

# 《高效液相色谱-原子荧光光谱仪联用分析方法通则》

## 编制说明

（征求意见稿）

清华大学

2021年4月

## 一、本标准制定的目的与意义

近年来，随着环境监测、食品安全等行业的迫切需求，原子荧光光谱技术在国内得到了迅猛的发展，在元素形态分析方面有较广泛的应用。

特别是两项食品安全国家标准《食品中总砷及无机砷的测定》（GB 5009.11-2014）和《食品中总汞及有机汞的测定》（GB 5009.17-2014）中，将液相色谱-原子荧光光谱联用法作为无机砷测定方法的第一法和有机汞测定的唯一方法，充分说明国家认可具有中国自主知识产权的液相色谱-原子荧光联用技术，从而将会极大地促进液相色谱原子荧光联用技术的快速发展。

目前液相色谱-原子荧光光谱联用法已广泛用于日常的分析检测工作中，也将促进更多的液相色谱-原子荧光光谱联用法的专项标准的形成，但目前一直缺少相关的仪器分析方法通则标准来进行指导。

因此，通过制定高效液相色谱-原子荧光光谱仪联用分析方法通则，规范其术语定义、分析方法原理、样品预处理和分析步骤等内容，为高效液相色谱-原子荧光光谱联用技术加快应用到专项检测标准中打下基础。

## 二、任务来源和工作简况

### 1. 任务来源

根据“国家标准化管理委员会关于下达 2020 年第一批推荐性国家标准计划的通知”{国标委发函（2020）14 号}，《高效液相色谱-原子荧光光谱仪联用分析方法通则》标准被列为国家标准制定计划，计划项目编号为“20201777-T-306”，项目周期为 24 个月。本标准由全国仪器分析测试标准化技术委员会（SAC/TC481）归口，并由清华大学负责起草。

### 2. 主要工作过程

#### 2.1 标准初稿的起草

2016 年 6 月至 12 月，标准负责起草单位查阅了大量文献与资料，并根据在 HPLC-AFS 联用分析技术和方法研究方面多年的专业知识与经验累积，起草了标准文本的初稿。2016 年 12 月初，标准负责起草单位将完成的标准初稿和推荐性国家标准项目建议书提交给了 TC481 秘书处。

2016 年 12 月 7 至 8 日，全国仪器分析测试标准化技术委员会（SAC/TC481）二届三次会议暨 2016 年年会上，该项目获得了全体委员的审议通过，并由 TC481 负责申报至科技部和国家标准化管理委员会。

#### 2.2 国家标准计划立项

在 2020 年度由国家标准化管理委员会组织召开的“2020 年第一批推荐性国家标准立项评估会”上，该项目顺利通过专家质询，由国标委批准立项。根据“国家标准化管理委员会关于下达 2020 年第一批推荐性国家标准计划的通知”{国标委发函（2020）14 号}，《高效液相色谱-原子荧光光谱仪联用分析方法通则》计划项目编号为“20201777-T-306”，项目周期为 24 个月。

### 2.3 征求意见稿的起草

标准立项后，成立了以课题组成员为主的标准起草工作组。起草工作组针对标准的内容、细节等问题经过多次开会讨论，对标准初稿进行了多次的修改，最终形成标准征求意见稿。

## 三、本标准与国内外标准关系的说明

经检索，国内目前现有《食品中总砷及无机砷的测定》(GB 5009.11-2014)和《食品中总汞及有机汞的测定》(GB 5009.17-2014)两项标准涉及使用 HPLC-AFS 联用分析技术。

此外，目前国内针对 HPLC 与 AFS 有各自的标准《高效液相色谱法通则》(GB/T 16631-2008)、《原子荧光光谱仪》(GB/T 21191-2007)以及《高效液相色谱方法通则》(JY/T 024-1996)，但尚无高效液相色谱-原子荧光光谱仪联用分析方法通则。

## 四、标准编制原则及标准主要内容

### 1. 标准编制原则

标准制定遵循“统一性、协调性、适用性、一致性、规范性”的原则，注重标准的可操作性，本标准按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》给出的规则进行编写和表述。

另外，标准内容符合国家法律、法规的有关要求，未与已有标准冲突；符合我国标准制修订管理工作规程对编制程序和工作规定和要求；符合标准的科学性、先进性、实用性的要求。

### 2. 标准主要内容

在按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》要求的基础上，同时参考 GB/T 20001.4-2015《标准编写规则 第4部分：试验方法标准》的有关要求，确定了本标准的主要内容应包括以下 10 部分：范围、规范性引用文件、术语和定义、分析方法原理、试剂和材料、仪器、样品预处理、分析步骤及方法、分析结果的表述、安全注意事项。

本标准确立了高效液相色谱-原子荧光光谱仪联用法进行元素形态定性、定量分析的通用规则。

本标准适用于利用液体进样高效液相色谱-原子荧光光谱仪联用法对易形成氢化物、气态组分或冷蒸气的元素形态进行微量和痕量的定性、定量分析。本标准不适用于固体直接进样分析。

## 五、标准实施建议

本标准属于基础标准，建议作为推荐性标准批准发布。

## 六、试验验证情况

### （一）基本情况

为确保本方法通则的统一性、协调性、适用性、一致性、规范性和可操作性，标准起草小组组织多家单位进行了实际试验。

#### 1. 测试对象的选取

选取 HPLC-AFS 常见测试需求的砷形态测定与汞形态测定。砷元素测定：砷酸根、一甲基砷、二甲基砷、亚砷酸根四种形态；汞测定：无机汞、甲基汞、乙基汞三种形态。

#### 2. 测试内容

选用标准物质对分析方法的线性、最小检测量、精密度以及标准物质对照试验进行测试

### （二）实验方案

#### 1. 实验验证方案一 砷形态测定

##### 1.1 标准溶液的制备

使用有证的砷酸根、一甲基砷、二甲基砷、亚砷酸根的标准溶液，自行配制 10ml 浓度分别为 10ng/ml、20ng/ml、40ng/ml、60ng/ml、80ng/ml、100ng/mL 的含有四种砷形态的混合标准溶液。

##### 1.2 实验条件

- a) 在实验前将仪器调整至最佳工作状态并预热 30 min。
- b) 所有实验应在同一实验条件下完成。

##### 1.3 最小检测量

输液泵流量 1.0ml/min，淋洗至基线稳定，对 10ng/ml 试样（进样量 100 $\mu$ l）进行测量，采集色谱图，记录色谱图中组分的峰高和基线。根据基线噪声，按公式（4）计算最小检测量（ng）。

##### 1.4 测量线性

输液泵流量 1.0ml/min，淋洗至基线稳定，对标准溶液每一浓度点分别进行三次平行测定（进样量 100  $\mu$ l），取算数平均值后，按现行回归法分别求出各组分工作曲线的相关系数 r。

##### 1.5 测量精密度

在 1.4 的测试条件下，对 100ng/ml 溶液连续进行 7 次重复测量，根据砷酸根、一甲基砷、二甲基砷、亚砷酸根的保留时间（定性）及峰面积（定量）测试结果，按式（5）（6）分别计算各组分定性/定量 RSD，取定性/定量结果的最大值作为测量精密度。

##### 1.1.6 标准物质对照试验

在 1.4 的测试条件下，以 40ng/ml 标准溶液作为标准物质对照，连续进行 6 次重复测量，取平均值，分别计算各组分测量结果与标准值间的相对误差。

### 1.1.7 测试结果汇总

表 1 线性和最小检测量

浓度 (ng/mL)	组分峰面积 (mV*s)			
	As(III)	DMA	MMA	As (V)
10				
20				
40				
60				
80				
100				
测量线性				
斜率				
最小检测量 (ng)				

表 2 定性精密度

测量次数	组分保留时间 (min)			
	As(III)	DMA	MMA	As (V)
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
RSD (%)				

表 3 定量精密度

测量次数	组分峰面积 (mV*s)			
	As(III)	DMA	MMA	As (V)
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
RSD (%)				

表 4 标准物质对照

测量次数	组分含量 (ng/ml)			
	As(III)	DMA	MMA	As (V)
1				
2				
3				
4				
5				
6				
平均值				
相对误差 (%)				

## 2 实验验证方案二 汞形态测定

### 2.1 标准溶液的制备

使用有证的无机汞、甲基汞、乙基汞的标准溶液，自行配制 10ml 浓度分别为 1ng/ml、2ng/ml、4ng/ml、6ng/ml、8ng/ml、10 ng/ml 的含有三种汞形态的混合标准溶液。

### 2.2 实验条件

- a) 在实验前将仪器调整至最佳工作状态并预热 30min。
- b) 所有实验应在同一实验条件下完成。

### 2.3 最小检测量

输液泵流量 1.0ml/min，淋洗至基线稳定，对 1ng/ml 试样（进样量 100 $\mu$ l）进行测量，采集色谱图，记录色谱图中组分的峰高和基线。根据基线噪声，按公式（4）计算最小检测量（ng）。

### 2.4 测量线性

输液泵流量 1.0ml/min,淋洗至基线稳定，对标准溶液每一浓度点分别进行三次平行测定（进样量 100 微升），取算数平均值后，按现行回归法分别求出各组分工作曲线的相关系数 r。

### 2.5 测量精密度

在 2.4 的测试条件下，对 10 ng/ml 溶液连续进行 7 次重复测量，根据无机汞、甲基汞、乙基汞的保留时间（定性）及峰面积（定量）测试结果，按式（5）（6）分别计算各组分定性/定量 RSD，取定性/定量结果的最大值作为测量精密度。

### 2.6 标准物质对照试验

在 2.4 的测试条件下，以 4ng/ml 标准溶液作为标准物质对照，连续进行 6 次重复测量，取平均值，分别计算各组分测量结果与标准值间的相对误差。

### 2.7 测试结果汇总

表 5 线性和最小检测量

浓度 (ng/mL)	组分峰面积 (mV*s)		
	Hg(II)	CH <sub>3</sub> Hg	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> Hg
1			
2			
4			
6			
8			
10			
测量线性			
斜率			
最小检测量 (ng)			

表 6 定性精密度

测量次数	组分保留时间 (min)		
	Hg(II)	CH <sub>3</sub> Hg	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> Hg
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
RSD (%)			

表 7 定量精密度

测量次数	组分峰面积 (mV*s)		
	Hg(II)	CH <sub>3</sub> Hg	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> Hg
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
RSD (%)			

表 8 标准物质对照

测量次数	组分含量 (ng/ml)

	Hg(II)	CH <sub>3</sub> Hg	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> Hg
1			
2			
3			
4			
5			
6			
平均值			
相对误差 (%)			