

附件十一：

《土壤、沉积物 酚类化合物的测定 气相色谱法》
(征求意见稿)
编制说明

《土壤和沉积物 酚类化合物的测定 气相色谱法》标准编制组

二〇一二年五月

项目名称：土壤、沉积物 酚类化合物的测定 气相色谱法

项目统一编号：1045

承担单位：南京市环境监测中心站

编制组主要成员：杨丽莉、王美飞、母应锋、胡恩宇、刘晶、吴丽娟、
张哲海

标准所技术管理负责人：戴天有

标准处项目负责人：何俊

目 次

1	项目背景.....	2
1.1	任务来源.....	2
1.2	工作过程.....	2
2	标准制修订的必要性分析.....	2
1.3	酚类化合物的理化性质和来源.....	3
1.4	环境中酚类化合物的危害.....	3
2.1	相关环境保护标准和工作的需要.....	3
2.2	酚类化合物分析方法的最新研究进展.....	6
3	国内外相关分析方法研究.....	6
4	标准制订的基本原则和技术路线.....	8
4.1	标准制订的基本原则.....	8
4.2	标准制订的技术路线.....	8
5	方法研究报告.....	11
5.1	方法研究的目标.....	11
5.2	方法原理.....	11
5.3	试剂和材料.....	11
5.4	仪器和设备.....	12
5.5	样品.....	12
5.6	分析步骤.....	13
5.7	方法检出限和测定下限试验.....	19
5.8	精密度和准确度试验.....	22
5.9	结果计算与表示.....	26
5.10	质量保证和质量控制.....	26
5.11	废物处理.....	27
6	方法验证.....	27
6.1	方法验证方案.....	27
6.2	方法验证过程.....	29
7	参考文献.....	29

《土壤、沉积物 酚类化合物的测定 气相色谱法》

编制说明

1 项目背景

1.1 任务来源

《土壤和沉积物 酚类化合物的测定 液液萃取/气相色谱-氢火焰检测器法》标准制(修)订项目列入2009年度环境保护部国家环境保护标准制修订计划(环办函[2009]221号)。本项目承担单位为南京市环境监测中心站,项目统一编号为1045。

1.2 工作过程

1.2.1 成立标准编制组

南京市环境监测中心站接到标准制订的任务后,成立了标准编制组,完成了任务书和合同书的填报。根据国家环境保护部对国家环境保护标准制修订项目的相关要求,编制组开展了国内外相关文献的收集与整理,并在此基础上确定了方法的技术路线和主要研究内容。对方法主要研究内容中涉及的样品前处理方法、干扰实验、仪器条件优化、方法学研究等方面进行了研究和探讨,编写了开题论证报告,形成了方法标准草案。

1.2.2 开题论证确定技术路线

2010年10月由环保部科技标准司组织专家召开了开题论证会,进一步明确了技术路线、标准编写的内容和方法验证方案,开题论证会上专家建议将标准名称更改为《土壤、沉积物 酚类化合物的测定 气相色谱法》,形成《监测方法标准开题论证会纪要》。

1.2.3 方法验证工作

本方法标准编制组按照任务计划书的要求,以及开题论证会的意见,结合《环境监测分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010),研究、建立本标准的实验方案,并进行验证试验。2011年1月至6月,组织了6家有资质的实验室进行方法验证,统一派发了标准溶液和实际样品。2011年7月至9月,本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,完成了《土壤、沉积物 酚类化合物的测定 气相色谱法》方法验证报告。

1.2.4 编写标准征求意见稿和编制说明

2011年9月至2011年10月,本标准编制组根据实验室方案及验证报告,编写完成了标准征求意见稿和编制说明。

2 标准制修订的必要性分析

1.3 酚类化合物的理化性质和来源

酚类化合物(phenolic compounds)是指芳香烃中苯环上的氢原子被羟基取代所生成的化合物,根据其分子所含的羟基数目可分为一元酚和多元酚,根据其挥发性分挥发性酚和不挥发性酚,根据其分子中苯环上的氢被不同基团取代又可分为卤代酚类(如:氯酚、二氯酚、五氯酚等)、硝基酚类(如:硝基酚、二硝基酚、三硝基酚等)。

环境中存在的酚类化合物的来源包括两种途径:一是自然合成,二是人类的生产活动。自然界中存在的酚类化合物大部分是植物生命活动的结果,植物体内所含的酚称内源性酚,其余称外源性酚。煤焦油是酚类污染物的主要来源之一,煤制气、焦化、钢铁等工业活动会产生大量的酚类污染;此外,酚类化合物又是重要的有机化工原料,大量用于制造酚醛树脂、高分子材料、离子交换树脂、合成纤维、合成染料、药物、炸药、纸浆漂白、木材防腐等,工业生产产生的“三废”也是酚类化合物的污染来源,在农业生产中酚类化合物还被当作除草剂、杀虫剂、杀菌剂使用。因此,酚类化合物是重要的污染物,广泛存在于水体、土壤和沉积物等环境要素中,环境中主要的酚类化合物有苯酚、甲酚、二甲酚和硝基酚等。

1.4 环境中酚类化合物的危害

酚类化合物是一种原型质毒物,可通过与皮肤、黏膜的接触不经肝脏解毒直接进入血液循环,致使细胞破坏并失去活力,也可通过口腔浸入人体,造成细胞损伤。高浓度的酚液能使蛋白质凝固,并能继续向体内渗透,引起深部组织损伤、坏死乃至全身中毒;低浓度的酚液也可使蛋白质变性。人如果长期饮用被酚污染的水能引起慢性中毒,出现贫血、头昏、记忆力衰退以及各种神经系统的疾病,严重的会引起死亡。酚的口服致死量 530mg/kg(体重)左右,甲基酚和硝基酚对人体的毒性最大。据有关报道,酚还可以和其他有毒物质相互作用产生协同效应,毒性更大,更容易促进致癌化。酚类化合物通过各种途径进入土壤和沉积物后,会被吸附残留并富集在土壤和沉积物中,当超过土壤和沉积物自身的环境容量时,就可能影响土壤和沉积物环境的正常功能,引起土壤和沉积物环境的生态变异或破坏生态系统的物质平衡,会导致农作物减产、品质下降,严重时甚至枯死,在适当条件下,被土壤或沉积物吸附累计的酚类化合物还会重新释放出来,成为二次污染源,残留富集在土壤和沉积物中的酚类化合物会通过食物链的富集作用最终影响到人体健康,因此,分析土壤和沉积物中酚类化合物的含量显得尤为重要。

2.1 相关环境保护标准和工作的需要

酚类化合物由于其来源和使用的广泛性,已成为当今世界上危害大、污染范围广的重要污染物之一。在人类生产活动中,酚类化合物经大气沉降、工业废水排放、灌溉、农业生产

和废弃物处置等多种途径进入土壤环境和沉积物环境中，对生态系统造成破坏，最终又会通过多种途径影响到人类的生存和发展。

在美国、加拿大等国家对土壤中酚类化合物有控制标准，但是可能对毒性的认定不同，控制的种类和浓度标准也相差较大，表2-1为美国新泽西州土壤修复标准，表2-2为美国马里兰州土壤清洁标准，表2-3为加拿大土壤质量基准，表2-4为丹麦土壤质量基准。

表 2-1 美国新泽西州土壤修复标准：mg/kg

污染物	居住区土壤清洁标准	非居住区土壤清洁标准	影响地下水的土壤清洁标准
2-氯酚	280	5200	10
2,4-二氯酚	170	3100	10
2,4-二甲酚	1100	10000	10
2,4-二硝基酚	110	2100	10
2-甲酚	2800	10000	/
4-甲酚	2800	10000	/
五氯酚	6	24	100
苯酚	10000	10000	50
2,4,5-三氯酚	5600	10000	50
2,4,6-三氯酚	62	270	10

表 2-2.美国马里兰州土壤清洁标准：mg/kg

污染物	居住区土壤清洁标准	非居住区土壤清洁标准	保护地下水的土壤清洁标准
2-氯酚	39	1000	/
2,4-二氯酚	23	610	1.2
2,4-二硝基酚	16	410	/
2-甲酚	390	10000	/
4-甲酚	39	1000	/
2-硝基酚	63	1600	1.7
4-硝基酚	63	1600	1.7
五氯酚	5.3	48	/
苯酚	4700	120000	130
1,2,4-三氯酚	78	2000	7.5
2,4,5-三氯酚	780	20000	/
2,4,6-三氯酚	58	520	/

表 2-3 加拿大土壤质量基准：mg/kg

污染物	农业用地	居住与公园用地	商业用地	工业用地
五氯酚	7.6	7.6	7.6	7.6
苯酚	3.8	3.8	3.8	3.8

表 2-4 丹麦土壤质量基准: mg/kg (干重)

污染物	土壤质量基准	生态毒理学土壤质量基准
氯酚 (总量)	3	0.01
五氯酚	0.15	0.005
单硝基酚	125	
二硝基酚	10	
三硝基酚	30	
苯酚 (总量)	70	

在我国现行的环境质量标准中, 涉及土壤中酚类化合物指标的主要有《展览会用地土壤环境质量评价标准 (暂行)》(HJ 350-2007) 和《工业企业土壤环境质量风险评价基准》(HJ/T25-1999)。其中《展览会用地土壤环境质量评价标准 (暂行)》(HJ 350-2007) 酚类化合物壤环境质量评价标准限值见表2-5。推荐的分析方法为气相色谱-质谱法(见表2-7)。《工业企业土壤环境质量风险评价基准》(HJ/T25-1999) 挥发性有机物工业企业通用土壤环境质量风险评价基准值见表2-6, 推荐的是《固体废弃物试验分析评价手册》(中国环境科学出版社, 1992) 中的半挥发性有机化合物的分析方法, 以上两个方法都来源于美国EPA方法8270, 仅是分析方法, 样品前处理方法没有推荐或统一规定, 我国目前为止还没有测定土壤、沉积物中酚类化合物的国标方法, 有必要研究规范土壤和沉积物中酚类化合物的标准分析方法。

表2-5 展览会用地土壤环境质量评价标准 (暂行)》(HJ 350-2007) 单位mg/kg

级别 项目	A级	B级
2-氯酚	39	1000
4-甲酚	39	1000
2-硝基酚	63	1600
2, 4-二甲酚	160	4100
2, 4-二氯酚	23	610
2, 4, 6-三氯酚	62	270
2, 4, 5-三氯酚	58	520
2, 4-二硝基酚	16	410
4, 6-二硝基-2-甲酚	0.8	20

表2-6 工业企业土壤环境质量风险评价基准 (HJ/T25-1999)

化学物质名称	土壤基准 _{直接接触} (mg/kg)	土壤基准 _{迁移至地下水} (mg/kg)
酚	1000000	176000
2-甲酚	189000	14700
3-甲酚	189000	14700
4-甲酚	18900	1470
2,4-二甲酚	75800	5860
2,6-二甲酚	2270	176
3,4-二甲酚	3790	293
2-氯酚	18900	1470
2,4-二氯苯酚	11400	879

表2-7 土壤污染物分析方法

序号	项目	分析方法	最低检出限 (mg/kg)	方法来源
1	2-氯酚	GC/MS	0.2	土壤中半挥发性 有机物的测定 气相色谱-质谱 法
2	4-甲酚	GC/MS	0.5	
3	2-硝基酚	GC/MS	0.2	
4	2,4-二甲酚	GC/MS	0.2	
5	2,4-二氯酚	GC/MS	1.0	
6	2,4,6-三氯酚	GC/MS	0.2	
7	2,4,5-三氯酚	GC/MS	0.2	
8	2,4-二硝基酚	GC/MS	0.2	
9	4,6-二硝基-2-甲酚	GC/MS	0.5	

2.2 酚类化合物分析方法的最新研究进展

目前各国关注的酚类化合物除苯酚外，其他的主要是氯酚类和硝基酚类，相应的测定方法有很多种，包括气相色谱法、液相色谱法以及气相色谱/质谱法等。固态样品中酚类化合物的提取方法也多种多样，除了经典的索氏提取、超声提取外，还有快速溶剂萃取、微波萃取法、微波辅助胶束萃取法、超临界流体萃取等新方法。这些预处理方法都能用于土壤和沉积物等固态样品中酚类化合物的提取，由于酚类化合物能溶于碱性水溶液的特性，也有研究论文针对酚类化合物的特性研究专用的前处理方法。

3 国内外相关分析方法研究

目前国内尚无沉积物中酚类化合物的控制标准,也没有相应的国家标准分析方法,但相关的研究工作有报道。有关固体样品中酚类化合物的分析,美国 EPA 有较为成熟的分析方法,涉及样品采集、保存、样品前处理、分析、结果计算以及质量保证和质量控制等多方面的内容,主要有 EPA 关于土壤/沉积物中酚类物质的前处理方法有 EPA3540(索氏提取)、EPA3541(自动索式提取)、EPA3545(加压溶剂提取)、EPA3546(微波萃取)、EPA3550(超声波提取)以及 EPA3560(超临界流通萃取)等,EPA 关于土壤中酚类物质的分析方法有:EPA8041A,604,625,8270,4010等,其中 EPA625,8270 都是针对碱、中、酸性有机化合物的共同分析方法,其中包含部分酚类化合物(酸性化合物),由于兼顾多种化合物的处理测定,酚类化合物的准确度波动范围较大;EPA8041和604是针对酚类化合物的分析方法,604是填充柱 GC-FID法,前处理为液液萃取、溶剂浓缩转换,分离效果较差;8041是毛细管柱气相色谱法与当今仪器发展匹配较好。此外还有 EPA8410(半挥发性有机物分析的毛细管气相色谱-傅里叶变换红外光谱法),EPA8540(五氯酚的紫外诱导比色法),EPA8085(气相色谱原子发射光谱法)等,以适应不同实验条件分析样品。

与本标准研究内容相关性较强的EPA标准是8041方法,EPA方法8041A列举了一些酚类化合物的前处理方法,见表3-1。其中3510和3520是液液萃取法,其样品基质是液体;3550是超声提取法,3580是溶剂稀释法,适用于固体样品的前处理。3580适用于有机物含量超过20,000mg/kg的固体废物样品。EPA方法8041A的分析采用了气相色谱-氢火焰检测器法测定苯酚、甲酚类、氯酚类、硝基酚类等一元酚化合物,采用酸碱分配净化法(EPA3650)净化后直接进样或衍生化后进行分析,适合不同浓度的酚类化合物测定,适用于水、土壤、沉积物中酚类化合物的分析。

表3-1 EPA方法8041A比较

化合物名称	前处理方法				
	3510	3520	3540	3550	3580
4-氯-3-甲酚	×	×	×	×	×
2-氯酚	×	×	×	×	×
2,4-二氯酚	×	×	×	×	×
2,6-二氯酚	×	ND	ND	ND	×
2,4-二甲酚	×	×	×	×	×
2,4-二硝基酚	×	×	×	×	×
2-(1-甲基-正丙基)-4,6-二硝基苯酚(地乐酚)	×	ND	ND	ND	×
4,6-二硝基-2-甲基苯酚	×	×	×	×	×
邻甲酚	×	ND	ND	ND	×

间甲酚	×	ND	ND	ND	×
对甲酚	×	ND	ND	ND	×
4-硝基酚	×	×	×	×	×
五氯酚	×	×	×	×	×
苯酚	DC(28)	×	×	×	×
2, 3, 4, 6-四氯酚	×	ND	ND	ND	×
2, 3, 5-三氯酚	×	×	ND	×	×
2, 4, 6-三氯酚	×	×	×	×	×

DC: 分配效率不理想 (括号内数字表示回收率); ND: 未测; ×: 回收率大于 70%

国内尚无标准分析方法, 研究文献主要关注五氯酚等在土壤、沉积物中的残留水平, 研究的种类较少, 采用的处理分析方法有: 超声提取-HPLC分析, 超声提取-衍生化-GC/ECD分析, ASE提取-GC/MS分析, 氢氧化钾溶液振荡提取-衍生化-GC分析, 索氏提取-衍生化-GC/ECD分析, 文献量不大, 各种提取体系比较的数据有差异。

国内报道的衍生化手段基本延续了国家标准《水质 五氯酚的测定 气相色谱法 GB 8972-88》中的方法, 采用乙酸酐衍生, 没有其他酚类化合物衍生试验效果的报道。

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) 环境监测分析方法标准的制(修)订应符合《国家环境保护标准制修订工作管理办法》和《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010)的要求;
- (2) 方法的检出限和测定范围满足相关环保标准和环保工作的要求;
- (3) 方法准确可靠, 满足各项方法特性指标的要求;
- (4) 方法具有普遍适用性, 易于推广使用。

4.2 标准制订的技术路线

4.2.1 标准制订的技术内容

本项目是新制订标准, 主要是结合我国仪器设备现状和标准要求, 建立土壤、沉积物样品的前处理方法, 选择合适的萃取溶剂提取酚类化合物, 使用相对普及的气相色谱-氢火焰检测器, 选择合适的色谱条件对国内外关注度高毒型较强的苯酚、甲酚、氯酚、硝基酚等多种酚类化合物进行分离测定, 建立土壤、沉积物中多种酚类化合物的测定标准方法。

本标准拟在参照 EPA 方法 8041A 和 EPA 方法 3000 系列的基础上制订符合我国土壤、沉积物管理需要的酚类化合物分析标准方法。本标准拟采用直接测定的方式, 建立简单易于推广的标准方法, 在样品前处理过程中, 为尽可能地减少土壤、沉积物复杂基质带来的干扰,

利用酚类化合物在碱性介质中成盐溶于水的特点，参照 EPA 3650B 方法进行酸碱分配、溶剂反萃取方式进行净化处理。

4.2.2 标准制订工作程序流程

- (1) 组织专家论证，确定技术路线，拟定实验方案；
- (2) 进行方法验证试验；
- (3) 编制标准的征求意见稿和编制说明；
- (4) 对征求的意见进行汇总，编制标准的送审稿和编制说明；
- (5) 送审稿经审查合格后，提交标准的报批稿和编制说明；
- (6) 报批稿经审查合格后标准发布。

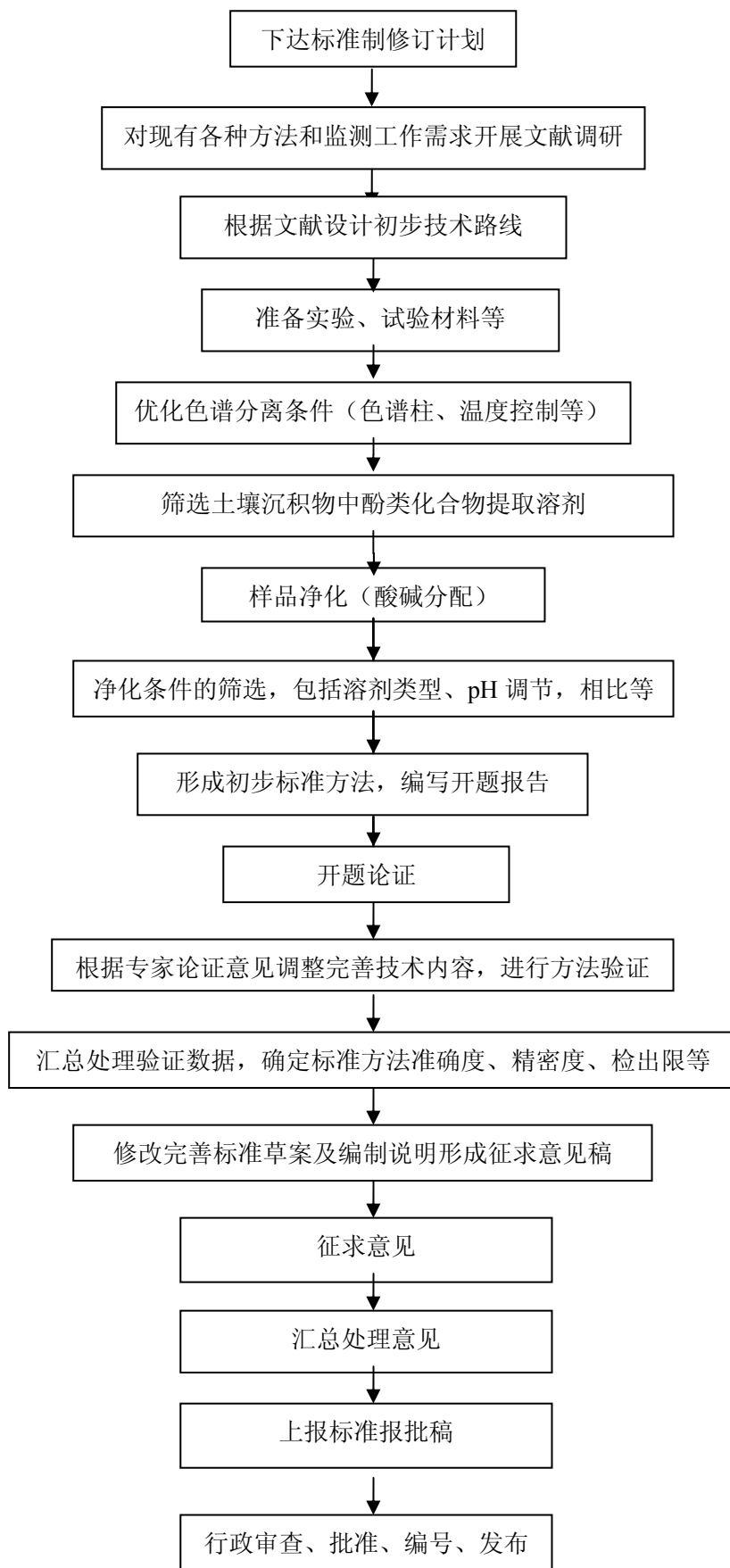


图 4-1 标准制修订基本工作程序流程图

5 方法研究报告

5.1 方法研究的目标

- (1) 研究建立土壤和沉积物中多种酚类化合物的气相色谱测定方法。
- (2) 标准内容包含详细的适用对象、详细操作步骤和注意事项，涵盖相关质量标准中规定的酚类化合物，方法检出限、精密度、准确度能满足相关标准的要求。

5.2 方法原理

土壤沉积物中的酚类化合物采用有机溶剂提取。利用酚类化合物在碱性水溶液中转变成水溶性盐的性质，对有机相提取液作酸碱分配净化。用碱性水相将有机相中的酚类化合物进行反萃取，酚类化合物以盐的形式存在于水相中，水相用盐酸溶液酸化后，再用二氯甲烷与乙酸乙酯混合溶剂液液萃取，酚类化合物进入有机相，有机相经浓缩定容后经毛细管柱分离，用气相色谱-氢火焰检测器法测定，根据保留时间定性，外标法定量。

5.3 试剂和材料

除非另有说明，分析时均使用符合国家标准的分析纯化学试剂，实验用水为新制备的去离子水或蒸馏水。

5.3.1 纯水

二次蒸馏水、市售矿泉水或通过纯水设备制备的无有机物水。使用前必须经过空白试验检验，确认在目标化合物的保留时间区间内没有干扰色谱峰出现或其中的目标化合物低于检出限。

5.3.2 氢氧化钠 (NaOH) 固体；

5.3.3 浓盐酸 (HCl)： $\omega=36\%\sim 38\%$ ；

5.3.4 无水 Na_2SO_4 ：分析纯；

5.3.5 NaOH 水溶液： $c(\text{NaOH})=5\text{mol/L}$ ；

称取 20g NaOH 固体 (5.3.2)，用纯水溶解冷却后定容至 100mL。

5.3.6 盐酸溶液： $c(\text{HCl})=3\text{mol/L}$

取 125mL 浓盐酸 (5.3.3)，用纯水稀释至 500mL。

5.3.7 二氯甲烷 (CH_2Cl_2)：色谱纯；

5.3.8 乙酸乙酯 ($\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$)：色谱纯；

5.3.9 甲醇 (CH_3OH)：色谱纯；

5.3.10 正己烷 (C_6H_{12})：色谱纯；

5.3.11 二氯甲烷与乙酸乙酯混和溶剂：4：1

用 5.3.7 与 5.3.8 按 4: 1 的体积比混和。

5.3.12 二氯甲烷与正己烷混和溶剂: 2: 1

用 5.3.7 与 5.3.10 按 2: 1 的体积比混和。

5.3.13 标准贮备液 ($\rho = 1000 \text{ mg/L}$)

可直接购买包括所有相关分析组分的有证标准溶液, 也可用纯标准物质制备。

5.3.14 标准中间液 ($\rho = 100 \text{ mg/L}$)

用甲醇 (5.3.9) 稀释标准贮备液 (5.3.13), 配制成浓度为 100 mg/L 的标准中间液, 或按照制造商的说明配制。标准中间液目标化合物的测定值与其浓度值偏差大于 20% 时, 需立即更换标准中间液。

5.3.15 加标溶液和实验室控制样品溶液: $\rho = 100 \text{ mg/L}$ 。也可用在监测方案中规定的目标化合物作为加标溶液。

5.4 仪器和设备

5.4.1 气相色谱仪: 具毛细管柱分流/不分流进样口, 可程序升温, 带氢火焰检测器 (FID)。

5.4.2 毛细管柱: $30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$, 100% 甲基聚硅氧烷低流失非极性毛细管柱, 也可使用其它类型等效毛细管柱; $30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$, 50% 苯基-甲基聚硅氧烷中等极性低流失毛细管柱, 也可使用其它类型等效毛细管柱。

5.4.3 微量注射器: $10\mu\text{L}$ 、 $25\mu\text{L}$ 、 $100\mu\text{L}$ 、 $250\mu\text{L}$ 、 $500\mu\text{L}$ 和 $1000\mu\text{L}$, 或具相关刻度的移液枪。

5.4.4 提取瓶: 三角烧瓶, 可使用玻璃瓶。

5.4.5 分液漏斗: 250mL , 带聚四氟乙烯 (PTFE) 塞子。

5.4.6 烧杯或锥形瓶: 玻璃, 500mL 。

5.4.7 三角漏斗及相应规格滤纸。

5.4.8 天平: 精度为 0.01 g 的分析天平。

5.4.9 探针式超声波萃取仪 (功率 450W)。

5.4.10 索氏萃取装置。

5.4.11 加压流体萃取装置。

5.4.12 微波萃取装置。

5.4.13 研钵: 由玻璃、玛瑙或其他无干扰物的材质制成。

5.5 样品

5.5.1 采集与保存

《水和废水监测分析方法》(第四版)对于土壤、沉积物和污泥样品,规定在 4℃冷藏保存,保存期 14d;美国 EPA 5035A 规定样品放在不含有机试剂低温(4℃±2℃)保存尽快分析;《土壤环境监测技术规范》(HJ 166-2004)要求样品低温保存,半挥发有机物保存期 10d。本方法关于样品采集和保存参考《土壤环境监测技术规范》(HJ 166-2004)中的规定,要求在 10d 内提取,在萃取后 40d 内完成分析。

5.5.2 试样的制备

试样的制备主要包括样品干燥脱水、萃取、净化、浓缩和分析。对于土壤和沉积物样品前处理方式有多种,酚类化合物又是较特殊的弱酸性有机化合物,通过实验确定索氏萃取、加压溶剂萃取、超声波萃取和微波萃取的最佳萃取条件,确定最佳净化萃取步骤及条件。

5.5.2.1 干燥

称取 10.0g 新鲜样品,加入无水硫酸钠进行研磨均匀干燥至松散颗粒状,酚类化合物虽然属于半挥发性化合物,但是苯酚、甲酚等酚类容易损失,不能使用自然风干、烘箱加热的方法进行样品干燥。若使用加压流体萃取方法,干燥剂则需选择硅藻土。

5.5.2.2 含水率(水分)测定

同时称取 10.0g 新鲜样品按照 HJ613 测定样品所含水分。

5.6 分析步骤

本方法是对土壤和沉积物中酚类化合物的分析,采用多种萃取方法(索氏萃取、加压溶剂萃取、超声波萃取)提取土壤和沉积物中酚类化合物,由于土壤和沉积物所含有机物成分复杂,在气相色谱-氢火焰检测器上会对酚类化合物的测定产生干扰,因此样品净化尤为重要,利用酚类化合物的性质选择酸碱水相分配净化方法,去除非酸性化合物对酚类化合物测定的干扰。

5.6.1 样品萃取

5.6.1.1 萃取溶剂选择

EPA 方法萃取固态样品中的半挥发性化合物多用二氯甲烷:丙酮(1:1)或者正己烷:丙酮(1:1)混合提取,为了不增加试剂种类同时也试验了丙酮、二氯甲烷:乙酸乙酯混合(4:1)、二氯甲烷:正己烷(2:1)混合溶剂的提取效率,在新鲜土壤样品中的添加试验表明几种萃取溶剂的回收率都在 40%-95%之间。选择国外土壤中半挥发性 QC 样品(美国 NSI Solution Inc. SQCO-007)进行溶剂选择验证,表 5-1 为不同溶剂体系萃取、净化后测定结果,由表中可看出测定结果都在接收范围内,各组分之间的回收率差别不大,含丙酮的萃

取液对硝基酚的萃取率稍低, 由于考虑到萃取液的碱性净化, 最终选择二氯甲烷: 正己烷(2:1) 作为土壤、沉积物中酚类化合物的提取溶剂。

酚类化合物属于酸性化合物, 试验了在土壤中增加酸性(滴加盐酸)的提取试验, 结果显示调节酸性对固态样品中的提取回收率效果不明显。此外还试验了用碱性水溶液直接对土壤样品进行萃取, 结果显示提取效率要略高于有机溶剂提取率, 但是加水以后的土壤样品呈糊状, 过滤分离时间长, 工作效率不高。

表 5-1 土壤中半挥发性 QC 样品不同溶剂提取实验结果 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

化合物	丙酮	二氯甲烷: 丙酮(1:1)	二氯甲烷: 乙 酸乙酯(4:1)	二氯甲烷: 正 己烷(2:1)	碱性水	可接受范围	
苯酚	3615	4403	4415	5299	6465	653	8510
2-氯酚	3451	5731	6406	7762	7720	1620	10800
邻-甲酚	3542	4455	4500	5803	6635	821	9440
对/间-甲酚	1575	2056	2118	2716	2966	465	9310
2-硝基酚	1174	3032	4823	5584	4490	627	7620
2,4-二甲酚	2560	2669	2198	3171	3003	334	7890
2,4-二氯酚	1220	1632	1823	2378	2443	282	3820
2,6-二氯酚	2845	3892	4489	5614	5895	1430	6260
4-氯-3-甲酚	2690	3664	3442	4616	4108	1260	6460
2,4,6-三氯酚	3780	5152	5937	7005	8512	2200	12000
2,4-二硝基酚	/	/	8880	7791	9005	356	11900
4-硝基酚	6178	5260	5202	5856	5742	498	10900
2-甲基-4,6-二硝基酚	237	2702	8525	9512	10300	642	15000
五氯酚	2311	3643	4529	5101	7255	431	8670

5.6.1.2 提取方式

(1) 索氏萃取: 索氏萃取是经典的固体样品萃取方式, 被认为是最稳定的固体样品萃取方法。称取 10.0g 样品加入无水硫酸钠研磨分散后全部转移至萃取纸质套筒中, 加入 100mL 萃取溶剂, 提取 12h, 冷却后收集所有萃取液备净化用。

(2) 超声波萃取: 超声波探头产生巨大冲击力对浸润样品进行反复冲击, 加速有机化合物在萃取溶剂中的溶解。称取 10.0g 样品加入无水硫酸钠研磨分散后全部转移至具塞三角瓶中, 加入 50~100mL 萃取溶剂(具体试样品量而定), 保证超声探头在液面之下, 超声萃取前浸润 12h 以上回收率更好, 提取 3 次, 每次 3min, 合并萃取液浓缩至 50mL 左右, 备净化用。具体条件可参照 HJXX 《土壤和沉积物中有机污染物的提取 超声波提取法》。

(3) 加压流体萃取: 在密闭池体中加热高压条件下溶剂与样品中有机化合物充分渗透、

接触，提高萃取效率，是现代仪器发展快速有效的萃取方法。称取 10.0g 样品加入硅藻土研磨分散后全部转移至耐高压萃取池中，加热 100℃，压力 1500psi，静态萃取时间 5min，淋洗体积 60%池体积，氮气吹扫时间 60s，静态萃取次数 2 次。收集所有萃取液备净化用。具体条件可参照 HJXX 《土壤和沉积物 有机污染物的提取 加压流体萃取法》。

(4) 微波萃取：微波加热有别于其他外部加热过程，被提取化合物和溶剂共处于震动微波电磁场中，在高频电磁波的作用下，高速振动产生热量，加速分子运动，短时间内即可达到萃取溶解目的。称取 10.0g 样品加入无水硫酸钠研磨后全部转移至萃取容器中，加入 20mL 萃取溶剂（整体体积应少于萃取罐总体积的 2/3），微波温度控制很关键，在密闭体系中加热效率高的微波容造成内压过高，而微波萃取罐一般没有过压保护，因此控制最终加热温度很重要，一般设置温度比萃取溶剂沸点高 10℃即可，混合溶剂按照高沸点溶剂的沸点设置即可。试验比较了 QC 样品在 75℃和 100℃萃取效果，100℃结果偏低，升温过程宜采用缓慢程序控制，快速加温会造成罐内压力过高损坏萃取罐，提取时间选择 10min，过滤萃取液，备净化用。

表 5-2 中列举了 4 种萃取方式测定土壤中半挥发性 QC 样品（美国 NSI Solution Inc. SQCO-007）的结果，显示四种萃取方式测定都在可接受范围内。

表 5-2 土壤中半挥发性 QC 样品不同方法提取实验结果（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）

化合物	超声	索氏	ASE	微波	可接受范围	
					653	8510
苯酚	5789	6474	5785	4072	653	8510
2-氯酚	8168	9928	8648	6847	1620	10800
邻-甲酚	5161	6206	6577	5002	821	9440
对/间-甲酚	2609	3097	3075	4451	465	9310
2-硝基酚	5070	6305	5336	3051	627	7620
2,4-二甲酚	1909	1744	3147	1139	334	7890
2,4-二氯酚	2593	3118	2593	2145	282	3820
2,6-二氯酚	6038	7184	6211	4924	1430	6260
4-氯-3-甲酚	4559	4996	5051	3980	1260	6460
2,4,6-三氯酚	8697	9887	8568	6786	2200	12000
2,4-二硝基酚	6372	4015	4355	516	356	11900
4-硝基酚	5910	6033	5486	3296	498	10900
2-甲基-4,6-二硝基酚	8948	9839	8838	3183	642	15000
五氯酚	5860	6213	5950	2800	431	8670

5.6.2 样品净化

由于酚类化合物是酸性有机物，酚羟基在碱性介质中倾向于形成盐而溶于水，在酸性介

质中又重新形成中性分子而易于被有机溶剂提取。利用酚类化合物的这种特性，可对提取液进行酸碱分配净化（参见 EPA 方法 3650B），可以去除大多数不溶于碱性水溶液的有机化合物。

试验了在碱性介质中反萃取 pH 对回收率的影响。在碱性反萃取环节中，收集弃去有机相进行浓缩测定，以考察反萃取效率，比较了在 pH=9、pH=12、和 pH>12 这三种情况下，分别反萃取 1 次的结果，如表 5-3 所示。表 5-2 说明反萃取要在水相 pH>12 时才能保证大部分目标物得以在水相中保留，但还有甲酚类等几个目标物损失较多。

表 5-3. pH 对碱性反萃取效率的影响 (%)

	pH=9		pH=12		pH>12	
	反萃取 损失率	酸性 萃取效率	反萃取 损失率	酸性 萃取效率	反萃取 损失率	酸性 萃取效率
苯酚	32	69	15	78	5	90
2-氯酚	10	94	4	90	1	97
邻-甲酚	81	24	60	43	26	69
对/间-甲酚	70	33	45	53	18	77
2-硝基酚	4	104	1	95	0	99
2,4-二甲酚	98	6	95	12	61	29
2,4-二氯酚	11	90	4	87	0	95
2,6-二氯酚	1	102	0	95	0	99
4-氯-3-甲酚	70	26	46	45	16	69
2,4,6-三氯酚	3	101	2	92	0	97
2,4,5-三氯酚	6	95	8	88	0	92
2,4-二硝基酚	0	109	0	96	0	99
4-硝基酚	0	62	0	52	0	52
2,3,4,6-四氯酚	0	100	0	92	0	95
2,3,4,5/2,3,5,6-四氯酚	2	94	0	87	0	91
2-甲基-4,6-二硝基酚	0	103	0	93	0	96
五氯酚	0	100	0	90	0	92
Dinoseb (地乐酚)	2	97	2	88	1	91
2-环己基-4,6-二硝基酚	8	90	5	83	7	82

为探索表 5-2 中甲酚类在碱性净化步骤中损失的原因，实验室考查了有机相与碱性水相的相比、反萃取溶剂性质等因素对反萃取效率的影响，结果表明减小反萃实际的极性、脂溶性，增大碱性水相的相比能将成盐的酚类化合物留在碱性水相中，而大多数非酸性有机化合物能被洗去，从而避免对酚类化合物的测定干扰。筛选二氯甲烷，二氯甲烷：正己烷和正己烷反萃效果，结果显示二氯甲烷加入低极性的正己烷可以降低甲酚在有机相的分配，能保证酚类化合物净化过程基本不损失，最后选择的反萃溶剂为二氯甲烷：正己烷（2：1）混合溶

剂，相比控制在碱性水相：有机相比大于 2：1 效果较好，多次净化不会影响回收率。

对土壤半挥发有机物有证 QC 样品进行净化分配实验，酚类化合物的测定值都在认证范围内，而所含其他半挥发性化合物去除效果较好，经质谱分析都是其他目标物，结果表明净化针对性较强，效果明显。QC 样品净化后色谱图见图 5-1，净化废液色谱图见图 5-2。

将萃取的有机相转入 250mL 分液漏斗中，加入超过 1 倍于有机相体积的纯水，用 5 mol/LNaOH 溶液调节 pH>12，振荡萃取后弃去有机相，可根据样品提取液情况反萃取多次。

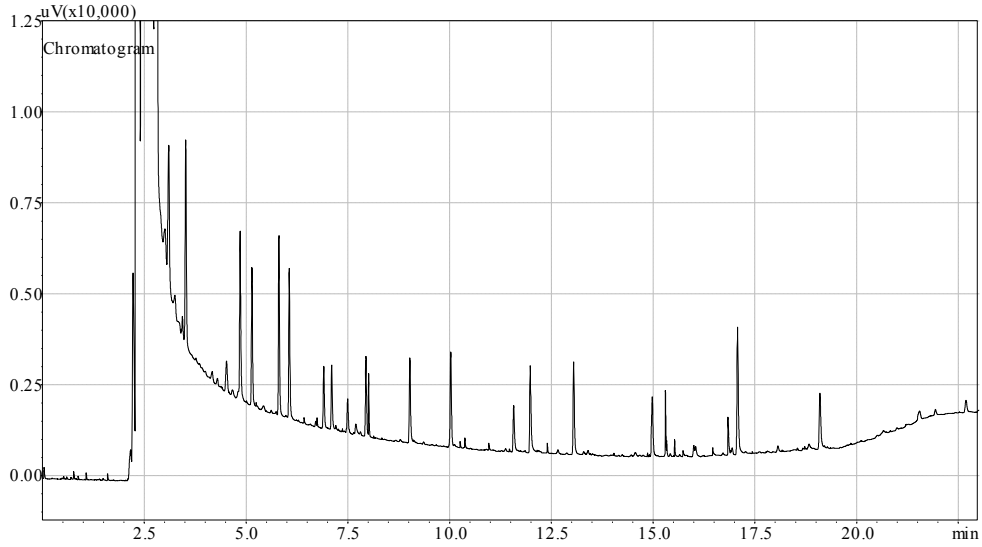


图 5-1 QC 标准样品净化后色谱图

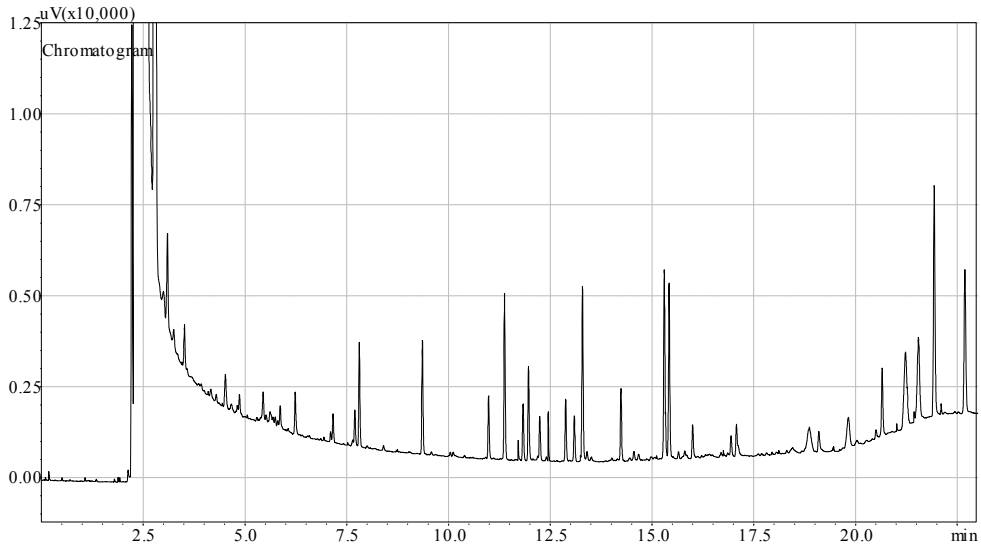


图 5-2 QC 样品净化废液色谱图

5.6.3 净化后萃取

将净化后水溶液用 3mol/L 盐酸溶液调节水相 pH<2，再用 50mL 二氯甲烷：乙酸乙酯（4：1）混和溶剂提取，分离有机相。有机相经无水 Na_2SO_4 除水，用适量混和溶剂洗涤无水

Na₂SO₄，合并有机相，最终浓缩至 1mL，备分析测定用。

进行了碱性净化后酸性提取试验，分别考查了酸性条件、提取试剂对回收率的影响，结果表明 pH<2 即可保证酚类化合物的萃取效率，图 5-3 中所示为选取不同取代基团的酚类化合物的溶剂提取回收试验结果，最后选择二氯甲烷：乙酸乙酯混合溶剂作为在酸性水溶液中提取酚类化合物的溶剂。

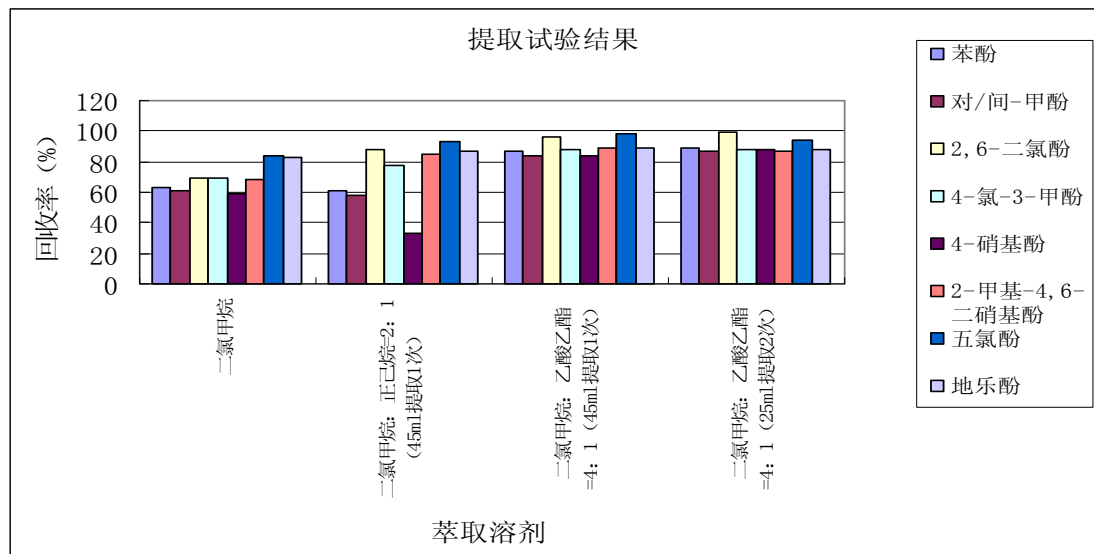


图 5-3 提取溶剂回收率比较

5.6.4 推荐色谱分离条件

进样口温度：270 °C；

载气：氮气（纯度 99.999 %以上）；

分流比：10:1 或者无分流进样方式；

柱流量：1.0 mL/min；

升温程序：80 °C 保持 1.0 min，以 10 °C/min 的升温速率升至 250 °C 并保持 4.0 min；

FID 检测器温度：280 °C；

FID 燃气（空气）流量 300 mL/min，助燃气（氢气，99.99%）流量：35 mL/min。

尾吹：30 mL/min；

进样体积：1.0~2.0μL。

5.6.5 目标化合物定性

选择 EPA8041 方法主要 21 种酚类化合物作为定量目标化合物。

由于使用色谱法定性、定量，为了避免色谱分离照成的杂质干扰问题，选择双柱定性，因此筛选了非极性毛细管色谱柱和中等极性色谱柱分别进行条件优化，由于分析的化合物种

类较多，用同等极性的色谱柱先在气质联用仪上确定 21 种化合物的出峰顺序，推荐首选使用非极性色谱柱。色谱图如下：

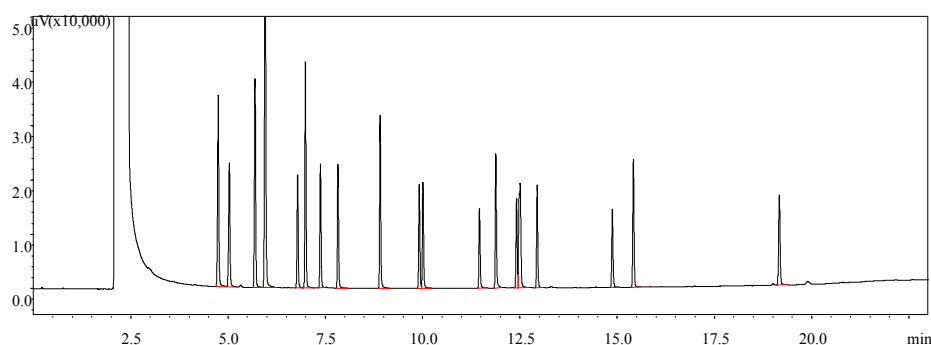


图 5-4 非极性毛细管柱上酚类化合物的标准色谱图

出峰顺序：苯酚，2-氯酚，邻-甲酚，对/间-甲酚，2-硝基酚，2,4-二甲酚，2,4-二氯酚，2,6-二氯酚，4-氯-3-甲酚，2,4,6-三氯酚，2,4,5-三氯酚，2,4-二硝基酚，4-硝基酚，2,3,4,6-四氯酚，2,3,4,5 (2, 3, 5, 6) -四氯酚，2-甲基-4,6-二硝基酚，五氯酚，地乐酚，2-环己基-4, 6 二硝基酚

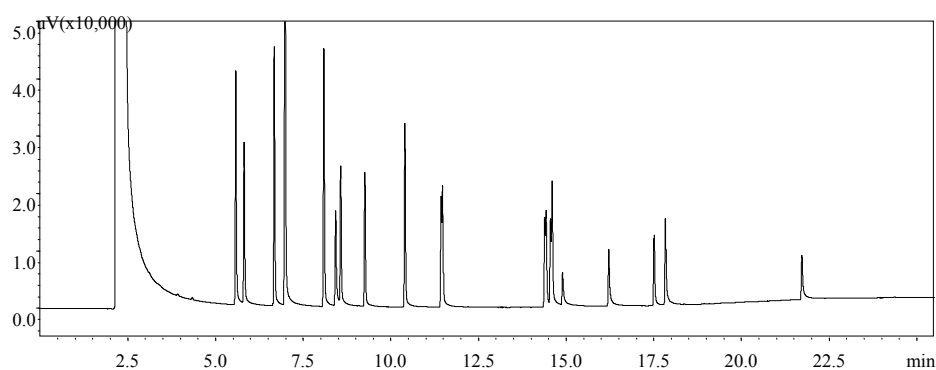


图 5-5 中等极性毛细管柱上酚类化合物的标准色谱图

出峰顺序：苯酚，2-氯酚，邻-甲酚，对/间-甲酚，2,4-二甲酚，2-硝基酚，2,4-二氯酚，2,6-二氯酚，4-氯-3-甲酚，2,4,6-三氯酚，2,4,5-三氯酚，2,3,4,6-四氯酚，2,3,4,5 (2,3,5,6) -四氯酚，2,4-二硝基酚，4-硝基酚，2-甲基-4,6-二硝基酚，地乐酚，五氯酚，2-环己基-4,6 二硝基酚

5.7 方法检出限和测定下限试验

按照《环境监测分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010)要求，用石英砂作为土壤空白样品，添加低浓度标准，按照《土壤、沉积物 酚类化合物的测定 气相色谱法》全过程平行重复 7 次测定，计算测定结果的标准偏差，按照公式 (1) 计算方法检出限。

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

式中：

MDL——方法检出限；

n——样品平行测定的次数；

t——自由度为 n-1，置信度为 99%时的 t 分布（单侧）；

S——n 次平行测定的标准偏差。

本实验室按照方法中规定的分析步骤，在 10.0g 石英砂中添加 0.5 μ g 的标准物质，平行测定 7 次，结果见表 5-4。

表 5-4 方法检出限、测定下限测试数据表

试 样 (组分)	平 均 值 \bar{x}_i (mg/kg)	标准偏差 S_i (mg/kg)	t 值	检 出 限 (mg/kg)	测 定 下 限 (mg/kg)
苯酚	0.048	0.007	3.143	0.02	0.09
2-氯酚	0.040	0.004	3.143	0.01	0.04
邻-甲酚	0.044	0.003	3.143	0.01	0.04
对/间-甲酚	0.045	0.006	3.143	0.02	0.08
2-硝基酚	0.048	0.005	3.143	0.01	0.06
2,4-二甲酚	0.031	0.002	3.143	0.01	0.04
2,4-二氯酚	0.048	0.009	3.143	0.03	0.12
2,6-二氯酚	0.042	0.007	3.143	0.02	0.08
4-氯-3-甲酚	0.044	0.003	3.143	0.01	0.03
2,4,6-三氯酚	0.048	0.005	3.143	0.02	0.06
2,4,5-三氯酚	0.057	0.008	3.143	0.03	0.10
2,4-二硝基酚	0.079	0.014	3.143	0.04	0.17
4-硝基酚	0.033	0.003	3.143	0.01	0.03
2,3,4,5-四氯酚	0.034	0.002	3.143	0.01	0.02
2,3,4,6-四氯酚 / (2,3,5,6-四氯酚)	0.029	0.004	3.143	0.01	0.04
2-甲基-4,6-二硝基酚	0.052	0.008	3.143	0.03	0.10
五氯酚	0.100	0.022	3.143	0.07	0.28
Dinoseb (地乐酚)	0.049	0.005	3.143	0.02	0.06
2-环己基-4,6-二硝基酚	0.045	0.004	3.143	0.01	0.05

5.8 精密度和准确度试验

5.8.1 实际样品加标试验

称取 10.0g 实际样品（长江沉积物）分别添加 5.0 μg 和 20.0 μg 两种浓度选择加压流体萃取方法萃取，进行全程序添加试验，考查实际样品的精密度和准确度，实际样品和每种添加浓度平行测试 6 份，结果见表 5-5。

表 5-5 精密度和准确度测试数据

试 样		平 均 值 \bar{x}_i (mg/kg)	标准偏差 S_i (mg/kg)	相对标准偏差 RSD_i	加标回收率 P_i
苯酚	样品	/	/	/	/
	加标 5.0 μ g	0.355	0.034	9.7%	71.0%
	加标 20.0 μ g	1.434	0.175	12.2%	71.7%
2-氯酚	样品	/	/	/	/
	加标 5.0 μ g	0.393	0.009	2.2%	78.6%
	加标 20.0 μ g	1.660	0.090	5.4%	82.6%
邻-甲酚	样品	0.01	0.001	6.0%	/
	加标 5.0 μ g	0.369	0.007	1.9%	72.1%
	加标 20.0 μ g	1.660	0.090	5.4%	82.6%
对/间-甲酚	样品	0.07	0.005	6.5%	/
	加标 5.0 μ g	0.403	0.009	2.1%	66.5%
	加标 20.0 μ g	1.703	0.091	5.4%	81.6%
2-硝基酚	样品	/	/	/	/
	加标 5.0 μ g	0.366	0.012	3.4%	73.1%
	加标 20.0 μ g	1.720	0.106	6.2%	86.0%
2,4-二甲酚	样品	/	/	/	/
	加标 5.0 μ g	0.330	0.011	3.3%	66.1%
	加标 20.0 μ g	1.530	0.088	5.8%	76.5%
2,4-二氯酚	样品	/	/	/	/
	加标 5.0 μ g	0.370	0.007	1.9%	74.0%
	加标 20.0 μ g	1.707	0.089	5.2%	85.4%
2,6-二氯酚	样品	/	/	/	/
	加标 5.0 μ g	0.380	0.007	1.9%	76.0%
	加标 20.0 μ g	1.734	0.092	5.3%	86.7%
4-氯-3-甲酚	样品	/	/	/	/
	加标 5.0 μ g	0.377	0.011	2.9%	75.5%
	加标 20.0 μ g	1.721	0.090	5.2%	86.1%
2,4,6-三氯酚	样品	/	/	/	/
	加标 5.0 μ g	0.379	0.016	4.2%	75.9%
	加标 20.0 μ g	1.749	0.087	5.0%	87.4%

2, 4, 5-三氯酚	样品	0.18	0.010	5.6%	/
	加标 5.0 μg	0.499	0.026	5.2%	63.4%
	加标 20.0 μg	1.891	0.103	5.5%	85.5%
2, 4-二硝基酚	样品	/	/	/	/
	加标 5.0 μg	0.575	0.076	13.2%	115.0%
	加标 20.0 μg	1.347	0.323	24.0%	67.4%
4-硝基酚	样品	0.32	0.057	17.7%	/
	加标 5.0 μg	0.635	0.086	13.5%	63.1%
	加标 20.0 μg	1.579	0.148	9.4%	62.9%
2, 3, 4, 5-四氯酚	样品	0.05	0.005	9.8%	/
	加标 5.0 μg	0.414	0.016	3.9%	73.2%
	加标 20.0 μg	1.678	0.111	6.6%	81.5%
2, 3, 4, 6-四氯酚/ (2, 3, 5, 6-四氯酚)	样品	0.17	0.007	4.3%	/
	加标 5.0 μg	0.473	0.028	5.8%	60.8%
	加标 20.0 μg	1.821	0.097	5.3%	82.6%
2-甲基-4, 6-二硝基酚	样品	/	/	/	/
	加标 5.0 μg	0.454	0.022	4.8%	90.8%
	加标 20.0 μg	1.456	0.253	17.4%	72.8%
五氯酚	样品	0.03	0.001	4.4%	/
	加标 5.0 μg	0.402	0.038	9.5%	74.8%
	加标 20.0 μg	1.625	0.088	5.4%	79.8%
Dinoseb (地乐酚)	样品	/	/	/	/
	加标 5.0 μg	0.397	0.022	5.6%	79.4%
	加标 20.0 μg	1.631	0.091	5.6%	81.5%
2-环己基-4, 6-二硝基酚	样品	/	/	/	/
	加标 5.0 μg	0.620	0.070	11.3%	124.1%
	加标 20.0 μg	2.228	0.184	8.3%	111.4%

5.8.2 有证标准物质试验

购买国外土壤中半挥发性 QC 样品 (美国 NSI Solution Inc. SQCO-007) 进行准确度验证, 结果见表 5-6。

表 5-6 有证标准样品测试结果 (mg/kg)

有证标准样品	平均值 \bar{x}_i (mg/kg)	标准偏差 S_i (mg/kg)	相对标准 偏差 RSD_i	有证标准物质含量 μ 可 接受范围 (mg/kg)	
苯酚	5.532	0.610	11.03%	0.653	8.51
2-氯酚	7.489	1.941	25.91%	1.620	10.80
邻-甲酚	5.427	0.930	17.14%	0.821	9.44
对/间-甲酚	4.105	0.840	20.47%	0.465	9.31
2-硝基酚	5.007	1.096	21.89%	0.627	7.62
2,4-二甲酚	2.710	0.460	16.99%	0.334	7.89
2,4-二氯酚	2.389	0.500	20.91%	0.282	3.82
2,6-二氯酚	4.405	0.809	18.37%	1.430	6.26
4-氯-3-甲酚	4.337	0.766	17.67%	1.260	6.46
2,4,6-三氯酚	7.844	1.589	20.25%	2.200	12.00
2,4,5-三氯酚	/	/	/	/	/
2,4-二硝基酚	4.253	0.322	7.58%	0.356	11.90
4-硝基酚	6.019	0.362	6.01%	0.498	10.90
2,3,4,5-四氯酚	/	/	/	/	/
2,3,4,6-四氯酚/ (2,3,5,6-四氯酚)	/	/	/	/	/
2-甲基-4,6-二硝基 酚	8.081	0.891	11.02%	0.642	15.000
五氯酚	5.413	0.696	12.85%	0.431	8.670
Dinoseb (地乐酚)	/	/	/	/	/
2-环己基-4,6-二硝 基酚	/	/	/	/	/

5.9 结果计算与表示

5.9.1 结果计算

土壤和沉积物中各酚类化合物的含量 (mg/kg)按公式 (2) 计算。

$$\omega_i = \frac{\rho_i \times V}{m \times (1 - w)} \quad (2)$$

式中:

ω_i ——酚类组分 i 的质量分数, mg/kg;

ρ_i ——从工作曲线上查得浓缩液中酚类组分 i 的质量浓度, mg/L;

V ——浓缩后试样体积, mL;

m ——试样质量, g;

w ——试样含水率, %。

5.9.2 结果表示

当结果大于等于 1.00 mg/kg 时, 结果保留三位有效数字; 小于 1.00 mg/kg 时, 结果保留两位有效数字。

5.10 质量保证和质量控制

5.10.1 空白试验

每分析一批样品, 应做一个实验室空白。如果这个值超过方法检出限, 说明实验室环境或者所使用的试剂本身有污染。

每分析一批样品至少作一个全程序空白实验。

5.10.2 校准

初始校准: 将混合标准溶液用甲醇稀释成系列标准工作溶液, 浓度为 1.00, 2.00, 10.0, 20.0, 50.0, 100.0mg/L, 在选定的仪器条件下分析, 以酚类化合物浓度 (mg/L) 为横坐标, 色谱响应峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 结果见表 5-7。

表 5-7 酚类化合物的线性回归方程和回归相关系数

化合物名称	线性回归方程	相关系数 r
苯酚	$y = 6418.6x + 17330$	0.997 9
2-氯酚	$y = 4617.6x + 10491$	0.998 5
邻-甲酚	$y = 6712.2x + 17667$	0.998 1
对/间-甲酚	$y = 13370x + 26376$	0.998 8
2-硝基酚	$y = 3938.1x + 1541.6$	0.999 7

2,4-二甲酚	$y = 6958.2x + 11606$	0.999 1
2,4-二氯酚	$y = 3885.9x + 6365$	0.999 1
2,6-二氯酚	$y = 3872x + 6019$	0.999 2
4-氯-3-甲酚	$y = 5133.4x + 6973.2$	0.999 3
2,4,6-三氯酚	$y = 3154x + 3823.5$	0.999 5
2,4,5-三氯酚	$y = 3261.8x + 4576.7$	0.999 3
2,4-二硝基酚	$y = 2762.4x - 6595.8$	0.999 6
4-硝基酚	$y = 4142.6x + 958.45$	0.999 7
2,3,4,6-四氯酚	$y = 2734.7x + 1931.4$	0.999 7
2,3,4,5/2,3,5,6-四氯酚	$y = 5589x + 5185.7$	0.999 5
2-甲基-4,6-二硝基酚	$y = 3275.2x - 346.64$	0.999 8
五氯酚	$y = 2483.8x + 1383.6$	0.999 7
地乐酚	$y = 4055.3x - 3544.9$	0.999 8
2-环己基-4,6-二硝基酚	$y = 3691.8x - 5413.7$	0.999 8

工作曲线的相关系数应大于等于 0.990。

连续校准：连续校准应要在空白和样品分析之前进行。目标化合物的百分偏差不得高于最近一次初始校准浓度的 30%以上，否则应重新绘制工作曲线。

5.10.3 平行样测定

以 20 个样品为一批次，每批样品应至少做 10%的平行样品测定，平行双样的测定结果相对偏差应在 30%以内。

5.10.4 实际样品加标回收测定

每批样品至少做一个加标回收测定，实际样品加标回收率应在 50%~120%之间。

5.11 废物处理

酚类化合物属于有毒有机污染物，实验过程中所使用的标准物质应严格管理，用后不能随意倾倒，应放置在适当密闭的容器中封存，交由有处理资质的处理公司进行处理。

实验过程中产生了大量有机废液，应放置于适当的密闭容器中保存，实验结束后，实验器具应洗涤干净，有机废液应放置于适当的密闭容器中保存，一并交由有处理资质的处理公司处理。

6 方法验证

6.1 方法验证方案

6.1.1 验证单位及参加验证人员情况

组织六家单位参加了方法验证：江苏省环境监测中心、常州市环境监测中心站、泰州市

环境监测中心站、镇江市环境监测中心站、宁波市环境监测中心站、江苏省理化分析测试中心。

参与方法验证的实验室、验证人员的基本情况，见表 6-1。

表 6-1 参与方法验证的实验室、人员情况表

单位	姓名	性别	年龄	职务或职称	所学专业	从事相关分析 工作年限
江苏省环 境监测中 心	李娟	女	38	高工	化学	13
	王荟	女	35	工程师	环境化学	8
常州市环 境监测中 心	戴玄吏	男	35	高工	环境科学	8
	张霖之	男	29	工程师	环境工程	3
	余益军	男	29	工程师	环境科学	3
泰州市环 境监测中 心站	陈军	男	45	高工	水资源	22
	李江	男	29	工程师	环境工程	8
	何娟	女	29	助工	环境工程	2
镇江市环 境监测中 心站	董铮	男	34	工程师	化工工艺	9
	储文璟	女	30	助工	中药分析	8
宁波市环 境监测中 心	朱丽波	女	38	高工	分析化学	16
	钱飞中	男	36	高工	分析化学	14
	陈钟佺	男	28	助工	环境化学	1
	冯加永	男	26	助工	分析化学	1
江苏省理 化测试中 心	王晓娟	女	34	工程师	应用化学	12
	徐慧	女	34	工程师	应用化学	8
	庄件兵	男	29	助理工程师	食品工程	7

6.1.2 方法验证方案

按照《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010)的规定，组织 6 家有资质的实验室进行方法验证。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，确定样品类型、含量水平、分析人员、分析设备、分析时间及重复测试次数等，验证单位按照要求完成方法验证报告。

方法检出限：取空白石英砂 10.0g 加入酚类化合物标准溶液，使得含量为 0.05 mg/kg，各自测定 7 份，计算标准偏差 S，检出限 MDL=S×3.141。

方法精密度和准确度：对统一实际样品（长江沉积物）、实际样品加标（加标水平 1.00 mg/kg, 4.00mg/kg），每种水平平行 6 次测定，结果计算平均值，标准偏差，相对标准偏差，

回收率等。

有证标准物质：选择美国 NSI Solution Inc. SQCO-007（土壤中半挥发性有机物质控样品）有证物质进行准确度方法验证。

6.2 方法验证过程

通过筛选确定方法验证单位。按照方法验证方案准备实验用品，与验证单位确定验证时间。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。

方法精密度和准确度统计结果能满足方法特性指标要求。具体的方法验证报告，见附件一。

7 参考文献

- [1] EPA METHOD 8041A PHENOLS BY GAS CHROMATOGRAPHY: U.S.EPA, November 2000
- [2] EPA METHOD 8540 PENTACHLOROPHENOL IN SOIL BY UV-INDUCED COLORIMETRY: U.S.EPA, February 2007
- [3] EPA METHOD 3650B ACID-BASE PARTITION CLEANUP: U.S.EPA, December 1996
- [4] Cristina Mahugo Santana, Zoraida Sosa Ferrera, Methodologies for the Extraction of Phenolic Compounds from Environmental Samples: New Approaches, *Molecules* 2009, 14, 298-320
- [5] 高效液相色谱法分析矿泉水中酚类化合物, 色谱, 1998, 16 (6);
- [6] 高效液相色谱法测定环境水中痕量4-4'二氨基联苯、4-硝基酚和苯酚, 色谱, 1998, 16 (6)
- [7] 气相色谱-邻苯二甲酸二甲酯内标法同时测定硝基苯酚的三种异构体, 色谱, 2004, 22 (5)
- [8] 环境水体中痕量酚类化合物气相色谱-质谱联用测定法研究, 《中国环境监测》2007, 第4期。

附件一

方法验证报告

方法名称：土壤、沉积物 酚类化合物的测定 气相色谱法

项目主编单位：南京市环境监测中心站

验证单位：江苏省环境监测中心、常州市环境监测中心、泰州市环境监测中心
站、宁波市环境监测中心、江苏省理化测试中心

项目负责人及职称：杨丽莉 研究员级高级工程师

通 讯 地 址：南 京 市 虎 踞 路 175 号

电话：025-83336891

报告编写人及职称：杨丽莉 研究员级高级工程师 ,王美飞 工程师

报告日期：2011 年 11 月 10 日

本方法验证报告中 6 家实验室统计数据编号依次为江苏省环境监测中心（实验室 1）、常州市环境监测中心（实验室 2）、泰州市环境监测中心站（实验室 3）、镇江环境监测中心站（实验室 4）、宁波市环境监测中心（实验室 5）、江苏省理化测试中心（实验室 6）。

1、方法验证数据汇总

1.1 方法检出限、测定下限测试数据汇总

按照 HJ168 的检出限确定方法，6 家实验室测定《土壤和沉积物 酚类化合物的测定 气相色谱法》中 21 种酚类目标化合物，统一标准储备液（1000mg/L），稀释 10 倍为工作溶液，用二氯甲烷：乙酸乙酯混合溶液稀释配制成 1.0，2.0，10.0，20.0，50.0，100.0mg/L 系列浓度绘制标准曲线。

取空白石英砂 10.0g 加入酚类化合物标准溶液（100mg/L）5.0 μ L，平行 7 份，自选前处理方法按照方法全程序测试计算标准偏差。6 家实验室数据汇总表见表 1-1。

1.2 精密度和准确度汇总

向 6 家实验室发放沉积物实际样品（长江均匀干燥沉积物），分别进行 6 次样品平行测试；另外在 10.0g 此样品中添加 10.0 μ g、40.0 μ g 浓度水平（浓度增加 1.00 mg/kg 和 4.00 mg/kg），分别进行 6 次平行测试，按照方法全程序测试计算标准偏差和添加回收率。6 家实验室数据汇总表见表 1-2。

1.3 有证标准物质测定验证

由于没有针对酚类化合物的有证标准物质，采购了国外土壤中半挥发性有机物 QC 样品（美国 NSI Solution Inc. SQCO-007），其中含有部分酚类化合物，还有多环芳烃、有机氯等多种半挥发性有机化合物，可以验证本方法的净化效果和准确度，样品含量较高，每个样品取 2.0g 进行全过程分析测定，6 家实验室数据汇总表见表 1-3。

附表 1-1 方法检出限、测定下限汇总表

单位: mg/kg

化合物名称	实验室 1		实验室 2		实验室 3		实验室 4		实验室 5		实验室 6		检出限	测定下限
	MDL	RQL	MDL	RQL	MDL	RQL	MDL	RQL	MDL	RQL	MDL	RQL		
苯酚	0.02	0.09	0.019	0.07	0.018	0.07	0.016	0.06	0.0099	0.0397	0.037	0.15	0.04	0.15
2-氯酚	0.01	0.04	0.035	0.14	0.034	0.14	0.008	0.03	0.0120	0.0478	0.008	0.03	0.04	0.14
邻-甲酚	0.01	0.04	0.019	0.07	0.018	0.07	0.006	0.03	0.0112	0.0447	0.023	0.09	0.02	0.09
对/间-甲酚	0.02	0.08	0.019	0.08	0.019	0.07	0.006	0.03	0.0196	0.0783	0.013	0.05	0.02	0.08
2-硝基酚	0.01	0.06	0.019	0.08	0.019	0.07	0.006	0.03	0.0134	0.0534	0.016	0.06	0.02	0.08
2,4-二甲酚	0.01	0.02	0.023	0.09	0.023	0.09	0.005	0.02	0.0137	0.0548	0.013	0.05	0.02	0.09
2,4-二氯酚	0.03	0.12	0.016	0.06	0.016	0.06	0.012	0.05	0.0221	0.0885	0.016	0.06	0.03	0.12
2,6-二氯酚	0.02	0.08	0.026	0.11	0.025	0.10	0.021	0.08	0.0101	0.0404	0.020	0.08	0.03	0.10
4-氯-3-甲酚	0.01	0.03	0.019	0.07	0.018	0.07	0.013	0.05	0.0079	0.0316	0.012	0.05	0.02	0.08
2,4,6-三氯酚	0.02	0.06	0.027	0.11	0.026	0.10	0.006	0.03	0.0218	0.0871	0.016	0.06	0.03	0.11
2,4,5-三氯酚	0.03	0.10	0.006	0.03	0.005	0.02	0.008	0.03	0.0278	0.1111	0.022	0.09	0.03	0.12
2,4-二硝基酚	0.04	0.17	0.039	0.16	0.054	0.22	0.076	0.30	0.0344	0.1375	0.052	0.21	0.08	0.30
4-硝基酚	0.01	0.03	0.038	0.15	0.038	0.15	0.021	0.09	0.0146	0.0586	0.023	0.09	0.04	0.15
2,3,4,5-四氯酚	0.01	0.02	0.016	0.06	0.016	0.06	0.006	0.03	0.0159	0.0638	0.006	0.03	0.02	0.06
2,3,4,6-四氯酚/2,3,5,6-四氯酚	0.01	0.04	0.016	0.06	0.016	0.07	0.021	0.09	0.0253	0.1012	0.027	0.11	0.03	0.11
2-甲基-4,6-二硝基酚	0.03	0.10	0.015	0.06	0.015	0.06	0.013	0.05	0.0264	0.1055	0.014	0.06	0.03	0.12
五氯酚	0.07	0.28	0.055	0.22	0.058	0.23	0.024	0.10	0.0343	0.1372	0.029	0.11	0.07	0.28
Dinoseb (地乐酚)	0.02	0.06	0.005	0.02	0.004	0.02	0.021	0.08	0.0116	0.0463	0.022	0.09	0.02	0.09
2-环己基-4,6-二硝基酚	0.01	0.05	0.022	0.09	0.021	0.08	0.005	0.02	0.0141	0.0563	0.013	0.05	0.02	0.09

附表 1-2 实际样品精密度、加标回收汇总表

单位: mg/kg

化合物名称	加标水平	实验室 1	实验室 2	实验室 3	实验室 4	实验室 5	实验室 6	实验室内相 对标准偏差 (%)	实验室间相 对标准偏差 (%)	重复性 限 r	再现性 限 R	$\bar{P} \pm 2S_P$ (%)
苯酚	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	1.00	0.77	0.86	1.07	0.97	0.418	0.94	3.51~24.4	27.4	0.21	0.67	80.9±21.7
	4.00	3.08	3.08	3.39	3.51	1.402	3.80	2.06~19.0	27.9	0.48	2.42	72.1±18.1
2-氯酚	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	1.00	0.88	0.82	1.08	0.96	0.420	0.87	2.24~20.6	26.7	0.18	0.65	80.3±19.4
	4.00	3.40	3.83	4.48	4.59	1.496	3.86	2.11~15.3	31.2	0.55	3.19	87.1±32.3
邻-甲酚	/	/	/	/	/	0.004	/	/	/	/	/	/
	1.00	0.78	0.91	1.06	0.97	0.323	0.89	2.05~9.38	31.8	0.14	0.74	78.6±30.2
	4.00	3.28	3.71	4.25	4.07	1.073	4.71	3.77~17.5	36.7	0.56	3.65	86.7±45.6
对/间-甲酚	/	0.07	0.090	0.02	0.06	0.037	0.06	5.56~17.1	52.4	0.01	0.07	/
	2.00	1.81	1.87	2.31	2.22	0.553	1.83	1.81~13.5	35.7	0.32	1.79	82.0±44.6
	8.00	6.96	7.52	8.69	8.89	2.531	8.89	2.07~11.9	33.7	0.93	6.90	86.2±38.1
2-硝基酚	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	1.00	0.84	0.99	1.28	1.12	0.368	1.09	2.92~17.1	33.7	0.16	0.91	89.2±32.9
	4.00	3.44	4.38	5.10	4.68	1.277	4.76	2.06~19.0	36.1	0.67	4.03	95.9±47.2
2, 4-二甲酚	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	1.00	0.73	0.76	0.94	0.90	0.289	0.82	1.83~21.4	31.8	0.13	0.67	72.8±25.9
	4.00	3.12	3.56	4.03	3.81	1.294	4.09	3.68~20.4	31.7	0.56	2.99	81.0±29.1
2, 4-二氯酚	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	1.00	0.88	0.87	1.13	0.87	0.400	0.81	4.23~15.1	28.7	0.19	0.69	79.6±24.1

	4.00	3.74	3.78	4.41	4.51	1.438	3.86	4.37~15.7	30.9	0.62	3.19	87.2±29.3
2, 6-二氯酚	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	1.00	0.83	0.87	1.16	0.97	0.381	0.85	2.26~18.1	30.5	0.21	0.75	80.2±28.1
	4.00	3.49	3.84	4.44	4.21	1.370	3.65	3.21~10.4	31.5	0.58	3.13	83.6±30.4
4-氯-3-甲酚	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	1.00	0.81	0.92	1.16	1.01	0.328	0.95	2.35~13.8	33.2	0.14	0.81	83.3±34.3
	4.00	3.52	3.83	4.41	4.04	1.259	3.82	3.63~9.80	32.4	0.57	3.20	83.4±32.2
2, 4, 6-三氯酚	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	1.00	0.82	0.91	1.091	1.04	0.439	0.96	1.60~12.6	26.8	0.16	0.67	83.7±21.0
	4.00	3.52	4.42	4.69	3.94	1.611	3.80	4.17~12.7	29.8	0.58	3.10	87.4±26.8
2, 4, 5-三氯酚	/	0.37	0.11	0.05	0.19	0.210	0.19	4.98~21.8	63.7	0.14	0.33	/
	1.00	1.08	1.06	1.25	1.28	0.645	0.89	1.71~9.10	23.0	0.16	0.68	77.9±31.7
	4.00	3.83	4.38	4.67	4.75	1.727	4.61	4.14~11.1	29.0	0.62	3.30	91.2±32.6
2, 4-二硝基酚	/	/	/	/	/	0.138	/	/	/	/	/	/
	1.00	0.68	0.71	0.79	0.63	0.455	0.65	6.07~21.5	17.1	0.30	0.42	60.4±12.2
	4.00	2.70	2.80	2.72	2.87	1.361	3.00	2.48~18.4	23.5	0.70	1.81	61.8±9.38
4-硝基酚	/	/	0.18	0.13	/	0.149	/	8.20~12.7	26.7	0.03	6.09	/
	1.00	0.55	0.83	0.76	0.75	0.488	0.82	4.69~18.7	20.7	0.23	0.46	59.1±18.9
	4.00	3.11	4.59	4.49	4.90	1.655	4.07	5.81~13.7	32.1	0.90	3.52	88.9±37.4
2, 3, 4, 5-四氯酚	/	/	/	/	/	0.687	/	/	/	/	/	/
	1.00	0.78	0.89	1.05	0.93	1.116	0.86	2.07~19.7	13.3	0.28	0.43	78.4±18.8
	4.00	3.56	3.75	4.28	4.66	2.269	3.60	4.00~14.0	22.2	0.70	2.38	84.9±30.1
2, 3, 4, 6-四氯酚 /2, 3, 5, 6-四氯酚	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	2.00	1.51	1.83	2.12	1.90	0.867	1.86	4.94~16.5	26.4	0.42	1.30	79.4±20.1
	8.00	6.68	7.51	8.57	9.41	2.966	8.39	4.07~13.8	31.7	1.40	6.56	84.7±27.0

2-甲基-4, 6-二硝基酚	/	0.02	/	/	/	0.220	/	/	/	/	/	/
	1.00	0.67	1.01	1.18	1.06	0.614	0.86	3.69~16.9	25.0	0.19	0.65	81.2±38.8
	4.00	3.15	4.52	4.36	4.18	1.680	3.74	3.67~10.2	29.5	0.73	3.05	83.9±34.4
五氯酚	/	6.57	2.49	2.02	3.68	/	2.43	2.35~9.63	54.7	0.41	6.10	/
	1.00	6.64	3.45	3.17	4.70	0.453	3.34	2.86~11.8	56.0	0.70	5.72	81.0±29.7
	4.00	9.54	6.99	6.11	7.86	1.545	6.69	3.55~16.4	41.6	1.03	7.58	85.6±31.6
Dinoseb (地乐酚)	/	/	/	/	/	0.089	/	/	/	/	/	/
	1.00	0.98	1.15	1.12	0.85	0.501	0.93	2.33~11.2	25.5	0.15	0.67	85.7±27.1
	4.00	4.27	4.68	4.61	4.05	1.592	3.58	4.49~12.4	30.3	0.72	3.29	90.3±32.1
2-环己基-4, 6-二硝基酚	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	1.00	0.81	1.01	1.16	1.07	0.381	0.91	2.66~15.6	31.2	0.15	0.79	84.7±30.7
	4.00	4.31	4.25	4.44	4.39	1.622	3.59	3.57~14.5	29.1	0.95	3.19	89.7±24.7

2、方法验证数据汇总

6家实验室分别对实际样品和实际样品添加目标化合物 1.00mg/kg 和 4.00mg/kg 的统一样品进行测定，实验室内部相对标准偏差为 2.35~21.8%，1.60%~24.4%，2.06~20.4%；实验室间相对标准偏差为 26.7~63.7%，13.3~56%，22.2~41.6%，重现性限范围为：0.01~0.40mg/kg，0.14~1.03mg/kg，0.48~1.40mg/kg；再现性限范围为：0.07~6.10mg/kg，0.42~5.72mg/kg，1.81~7.58mg/kg。样品添加 1.00mg/kg 和 4.00mg/kg 的加标回收率分别为：59.1~89.2%，61.8~95.9%。

3、需要说明的问题

不同品牌的非极性色谱柱对 2,3,4,6-四氯酚和 2,3,5,6-四氯酚的分离效果不同，若能实现分离测定，则分别计算结果，如不能分离则选择计算加和值，标准曲线浓度点应随之变化。