.09	5.06	5.00	4.96	5.06	1.3	101
丙烯酰胺	10.0	10.0	10.0	9.85	9.83	10.0	10.1	9.95	1.0	100
丙烯酰胺	20.0	20.1	20.1	20.6	20.5	20.6	20.9	20.4	1.5	102

5.9.3 实际水样

加标水样：取 10.0 ml 地下水、地表水、海水、生活污水、工业废水，分别加入不同量丙烯酰胺，上机测定，结果见表 19 和 20。丙烯酰胺实验室内相对标准偏差为 0.4%~2.9%，

加标回收率为 87.3%~104%。

表 19 实际水样实验室内精密度

样品类型	化合物	原样 (µg/L)	加标量 (µg/L)	测定结果 (µg/L)						平均值 (µg/L)	相对标准偏差 (%)
				1	2	3	4	5	6		
地下水	丙烯酰胺	ND	0.10	0.10	0.11	0.11	0.10	0.10	0.10	0.10	2.9
地表水	丙烯酰胺	ND	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.4
海水	丙烯酰胺	ND	5.00	4.68	4.56	4.63	4.69	4.63	4.70	4.65	1.1
生活污水	丙烯酰胺	ND	20.0	18.0	17.4	17.4	17.2	17.3	17.3	17.4	1.5
石化废水	丙烯酰胺	4.58	10.0	9.06	8.87	9.43	8.88	9.37	9.40	9.17	2.8

表 20 实际水样实验室内准确度

样品类型	化合物	原样 (µg/L)	加标量 (µg/L)	加标样品测试值 \bar{y} -样品浓度 x (µg/L)						加标样品测试平均值 \bar{y} -样品浓度 x (µg/L)	$S_{\bar{P}}$ (%)	\bar{P} (%)
				1	2	3	4	5	6			
地下水	丙烯酰胺	ND	0.10	0.10	0.10	0.11	0.11	0.10	0.10	0.10	3.0	104
地表水	丙烯酰胺	ND	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.4	100
海水	丙烯酰胺	ND	5.00	4.68	4.56	4.63	4.69	4.63	4.70	4.65	1.0	92.9
生活污水	丙烯酰胺	ND	20.0	18.0	17.4	17.4	17.2	17.3	17.3	17.4	1.3	87.3
石化废水	丙烯酰胺	4.58	10.0	9.06	8.87	9.43	8.88	9.37	9.40	9.17	2.6	91.7

6 方法比对

6.1 方法比对方案

我国现有的关于水中丙烯酰胺分析的标准方法原理均为溴化衍生-液液萃取-GC/ECD。最新发布的标准为《水质 丙烯酰胺的测定 气相色谱法》(HJ 697-2014)。因此,选择该标准方法与本标准方法进行比对。

在方法比对实验中,编制组使用采集的 5 类实际样品,包括地表水、地下水、海水、生活污水、石化废水。在水样中分别加入不同浓度的丙烯酰胺标准溶液,采用本标准方法和《水质 丙烯酰胺的测定 气相色谱法》(HJ 697-2014)进行分析。对于测试结果,选择 t 检验或者秩和检验方法进行统计分析。

6.2 方法比对过程及结论

6.2.1 验证过程

方法比对实验中,基于标准《水质 丙烯酰胺的测定 气相色谱法》(HJ 697-2014)的分析过程如下:取 100 ml 水样于 250 ml 碘量瓶中,加入 3 mol/L 硫酸溶液 6 ml,混匀 2℃~5℃下放置 30 min,取出碘量瓶,加入 15 g 溴化钾,溶解后加入 0.1 mol/L 溴酸钾溶液 10 ml,混匀,2℃~5℃下放置 120 min,取出碘量瓶,边振荡边滴入 1.0 mol/L 的硫代硫酸钠溶液,直至溶液变成无色。向碘量瓶中加入磁力搅拌子,在磁力搅拌器剧烈搅拌下缓慢加入 30 g 无水硫酸钠,待完全溶解后,加塞静置 10 min,将上述试液移至 250 ml 分液漏斗中,用约 2 ml 水淋洗碘量瓶,淋洗液一并移入分液漏斗,重复 2 次。向分液漏斗中加入 25 ml 乙酸乙酯,振荡放气后振荡 5 min,静置 10 min 分层,将有机相移至 250 ml 平底烧瓶中,再重复萃取 2 次。萃取液过 10 g 的硅镁吸附剂净化柱,用乙酸乙酯淋洗,收集于 250 ml 平底烧瓶,旋转蒸发浓缩至约 5 ml,乙酸乙酯定容至 10 ml,用 GC-ECD 分析。该方法检出限为 0.07 µg/L。

5 类水样的加标情况如下:(1) 7 份 200 ml 地表水样品,浓度为 0.5 µg/L;(2) 7 份 200 ml 地下水样品,浓度为 1.0 µg/L;(3) 7 份 200 ml 海水样品,浓度为 2.0 µg/L;(4) 7 份 200 ml 生活污水样品,浓度为 5.0 µg/L;(5) 7 份 200 ml 石化废水样品,浓度为 100.0 µg/L。对于每份水样,分成两部分,各 100 ml,分别采用本标准和 HJ 697 方法进行测试。

6.2.2 验证结论

采用本标准和 HJ 697 的加标回收实验结果见表 21。对于本标准和 HJ 697,地表水的回收率为 95.1%、95.0%,RSD 为 3.3%、8.9%;地下水的回收率为 97.7%、89.1%,RSD 为 2.4%、7.9%;海水的回收率为 89.2%、102%,RSD 为 4.2%、7.8%;生活污水的回收率为 100%、93.1%,RSD 为 3.0%、13%;石化废水的回收率为 84.7%、83.4%,RSD 为 3.5%、12%。本标准和 HJ 697 的回收率在 83.4%~102%之间,RSD 在 2.4%~12.8%之间,说明两种方法的精密度和正确度均较好。对于 5 类水样,本标准的 RSD 在 2.4%~4.2%之间,明显好于 HJ 697 (RSD 7.8%~12.8%),说明本标准的精密度要好于 HJ 697,对于复杂水体生活污水、石化废水,尤为明显。HJ 697 的前处理过程复杂,操作步骤多,对方法精密度有明显影响,而本方法只需过滤,直接进行分析,因此可以取得较好的方法精密度。计算两种方法对 5 类水样 7 次测试平均结果的相对偏差,见表 21。结果显示两种方法的相对偏差在 0.1%~6.6%之间,均小于 10%,说明两种方法测定的结果相对偏差较小,结果差异不大。

表 21 采用本标准和 HJ 697 进行 5 类水体加标实验情况

水样 (n=7)		分析方法	
		本标准	HJ 697
地表水 (加标 0.5 µg/L)	平均浓度 (µg/L)	0.48	0.47
	平均回收率 (%)	95.1	95.0
	相对偏差 (%)	0.1	
	RSD (%)	3.3	8.9
地下水	平均浓度 (µg/L)	0.98	0.89

水样 (n=7)		分析方法	
		本标准	HJ 697
(加标 1.0 µg/L)	平均回收率 (%)	97.7	89.1
	相对偏差 (%)	4.6	
	RSD (%)	2.4	7.9
海水 (加标 2.0 µg/L)	平均浓度 (µg/L)	1.78	2.04
	平均回收率 (%)	89.2	102
	相对偏差 (%)	6.6	
	RSD (%)	4.2	7.8
生活污水 (加标 5.0 µg/L)	平均浓度 (µg/L)	5.00	4.66
	平均回收率 (%)	100	93.1
	相对偏差 (%)	3.5	
	RSD (%)	3.0	13
石化废水 (加标 100.0 µg/L)	平均浓度 (µg/L)	84.7	83.4
	平均回收率 (%)	84.7	83.4
	相对偏差 (%)	0.8	
	RSD (%)	3.5	12

在应用 t 检验查看两种方法结果的差异性之前，需要对测试结果的正态分布进行检验，如呈正态分布，则进一步采用 t 检验方法。采用 Shapiro-Wilk 检验法进行正态分布检验，结果见表 22。结果显示除了石化废水 HJ 697 分析数据的 p 值小于 0.05，不呈正态分布外，其余数据均大于 0.05，呈正态分布。因此，对于地表水、地下水、海水、生活污水，可采用 t 检验方法进一步统计分析两种方法的差异性，而对于石化废水，可采用秩和检验方法进一步分析。

表 22 正态分布检验结果

水样	统计显著性 p 值	
	本标准	HJ 697
地表水	0.307	0.321
地下水	0.555	0.765
海水	0.558	0.672
生活污水	0.911	0.766
石化废水	0.272	0.031

采用 t 检验或者秩和检验方法，分析两种方法结果差异，结果见表 23。结果显示地表水、生活污水和石化废水的 p 值大于 0.05，而地下水和海水的 p 值小于 0.05，说明本标准和 HJ 697 在分析地表水、生活污水和工业废水时不存在显著性差异，在分析地下水和海水时存在显著性差异。对于地下水和海水，对比实验采用的加标浓度较低（1.0 µg/L 和 2.0 µg/L）。而水样中含有大量的离子，其中复杂的基质对于低浓度加标实验容易产生影响。本标准方法可通过内标法克服基质效应带来的影响，而 HJ 697 没有适当的方法来消除复杂基质的影响，比

如溴化反应生成效率易影响。因此，在分析地下水和海水的实验中，本标准方法的精度（RSD为2.4%和4.2%）明显好于HJ 697（RSD为7.9%和7.8%），而精度的明显差异可能导致两种方法结果在统计上具有显著性差异。而从两种方法的相对偏差看，地下水和海水的相对偏差并不大，分别为4.6%和6.6%。需要说明的是，HJ 697规定的适用范围并没有包含海水。

综上，对于地表水、生活污水和工业废水时，两种方法均可以采用，而对于地下水和海水，建议优先采用本标准。

表 23 本标准与 HJ 697 比对的统计检验结果

水样	统计显著性 p 值	
	t 检验	秩和检验
地表水	0.863	/
地下水	0.017	/
海水	0.018	/
生活污水	0.158	/
石化废水	/	0.953

7 方法验证

按照《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168）和《国家生态环境监测标准制修订工作细则（试行）》（监测函〔2021〕25号）的要求，组织6家有CMA资质的实验室进行验证。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，编制方法验证报告，验证数据主要包括检出限、测定下限、精密度以及加标回收率等。

7.1 方法验证方案

7.1.1 参与方法验证的实验室、验证人员的基本情况

参与方法验证的实验室、验证人员的基本情况见表24。

表 24 验证单位及验证人员概况

编号	单位	姓名	性别	年龄	职称或职称	所学专业	参加分析 工作年限
1	湖北省生态环境监测中心站	郭 丽	女	38	高工	环境科学	10
		贺晓敏	女	36	高工	食品科学	10
2	江苏省环境监测中心	张蓓蓓	女	36	高工	药物分析	10
3	浙江省杭州生态环境监测中心	陈 峰	男	40	高工	环境工程	10
		何 平	女	37	高工	环境工程	10

编号	单位	姓名	性别	年龄	职称或职称	所学专业	参加分析 工作年限
4	浙江省宁波生态环境监测中心	冯加永	男	33	工程师	分析化学	8
		胡凌霄	女	27	助理工程师	环境工程	1
5	浙江省温州生态环境监测中心	赵晓敏	男	37	高级工程师	环境学	16
		冯孙林	男	37	工程师	环境学	16
6	浙江环境监测工程有限公司	朱国华	男	34	高级工程师	工业分析	9

7.1.2 验证方案

7.1.2.1 检出限及测定下限验证

检出限确定方法参照《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2020）附录 A 的相关规定，按照样品分析的全部步骤，对浓度值为估计方法检出限值 3~5 倍的空白加标样品进行 7 次平行测定，计算 7 次平行测定的标准偏差 S ，按下列公式计算方法检出限，以 4 倍检出限作为测定下限。

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

式中：MDL——方法检出限；

n ——样品的平行测定次数；

t ——自由度为 $n-1$ ，置信度为 99% 时的 t 分布（单侧）， $n=7$ 时， $t=3.143$ ；

S —— n 次平行测定的标准偏差。

6 家实验室分别连续分析 7 个 10.0 ml 纯水，加标浓度为 0.05 $\mu\text{g/L}$ （除实验室 5 加标量为 0.08 $\mu\text{g/L}$ ），7 次测定结果的标准偏差与 99% 置信水平的 t 值之积为检出限，测定下限规定为 4 倍检出限。

7.1.2.2 精密度验证

编制组将空白样品统一发放至 6 家验证单位。6 家验证单位分别对加标浓度为 0.10 $\mu\text{g/L}$ 、5.00 $\mu\text{g/L}$ 、10.0 $\mu\text{g/L}$ 、20.0 $\mu\text{g/L}$ 的空白样品进行 6 次测定，计算平均值、标准偏差和相对标准偏差。

编制组采集地下水、地表水、海水、生活污水、工业废水样品，统一发放至 6 家验证单位。6 家验证单位按统一要求，分别对 0.10 $\mu\text{g/L}$ 的加标地下水样品、0.50 $\mu\text{g/L}$ 的加标地表水样品、5.00 $\mu\text{g/L}$ 的加标海水样品、10.0 $\mu\text{g/L}$ 的加标石化废水样品、20.0 $\mu\text{g/L}$ 的加标生活污水样品进行 6 次测定，计算平均值、标准偏差、相对标准偏差。

7.1.2.3 准确度验证

编制组将空白样品统一发放至 6 家验证单位。6 家验证单位分别对加标浓度为 0.10 $\mu\text{g/L}$ 、5.00 $\mu\text{g/L}$ 、10.0 $\mu\text{g/L}$ 、20.0 $\mu\text{g/L}$ 的空白样品进行 6 次测定，计算加标回收率、相对标准偏差。

编制组采集地下水、地表水、海水、生活污水、工业废水样品，统一发放至 6 家验证单

位。6家验证单位按统一要求，分别对0.10 µg/L的加标地下水样品、0.50 µg/L的加标地表水样品、5.00 µg/L的加标海水样品、10.0 µg/L的加标石化废水样品、20.0 µg/L的加标生活污水样品，进行6次测定，计算加标回收率、相对标准偏差。

7.2 方法验证过程

筛选有资质的验证单位，向验证单位提供方法草案、验证方案和验证报告格式。对参加验证的操作人员进行培训，详细介绍方法过程，以及方法验证内容。验证单位按照方法草案准备实验用品，在规定时间内完成验证实验并反馈验证结果报告。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。

7.3 方法验证结论

7.3.1 检出限和测定下限

6家实验室均未在空白中检出目标物，因此按照《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2020）中“A.1.1 方法检出限的一般确定方法”中“b）空白试验中未检测出目标物”要求，直接用空白加标方法来确定方法检出限。6家实验室计算得到的方法检出限为0.01 µg/L或0.02 µg/L，计算所用加标浓度均为检出限3~5倍之间。因此，计算出来的方法检出限是合理的。而6家实验室的仪器检出限均为0.01 µg/L。综合确定本标准的丙烯酰胺方法检出限为0.02 µg/L，测定下限为0.08 µg/L。

7.3.2 精密度

6家实验室分别对含丙烯酰胺加标浓度为0.10 µg/L、5.00 µg/L、10.0 µg/L、20.0 µg/L的统一空白样品重复测定了6次，实验室内相对标准偏差分别为：4.5%~7.9%、0.2%~8.2%、0.2%~3.7%、0.6%~2.7%；实验室间相对标准偏差分别为：8.5%、1.1%、1.1%、2.1%；重复性限分别为：0.02 µg/L、0.52 µg/L、0.55 µg/L、0.73 µg/L；再现性限分别为：0.03 µg/L、0.52 µg/L、0.59 µg/L、1.39 µg/L。

6家实验室分别对0.10 µg/L、0.50 µg/L、5.00 µg/L、10.0 µg/L、20.0 µg/L的实际水样加标样品（地下水、地表水、海水、生活污水和工业废水），重复测定了6次，实验室内相对标准偏差分别为：1.9%~19%、0.4%~4.5%、0.6%~3.6%、0.3%~2.6%、0.6%~4.2%；实验室间相对标准偏差分别为：2.3%、6.8%、8.0%、10%、12%；重复性限分别为：0.03 µg/L、0.04 µg/L、0.27 µg/L、1.01 µg/L、0.98 µg/L；再现性限分别为：0.03 µg/L、0.11 µg/L、1.04 µg/L、5.64 µg/L、5.20 µg/L。

7.3.3 正确度

6家实验室对空白水样进行了加标分析测定，加标量分别为0.10 µg/L、5.00 µg/L、10.0 µg/L、20.0 µg/L，加标回收率范围分别为：88.0%~112%，98.8%~101%，98.2%~102%，99.5%~105%；加标回收率最终值分别为：99.5%±17%，99.8%±2.0%，99.9%±3.0%，102%±5.0%。

6家实验室分别对0.10 μg/L、0.50 μg/L、5.00 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L的实际水样加标样品（地下水、地表水、海水、生活污水和工业废水），进行了6次重复测定，加标回收率范围分别为：96.0%~105%、100%~117%、81.0%~100%、83.0%~107%、88.5%~121%；加标回收率最终值分别为103%±7.0%、107%±15%、90.1%±14%、94.8%±20%、100%±24%。

8 与开题报告的差异说明

无。

9 征求意见稿技术审查情况

2022年10月26日，生态环境部生态环境监测司以视频会议形式组织召开标准征求意见稿的技术审查会。专家组通过本标准征求意见稿的技术审查，建议按照修改意见完善后，提请公开征求意见：（1）标准文本中进一步完善干扰和消除的相关内容，试剂和材料中补充离子柱的规格、类型；（2）编制说明中补充水样pH值对保存时间的影响，基体干扰消除的试验结果及悬浮物对测定结果的影响；（3）按照《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2020）和《环境保护标准编制出版技术指南》（HJ 565-2010）对标准文本和编制说明进行编辑性修改。

按照专家意见，编制组对标准文本和编制说明进一步修改完善，形成征求意见稿和编制说明。

10 参考文献

- [1] 张海波, 陈岚岚, 杨艳平, 等. 聚丙烯酰胺的合成及应用研究进展[J]. 高分子材料科学与工程, 2016, 32(8): 177-190.
- [2] Stadler R H, Blank I, Varga N, et al. Food chemistry:Acrylamide from Maillard reaction products[J]. Nature, 2002, 419(6906): 449.
- [3] Yaylayan V A, Wnorowski A, PerezLocas C. Why asparagine needs carbohydrates to generate acrylamide[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(6): 1753-1757.
- [4] SCHETTGEN T, KUTTING B, HORNIG M, et al. Trans-placental exposure of neonates to acrylamide-a pilot study[J]. International Archives of Occupational and Environmental Health, 2004, 77(3): 213-216.
- [5] DEARFIELD K L, ABERNATHY C O, OTTLEY M S, et al. Acrylamide: its metabolism, developmental and reproductive effects, genotoxicity, and carcinogenicity[J]. Reviews in Genetic Toxicology, 1988, 195(1): 45-77.
- [6] 张璐佳, 杨柳青, 王鹏璞, 等. 丙烯酰胺毒性研究进展[J]. 中国食品学报, 2018, 18(08): 280-289.
- [7] 廉保全, 张方体. 丙烯酰胺职业危害调查[J]. 华北煤炭医学院学报, 2000, 2(5): 502-503.
- [8] WANG H, HUANG P, LIE T, et al. Reproductive toxicity of acrylamide-treated male rats[J]. Reproductive Toxicology, 2010, 29(2): 225-230.
- [9] 李百祥, 刘东敏. 丙烯酰胺对小鼠免疫毒性机制的初探[J]. 毒理学杂志, 2005, 19(4): 305-306.
- [10] International Agency for Research on Cancer (IARC). Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Some industrial chemicals [R]. Lyon: IARC, 1994.
- [11] CROLL B T, SIMKINS G M. The Determination of Acrylamide in Water by Using Electron-capture Gas Chromatography[J]. Analyst, 1972, 97: 281-288.
- [12] A. Hashimoto. Improved Method for the Determination of Acrylamide Monomer in Water by Means of Gas-Liquid Chromatography with an Electron-capture Detector[J]. Analyst, 1976, 101: 932-938.
- [13] 吕康乐, 宋俊密. 溴化衍生-三重四极杆气质联用法测定地表水中丙烯酰胺[J]. 环境监测管理与技术, 2016, 28(2): 55-60.
- [14] Brown L, Rhead M. Liquid Chromatographic Determination of Acrylamide Monomer in Natural and Polluted Aqueous Environments[J]. Analyst, 1979, 104: 391-399.
- [15] 罗毅. 地表水环境监测实用分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2009.
- [16] Marin Jose M, Pozo Oscar J, Sancho Juan V, et al. Study of different atmospheric-pressure interfaces for LC-MS/MS determination of acrylamide in water at sub-ppb levels[J]. J. Mass Spectrom., 2006, 41: 1041-1048.
- [17] 王绍臣, 张剑平. 超高效液相色谱-串联四极杆质谱法快速测定阿特拉津, 甲萘威, 微囊藻毒素 LR, 丙烯酰胺和联苯胺[J]. 环境科学与管理, 2016, 41(10): 111-113.

- [18] 熊杰, 钱蜀, 谢永洪,等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定水中丙烯酰胺, 苯胺和联苯胺[J]. 分析化学, 2014, 42(1):93-93.
- [19] 卢益, 孙静, 邓力. 高效液相色谱质谱法测定地表水中丙烯酰胺[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(12): 136-138.
- [20] 胡小键, 张海婧, 付慧, 等. 同位素内标 LC/MS/MS 法快速测定水中丙烯酰胺[J]. 环境卫生学杂志, 2013, 3(4): 353-355.
- [21] 张凌云, 刘波, 徐荣, 等. 液相色谱-串联质谱法测定饮用水中的丙烯酰胺[J]. 环境化学, 2010, 29(1): 152-153.
- [22] 李欣, 吴丽, 李刚, 等. 直接进样—超高效液相色谱—三重四极杆串联质谱法测定地表水中丙烯酰胺[J]. 干旱环境监测, 2014, 28(1): 10-13.
- [23] 秦迪岚, 罗岳平, 田耘, 等. 液相色谱-质谱法直接进样测定水中丙烯酰胺的基质效应[J]. 中国环境监测, 2014, 30(6): 142-147.
- [24] Trufelli H, Palma P, Famiglioni G, et al. An overview of matrix effects in liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Analytical Chemistry, 2011, 30(3): 491–509.

附件一

方法验证报告

方法名称：水质 丙烯酰胺的测定 高效液相色谱-三重四极杆质谱法

项目承担单位：中国环境监测总站

验证单位：湖北省生态环境监测中心站、江苏省环境监测中心、浙江省杭州生态环境监测中心、浙江省宁波生态环境监测中心、浙江省温州生态环境监测中心、浙江环境监测工程有限公司

项目负责人及职称：王超（高级工程师）

通讯地址及电话：北京市朝阳区安外大羊坊 8 号乙，100012 电话：010-84943198

报告编写人及职称：王超（高级工程师） 王静（正高级工程师）

报告日期：2021 年 8 月 26 日

1 原始测试数据

1.1 实验室基本情况

按照《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168-2020）的规定，组织 6 家有资质的实验室进行对《水质 丙烯酰胺的测定 高效液相色谱-三重四极杆质谱法》进行方法验证，其中实验室 1 为湖北省生态环境监测中心站、2 为江苏省环境监测中心、3 为浙江省杭州生态环境监测中心站、4 为浙江省宁波生态环境监测中心站、5 为浙江省温州生态环境监测中心、6 为浙江环境监测工程有限公司。验证实验室人员情况、仪器情况、试剂及溶剂情况分别见附表 1~附表 3。

附表 1 参加验证的人员情况登记表

单位	姓名	性别	年龄	职称或职称	所学专业	参加分析 工作年限
湖北省生态环境监测中心站	郭丽	女	38	高工	环境科学	10
	贺晓敏	女	36	高工	食品科学	10
江苏省环境监测中心	张蓓蓓	女	36	高工	药物分析	10
浙江省杭州生态环境监测中心站	陈峰	男	40	高工	环境工程	10
	何平	女	37	高工	环境工程	10
浙江省宁波生态环境监测站	冯加永	男	33	工程师	分析化学	8
	胡凌霄	女	27	助理工程师	环境工程	1
浙江省温州生态环境监测中心站	赵晓敏	男	37	高级工程师	环境学	16
	冯孙林	男	37	工程师	环境学	16
浙江环境监测工程有限公司	朱国华	男	34	高级工程师	工业分析	9

附表 2 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	色谱柱	性能 状况	方法验证单位名称
高效液相色谱-三重四极杆质谱仪	Agilent UPLC/MS6460	ZORBAX-SB-C18 (2.1 mm *100 mm, 1.8 μm)	正常	湖北省生态环境监测中心站
高效液相色谱-三重四极杆质谱仪	AB Exion LC AD/AB Qtrap 6500	ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱 (2.1 mm*100 mm, 1.8 μm)	正常	江苏省环境监测中心
高效液相色谱-三重四极杆质谱仪	Agilent UPLC/MS6490	ZORBAX-SB-C18 (2.1 mm *100 mm, 1.8 μm)	正常	浙江省杭州生态环境监测中心站
高效液相色谱-三重四极杆质谱仪	Shimadzu LC-20A/AB Qtrap 6500	ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱 (2.1 mm*100 mm, 1.8 μm)	正常	浙江省温州生态环境监测中心
高效液相色谱-三重	Waters UPLC-Premier	ACQUITY UPLC BEH C18	正常	浙江省宁波生态环

四极杆质谱仪	TQ-XS	色谱柱 (2.1 mm*100 mm, 1.8 μm)		境监测站
高效液相色谱-三重 四极杆质谱仪	AB Exion LC AD-AB Qtrap6500	ACQUITY UPLC HSS T3 色 谱柱 (2.1 mm*100 mm, 1.8 μm)	正常	浙江环境监测工程 有限公司

附表 3 使用试剂及溶剂登记表

湖北省生态环境监测中心站			
名称	厂家、规格	纯化处理方法	备注
甲醇	默克 LC	/	/
甲酸	FISHER 色谱级	/	/
标准溶液	Accustand	/	/
江苏省环境监测中心			
甲醇	默克 LC		
甲酸	默克色谱级		
标准溶液	Accustand	/	/
浙江省杭州生态环境监测中心			
甲醇	默克 LC	/	/
甲酸	FISHER 色谱级	/	/
标准溶液	Accustand	/	/
浙江省宁波生态环境监测中心			
甲醇	FISHER 公司 LC	/	/
甲酸	FISHER 色谱级	/	/
标准溶液	Accustand	/	/
浙江省温州生态环境监测中心			
甲醇	默克 LC	/	/
甲酸	FISHER 色谱级	/	/
标准溶液	Accustand	/	/
浙江环境监测工程有限公司			
甲醇	FISHER 公司 LC	/	/
甲酸	FISHER 质谱级	/	/
标准溶液	Osi	/	/

1.2 方法检出限、测定下限测试数据

6家实验室分别对加标浓度为0.05 μg/L（除实验室5加标量为0.08 μg/L）的空白水样进行7次测定，计算检出限和测定下限，汇总相关的数据见附表4。6家实验室测定的丙烯酰胺平均浓度与检出限的比值均符合3~5倍。仪器检出限按照3倍信噪比对应的浓度计，均为0.01 μg/L，各实验室计算的方法检出限均大于等于仪器检出限，所以最终确定方法检出限为计算的方法检出限。

附表4 方法检出限、测定下限测试数据表（μg/L）

编号	实验室 1	实验室 2	实验室 3	实验室 4	实验室 5	实验室 6	
测定 结果 (μg/ L)	1	0.0621	0.0382	0.0578	0.046	0.074	0.045
	2	0.0718	0.0440	0.0622	0.041	0.089	0.050
	3	0.0772	0.0434	0.0558	0.043	0.071	0.044
	4	0.0693	0.0383	0.0497	0.046	0.076	0.045
	5	0.0617	0.0415	0.0556	0.040	0.074	0.042
	6	0.0690	0.0383	0.0533	0.042	0.073	0.047
	7	0.0662	0.0438	0.0548	0.043	0.075	0.047
— 平均值 \bar{x}_i (μg/L)	0.0682	0.0411	0.0556	0.0430	0.076	0.046	
标准偏差 S_i (μg/L)	0.0055	0.0027	0.0038	0.0023	0.0059	0.0025	
t 值	3.143	3.143	3.143	3.143	3.143	3.143	
检出限 (μg/L)	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	
测定下限(μg/L)	0.08	0.04	0.08	0.04	0.08	0.04	

1.3 方法精密度测试数据

分别对加标浓度为0.10 μg/L、5.00 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L的空白样品，实际水样加标浓度依次为0.10 μg/L、0.50 μg/L、5.00 μg/L、20.0 μg/L、10.0 μg/L的地下水、地表水、海水、生活污水和工业废水样品（选取石化废水作为工业废水，除工业废水外，其余水样均未检出丙烯酰胺），上机测定进行6次测定，计算平均值、标准偏差、相对标准偏差。6家实验室空白样品和实际样品测试原始数据分别见附表5~附表10和附表11~附表16。

附表5 空白加标的精密度测试数据 (μg/L)

验证单位: 湖北省生态环境监测中心站

验证时间: 2019年9月

平行号		纯水			
		浓度1 (0.10 μg/L)	浓度2 (5.00 μg/L)	浓度3 (10.0 μg/L)	浓度3 (20.0 μg/L)
测 定 结 果	1	0.111	4.95	9.99	21.0
	2	0.115	4.96	10.0	20.9
	3	0.122	4.96	9.98	20.6
	4	0.108	4.98	10.0	20.8
	5	0.104	4.95	10.0	21.1
	6	0.114	4.96	10.0	21.1
平均值 (μg/L)		0.112	4.96	10.0	20.9
标准偏差 (μg/L)		0.006	0.01	0.02	0.20
相对标准 偏差 RSD _i (%)		5.4	0.2	0.2	1.0

附表6 空白加标的精密度测试数据 (μg/L)

验证单位: 江苏省环境监测中心

验证时间: 2019年9月

平行号		纯水			
		浓度1 (0.10 μg/L)	浓度2 (5.00 μg/L)	浓度3 (10.0 μg/L)	浓度3 (20.0 μg/L)
测 定 结 果	1	0.099	4.96	9.65	19.7
	2	0.103	4.87	9.67	19.7
	3	0.114	4.90	9.81	20.3
	4	0.098	4.94	9.93	19.4
	5	0.102	5.04	9.89	20.9
	6	0.089	4.96	10.0	20.0
平均值 (μg/L)		0.101	4.95	9.82	20.0
标准偏差 (μg/L)		0.008	0.05	0.14	0.5
相对标准 偏差 RSD _i (%)		7.9	1.1	1.4	2.7

附表7 空白加标的精密度测试数据 (μg/L)

验证单位: 浙江省杭州生态环境监测中心

验证时间: 2019年9月

平行号		纯水			
		浓度1 (0.10 μg/L)	浓度2 (5.00 μg/L)	浓度3 (10.0 μg/L)	浓度3 (20.0 μg/L)
测 定 结 果	1	0.092	5.26	9.72	20.9
	2	0.094	5.31	9.26	20.7
	3	0.100	5.19	10.2	20.6
	4	0.089	5.14	10.2	21.0
	5	0.085	4.31	10.3	20.9
	6	0.093	4.44	10.3	21.2
平均值 (μg/L)		0.092	4.94	10.0	20.9
标准偏差 (μg/L)		0.005	0.44	0.42	0.21
相对标准 偏差 RSD _i (%)		5.4	8.9	4.2	1.0

附表8 空白加标的精密度测试数据 (μg/L)

验证单位: 浙江省宁波生态环境监测中心

验证时间: 2019年9月

平行号		纯水			
		浓度1 (0.10 μg/L)	浓度2 (5.00 μg/L)	浓度3 (10.0 μg/L)	浓度3 (20.0 μg/L)
测 定 结 果	1	0.088	4.99	10.0	20.1
	2	0.091	5.09	10.2	20.3
	3	0.079	5.12	10.2	20.3
	4	0.09	5.13	10.1	20.4
	5	0.088	5.10	10.1	20.0
	6	0.091	4.99	10.2	20.2
平均值 (μg/L)		0.088	5.07	10.1	20.2
标准偏差 (μg/L)		0.004	0.06	0.08	0.15
相对标准 偏差 RSD _i (%)		4.5	1.2	0.8	0.8

附表9 空白加标的精密度测试数据 (μg/L)

验证单位: 浙江省温州生态环境监测中心

验证时间: 2019年9月

平行号		纯水			
		浓度1 (0.10 μg/L)	浓度2 (5.00 μg/L)	浓度3 (10.0 μg/L)	浓度3 (20.0 μg/L)
测定 结果	1	0.106	5.05	10.16	20.0
	2	0.103	5.05	10.18	20.0
	3	0.094	5.01	10.24	20.0
	4	0.104	5.02	10.16	19.7
	5	0.106	5.04	10.22	19.9
	6	0.107	5.11	10.25	19.9
平均值 (μg/L)		0.103	5.05	10.2	19.9
标准偏差 (μg/L)		0.005	0.04	0.04	0.12
相对标准 偏差 RSD _i (%)		4.8	0.7	0.4	0.6

附表10 空白加标的精密度测试数据 (μg/L)

验证单位: 浙江环境监测工程有限公司

验证时间: 2019年9月

平行号		纯水			
		浓度1 (0.10 μg/L)	浓度2 (5.00 μg/L)	浓度3 (10.0 μg/L)	浓度3 (20.0 μg/L)
测定 结果	1	0.096	5.10	10.0	20.5
	2	0.102	5.13	10.0	20.3
	3	0.101	5.09	9.85	20.6
	4	0.092	5.06	9.83	20.8
	5	0.112	5.00	10.0	20.4
	6	0.101	4.96	10.1	20.4
平均值 (μg/L)		0.101	5.06	10.0	20.5
标准偏差 (μg/L)		0.007	0.06	0.09	0.18
相对标准 偏差 RSD _i (%)		6.9	1.1	0.88	0.9

附表 11 实际样品加标的精密度测试数据 ($\mu\text{g/L}$)

验证单位: 湖北省生态环境监测中心站

验证时间: 2019年9月、2021年6月~11月

平行号		试样					
		地下水加标 ($0.10\ \mu\text{g/L}$)	地表水加标 ($0.50\ \mu\text{g/L}$)	海水加标 ($5.0\ \mu\text{g/L}$)	石化废水样品	石化废水样品加标 ($10.0\ \mu\text{g/L}$)	生活污水样品加标 ($20.0\ \mu\text{g/L}$)
测定结果	1	0.114	0.55	4.81	4.92	14.4	20.2
	2	0.072	0.56	4.82	4.90	15.8	20.3
	3	0.102	0.55	4.87	5.02	15.1	20.1
	4	0.112	0.55	4.87	4.88	15.1	19.7
	5	0.115	0.56	4.82	4.98	15.7	19.6
	6	0.079	0.55	4.63	4.96	16.2	19.3
平均值 ($\mu\text{g/L}$)		0.099	0.55	4.80	4.94	15.4	19.9
标准偏差 ($\mu\text{g/L}$)		0.019	0.005	0.09	0.05	0.64	0.39
相对标准偏差 RSD_i (%)		19	0.9	1.8	1.1	4.2	2

附表 12 实际样品加标的精密度测试数据 ($\mu\text{g/L}$)

验证单位: 江苏省环境监测中心

验证时间: 2019 年 9 月、2021 年 6 月~11 月

平行号		试样					
		地下水加标 ($0.10 \mu\text{g/L}$)	地表水加标 ($0.50 \mu\text{g/L}$)	海水加标 ($5.0 \mu\text{g/L}$)	石化废水样品	石化废水样品加标 ($10.0 \mu\text{g/L}$)	生活污水样品加标 ($20.0 \mu\text{g/L}$)
测定结果	1	0.104	0.49	4.02	4.56	13.9	17.1
	2	0.101	0.51	4.02	4.47	13.3	16.3
	3	0.099	0.50	4.07	4.59	13.3	17.0
	4	0.106	0.50	4.05	4.66	13.2	16.6
	5	0.109	0.51	4.07	4.44	13.3	16.3
	6	0.105	0.51	4.05	4.59	13.2	16.6
平均值 ($\mu\text{g/L}$)		0.104	0.50	4.05	4.55	13.4	16.6
标准偏差 ($\mu\text{g/L}$)		0.004	0.01	0.02	0.08	0.26	0.32
相对标准偏差 RSD_i (%)		3.8	2.0	0.6	1.8	2.0	1.9

附表 13 实际样品加标的精密度测试数据 ($\mu\text{g/L}$)

验证单位: 浙江省杭州生态环境监测中心

验证时间: 2019 年 9 月、2021 年 6 月~11 月

平行号		试样					
		地下水加标 ($0.10 \mu\text{g/L}$)	地表水加标 ($0.50 \mu\text{g/L}$)	海水加标 ($5.0 \mu\text{g/L}$)	石化废水样品	石化废水样品加标 ($10.0 \mu\text{g/L}$)	生活污水样品加标 ($20.0 \mu\text{g/L}$)
测定结果	1	0.114	0.56	4.96	6.33	18.0	21.4
	2	0.102	0.60	4.81	6.35	18.3	21.2
	3	0.112	0.55	4.82	6.32	17.7	20.6
	4	0.115	0.61	5.03	5.95	18.8	21.9
	5	0.079	0.61	5.26	6.38	18.2	21.4
	6	0.110	0.58	5.15	6.04	18.6	22.1
平均值 ($\mu\text{g/L}$)		0.105	0.58	5.01	6.23	18.3	21.4
标准偏差 ($\mu\text{g/L}$)		0.014	0.03	0.18	0.18	0.40	0.54
相对标准偏差 RSD_i (%)		13	5.2	3.6	3.0	2.2	2.5

附表 14 实际样品加标的精密度测试数据 ($\mu\text{g/L}$)

验证单位: 浙江省宁波生态环境监测中心

验证时间: 2019年9月、2021年6月~11月

平行号		试样					
		地下水加标 ($0.10\ \mu\text{g/L}$)	地表水加标 ($0.50\ \mu\text{g/L}$)	海水加标 ($5.0\ \mu\text{g/L}$)	石化废水样品	石化废水样品加标 ($10.0\ \mu\text{g/L}$)	生活污水样品加标 ($20.0\ \mu\text{g/L}$)
测定结果	1	0.105	0.50	4.45	4.39	13.5	16.7
	2	0.101	0.50	4.53	4.45	14.0	16.8
	3	0.106	0.50	4.54	4.37	13.6	16.9
	4	0.104	0.50	4.46	4.39	13.7	17.1
	5	0.101	0.50	4.34	4.27	13.9	16.8
	6	0.109	0.50	4.48	4.44	13.9	16.9
平均值 ($\mu\text{g/L}$)		0.104	0.50	4.47	4.39	13.8	16.9
标准偏差 ($\mu\text{g/L}$)		0.003	0.00	0.07	0.06	0.20	0.13
相对标准偏差 RSD_i (%)		2.9	0.0	1.6	1.5	1.4	0.8

附表 15 实际样品加标的精密度测试数据 ($\mu\text{g/L}$)

验证单位: 浙江省温州生态环境监测中心

验证时间: 2019年9月、2021年6月~11月

平行号		试样					
		地下水加标 ($0.10\ \mu\text{g/L}$)	地表水加标 ($0.50\ \mu\text{g/L}$)	海水加标 ($5.0\ \mu\text{g/L}$)	石化废水样品	石化废水样品加标 ($10.0\ \mu\text{g/L}$)	生活污水样品加标 ($20.0\ \mu\text{g/L}$)
测定结果	1	0.101	0.56	4.56	4.79	15.1	20.6
	2	0.099	0.58	4.57	4.79	15.0	20.6
	3	0.106	0.57	4.42	4.75	15.1	20.7
	4	0.109	0.57	4.46	4.79	14.9	20.7
	5	0.105	0.55	4.63	4.75	14.9	20.7
	6	0.109	0.52	4.58	4.71	15.0	20.7
平均值 ($\mu\text{g/L}$)		0.105	0.56	4.54	4.76	15.0	20.6
标准偏差 ($\mu\text{g/L}$)		0.004	0.02	0.08	0.03	0.09	0.05
相对标准偏差 RSD_i (%)		3.8	3.6	1.7	0.7	0.6	0.3

附表 16 实际样品加标的精密度测试数据 ($\mu\text{g/L}$)

验证单位: 浙江环境监测工程有限公司

验证时间: 2019 年 9 月、2021 年 6 月~11 月

平行号		试样					
		地下水加标 ($0.10\ \mu\text{g/L}$)	地表水加标 ($0.50\ \mu\text{g/L}$)	海水加标 ($5.0\ \mu\text{g/L}$)	石化废水样品	石化废水样品加标 ($10.0\ \mu\text{g/L}$)	生活污水样品加标 ($20.0\ \mu\text{g/L}$)
测定结果	1	0.103	0.50	4.11	4.43	14.0	19.0
	2	0.107	0.50	4.19	4.55	13.7	18.4
	3	0.104	0.50	4.18	4.60	13.6	18.4
	4	0.107	0.51	4.18	4.57	13.5	18.3
	5	0.103	0.50	4.21	4.55	14.0	18.1
	6	0.104	0.50	4.24	4.61	13.5	17.5
平均值 ($\mu\text{g/L}$)		0.105	0.50	4.18	4.55	13.7	18.3
标准偏差 ($\mu\text{g/L}$)		0.002	0.004	0.04	0.06	0.23	0.47
相对标准偏差 RSD_i (%)		1.9	0.8	1.0	1.3	1.7	2.6

1.4 方法准确度测试数据

分别对加标浓度为 $0.10\ \mu\text{g/L}$ 、 $5.00\ \mu\text{g/L}$ 、 $10.0\ \mu\text{g/L}$ 、 $20.0\ \mu\text{g/L}$ 的空白加标样品, 加标浓度为 $0.10\ \mu\text{g/L}$ 、 $0.50\ \mu\text{g/L}$ 、 $5.00\ \mu\text{g/L}$ 、 $20.0\ \mu\text{g/L}$ 、 $10.0\ \mu\text{g/L}$ 的地下水、地表水、海水、生活污水和工业废水样品 (除工业废水外, 其余水样均未检出丙烯酰胺), 上机测定进行 6 次测定, 6 家实验室空白样品和实际样品测试原始数据分别见附表 17~附表 22 和附表 23~附表 28。

附表 17 空白加标准确度测试数据 (μg/L)

验证单位: 湖北省生态环境监测中心站

验证时间: 2019年9月~11月

平行号		空白加标								备注
		纯水		纯水		纯水		纯水		
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	
测定结果	1	ND	0.111	ND	4.95	ND	9.99	ND	21.0	
	2	ND	0.115	ND	4.96	ND	10.0	ND	20.9	
	3	ND	0.122	ND	4.96	ND	9.98	ND	20.6	
	4	ND	0.108	ND	4.98	ND	10.0	ND	20.8	
	5	ND	0.104	ND	4.95	ND	10.0	ND	21.1	
	6	ND	0.114	ND	4.96	ND	10.0	ND	21.1	
平均值 (μg/L)		ND	0.112	ND	4.96	ND	10.0	ND	20.9	
加标量 (μg/L)		0.10		5.00		10.0		20.0		
加标回收率 (%)		112		99.2		100		105		

附表 18 空白加标准确度测试数据 (μg/L)

验证单位: 江苏省环境监测中心

验证时间: 2019年9月

平行号		空白加标								备注
		纯水		纯水		纯水		纯水		
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	
测定结果	1	ND	0.099	ND	4.96	ND	9.65	ND	19.7	
	2	ND	0.103	ND	4.87	ND	9.67	ND	19.7	
	3	ND	0.114	ND	4.90	ND	9.81	ND	20.3	
	4	ND	0.098	ND	4.94	ND	9.93	ND	19.4	
	5	ND	0.102	ND	5.04	ND	9.89	ND	20.9	
	6	ND	0.089	ND	4.96	ND	10.0	ND	20.0	
平均值 (μg/L)		ND	0.101	ND	4.95	ND	9.82	ND	20.0	
加标量 (μg/L)		0.10		5.00		10.0		20.0		
加标回收率 (%)		101		98.9		98.2		100		

附表 19 空白加标准确度测试数据 (μg/L)

验证单位: 浙江省杭州生态环境监测中心

验证时间: 2019年9月

平行号		空白加标								备注
		纯水		纯水		纯水		纯水		
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	
测定结果	1	ND	0.092	ND	5.26	ND	9.72	ND	20.9	
	2	ND	0.094	ND	5.31	ND	9.26	ND	20.7	
	3	ND	0.100	ND	5.19	ND	10.2	ND	20.6	
	4	ND	0.089	ND	5.14	ND	10.2	ND	21.0	
	5	ND	0.085	ND	4.31	ND	10.3	ND	20.9	
	6	ND	0.093	ND	4.44	ND	10.3	ND	21.2	
平均值 (μg/L)		ND	0.092	ND	4.94	ND	10.0	ND	20.9	
加标量 (μg/L)		0.10		5.00		10.0		20.0		
加标回收率 (%)		92.0		98.8		100		105		

附表 20 空白加标准确度测试数据 (μg/L)

验证单位: 浙江省宁波生态环境监测中心

验证时间: 2019 年 9 月

平行号		空白加标								备注
		纯水		纯水		纯水		纯水		
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	
测定结果	1	ND	0.088	ND	4.99	ND	10.0	ND	20.1	
	2	ND	0.091	ND	5.09	ND	10.2	ND	20.3	
	3	ND	0.079	ND	5.12	ND	10.2	ND	20.3	
	4	ND	0.090	ND	5.13	ND	10.1	ND	20.4	
	5	ND	0.088	ND	5.10	ND	10.1	ND	20.0	
	6	ND	0.091	ND	4.99	ND	10.2	ND	20.2	
平均值 (μg/L)		ND	0.088	ND	5.07	ND	10.1	ND	20.2	
加标量 (μg/L)		0.10		5.00		10.0		20.0		
加标回收率 (%)		88.0		101		101		101		

附表 21 空白加标准确度测试数据 (μg/L)

验证单位: 浙江省温州生态环境监测中心

验证时间: 2019 年 9 月

平行号		空白加标								备注
		纯水		纯水		纯水		纯水		
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	
测定结果	1	ND	0.106	ND	5.05	ND	10.2	ND	20.0	
	2	ND	0.103	ND	5.05	ND	10.2	ND	20.0	
	3	ND	0.094	ND	5.01	ND	10.2	ND	20.0	
	4	ND	0.104	ND	5.02	ND	10.2	ND	19.7	
	5	ND	0.106	ND	5.04	ND	10.2	ND	19.9	
	6	ND	0.107	ND	5.11	ND	10.2	ND	19.9	
平均值 (μg/L)		ND	0.103	ND	5.05	ND	10.2	ND	19.9	
加标量 (μg/L)		0.10		5.00		10.0		20.0		
加标回收率 (%)		103		101		102		99.5		

附表 22 空白加标准确度测试数据 (μg/L)

验证单位: 浙江环境监测工程有限公司

验证时间: 2019年9月

平行号		空白加标								备注
		纯水		纯水		纯水		纯水		
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	
测定结果	1	ND	0.096	ND	5.10	ND	10.0	ND	20.5	
	2	ND	0.102	ND	5.13	ND	10.0	ND	20.3	
	3	ND	0.101	ND	5.09	ND	9.85	ND	20.6	
	4	ND	0.092	ND	5.06	ND	9.83	ND	20.8	
	5	ND	0.112	ND	5.00	ND	10.0	ND	20.4	
	6	ND	0.101	ND	4.96	ND	10.1	ND	20.4	
平均值 (μg/L)		ND	0.101	ND	5.06	ND	10.0	ND	20.5	
加标量 (μg/L)		0.10		5.00		10.0		20.0		
加标回收率 (%)		101		101		99.5		103		

附表 23 实际样品加标准准确度测试数据 (μg/L)

验证单位: 湖北省生态环境监测中心站

验证时间: 2019 年 9 月、2021 年 6 月~11 月

平行号		实际样品										备注
		地下水		地表水		海水		石化废水		生活污水		
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	
测定结果	1	ND	0.114	ND	0.55	ND	4.81	4.92	14.4	ND	20.2	
	2	ND	0.072	ND	0.56	ND	4.82	4.90	15.8	ND	20.3	
	3	ND	0.102	ND	0.55	ND	4.87	5.02	15.1	ND	20.1	
	4	ND	0.112	ND	0.55	ND	4.87	4.88	15.1	ND	19.7	
	5	ND	0.115	ND	0.56	ND	4.82	4.98	15.7	ND	19.6	
	6	ND	0.079	ND	0.55	ND	4.63	4.96	16.2	ND	19.3	
平均值 (μg/L)		ND	0.096	ND	0.55	ND	4.80	4.94	15.4	ND	19.9	
加标量 (μg/L)		0.10		0.50		5.00		10.0		20.0		
加标回收率 (%)		96.0		111		96.0		105		99.5		

附表 24 实际样品加标准准确度测试数据 (μg/L)

验证单位: 江苏省环境监测中心

验证时间: 2019年9月、2021年6月~11月

平行号		实际样品										备注
		地下水		地表水		海水		石化废水		生活污水		
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	
测定结果	1	ND	0.104	ND	0.49	ND	4.02	4.56	13.9	ND	17.1	
	2	ND	0.101	ND	0.51	ND	4.02	4.47	13.3	ND	16.3	
	3	ND	0.099	ND	0.50	ND	4.07	4.59	13.3	ND	17.0	
	4	ND	0.106	ND	0.50	ND	4.05	4.66	13.2	ND	16.6	
	5	ND	0.109	ND	0.51	ND	4.07	4.44	13.3	ND	16.3	
	6	ND	0.105	ND	0.51	ND	4.05	4.59	13.2	ND	16.6	
平均值 (μg/L)		ND	0.104	ND	0.50	ND	4.05	4.55	13.4	ND	16.6	
加标量 (μg/L)		0.10		0.50		5.00		10.0		20.0		
加标回收率 (%)		104		100		81.0		88.5		83.0		

附表 25 实际样品加标准准确度测试数据 (μg/L)

验证单位: 浙江省杭州生态环境监测中心

验证时间: 2019年9月、2021年6月~11月

平行号		实际样品										备注
		地下水		地表水		海水		石化废水		生活污水		
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	
测定结果	1	ND	0.114	ND	0.56	ND	4.96	6.33	18.0	ND	21.4	
	2	ND	0.102	ND	0.60	ND	4.81	6.35	18.3	ND	21.2	
	3	ND	0.112	ND	0.55	ND	4.82	6.32	17.7	ND	20.6	
	4	ND	0.115	ND	0.61	ND	5.03	5.95	18.8	ND	21.9	
	5	ND	0.079	ND	0.61	ND	5.26	6.38	18.2	ND	21.4	
	6	ND	0.110	ND	0.58	ND	5.15	6.04	18.6	ND	22.1	
平均值 (μg/L)		ND	0.105	ND	0.58	ND	5.01	6.23	18.3	ND	21.4	
加标量 (μg/L)		0.10		0.50		5.00		10.0		20.0		
加标回收率 (%)		105		117		100		121		107		

附表 26 实际样品加标准准确度测试数据 (μg/L)

验证单位: 浙江省宁波生态环境监测中心

验证时间: 2019年9月、2021年6月~11月

平行号		实际样品										备注
		地下水		地表水		海水		石化废水		生活污水		
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	
测定结果	1	ND	0.105	ND	0.50	ND	4.45	4.39	13.5	ND	16.7	
	2	ND	0.101	ND	0.50	ND	4.53	4.45	14.0	ND	16.8	
	3	ND	0.106	ND	0.50	ND	4.54	4.37	13.6	ND	16.9	
	4	ND	0.104	ND	0.50	ND	4.46	4.39	13.7	ND	17.1	
	5	ND	0.101	ND	0.50	ND	4.34	4.27	13.9	ND	16.8	
	6	ND	0.109	ND	0.50	ND	4.48	4.44	13.9	ND	16.9	
平均值 (μg/L)		ND	0.104	ND	0.50	ND	4.47	4.39	13.8	13.5	16.9	
加标量 (μg/L)		0.10		0.50		5.00		10.0		20.0		
加标回收率 (%)		104		100		89.4		94.1		84.5		

附表 27 实际样品加标准准确度测试数据 (μg/L)

验证单位：浙江省温州生态环境监测中心
 验证时间：2019 年 9 月、2021 年 6 月~11 月

平行号		实际样品										备注
		地下水		地表水		海水		石化废水		生活污水		
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	
测定结果	1	ND	0.101	ND	0.56	ND	4.56	4.79	15.1	ND	20.6	
	2	ND	0.099	ND	0.58	ND	4.57	4.79	15.0	ND	20.6	
	3	ND	0.106	ND	0.57	ND	4.42	4.75	15.1	ND	20.7	
	4	ND	0.109	ND	0.57	ND	4.46	4.79	14.9	ND	20.7	
	5	ND	0.105	ND	0.55	ND	4.63	4.75	14.9	ND	20.7	
	6	ND	0.109	ND	0.52	ND	4.58	4.71	15.0	ND	20.7	
平均值 (μg/L)		ND	0.105	ND	0.56	ND	4.54	4.76	15.0	ND	20.6	
加标量 (μg/L)		0.10		0.50		5.00		10.0		20.0		
加标回收率 (%)		105		112		90.8		102		103		

附表 28 实际样品加标准准确度测试数据 (μg/L)

验证单位: 浙江环境监测工程有限公司

验证时间: 2019年9月、2021年6月~11月

平行号		实际样品										备注
		地下水		地表水		海水		石化废水		生活污水		
		样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	样品	加标样品	
测定结果	1	ND	0.103	ND	0.50	ND	4.11	4.43	14.0	ND	19.0	
	2	ND	0.107	ND	0.50	ND	4.19	4.55	13.7	ND	18.4	
	3	ND	0.104	ND	0.50	ND	4.18	4.60	13.6	ND	18.4	
	4	ND	0.107	ND	0.51	ND	4.18	4.57	13.5	ND	18.3	
	5	ND	0.103	ND	0.50	ND	4.21	4.55	14.0	ND	18.1	
	6	ND	0.104	ND	0.50	ND	4.24	4.61	13.5	ND	17.5	
平均值 (μg/L)		ND	0.105	ND	0.50	ND	4.18	4.55	13.7	ND	18.3	
加标量 (μg/L)		0.10		0.50		5.00		10.0		20.0		
加标回收率 (%)		105		100		83.6		91.5		91.5		

2 方法验证数据汇总

2.1 方法检出限、测定下限汇总

不同实验室的检出限、测定下限汇总见附表 29。丙烯酰胺检出限为 0.02 $\mu\text{g/L}$ ，测定下限为 0.08 $\mu\text{g/L}$ 。

附表 29 方法检出限和测定下限汇总表 ($\mu\text{g/L}$)

实验室号	丙烯酰胺	
	检出限	测定下限
1	0.02	0.08
2	0.01	0.04
3	0.02	0.08
4	0.01	0.04
5	0.02	0.08
6	0.01	0.04

2.2 方法精密度数据汇总

附表 30 方法精密度测试数据汇总表 (μg/L)

实验室号	0.10 μg/L 纯水加标			5.00 μg/L 纯水加标			10.0 μg/L 纯水加标			20.0 μg/L 纯水加标			0.10 μg/L 地下水加标		
	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i
1	0.112	0.006	5.4	4.96	0.01	0.2	10.0	0.02	0.2	20.9	0.20	1.0	0.099	0.019	19
2	0.101	0.008	7.9	4.95	0.05	1.1	9.82	0.14	1.4	20.0	0.50	2.7	0.104	0.004	3.8
3	0.092	0.005	5.4	4.94	0.44	8.9	10.0	0.42	4.2	20.9	0.21	1.0	0.105	0.014	13
4	0.088	0.004	4.5	5.07	0.06	1.2	10.1	0.08	0.8	20.2	0.15	0.8	0.104	0.003	2.9
5	0.103	0.005	4.8	4.98	0.05	1.0	9.83	0.13	1.3	19.9	0.12	0.6	0.105	0.004	3.8
6	0.101	0.007	6.9	5.06	0.06	1.1	10.0	0.09	0.9	20.5	0.18	0.9	0.105	0.002	1.9
\bar{x}	0.100			4.99			9.96			20.4			0.104		
S'	0.0085			0.06			0.11			0.44			0.002		
RSD'	8.5			1.1			1.1			2.1			2.3		

重现性 限	0.017			0.52			0.55			0.73			0.03		
再现性 限	0.028			0.52			0.59			1.39			0.03		
实验室 号	0.50 μg/L 地表水加标			5.00 μg/L 海水加标			石化废水			10.0 μg/L 石化废水加标			20.0 μg/L 生活污水加标		
	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i	\bar{x}_i	S_i	RSD _i
1	0.55	0.005	0.9	4.80	0.09	1.8	4.94	0.05	1.1	15.4	0.64	4.2	19.9	0.39	2.0
2	0.50	0.01	2.0	4.05	0.02	0.6	4.55	0.08	1.8	13.4	0.26	2.0	16.6	0.32	1.9
3	0.58	0.03	5.2	5.01	0.18	3.6	6.23	0.18	3.0	18.3	0.40	2.2	21.4	0.54	2.5
4	0.50	0.00	0.00	4.47	0.07	1.6	4.39	0.06	1.5	13.8	0.20	1.4	16.9	0.13	0.8
5	0.56	0.02	3.6	4.54	0.08	1.7	4.76	0.03	0.7	15.0	0.09	0.6	20.6	0.05	0.3
6	0.50	0.00	0.8	4.18	0.04	1.0	4.55	0.06	1.3	13.7	0.23	1.7	18.3	0.47	2.6
\bar{x}	0.53			4.51			4.90			14.9			18.9		
S'	0.04			0.36			0.68			1.83			1.99		
RSD'	6.8			8.0			14			12			10		

重现性 限	0.04	0.27	0.25	0.98	1.01
再现性 限	0.11	1.04	1.91	5.20	5.64

2.3 方法正确度数据汇总

附表 31 加标测定的正确度测试数据汇总

实验室号	0.10 μg/L 纯水加标	5.00 μg/L 纯水加标	10.0 μg/L 纯水加标	20.0 μg/L 纯水加标	0.10 μg/L 地下水加标	0.50 μg/L 地表水加标	5.00 μg/L 海水加标	10.0 μg/L 石化废水加标	20.0 μg/L 生活污水加标
	P_i (%)	P_i (%)	P_i (%)	P_i (%)	P_i (%)	P_i (%)	P_i (%)	P_i (%)	P_i (%)
1	112	99.2	100	105	96.0	111	96.0	105	99.5
2	101	98.9	98.2	100	104	100	81.0	88.5	83.0
3	92.0	98.8	100	105	105	117	100	121	107
4	88.0	101	101	101	104	100	89.4	94.4	84.5
5	103	99.6	102	99.5	105	112	90.8	102	103
6	101	101	98.3	103	105	100	83.6	91.5	91.5

\bar{P} (%)	99.5	99.8	99.9	102	103	107	90.1	100	94.8
S_P	8.5	1.0	1.5	2.5	3.5	7.6	7.2	12	9.9

附表 32 校准控制指标数据汇总表

实验室编号	标准溶液浓度范围 (μg/L)	校准曲线相关系数
1	0.05~20	0.9998
2	0.1~20	0.9995
3	0.1~20	0.9995
4	0.05~20	0.9997
5	0.1~20	0.9997
6	0.05~20	0.9999

3 方法验证结论

3.1 检出限和测定下限

6家实验室均未在空白中检出目标物,因此按照《环境监测分析方法标准制订技术导则》(HJ 168-2020)中“A.1.1 方法检出限的一般确定方法”中“b)空白试验中未检测出目标物”要求,直接用空白加标方法来确定方法检出限。6家实验室得到的检出限为0.01 μg/L或0.02 μg/L,计算所用加标浓度均为检出限3~5倍之间。因此,计算出来的检出限是合理的。而6家实验室的仪器检出限为0.01 μg/L。综合确定本标准的丙烯酰胺方法检出限为0.02 μg/L,测定下限为0.08 μg/L。

3.2 精密度

6家实验室分别对丙烯酰胺加标浓度为0.10 μg/L、5.00 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L的空白样品重复测定了6次,实验室内相对标准偏差分别为4.5%~7.9%、0.2%~8.2%、0.2%~3.7%、0.6%~2.7%;实验室间相对标准偏差分别为8.5%、1.1%、1.1%、2.1%;重复性限分别为0.02 μg/L、0.52 μg/L、0.55 μg/L、0.73 μg/L;再现性限分别为0.03 μg/L、0.52 μg/L、0.59 μg/L、1.39 μg/L。

6家实验室分别对丙烯酰胺加标浓度为0.10 μg/L、0.50 μg/L、5.00 μg/L、20.0 μg/L、10.0 μg/L的地下水、地表水、海水、生活污水和工业废水重复测定了6次,实验室内相对标准偏差分别为1.9%~19%、0.4%~4.5%、0.6%~3.6%、0.3%~2.6%、0.6%~4.2%;实验室间相对标准偏差分别为2.3%、6.8%、8.0%、10%、12%;重复性限分别为0.03 μg/L、0.04 μg/L、0.27 μg/L、1.01 μg/L、0.98 μg/L;再现性限分别为0.03 μg/L、0.11 μg/L、1.04 μg/L、5.64 μg/L、5.20 μg/L。

3.3 正确度

6家实验室对丙烯酰胺加标浓度为0.10 μg/L、5.00 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L的空白样品,进行了6次重复测定,加标回收率分别为88.0%~112%、98.8%~101%、98.2%~102%、99.5%~105%;加标回收率最终值分别为(99.5±17)%、(99.8±2.0)%、(99.9±3.0)%、(102±5.0)%。

6家实验室对丙烯酰胺加标浓度为0.10 μg/L、0.50 μg/L、5.00 μg/L、20.0 μg/L、10.0 μg/L的地下水、地表水、海水、生活污水和工业废水进行了6次重复测定,加标回收率分别为96.0%~105%、100%~117%、81.0%~100%、83.0%~107%、88.5%~121%;加标回收率最终值分别为(103±7.0)%、(107±15)%、(90.1±14)%、(94.8±20)%、(100±24)%。

附表 33 方法的精密度

样品类型	样品浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	测定平均 值($\mu\text{g/L}$)	实验室内相对 标准偏差 (%)	实验室 间相对 标准偏 差 (%)	重现性限 ($\mu\text{g/L}$)	再现性限 ($\mu\text{g/L}$)
空白样品	ND	0.10	0.10	4.5~7.9	8.5	0.02	0.03
	ND	5.00	4.99	0.2~8.2	1.1	0.52	0.52
	ND	10.0	9.96	0.2~3.7	1.1	0.55	0.59
	ND	20.0	20.4	0.6~2.7	2.1	0.73	1.39
地下水	ND	0.10	0.10	1.9~19	2.3	0.03	0.03
地表水	ND	0.50	0.53	0.4~4.5	6.8	0.04	0.11
海水	ND	5.00	4.51	0.6~3.6	8.0	0.27	1.04
生活污水	ND	20.0	18.9	0.3~2.6	10	1.01	5.64
工业废水	4.89	10.0	14.9	0.6~4.2	12	0.98	5.20

附表 34 方法的正确度

样品类型	样品浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	P (%)	\bar{P} (%)	$S_{\bar{P}}$ (%)	$\bar{P} \pm 2S_{\bar{P}}$ (%)
空白样品	ND	0.10	88.0~112	99.5	8.5	99.5 \pm 17
	ND	5.00	98.8~101	99.8	1.0	99.8 \pm 2.0
	ND	10.0	98.2~102	99.9	1.5	99.9 \pm 3.0
	ND	20.0	99.5~105	102	2.5	102 \pm 5.0
地下水	ND	0.10	96.0~105	103	3.5	103 \pm 7.0
地表水	ND	0.50	100~117	107	7.6	107 \pm 15
海水	ND	5.00	81.0~100	90.1	7.2	90.1 \pm 14
生活污水	ND	20.0	83.0~107	94.8	9.9	94.8 \pm 20
工业废水	4.74	10.0	88.5~121	100	12	100 \pm 24