

ICS 13.080

B 10

中华人民共和国国家质量监督
检验检疫总局备案号：45784-2015

DB53

云南省地方标准

DB53/T 704—2015

土壤中苯并[α]芘的测定 高效液相色谱法

2015 - 05 - 13 发布

2015 - 08 - 13 实施

云南省质量技术监督局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则编写。

本标准由云南健牛生物科技有限公司提出。

本标准由云南省检验检测标准化技术委员会归口。

本标准由云南健牛生物科技有限公司、昆明理工大学负责起草。

本标准主要起草人：杨亚玲、廖文龙、宁金艳、刘祥义、赵娇。

土壤中苯并[α]芘的测定高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了高效液相色谱法测定土壤中苯并[α]芘（简称BaP）的方法。
本标准方法的检出限为0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6003.1 试验筛 技术要求和检验 第1部分：金属丝编织网试验筛

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

HJ/T 166 土壤环境监测技术规范

3 原理

土壤中苯并[α]芘经乙腈-四氢呋喃超声提取后，通过高效液相色谱仪-荧光检测器（HPLC-FLD）定量测定苯并[α]芘的含量。

4 试剂和材料

除非另有说明，本标准所使用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的二级水。

4.1 乙腈：色谱纯。

4.2 四氢呋喃：色谱纯。

4.3 乙腈-四氢呋喃混合溶液：90 mL 乙腈（4.1）和 10 mL 四氢呋喃（4.2）的混合溶液。

4.4 苯并[α]芘标准品：CAS 编号：50-32-8，纯度不低于 99.0%。

警告：苯并[α]芘是一种已知的致癌物质，实验操作时应特别注意安全防护，所有前处理操作应在通风柜中进行，实验人员应佩戴防护手套口罩，尽量减少曝露。

4.5 苯并[α]芘标准储备液（100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：称取 10.0 \pm 0.1mg 标准品苯并[α]芘，用乙腈溶解，定容至 100 mL 容量瓶，于 2~5 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存，有效期 3 个月。

4.6 苯并[α]芘标准工作液（1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：准确移取适量苯并[α]芘标准储备液（4.5），以乙腈（4.1）配制成浓度为 1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准工作液，于 2~5 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存，有效期 3 个月。

4.7 微孔滤膜：0.45 μm ，有机相。

5 仪器

5.1 高效液相色谱仪：配有荧光检测器。

5.2 超声波水浴振荡器：250W。

5.3 离心机：转速不低于 5000r/min。

5.4 天平：分度值为 0.1mg。

6 样品

6.1 样品制备

将采集好的土壤样品在室温、避光条件下风干并去除砾石、植物根系等杂物；把风干后样品研磨使其通过100目(0.149mm)的筛（GB/T 6003.1），过筛后样品按四分法取样。样品制备参照《土壤环境监测技术规范》（HJ/T 166）。

6.2 样品的保存

样品制备后应避光于4℃以下冷藏，在7d 内检测完毕；或-15℃以下保存，30d 内完成检测。

6.3 提取

称取1g试样，精确至0.0001 g，加入10 mL乙腈-四氢呋喃混合溶液（4.3），混匀，超声（20℃，60 Hz）提取20 min，于离心机（5.3）中离心3-5 min（5000 r/min），取出上清液；再加入10 mL乙腈-四氢呋喃混合溶液（4.3），按上述条件提取30 min，合并两次上清液，用乙腈-四氢呋喃混合溶液（4.3）定容至25 mL，经微孔滤膜（4.7）过滤，滤液作为待测样液。

7 测定

7.1 色谱参考条件

- （1）色谱柱：C₁₈柱，250 mm×4.6 mm（内径），粒度5 μm，或性能相当者；
- （2）流动相：乙腈:水（V/V）=75:25；
- （3）流速：1.0 mL/min；
- （4）柱温：30 ±1℃；
- （5）检测波长：发射波长：430 nm（狭缝10 nm），激发波长：290 nm（狭缝10 nm）；
- （6）进样量：10 μL。

7.2 标准曲线绘制

分别准确吸取苯并[α]芘标准使用液（4.6）0.50 mL、1.00 mL、2.50 mL、5.00 mL、10.0mL、20.0mL于100 mL 棕色容量瓶中，用乙腈（4.1）定容至刻度混匀。此标准系列工作液浓度分别为0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、20.0 ng/mL。

分别将10 μL苯并[α]芘标准工作液注入液相色谱仪中，按7.1的测定条件进行测定，得到峰面积，准品色谱图参见附录A。以峰面积为纵坐标，以苯并[α]芘标准工作液浓度为横坐标，绘制标准曲线，相关系数不低于0.995。

7.3 苯并[α]芘试样的测定

将待测样液（6.3）10 μL注入液相色谱仪中，按7.1的测定条件对进行测定，根据标准曲线得到待测液中苯并[α]芘的浓度。

苯并[α]芘标准品色谱图参见附录A。

7.4 空白试验

除不称取样品外，均按上述测定条件和步骤进行。

8 结果计算

样品中苯并[α]芘的质量浓度，按照公式（1）进行计算，最终结果应扣除空白值。

$$w = \frac{c \times V}{m} \quad (1)$$

式中：

w ——样品中苯并[α]芘的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

c ——从标准曲线中查得苯并[α]芘的浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；

V ——待测液的体积，单位为毫升（ mL ）；

m ——样品质量，单位为克（ g ）；

计算结果在 $0 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 之间保留一位小数，计算结果大于 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时保留到最接近的整数。

9 检出限

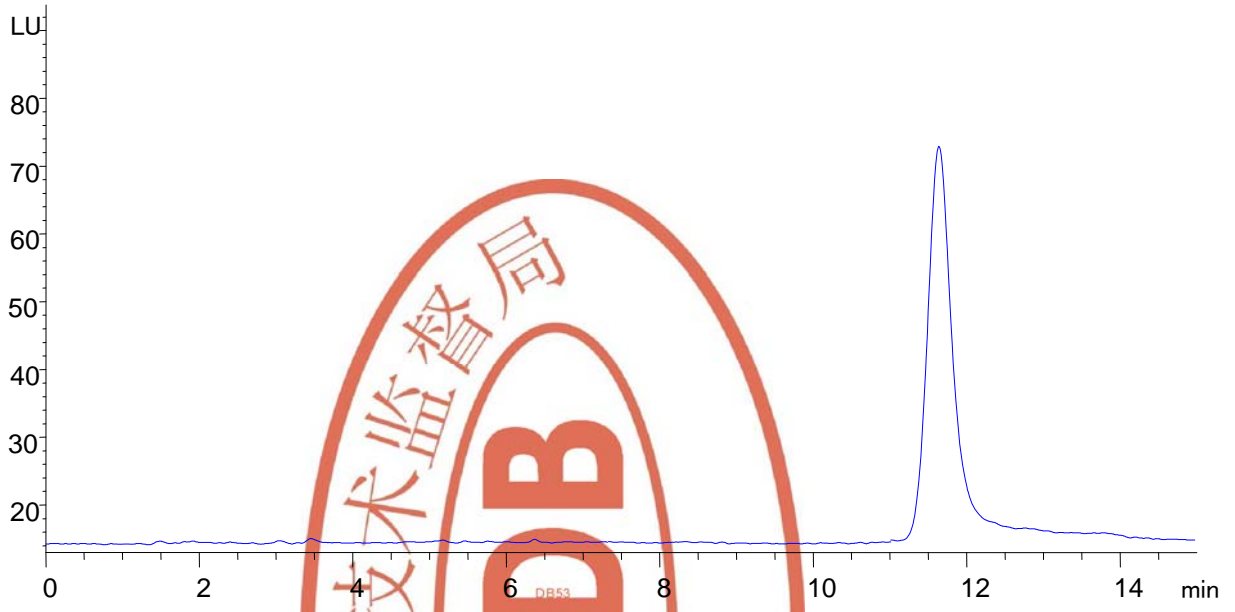
苯并[α]芘检出限为 $0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$

10 精密度和回收率

在添加浓度 $50 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 500 \mu\text{g}/\text{kg}$ 的范围内，回收率在 $89.8\% \sim 105.3\%$ 之间，相对标准偏差为 $2.3\% \sim 6.7\%$ 。

在重复性条件下获得的两次独立测定结果，样品含量大于 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，绝对差值不得超过算术平均值的 10% ；样品含量在 $0 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 之间，绝对差值不得超过算术平均值的 15% 。

附录 A
(资料性附录)
苯并[α]芘的高效液相色谱图



图A.1 苯并[α]芘的高效液相色谱图

