

# 《高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则》

## 编制说明

广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）

2021年2月

## 一、 范围

20世纪90年代以来，随着电感耦合等离子体质谱（ICP-MS）技术的发展，其选择性好、分析速度快、检出限低的特点在元素测定方面得到了广泛的应用。同时元素行为效应不仅仅取决于元素的总量，特定的元素只有在特定的浓度和一定的存在形态下才能对生命系统和生物体发挥作用。形态分析就是对样品中元素的一个或多个化学形态的定性和定量分析过程。而元素的形态分析依靠单一的仪器难以完成。高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用技术（HPLC-ICP-MS）是进行元素形态分析的重要研究手段。高效液相色谱（HPLC）具有柱效高、分离速度快，分离效果好的特点。HPLC流动相的流速与ICP-MS样品导入流速比较匹配，且HPLC的柱后流出液压力与ICP-MS样品导入系统都是常压，因此HPLC与ICP-MS的连接变得简单。HPLC与ICP-MS的结合充分发挥了二者的优点，联用分析所得的色谱图简单，干扰小，有助于所测元素的定性定量分析。

高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用技术广泛应用于环境科学、生命科学、食品科学和材料科学等领域。在过去的二十多年时间内，国内外每年均有大量有关HPLC-ICP-MS检测方法的论文发表，并且已颁布利用HPLC-ICP-MS进行形态分析的技术标准，如水中溴酸盐检测、食品和饲料中砷的不同形态检测，玩具和化妆品中的六价铬检测。可以说HPLC-ICP-MS技术是目前发展的最为完善的联用分析技术。

高效液相色谱等离子体质谱联用（HPLC-ICP-MS）技术结合了色谱的高效分离优势和电感耦合等离子体质谱的高灵敏度和低干扰的优点，除了用于形态分析，还可用于传统方法难测得的痕量组分的测定，在蛋白质组学方面的应用也日益广泛，但目前大都局限在学术研究上，形成检测标准的较少。目前国内外尚无HPLC-ICP-MS的应用通则，阻碍该项技术的进一步发展。通过制定高效液相色谱与电感耦合等离子体质谱联用技术的通则，规范其仪器组成、样品前处理和定性定量方法，为利用该仪器进行标准的制定打下基础。

## 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[2020]14号）”，《高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则》标准列为国家标准制定计划，计划项目编号为“20201779-T-306”，计划完成时间为2022年。本标准由全国仪器分析测试标准化技术委员会（SAC/TC481）归口，并由广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）牵头起草。

### 2 标准起草与单位

广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）、安捷伦科技有限公司、赛默飞世尔科技有限公司、中山大学测试中心、北京吉天仪器有限公司、广东省农业标准化协会等单位参与标准的起草。

### 3 方法研制过程

#### 3.1 标准起草工作小组

2020年4月至7月根据生产和使用情况，邀请安捷伦科技（中国）有限公司广州分公司、赛默飞世尔科技（中国）有限公司广州分公司、中山大学测试中心、北京吉天仪器有限公司、广东省农业标准化协会等单位参与标准的起草。

#### 3.2 方法研制

根据该标准的立项建议书，并结合近年来高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法的应用情况，查阅相关文献，2020年7月初形成标准的初稿和验证方案。并由起草工作小组对其进行讨论，完善了标准初稿和验证方案。

2021年\*月，标委会秘书处发函，对《高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则》国家标准征求意见稿及编制说明进行了广泛征求意见。期间，共向标委会各委员、与标准技术内容相关的专家及单位发函\*\*\*封。截止到2021年\*月\*日，回函并有建议或意见的单位共\*个，修改建议或意见共\*\*条。

征求意见结束后，标准编制组对回函意见进行了归纳、汇总，对每一条意见都进行了认真的分析、研究和处理，做出了采纳、未采纳两种处理结果，并对未采纳的意见原因进行了详细的说明，详见“标准意见汇总处理表”。根据回函处理情况，标准编制组对《高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则》征求意见稿草案及编制说明进行了部分修改，在此基础上形成了标准送审稿草案及编制说明，于2021年\*月提交标委会秘书处进行审查。

#### 3.3 标准审查

\*\*\*

#### 三、 本标准与国内外标准关系的说明

经检索，目前国内只制定了针对电感耦合等离子体质谱联用法的相关标准：《GB/T 37837—2019四极杆电感耦合等离子体质谱方法通则》，高效液相色谱仪的相关标准，《GB/T 16631-2008 高效液相色谱法通则》，《JY/T 024-1996 高效液相色谱方法通则》。

经检索，未查询到《高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则》相关的国际标准。ISO/TS 19620:2018和EN71-3:2019是关于水样和玩具产品中的HPLC-ICP/MS 检测方法，与本标准不同。

#### 四、 标准编制原则及确定标准主要内容的依据

##### 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：标准的结构和编写规则》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 确定标准主要内容的依据

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/T20001.4-2015《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十个部分：范围、规范性引用文件、术语和定义、方法原理、水、试剂、溶剂和标准物质、仪器、样品处理、分析步骤及方法、结果报告、安全注意事项。

在确定以上十个部分具体内容时，首先标准起草小组根据查阅的相关资料和多年的工作经验进行总结，草拟了标准草案。然后，向国内相关 HPLC-ICP/MS 分析方面的专家和专业技术人员进行咨询，就相关内容进行了补充和修正。经认真分析和归纳整理后，形成了标准初稿。初稿经多次认真讨论，以及详尽的实验验证后，对相关内容进行了合理的修改。

## 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，标准起草组组织7个实验室进行了实际试验，利用Aglient、Thermo、Shimadzu、聚光科技等不同厂家的电感耦合等离子体质谱与Aglient、Thermo、Shimadzu、Spark厂家的液相色谱联用对多种不同类别的样品进行了测试。

### 1 测试内容

使用标准物质或采用加标等形式对定量分析方法的线性、检出限、精密度、正确度等进行测试。

### 2 测试结果

各实验室的测试工作均由有经验的应用工程师完成。从测试过程和测试结果看，本方法通则规定的方法切合实际、具有很强的操作性和适用性，达到了方法统一的目标。因此，测试结果达到了预期目标，实验过程和结果显示本方法通则具有统一性、协调性、适用性、一致性、规范性和可操作性。

### （二） 试验情况

参与本次试验验证的实验室分别为广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）、安捷伦科技（中国）有限公司广州分公司、赛默飞世尔科技（中国）有限公司广州分公司、中山大学测试中心、北京吉天仪器有限公司、广东省农业科学院农产品公共监测中心、岛津企业管理（中国）有限公司。

### 1 广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）

## 1.1 土壤中的DMA、MMA、As (V) 的测定

### 1.1.1 基本信息

表1-1-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）
验证人员	梁维新
验证完成日期	2020.10.17
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

### 1.1.2 实验方法

#### 1.1.2.1 试剂与材料

土壤样品、DMA (GBW08669,  $97.4 \pm 3.4 \mu\text{g/g}$ )、MMA (GBW08668,  $46.2 \pm 1.5 \mu\text{g/g}$ )、As (V) (GBW08667,  $32.4 \pm 0.7 \mu\text{g/g}$ ) 标准溶液、硝酸（优级纯，广州化学试剂厂）、磷酸（分析纯，广州化学试剂厂）、磷酸氢二铵（分析纯，广州化学试剂厂）、磷酸氢二钠（分析纯，广州化学试剂厂）、甲醇（色谱纯，德国默克公司）。

#### 1.1.2.2 仪器和设备

仪器和设备详细信息见表1-1-2。

表1-1-2 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	仪器编号	性能状况	备注
电感耦合等离子体串联质谱仪	Agilent 8800	4527	良好	
微波消解仪	TOPEX+	5794	良好	
超高效液相色谱仪	Agilent 1290 Infinity II	4601	良好	
分析天平	BSA224S	4530	良好	

#### 1.1.2.3 样品前处理方法

土壤样品使用塑料密封袋保存，避光风干后，过2 mm筛后，常温保存。向微波消解罐中准确加入100mg土壤样品以及15mL提取液（0.1mol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ -0.1 mol/L  $\text{H}_3\text{PO}_3$  (9:1)），充分混合均匀后，置于微波消解仪中，在80℃的萃取温度下提取30min后，将提取液转移至50 mL离心管中，使用超纯水清洗微波消解罐中的土壤残渣并合并至提取液中，定容至于20mL，过0.45  $\mu\text{m}$ 滤膜后，待用。

#### 1.1.2.4 流动相的配制

称取7.92 g磷酸氢二铵于洁净烧杯中，加入去离子水溶解后转移至1000 mL容量瓶中，向容量瓶中加入50 mL甲醇，使用去离子水清洗烧杯并将清洗液合并至容量瓶溶液中，定容至刻度，过0.45 μm滤膜后超声脱气，将溶液转移至流动相瓶中备用。

#### 1.1.2.5 仪器测定条件

根据各自仪器性能调至最佳状态。仪器参考条件见表1-1-3。

表1-1-3 仪器参考条件

HPLC工作条件	色谱柱: Hamilton PRP-X100 (250mm×4.1mm, 10 μm); 流速: 1.5 mL/min; 流动相: A为水, B为60 mmol/L (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -5%甲醇(pH 6.0); 梯度洗脱程序: 0~3 min, 100%A; 3~4 min, 100%A~0%A; 4~6 min, 0% A; 6~7 min 0%A~100%A; 7~8min 100%A。
ICP-MS工作条件	高频发生器输出功率: 1.55 kw, 反射功率: 1~3 w, 采样深度: 8 mm; 雾化气流速: 0.99 L/min, 辅助气流速: 0.99 L/min; 雾化室温度: 2 °C, 积分时间: 0.3s, 反应气O <sub>2</sub> (气体流量: 5%); 检测质量数: m/z 75(As)、m/z 91(AsO)

#### 1.1.2.6标准溶液的配制

按照标准加入法配置标准工作曲线: 按照1.1.2.3的步骤处理土壤样品后, 取2 mL土壤提取液于离心管中, 分别加入DMA、MMA、As(V)混合储备液0、0.04、0.05、0.1、0.2、0.4、0.5、1 mL, 使用高纯水定容至刻度。

#### 1.1.3 验证结果

##### 1.1.3.1 标准曲线绘制过程及主要结果

以样品浓度为横坐标, 色谱峰的积分面积为纵坐标作散点图, 经拟合后得到标准工作曲线, 各组分标准系列浓度与响应值结果见表1-1-4。

表1-1-4 标准系列与响应值

标准系列	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5	SD6
DMA浓度(μg/L)	0	9.88	12.35	24.70	98.80	247.01
DMA峰面积	120	2554	3253	6495	29133	70688
MMA浓度(μg/L)	0	4.59	5.74	11.48	45.92	114.80
MMA峰面积	52	752	1106	2147	9029	21547
As(V)浓度(μg/L)	0	4.97	6.22	12.43	49.74	124.34
As(V)峰面积	147	1604	1897	3832	13438	31888

各组分的线性方程以及相关系数见图1-1-1, 表1-1-5。

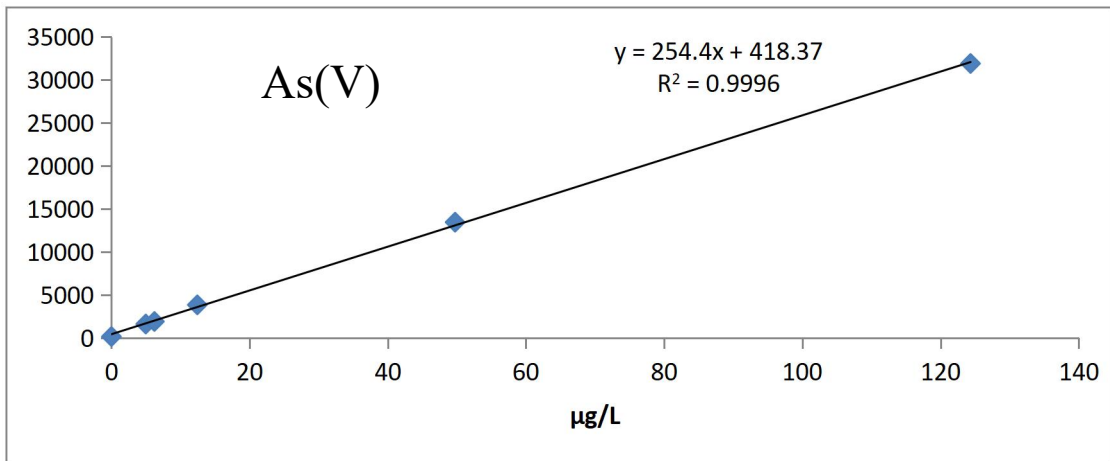
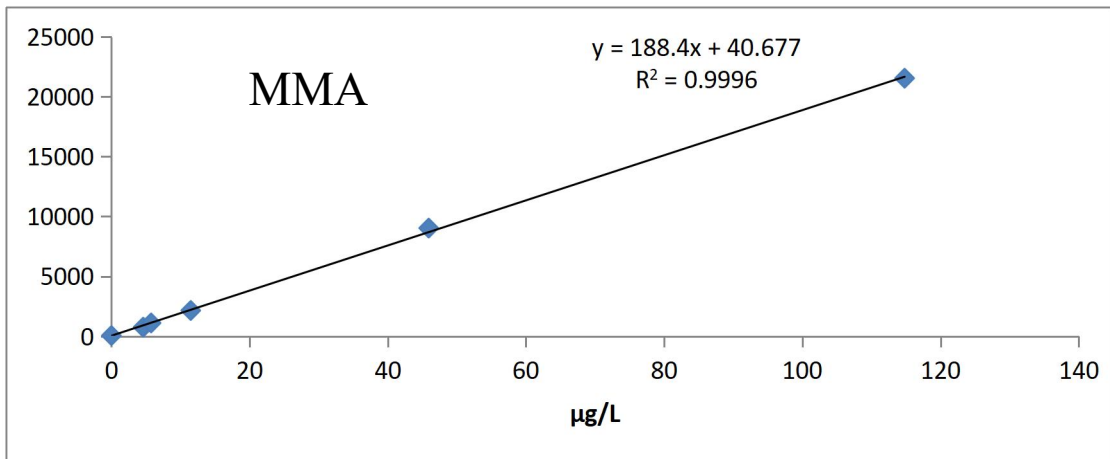
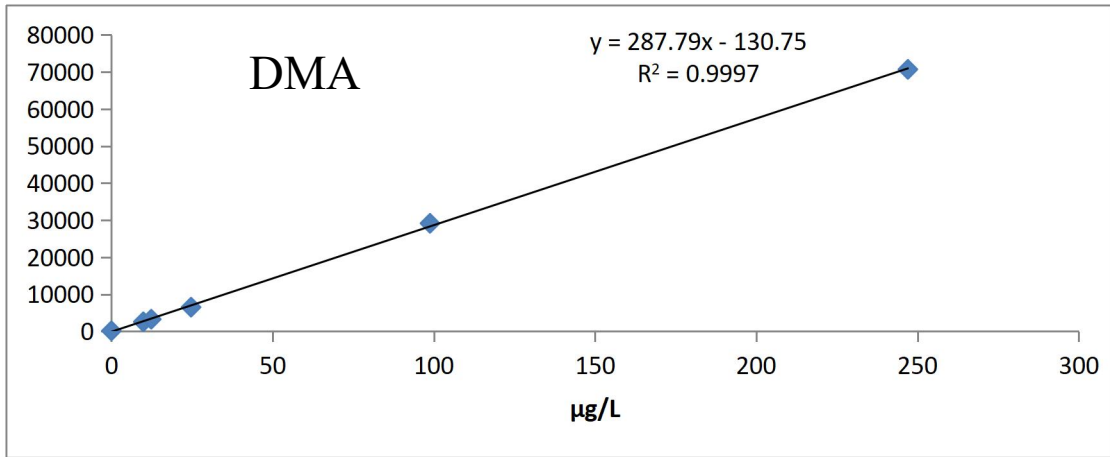


图1-1-1 DMA、MMA、As(V) 标准曲线图

对各组分的线性范围、线性方程参数进行汇总，结果填入表4。

表1-1-5 方法的线性范围、线性方程

组分	线性范围	线性方程参数		
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
DMA	0~247.01	287.79	-130.75	0.9997
MMA	0~114.8	188.4	40.677	0.9996

As (V)	0~124.34	254.4	418.37	0.9996
--------	----------	-------	--------	--------

### 1.1.3.2 检出限、定量限

以信噪比S/N=3计算检出限，以信噪比S/N=10计算定量限，结果见表1-1-6。

表1-1-6 仪器检出限及定量限 (μg/L)

组分名称	检出限μg/L	定量限μg/L
DMA	0.94	2.24
MMA	0.52	2.68
As (V)	0.47	2.12

### 1.1.3.3 方法精密度及正确度

由于目前尚没有含有DMA、MMA、As (V)组分的有证标准土壤物质，本次验证采用DMA、MMA、As (V)混合标准溶液对土壤进行加标回收实验，同时处理7份样品进行加标，验证方法的正确度以及精密度。计算结果如表1-1-7所示，加标后样品色谱图见图1-1-2。

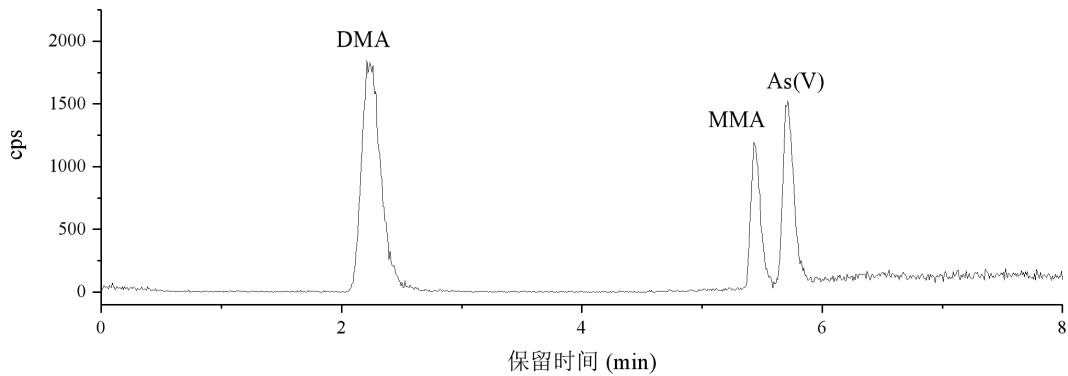


图1-1-2 DMA、MMA、As (V) 色谱图 (土壤加标样)

表1-1-7 精密度、正确度试验结果

组分	样品	测定结果 (mg/kg)	加标回收率 (%)	SD (mg/kg)	RSD (%)
DMA (本底值: 未检出, 加标浓度: 29.94 mg/kg)	Sample1	28.26	95.34	1.89	6.43
	Sample2	27.59	93.08		
	Sample3	31.93	107.74		
	Sample4	31.34	105.74		
	Sample5	29.83	100.65		
	Sample6	26.88	90.70		
	Sample7	29.66	100.07		
	平均值	29.36	99.04		
MMA (本底值: 未检出, 加标浓度: 13.77 mg/kg)	Sample1	13.82	100.33	0.60	4.31
	Sample2	13.99	101.61		
	Sample3	13.67	99.28		
	Sample4	14.40	104.56		
	Sample5	14.82	107.63		
	Sample6	12.98	94.26		
	Sample7	13.53	98.22		



	平均值	13.89	100.84		
As (V) (本底值: 未 检出, 加标浓 度: 14.92 mg/kg)	Sample1	13.93	93.34	0.60	3.98
	Sample2	15.18	101.72		
	Sample3	14.78	99.09		
	Sample4	15.21	101.97		
	Sample5	15.89	106.50		
	Sample6	14.74	98.80		
	Sample7	14.87	99.69		
	平均值	14.94	100.16		

#### 1.1.4小结

实验结果表明: 使用该方法测定土壤中的三种砷形态时, 线性范围宽、精密度高、准确度高、检出限低等优点, 能满足土壤样品中DMA、MMA、As (V) 的测定要求。

#### 1.2 水中BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>的测定

##### 1.2.1 基本信息

表1-2-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	广东省科学院测试分析研究所 (中国广州分析测试中心)
验证人员	梁维新
验证完成日期	2020.10.17
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

##### 1.2.2 实验方法

###### 1.2.2.1 试剂与材料

BW0728水中溴酸盐标准; GBW (E) 100200水中溴酸盐溶液标准物质; 硝酸铵 (优级纯, 广州化学试剂厂)。

###### 1.2.2.2 仪器和设备

仪器和设备详细信息见表1-2-2。

表1-2-2 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	仪器编号	性能状况	备注
电感耦合等离子体串联质谱仪	Agilent 8800	4527	良好	
超高效液相色谱仪	Agilent 1290 Infinity II	4601	良好	
分析天平	BSA224S	4530	良好	

### 1.2.2.3 样品前处理方法

水质样品使用安瓿瓶密封保存，避光常温存放。

按照标准物质提供的稀释程序制备水质标准样后，吸取水质标准样0.5 mL于容量瓶中，使用超纯水定容至10mL，使用HPLC-ICP-MS测定。

### 1.2.2.4 流动相的配制

准确称取4 g硝酸铵于洁净烧杯中，加入去离子水溶解后转移至1000 mL容量瓶中，使用去离子水清洗烧杯并将清洗液合并溶液中，使用高纯水定容至刻度，过0.45 μm滤膜后超声脱气，将溶液转移至流动相瓶中备用。

### 1.2.2.5 仪器参考条件

根据各自仪器性能调至最佳状态。仪器参考条件见表1-2-3。

表1-2-3仪器参考条件

HPLC工作条件	色谱柱：Dionex IonPacAG19阴离子保护柱(4mm×50 mm)和 Dionex IonPacAS19阴离子分析柱(4mm×250mm)；流动相：50mmol/L. NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> ；流速：1 mL/min；进样量：20 μL。
ICP-MS工作条件	高频发生器输出功率：1.55 kw，反射功率：1~3 w，采样深度：8 mm；雾化气流速：0.99 L/min，辅助气流速：0.99 L/min；雾化室温度：2 °C，积分时间：0.5s，检测质量数：m/z <sup>79</sup> Br <sup>-</sup> 。

### 1.2.2.6 标准溶液的配制

移取0.1 mL GBW(E)100200水中溴酸盐溶液标准溶液于10 mL容量瓶中，配制水中溴酸盐中间液，用逐级稀释的方法配制0、1、5、10、50、100、200、500 μg/L的溴酸盐标准工作溶液。

## 1.2.3 验证结果

### 1.2.3.1 标准曲线绘制过程及主要结果

以样品浓度为横坐标，色谱峰的积分面积为纵坐标作散点图，经拟合后得到标准工作曲线，各组分标准系列浓度与响应值结果见表1-2-4。

表1-2-4 标准系列与响应值

标准系列	ST1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6	STD7
BrO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 浓度	0	5	10	50	100	200	500
BrO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 峰面积	1804	16699	28990	134246	278199	538071	1342360

线性方程以及相关系数 $r$ 如下图1-2-1所示。

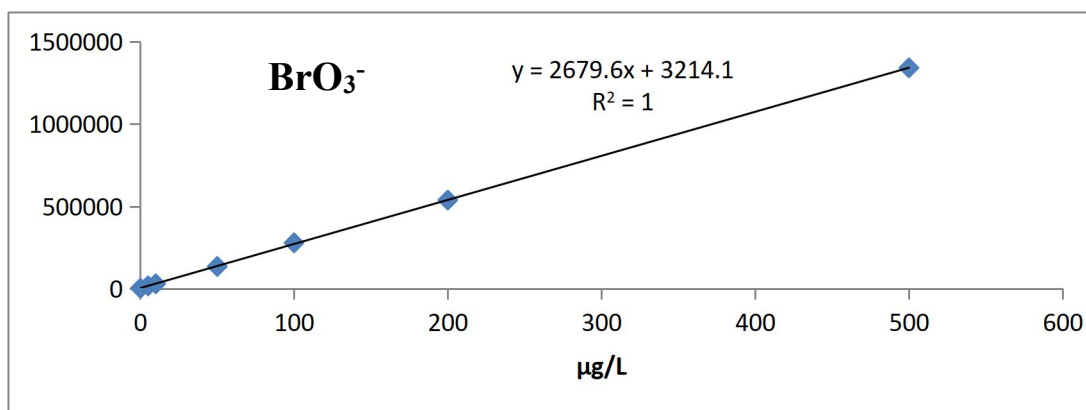


图1-2-1 BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>-标准曲线图

对 BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>的线性范围、线性方程参数进行汇总，结果填入表1-2-5。

表1-2-5 方法的线性范围、线性方程

组分	线性范围	线性方程参数		
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
BrO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0~500	2679.6	3214.1	1.000

### 1.2.3.2 检出限、定量限

以信噪比S/N=3计算检出限，以信噪比S/N=10计算定量限，结果见表1-2-6。

表1-2-6 仪器检出限及定量限 (µg/L)

组分名称	检出限µg/L	定量限µg/L
BrO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.31	1.98

### 1.2.3.3 方法精密度及正确度

用溴酸盐有证标准物质BW0708进行试验，平行处理7份，标准物质色谱图见图1-2-2，相关检测结果见表1-2-7。

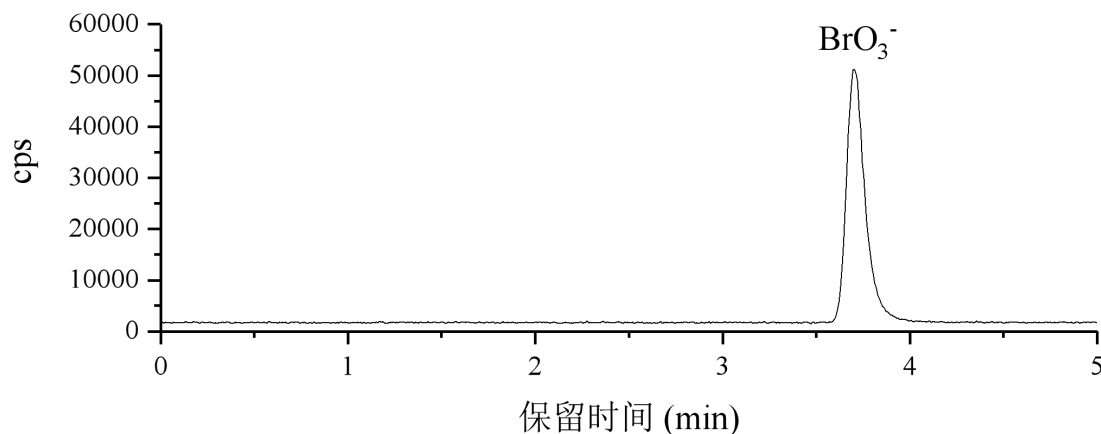


图1-2-2 水样中BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>-色谱图

表1-2-7 精密度、正确度试验结果

标准物质	组分	标示值	样品	测定结果	SD	RSD	结果是否在
------	----	-----	----	------	----	-----	-------

编号及名称		( $\bar{x} \pm s$ , mg/kg)		(mg/L)	(mg/L)	(%)	不确定度范围内
BW0708 批号: 8L41451	BrO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1.32±0.0396	Sample1	1.30	0.014	1.05	是
			Sample2	1.33			是
			Sample3	1.30			是
			Sample1	1.29			是
			Sample1	1.29			是
			Sample1	1.31			是
			Sample1	1.29			是
			平均值	1.30			是

#### 1.2.4 小结

实验结果表明：该方法用于测定水样中的BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>时，线性范围宽、精密度高、正确度高、检出限低等优点，能满足水样中BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>的测定要求。

### 1.3 雄黄中三价砷和五价砷的测定

#### 1.3.1 基本信息

表1-3-1 基本信息

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）
验证人员	张春华
验证完成日期	2020.9.29
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

#### 1.3.2 实验方法

##### 1.3.2.1 试剂与材料

1.3.2.1.1 纯水：GB/T 6682规定的一级水。

1.3.2.1.2 磷酸二氢钾，分析纯。

1.3.2.1.3 氢氧化钠，分析纯。

1.3.2.1.4 胰蛋白酶，分析纯。

1.3.2.1.5 磷酸二氢铵，分析纯。

1.3.2.1.6 氨水，分析纯。

1.3.2.1.7 乙二胺四醋酸二钠，优级纯

1.3.2.1.8 标准溶液：砷胆碱溶液标准物质 (GBW08671, AsC)、砷甜菜碱溶液标准物质 (GBW08670, AsB)、亚砷酸根溶液标准物质 (GBW08666, As(III))、二甲基砷溶液标准物质

(GBW08669, DMA)、一甲基砷溶液标准物质(GBW08668, MMA)、砷酸根溶液标准物质(GBW08667, As(V))。

### 1.3.2.1.9 标准系列的配制

- 1) 储备溶液制备：分别精密量取亚砷酸根溶液标准物质、砷酸根溶液标准物质适量，加水制成每1ml各含2 μg/mL（均以砷计）的混合溶液，即得。
- 2) 标准曲线溶液的制备：精密吸取储备溶液适量，加0.02mol/L乙二胺四醋酸二钠溶液分别制成每1ml含两种价态砷各0ng、5ng、20ng、50ng、100ng、200ng（均以砷计）的系列溶液，即得。

### 1.3.2.2 仪器和设备

仪器和设备详细信息见表1-3-2。

表1-3-2 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	仪器编号	性能状况	备注
液相色谱	1260	3405	良好	安捷伦公司
电感耦合等离子体质谱	7700x	3405	良好	安捷伦公司

### 1.3.2.3 样品的前处理方法

取雄黄样品适量，研钵研成粉末，过五号筛，备用。精密称量约30mg，置250ml塑料量瓶中，加人工肠液约200ml，摇匀，置37℃水浴中超声处理2小时（每隔15分钟充分摇匀一次），放冷，用人工肠液稀释至刻度，摇匀，取适量至50ml塑料离心管中，静置20-24小时，用洗耳球轻轻吹去上层表面溶液，吸取中层溶液约15 ml（吸取时应避免带入颗粒），用微孔滤膜（10 μm）过滤，精密量取续滤液5ml置10ml塑料量瓶中，加0.02 mol/L乙二胺四醋酸二钠溶液稀释至刻度，摇匀，即得。同法制备试剂空白溶液。

### 1.3.2.4 仪器参考条件

根据各自仪器性能调至最佳状态。仪器参考条件见表1-3-3。

表1-3-3 仪器参考条件

HPLC工作条件	Agilent1260 Infinity HPLC; Hamilton PRP-X100 (250 mm×4.1 mm, 10 μm) 阴离子交换分析柱, Hamilton PRP-X100 (20 mm×4.1 mm, 10 μm) 阴离子保护柱; 以 0.025 mol/L 磷酸二氢铵溶液 (氨水调节pH 值至8.0) 为流动相A, 以水为流动相B, 洗脱程序: 0~0.5min 100%B, 0.5~4.5min 100%~60% B, 4.5~6min 60%~0% B, 6~11min 100%A, 11~12min 0%~100%B, 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 室温; 进样体积: 20 μL。
----------	---

ICP-MS工作条件	Agilent 7700x ICP-MS; 射频功率: 1.55 kW; 采样深度: 10.0mm; 雾化室温度: 2℃; 等离子体气流量: 15.0 L/min; 辅助气: 0.8 L/min, 载气: 1.0 L/min; 氦气碰撞气流量: 4.3 mL/min; 积分时间: 0.8 s; 检测质量数: 75。
------------	--

### 1.3.3 验证结果

#### 1.3.3.1 方法线性范围及校准曲线的绘制

按浓度由低到高的顺序分别取20 μL标准系列溶液以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。标准系列及其响应值见表1-3-4, 校准曲线图见图1-3-1, 校准方程相关系数见表1-3-5。

表1-3-4 标准系列与响应值

标准系列	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6
浓度 (μg/L)	0	5.00	20.0	50.0	100	200
三价砷峰面积	0	18036	68982	167392	347380	679866
五价砷峰面积	0	18699	70315	175859	353664	688783

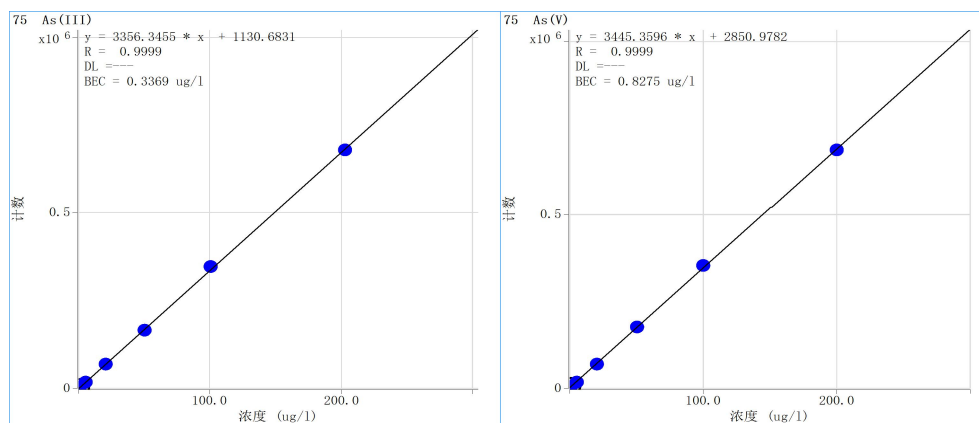


图1-3-1 三价砷和五价砷标准曲线图

表1-3-5 方法的线性范围、线性方程

线性范围	线性方程参数		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
三价砷	3356.3455	1130.6831	0.9999

五价砷	3445.3596	2850.9872	0.9999
-----	-----------	-----------	--------

### 1.3.3.2 检出限、定量限

采用逐级稀释法，以3倍信噪比作为仪器的检出限，以10倍信噪比作为仪器的定量限，详见表1-3-6。

表1-3-6 仪器检出限及定量限 ( $\mu\text{g/L}$ )

组分名称	检出限	定量限
三价砷	0.3	1
五价砷	0.5	2

### 1.3.3.3 方法精密度试验

用实际样品进行重复测定7次，将结果见表1-3-7。图1-3-2为六种常见砷形态标准溶液分离色谱图，图1-3-3为雄黄样品砷形态分离色谱图。

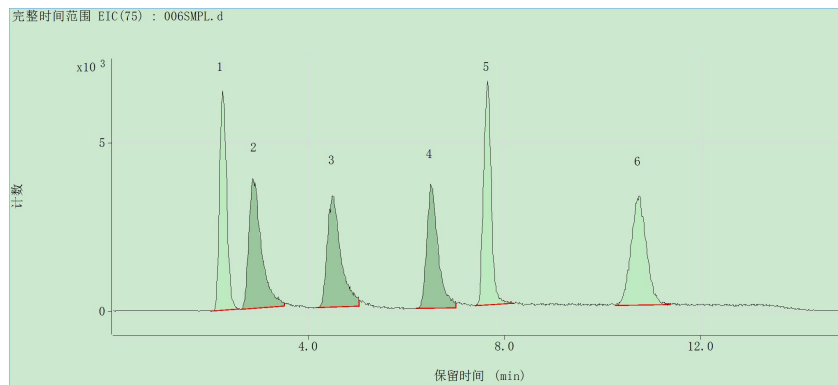


图1-3-2 六种常见砷形态标准溶液分离色谱图 (浓度 $20\ \mu\text{g/L}$ )

(1、砷甜菜碱, 2、三价砷, 3、砷胆碱, 4、二甲基砷, 5、一甲基砷, 6、五价砷)

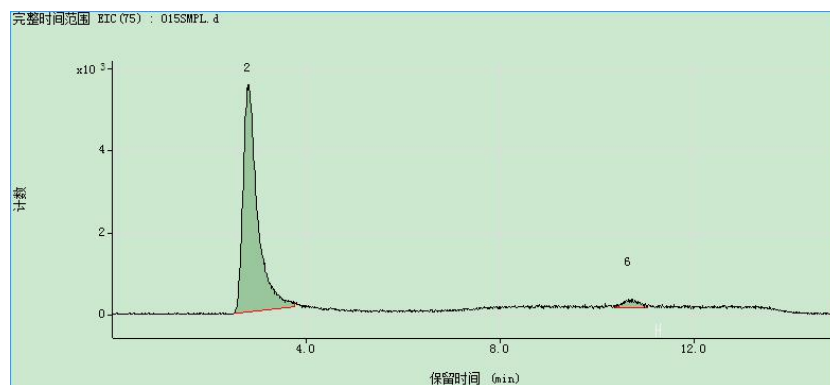


图1-3-3 雄黄样品砷形态分离色谱图 (2、三价砷, 6、五价砷)

表1-3-7 三价砷精密度试验结果

序号	取样量 (g)	测定值 ( $\mu\text{g/L}$ )	测定含量 (%)	平均测定含量 (%)	精密度RSD (%)
1	0.03327	32.435	0.244	0.233	4.3

2	0.02977	26.800	0.225		
3	0.03409	32.099	0.235		
4	0.03000	26.798	0.223		
5	0.03422	32.169	0.235		
6	0.03329	33.082	0.248		
7	0.03010	26.894	0.223		

#### 1.3.3.4 方法正确度试验

用实际样品加标进行正确度试验，将结果见表1-3-8

表1-3-8 正确度试验结果

砷形态	取样量 (g)	测定值 ( $\mu\text{g/L}$ )	测定含量 ( $\mu\text{g}$ )	本底值 ( $\mu\text{g}$ )	加入量 ( $\mu\text{g}$ )	回收率 (%)
三价砷	0.03327	60.637	151.6	79.18	75.0	96.5
五价砷	0.03327	30.877	77.19	0.96	75.0	101.6

#### 1.3.4小结

实验结果表明：该方法用于测定雄黄中三价砷和五价砷的测定（人工肠液提取）时，线性范围宽、精密度高、正确度高、检出限低等优点，能满足雄黄中三价砷和五价砷的测定（人工肠液提取）的测定要求。

## 2 安捷伦科技（中国）有限公司广州分公司

### 2.1 玩具中三价铬、六价铬的测定

#### 2.1.1 基本信息

表2-1-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	安捷伦科技（中国）有限公司广州分公司
验证人员	冯文坤
验证完成日期	2020.9.2
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

#### 2.1.2 实验方法

##### 2.1.2.1 试剂与材料

2.1.2.1.1 1硝酸（ $\text{HNO}_3$ ）：优级纯（Merck）。

2.1.2.1.2 盐酸（ $\text{HCL}$ ）：优级纯（Merck）。

2.1.2.1.3 氨水（ $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ）：优级纯（Sigma）。

2.1.2.1.4 乙二胺四乙酸二钠（ $\text{EDTA-2Na}$ ）：优级纯（Sigma）。

2.1.2.1.5 0.07 mol/L $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 流动相：在1L超纯水中加入5 mL浓硝酸，8mL的氨水，调整pH值至



7.0-7.2。

2.1.2.1.6 0.1 mol/L EDTA-2Na络合剂：在1L超纯水中溶解约37.224g的二水合EDTA二钠，测定pH值，根据测得的pH值微量调整试剂用量至pH值为7.0-7.2。

2.1.2.1.7 标准品：1000 mg/L 三价铬Cr(III) 标准溶液，1000 mg/L 六价铬Cr(VI) 标准溶液，国家有色金属及电子材料分析测试中心；PVC中六价铬成分分析标准物质RMA034b。

2.1.2.1.8 标准系列的配制：在超纯水中加入1000 mg/L Cr(III) 标准溶液和0.1 mol/L EDTA-2Na络合剂，在60° C水浴1小时以上，使Cr(III)和EDTA完全络合，配制成10mg/L Cr(III)-EDTA储备液；在超纯水中加入1000 mg/L Cr(VI) 标准溶液配制成10mg/L Cr(VI) 储备液。移取Cr(III)-EDTA储备液和Cr(VI) 储备液，加入流动相中，配制成0.1mg/L Cr(III)-EDTA和Cr(VI) 混合溶液。将Cr(III)-EDTA和Cr(VI)混合溶液逐级稀释至0、0.05、0.1、0.5、1、2、5 μg/L，作为标准曲线系列溶液。

#### 2.1.2.2 仪器和设备

仪器和设备详细信息填写至表2-1-2。

表2-1-2 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	仪器编号	性能状况	备注
ICP-MS	Agilent7800	SG19462003	良好	
HPLC	Agilent1260	DEACH00365	良好	

#### 2.1.2.3 样品的前处理

##### 2.1.2.3.1 样品

油漆：在室温下，用机械方式从玩具样品中刮取涂层，过金属筛网获取不少于100mg的测试试样。

塑料：从材料截面厚度最薄处剪下测试部分，试样尺寸小于6mm，使用预先制备好的参考材料进行目视比较。

纸板：从纸板上取下不少于100mg的测试试样，试样尺寸小于6mm，使用预先制备好的参考材料进行目视比较。

##### 2.1.2.3.2 前处理的方法

称取约 0.1g 样品，加入 5mL 0.07mol/L HCL，37° C 水浴振荡 1 小时，37° C 静置 1 小时，转移溶液，8000 r/min 离心 10 min，取 1mL 上清液，加入 1mL 0.07mol/L NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O，1mL 0.1mol/L EDTA-2Na 络合剂，7mL 0.07mol/L NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 流动相，在 60° C 水浴 1 小时以上使 Cr(III) 和 EDTA 完全络合。待样品降到室温后，取部分样品放入 LC 样品瓶中待测。

#### 2.1.2.4 仪器参考条件

仪器工作条件见表2-1-3。

表2-1-3 仪器工作条件

HPLC工作条件	色谱柱: Agilent Bio WAX (4.6×50mm, 5 μm), 流动相: 0.07 mol/L NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> , 流速: 0.8mL/min, 进样量: 50 μL, 洗脱方式: 等度洗脱。
ICP-MS工作条件	射频功率: 1550W, 等离子体气流量: 15L/min, 载气流量: 0.85L/min, 补偿气流量: 0.25L/min, 氦气流量: 4.3mL/min, 雾化室温度: 2 °C, 雾化器: MicroMist, 采样深度: 8mm, 采样锥/截取锥: 0.9mm/0.4mm。

### 2.1.3 验证结果

#### 2.1.3.1 方法线性范围及校准曲线的绘制

按浓度由低到高的顺序分别自动吸取50 μL标准系列溶液以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。详细信息见表2-1-4, 表2-1-5, 图2-1-1, 图2-1-2, 图2-1-3。

表2-1-4 标准系列与响应值

标准系列	ST1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6	STD7
浓度 (μg/L)	0	0.05	0.1	0.5	1	2	5
Cr III峰面积	32.57	3280.43	6569.22	32041.32	63235.97	129743.08	328610.93
CrVI峰面积	93.69	3284.94	6766.40	32958.64	64958.30	133962.61	335757.39

表2-1-5 标准曲线的线性范围、线性方程

线性范围	线性方程参数		
	<i>A</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
Cr III	65504.11	32.57	1
CrVI	67019.59	93.69	1

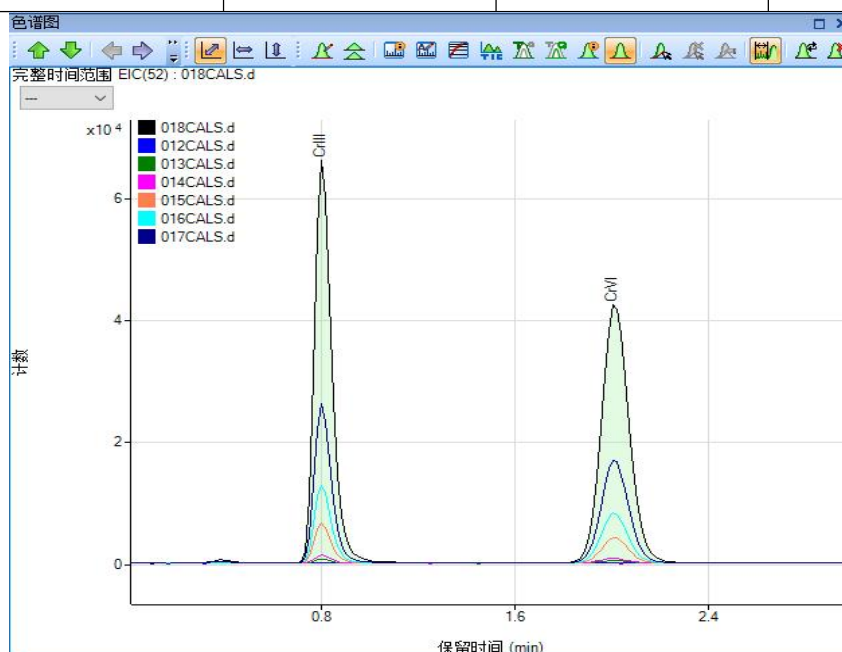


图2-1-1 标准溶液的色谱图

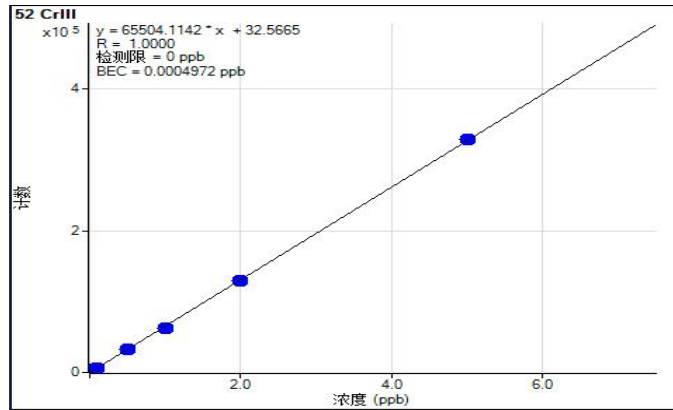


图2-1-2 CrIII标准曲线图

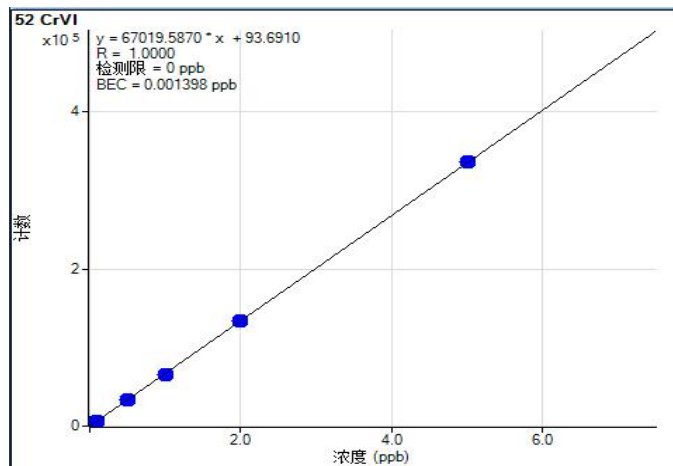


图2-1-3 CrVI标准曲线图

2.1.3.2 检出限、定量限

采用逐级稀释法，以3倍信噪比作为仪器的检出限，以10倍信噪比作为仪器的定量限。

表2-1-6 仪器检出限及定量限 (μg/L)

组分名称	检出限	定量限
Cr III	0.008	0.025
CrVI	0.008	0.025

2.1.3.3 方法精密度及正确度

采用有证标准物质RMA034b进行试验，同时处理7份，检测结果见表2-1-7和表2-1-8，样品色谱图见图2-1-4。

表2-1-7 精密度试验结果

样品名称	组分	1	2	3	4	5	6	7	平均值
		mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	
RMA034b	CrVI	88.32	88.70	88.82	88.90	88.24	88.00	87.93	88.41

表2-1-8 正确度试验结果

标准物质编号及名称	组分	标示值 ( $\bar{x} \pm s$ , mg/kg)	测定结果 均值 (mg/kg)	SD (mg/kg)	RSD (%)	结果是否都在 不确定度范围内
RMA034b	CrVI	90.3±8.6	88.41	0.36	0.41	是

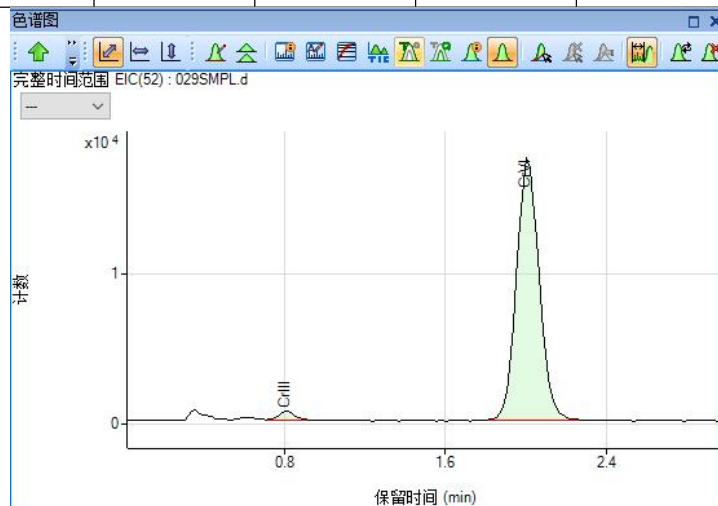


图2-1-4 RMA034b标准物质色谱图

处理不同基质类型的样品进行分析，并进行加标回收试验，计算样品的加标回收率，结果见表2-1-9。

表2-1-9 加标回收试验结果

样品名称	组分	样品测定值 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	加标量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	加标测定值 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	加标回收率 (%)
塑料	Cr III	1011.73	1004.19	2089.23	107
	CrVI	20.78	1004.19	1039.18	101
油漆	Cr III	128.22	92.24	213.12	92
	CrVI	ND	92.24	86.58	94
纸板	Cr III	15.57	51.03	71.76	110
	CrVI	ND	51.03	45.14	88

\*ND代表未检出

#### 2.1.4 小结

实验结果表明：该方法用于测定玩具样品中三价铬、六价铬时，线性范围宽、精密度高、正确度高、检出限低等优点，能满足玩具样品关于铬形态的测定要求。

#### 2.1.5 问题与建议

- 1) 由于Cr(III)和Cr(VI)在不同pH条件下很容易发生转化，因此本实验要求pH值在7.0~7.2。
- 2) 实验经验显示，用稀硝酸 (<5%, v/v) 洗过的塑料 (PES, PP, LDPE, HDPE等) 器材，比用玻璃器材对测试结果的干扰要小，LC样品瓶和瓶盖推荐使用PP材质的。

### 2.2 食品中溴形态的测定

#### 2.2.1 基本信息

表2-2-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	安捷伦科技（中国）有限公司广州分公司
验证人员	冯文坤
验证完成日期	2020.10.14
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

## 2.2.2 实验方法

### 2.2.2.1 试剂与材料

2.2.2.1.1 氢氧化钾 (KOH)：优级纯 (Sigma)。

2.2.2.1.2 碳酸铵 ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)：优级纯 (Sigma)。

2.2.2.1.3 氨水 (NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)：优级纯 (Sigma)。

2.2.2.1.4 0.01%氢氧化钾溶液。

2.2.2.1.5 0.1mol/L氢氧化钾溶液。

2.2.2.1.6 0.06mol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>流动相：在1L超纯水中加入5.7654g碳酸铵，用氨水调整pH值至9.2-9.4。

2.2.2.1.7 标准品：溴酸钾 (KBrO<sub>3</sub>) 基准物质，溴化钾 (KBr) 基准物质，Sigma。

#### 2.2.2.1.8 标准系列的配制

准确称取溴酸钾基准物质0.2090g，用0.01%氢氧化钾溶液定容至100mL，配制成1000mg/L KBrO<sub>3</sub>溶液；准确称取溴化钾基准物质0.1489g，用0.01%氢氧化钾溶液定容至100mL，配制成1000mg/L KBr溶液。移取1000mg/L KBrO<sub>3</sub>溶液和1000mg/L KBr溶液，加入0.01%氢氧化钾溶液中，配制成10mg/L的KBrO<sub>3</sub>和KBr混合溶液，将KBrO<sub>3</sub>和KBr混合溶液逐级稀释至0、5、10、25、50、100 μg/L，作为标准曲线系列溶液。

### 2.2.2.2 仪器和设备

仪器和设备详细信息见表2-2-2。

表2-2-2 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	仪器编号	性能状况	备注
ICP-MS	Agilent7800	SG19462003	良好	
HPLC	Agilent1260	DEACH00365	良好	

### 2.2.2.3 样品的前处理

#### 2.2.2.3.1 样品

生物成分分析标准物质-大米GBW10010、生物成分分析标准物质-菠菜GBW10015作为分析样品，称取样品前进行烘干处理。

### 2.2.2.3.2 前处理的方法

称取0.2g样品，加入5mL 0.1mol/L 氢氧化钾溶液，超声萃取1小时。用超纯水定容至10mL，摇匀，静置后过0.45 μm滤膜，取部分样品放入LC样品瓶中待测。

### 2.2.2.4 仪器参考条件

本实验中仪器条件见表2-2-3。

表2-2-3 仪器工作条件

HPLC工作条件	色谱柱：Agilent形态分析色谱柱 G3268-80001 (4.6×50mm, 5 μm)，流动相：0.06M (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> NO <sub>3</sub> ，流速：1.0mL/min，进样量：20 μL，洗脱方式：等度洗脱。
ICP-MS工作条件	射频功率：1550W，等离子体气流量：15L/min，载气流量：0.85L/min，补偿气流量：0.25L/min，氦气流量：4.1mL/min，雾化室温度：2 °C，雾化器：MicroMist，采样深度：8mm，采样锥/截取锥：0.9mm/0.4mm。

## 2.2.3 验证结果

### 2.2.3.1 方法线性范围及校准曲线的绘制

按浓度由低到高的顺序分别自动吸取20 μL标准系列溶液以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。相关信息见表2-2-4、表2-2-5，图2-2-1、图2-2-2、图2-2-3。

表2-2-4 标准系列与响应值

标准系列	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6
浓度(μg/L)	0	5	10	25	50	100
BrO <sup>3-</sup> 峰面积	0	1393.30	2877.66	7055.66	13859.29	28248.16
Br <sup>-</sup> 峰面积	7.25	1278.99	2654.50	6664.37	13078.76	25991.34

表2-2-5 方法的线性范围、线性方程

线性范围	线性方程参数		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
BrO <sup>3-</sup>	281.50	0	0.9999
Br <sup>-</sup>	260.47	7.25	1

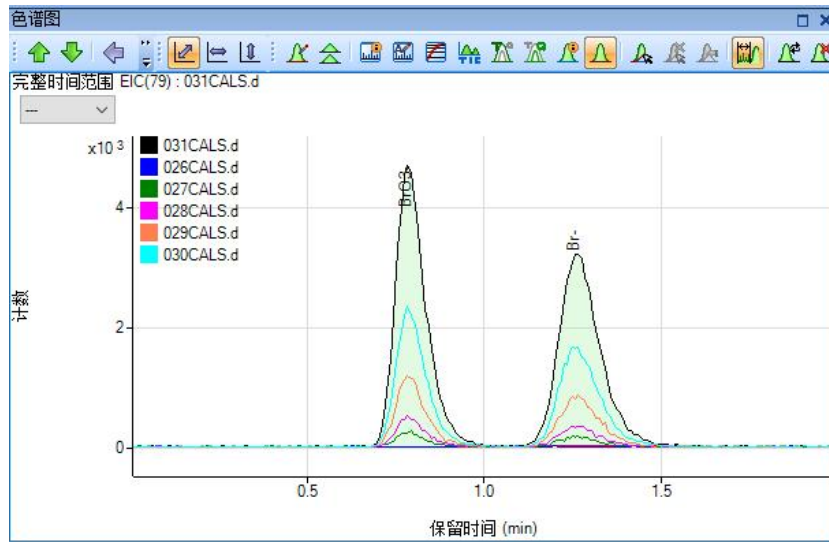


图2-2-1 标准曲线色谱图

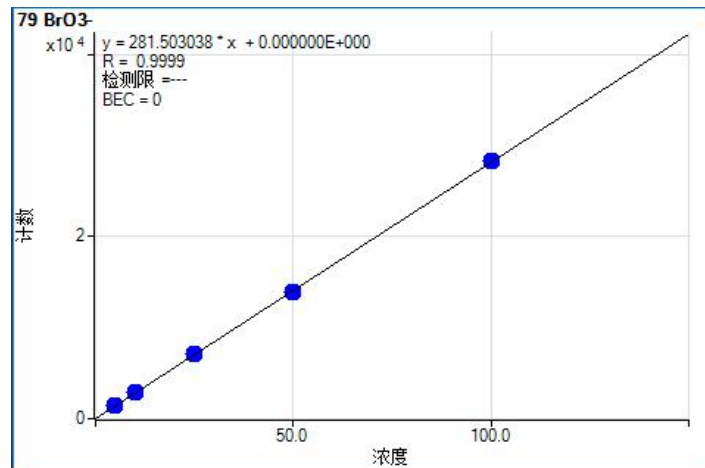


图2-2-2 BrO3- 标准曲线图

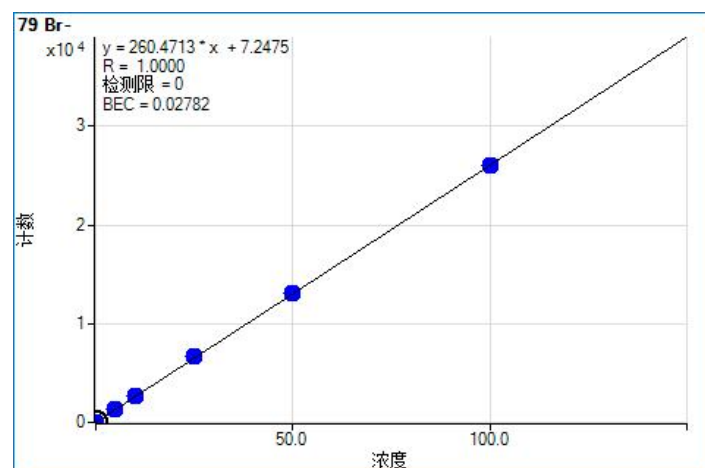


图2-2-3 Br- 标准曲线图

### 2.2.3.2 检出限、定量限

采用逐级稀释法，以3倍信噪比作为仪器的检出限，以10倍信噪比作为仪器的定量限，结果

见表2-2-6

表2-2-6 仪器检出限及定量限 ( $\mu\text{g/L}$ )

组分名称	检出限	定量限
$\text{BrO}_3^-$	0.6	2
$\text{Br}^-$	0.6	2

### 2.2.3.3 方法精密度及正确度

由于暂无食品中Br形态的标准物质，实验所用的标准物质标示值是Br的元素总量，而样品色谱图2-2-4，图2-2-5均显示样品中未含有 $\text{BrO}_3^-$ ，选取GBW10010和GBW10014标准物质进行相关试验，实验结果见表2-2-7、表2-2-8。

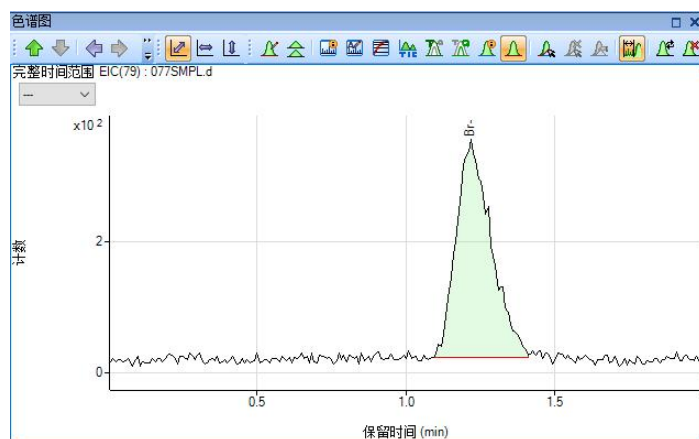


图2-2-4 GBW10010标准物质色谱图

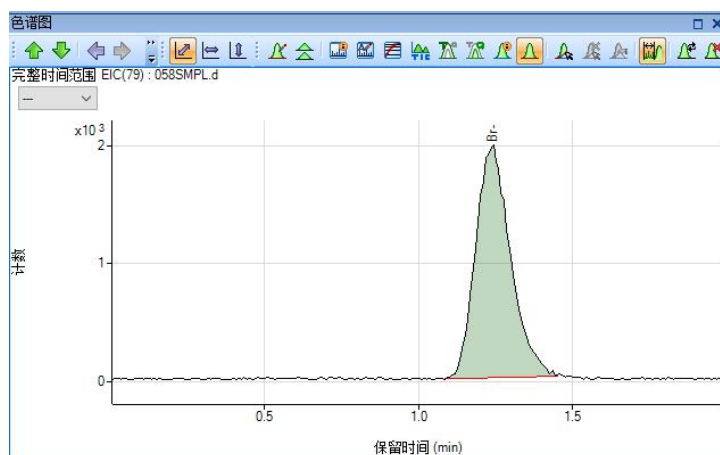


图2-2-5 GBW10014标准物质色谱图

表2-2-7 正确度试验结果

标准物质编号及名称	元素	标示值 ( $\bar{x} \pm s$ , mg/kg)	测定结果均值 (mg/kg)	SD (mg/kg)	RSD (%)	结果是否都在不确定度范围内
GBW10010	Br	$0.56 \pm 0.13$	0.522	0.009	1.78	是
GBW10014	Br	$6.0 \pm 1.3$	6.24	0.024	0.38	是

\*ND代表未检出



表2-2-8 精密度试验结果

样品名称	组分	1	2	3	4	5	6	7	平均值
		mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
GBW10010	BrO <sup>3-</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Br <sup>-</sup>	0.513	0.533	0.530	0.526	0.523	0.506	0.522	0.522
GBW10014	BrO <sup>3-</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Br <sup>-</sup>	6.22	6.24	6.22	6.25	6.21	6.26	6.28	6.24

\*ND代表未检出

#### 2.2.4 小结

实验结果表明：该方法用于测定食品样品中常见的两种溴形态时，线性范围宽、精密度高、正确度高、检出限低等优点，能满足食品样品关于溴形态的测定要求。

#### 2.2.5 问题与建议

在验证过程中采用了纯水提取和0.1mol/L氢氧化钾溶液提取两种样品前处理方式，对于国内的生物成分标准物质GBW10010、GBW10014)的测试，两种前处理方法测试结果都在标示值范围内。但纯水提取的测试结果会比0.1mol/L氢氧化钾溶液提取的测试结果偏低10%左右，实验最终采用0.1mol/L氢氧化钾溶液提取的前处理方式来进行溴的形态分析，后期会采用这种前处理方式来验证更多的生物成分标准物质。

### 2.3 玩具中三价铬、六价铬的测定

#### 2.3.1 基本信息

表2-3-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	安捷伦科技（中国）有限公司广州分公司
验证人员	冯文坤
验证完成日期	2020.9.4
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

#### 2.3.2 实验方法

##### 2.3.2.1 试剂与材料

2.3.2.1.1 硝酸（HNO<sub>3</sub>）：优级纯（Merk）。

2.3.2.1.2 盐酸 (HCL)：优级纯 (Merk)。

2.3.2.1.3 氨水 (NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)：优级纯 (Sigma)。

2.3.2.1.4 乙二胺四乙酸二钠 (EDTA-2Na)：优级纯，优级纯 (Sigma)。

2.3.2.1.5 0.07mol/L NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>流动相：在1L超纯水中加入5 mL浓硝酸，8mL的氨水，调整pH值至7.0-7.2。

2.3.2.1.6 0.1mol/L EDTA-2Na络合剂：在1L超纯水中溶解约37.224g的二水合EDTA二钠，测定pH值，根据测得的pH值微量调整试剂用量至pH值为7.0-7.2。

2.3.2.1.7 标准品：1000 mg/L 三价铬Cr (III) 标准溶液，1000 mg/L 六价铬Cr (VI) 标准溶液，国家有色金属及电子材料分析测试中心；PVC中六价铬成分分析标准物质RMA034b。

#### 2.3.2.1.8 标准系列的配制

在超纯水中加入1000 mg/L Cr (III) 标准溶液和0.1MEDTA-2Na络合剂，在60° C水浴1小时以上，使Cr (III)和EDTA完全络合，配制成10mg/L Cr (III)-EDTA储备液；在超纯水中加入1000 mg/L Cr (VI) 标准溶液，配制成10mg/L Cr (VI)储备液。移取Cr (III)-EDTA储备液和Cr (VI) 储备液，加入流动相中，配制成0.1mg/L Cr (III)-EDTA和Cr (VI)混合溶液。选取一个测试样品溶液作为基体溶液，并分成几份，分别加入适量的Cr (III)-EDTA和Cr (VI)混合溶液，使最终浓度为0、.05、0.1、0.5、1、2、5 μg/L，作为标准加入系列溶液。

#### 2.3.2.2 仪器和设备

列出验证过程中使用的所有仪器和设备。仪器和设备详细信息填写至表2-3-2。

表2-3-2 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	仪器编号	性能状况	备注
ICP-MS	Agilent7800	SG19462003	良好	
HPLC	Agilent1260	DEACH00365	良好	

#### 2.3.2.3 样品的前处理

##### 2.3.2.3.1 样品

油漆：在室温下，用机械方式从玩具样品中刮取涂层，过金属筛网获取不少于100mg的测试试样。

塑料：从材料截面厚度最薄处剪下测试部分，试样尺寸小于6mm，使用预先制备好的参考材料进行目视比较。

纸板：从纸板上取下不少于100mg的测试试样，试样尺寸小于6mm，使用预先制备好的参考材料进行目视比较。

##### 2.3.2.3.2 前处理的方法

称取0.1g样品，加入5mL0.07MHCL，37°C水浴振荡1小时，37°C静置1小时，迁移溶液，8000r/min离心10min，取1mL上清液，加入1mL0.07MNH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O，1mL0.1MEDTA-2Na络合剂，

7mL0.07MNH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>流动相，在60°C水浴1小时以上使Cr(III)和EDTA完全络合。待样品降到室温后，取部分样品放入样品瓶中待测。

### 2.3.2.4 仪器参考条件

根据各自仪器性能调至最佳状态。仪器参考条件见表2-3-3。

表2-3-3 仪器参考条件

HPLC工作条件	色谱柱: Agilent Bio WAX (4.6×50mm, 5 μm), 流动相: 0.07MNH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> , 流速: 0.8mL/min, 进样量: 50 μL, 洗脱方式: 等度洗脱。
ICP-MS工作条件	射频功率: 1550W, 等离子体气流量: 15L/min, 载气流量: 0.85L/min, 补偿气流量: 0.25L/min, 氦气流量: 4.3mL/min, 雾化室温度: 2 °C, 雾化器: MicroMist, 采样深度: 8mm, 采样锥/截取锥: 0.9mm/0.4mm。

### 2.3.3 验证结果

#### 2.3.3.1 方法线性范围及校准曲线的绘制

按浓度由低到高的顺序分别自动吸取50 μL标准系列溶液以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。详细信息见表2-3-4，表2-3-5，图2-3-1，图2-3-2，图2-3-3。

将各组分标准系列浓度与响应值结果填入表3。

表2-3-4 标准系列与响应值

标准系列	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6	STD7
浓度(μg/L)	0	0.05	0.1	0.5	1	2	5
Cr III峰面积	1321.09	3986.38	7546.61	36874.28	72154.19	147732.46	370773.56
CrVI峰面积	3191.98	4666.72	11152.65	38598.40	78538.98	155426.05	382408.36

表2-3-5 方法的线性范围、线性方程

线性范围	线性方程参数		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
Cr III	74046.41	0	1
CrVI	76732.38	0	1

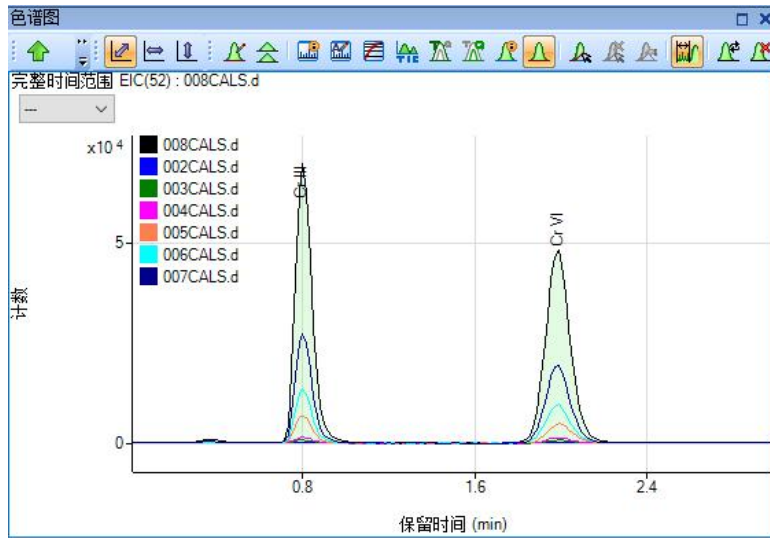


图2-3-1 标准溶液的色谱图

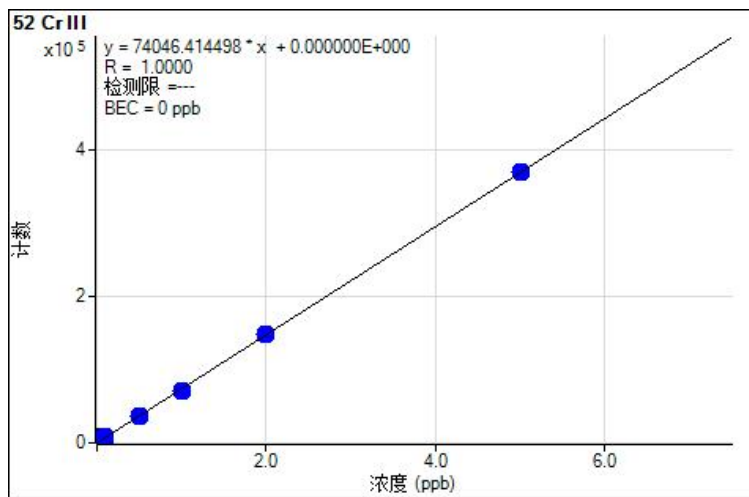


图2-3-2 Cr III标准曲线图

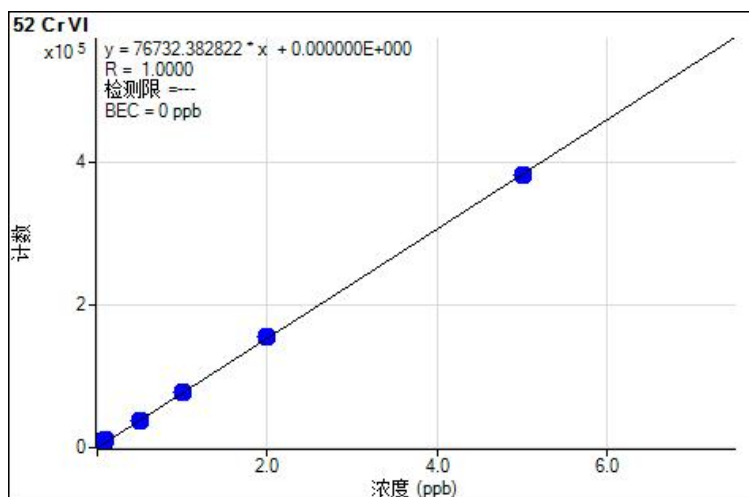


图2-3-3 Cr VI标准曲线图

### 2.3.3.2 检出限、定量限

采用逐级稀释法，以3倍信噪比作为仪器的检出限，以10倍信噪比作为仪器的定量限，结果

见表2-3-6。

表2-3-6 仪器检出限及定量限 (μg/L)

组分名称	检出限	定量限
Cr III	0.01	0.03
CrVI	0.01	0.03

### 2.3.3.3 方法精密度及正确度

采用有证标准物质RMA034b进行试验，同时处理7份，检测结果见表2-3-7和表2-3-8，样品色谱图见图2-3-4。

表2-3-7 精密度试验结果

样品名称	组分	1 mg/kg	2 mg/kg	3 mg/kg	4 mg/kg	5 mg/kg	6 mg/kg	7 mg/kg	平均值 mg/kg
RMA034b	CrVI	86.29	86.30	86.33	86.59	86.91	86.83	87.15	86.63

表2-3-8 正确度试验结果

标准物质 编号及名称	组分	标示值 ( $\bar{x} \pm s$ , mg/kg)	测定结果 均值 (mg/kg)	SD (mg/kg)	RSD (%)	结果是否都在 不确定度范围内
RMA034b	CrVI	90.3±8.6	86.63	0.32	0.37	是

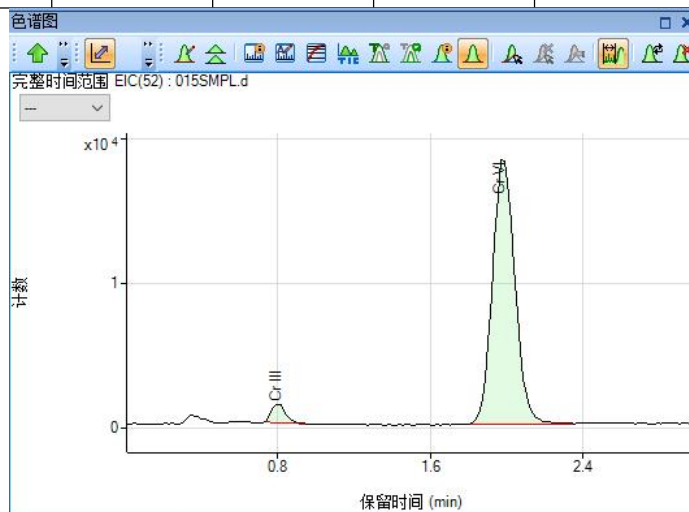


图2-3-4 RMA034b标准物质色谱图

对不同基质类型的样品进行测试，计算样品的加标回收率，结果见表2-3-9。

表2-3-9 加标回收试验结果

样品名称	组分	样品测定值 (μg/kg)	加标量 (μg/kg)	加标测定值 (μg/kg)	加标回收率 (%)
塑料	Cr III	1006.14	991.20	2058.53	106
	CrVI	41.83	991.20	1088.46	105
油漆	Cr III	167.36	96.45	258.11	94

	CrVI	ND	96.45	82.13	85
纸板	Cr III	9.74	49.14	66.98	116
	CrVI	ND	49.14	41.82	85

\*ND代表未检出

### 2.3.4 小结

实验结果表明：该方法用于测定玩具样品中三六价铬时，线性范围宽、精密度好、正确度高、检出限低等优点，能满足玩具样品等样品中铬形态的测定要求。

### 2.3.5 问题与建议

由于Cr(III)和Cr(VI)在不同pH条件下很容易发生转化，因此本实验要求pH值在7.0~7.2，实验经验显示，用稀硝酸（<5%，v/v）洗过的塑料（PES，PP，LDPE，HDPE等）器材，比用玻璃器材对测试结果的干扰要小，LC样品瓶和瓶盖推荐使用PP材质的。

## 2.4 奶粉中碘的标准加入法测定

### 2.4.1 基本信息表

表2-4-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	安捷伦科技（中国）有限公司广州分公司
验证人员	冯文坤
验证完成日期	2020.9.25
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

### 2.4.2 实验方法

#### 2.4.2.1 试剂与材料

2.4.2.1.1 氢氧化钾（KOH）：优级纯（Sigma）。

2.4.2.1.2 碳酸铵（ $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ ）：优级纯（Sigma）。

2.4.2.1.3 氨水（ $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ）：优级纯（Sigma）。

2.4.2.1.4 0.01%氢氧化钾溶液。

2.4.2.1.5 0.03mol/L  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 流动相：在1L超纯水中加入2.8827g碳酸铵，用氨水调整pH值至9.2-9.4。

2.4.2.1.6 标准品：碘酸钾（ $\text{KIO}_3$ ）基准物质，碘化钾（KI）基准物质，Sigma。

#### 2.4.2.1.7 标准系列的配制

准确称取碘酸钾基准物质0.1686g，用0.01%氢氧化钾溶液定容至100mL，配制成1000mg/L  $\text{KIO}_3$ 溶液；准确称取碘化钾基准物质0.1308g，用0.01%氢氧化钾溶液定容至100mL，配制成

1000mg/L KI溶液。移取1000mg/L KI<sub>3</sub>溶液和1000mg/L KI溶液，加入0.01%氢氧化钾溶液中，配制成10mg/L的KI<sub>3</sub>和KI混合溶液。选取奶粉样品溶液作为基体溶液，并分成几份，分别加入适量的KI<sub>3</sub>和KI混合溶液，使最终浓度为0、5、10、20、50、100 μg/L，作为标准加入系列溶液。

#### 2.4.2.2 仪器和设备

仪器和设备详细信息见表2-4-2。

表 2-4-2 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	仪器编号	性能状况	备注
ICP-MS	Agilent7800	SG19462003	良好	
HPLC	Agilent1260	DEACH00365	良好	

#### 2.4.2.3 样品的前处理

准确称取约 0.2g 奶粉样品，加入 5mL 超纯水，超声 1 小时。定容至 10mL，摇匀，静置后过 0.45 μm 滤膜，取部分样品放入 LC 样品瓶中待测。

#### 2.4.2.4 仪器参考条件

仪器工作条件见表2-4-3。

表 2-4-3 仪器工作条件

HPLC工作条件	色谱柱: Agilent Bio WAX (4.6×50mm, 5 μm), 流动相: 0.03M (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> NO <sub>3</sub> , 流速: 0.8mL/min, 进样量: 20 μL, 洗脱方式: 等度洗脱。
ICP-MS工作条件	射频功率: 1550W, 等离子体气流量: 15L/min, 载气流量: 0.85L/min, 补偿气流量: 0.25L/min, 氦气流量: 4.1mL/min, 雾化室温度: 2 °C, 雾化器: MicroMist, 采样深度: 8mm, 采样锥/截取锥: 0.9mm/0.4mm。

#### 2.4.3 验证结果

##### 2.4.3.1 方法线性范围及校准曲线的绘制

按浓度由低到高的顺序分别自动吸取20 μL标准系列溶液以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。相关信息见表2-4-4、表2-4-5、图2-4-1、图2-4-2、图2-4-3。

表 2-4-4 标准系列与响应值

标准系列	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6
浓度(μg/L)	0	5	10	20	50	100
I <sup>3-</sup> 峰面积	9356.96	48835.52	80324.67	147265.76	372886.52	765981.12
I <sup>-</sup> 峰面积	154555.26	215330.21	269879.15	378565.86	703513.93	1240379.19

表 2-4-5 方法的线性范围、线性方程

线性范围	线性方程参数		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
I <sup>3-</sup>	7489.79	0	0.9997
I <sup>-</sup>	10821.88	0	1

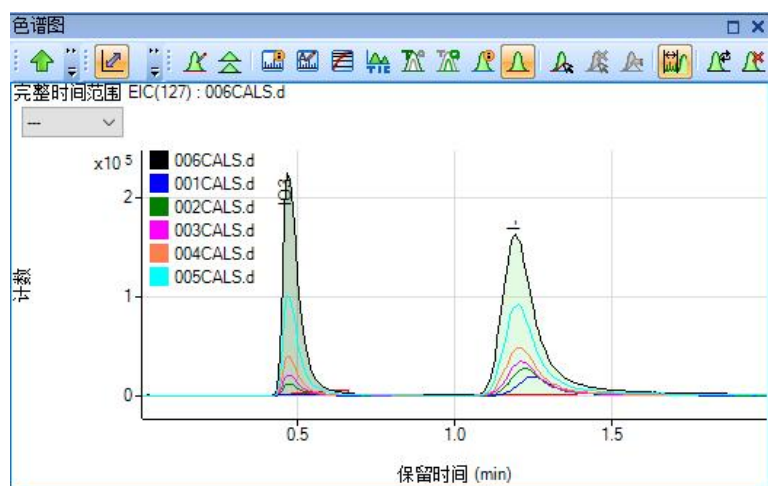


图2-4-1 标准曲线色谱图

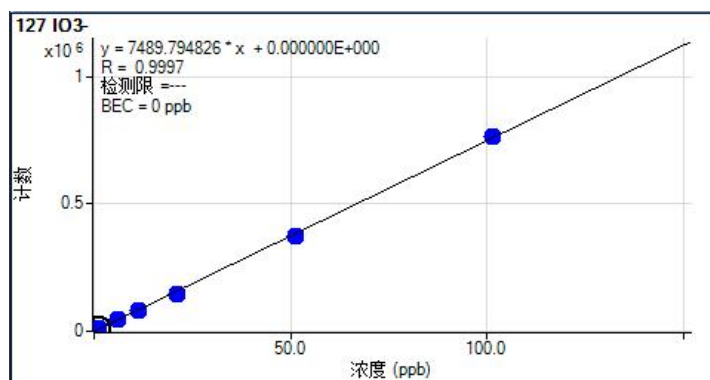


图2-4-2 IO<sub>3</sub><sup>-</sup>标准曲线图

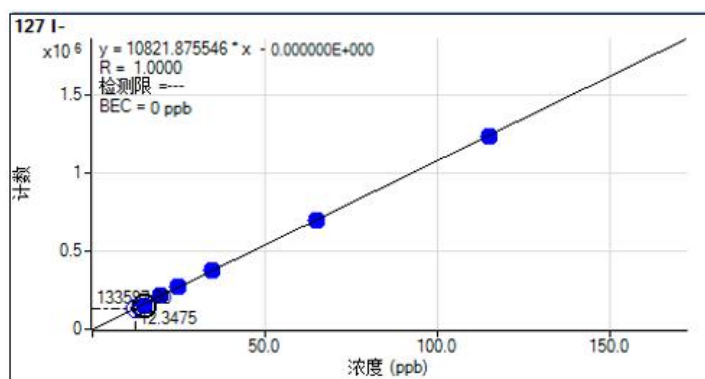


图2-4-3 I<sup>-</sup>标准曲线图

### 2.4.3.2 检出限、定量限

采用逐级稀释法，以3倍信噪比作为仪器的检出限，以10倍信噪比作为仪器的定量限，结果见表2-4-6

表 2-4-6 仪器检出限及定量限 (μg/L)

组分名称	检出限	定量限
IO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.06	0.2



I <sup>-</sup>	0.12	0.4
----------------	------	-----

### 2.4.3.3 方法精密度

对奶粉样品进行精密度试验，重复测定7次，检测数据见表2-4-7，样品色谱图见2-4-4。

表 2-4-7 精密度试验结果 (μg/kg)

样品	组分	1	2	3	4	5	6	7	RSD
奶粉	IO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	61.28	60.86	61.09	61.16	60.68	60.04	60.84	0.68%
	I <sup>-</sup>	632.34	622.77	634.29	625.80	632.07	623.68	637.52	0.90%

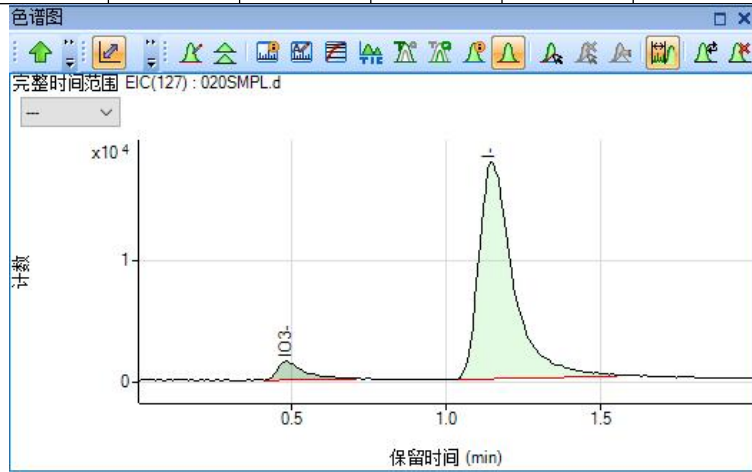


图 2-4-4 奶粉样品色谱图

### 2.4.4 小结

实验结果表明：采用标准加入法用于测定奶粉样品中常见的两种碘形态时，线性范围宽、精密度高、检出限低等优点，能满足奶粉样品关于碘形态的测定要求。

### 2.4.5 问题与建议

奶粉在水中具有较好的分散性和溶解性，奶粉中目标元素碘主要是以碘酸根和碘离子的形式进行添加，这两种形态都易溶于水，适合采用纯水对奶粉样品进行超声提取。验证实验也尝试使用氢氧化钾溶液对奶粉进行碱提取，但由于奶粉中脂肪成分与碱发生皂化反应，容易出现分层，也很难通过0.45 μm滤膜，达不到色谱的进样要求。

本实验是采用在处理好的奶粉样品中加入碘形态的标准溶液，标准溶液基体和样品基体完全匹配，测试结果会更加精准。但由于缺乏此类样品的碘形态标准物质，后期可进行多品种奶粉中碘形态的分析，比较碘元素总量与碘酸根和碘离子总量的差异，进一步验证纯水超声提取奶粉前处理方法的准确性。

## 2.5 食品中碘形态分析

### 2.5.1 基本信息表

表 2-5-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	安捷伦科技（中国）有限公司广州分公司
验证人员	冯文坤
验证完成日期	2020.9.18
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

## 2.5.2 实验方法

### 2.5.2.1 试剂与材料

2.5.2.1.1 氢氧化钾（KOH）：优级纯（Sigma）。

2.5.2.1.2 碳酸铵（ $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ ）：优级纯（Sigma）。

2.5.2.1.3 氨水（ $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ）：优级纯（Sigma）。

2.5.2.1.4 0.01%氢氧化钾溶液。

2.5.2.1.5 0.1mol/L氢氧化钾溶液。

2.5.2.1.6 0.03mol/L  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 流动相：在1L超纯水中加入2.8827g碳酸铵，用氨水调整pH值至9.2-9.4。

2.5.2.1.7 标准品：碘酸钾（ $\text{KIO}_3$ ）基准物质，碘化钾（KI）基准物质（Sigma）。

#### 2.5.2.1.8 标准系列的配制

准确称取碘酸钾基准物质0.1686g，用0.01%氢氧化钾溶液定容至100mL，配制成1000mg/L  $\text{KIO}_3$ 溶液；准确称取碘化钾基准物质0.1308g，用0.01%氢氧化钾溶液定容至100mL，配制成1000mg/L KI溶液。移取1000mg/L  $\text{KIO}_3$ 溶液和1000mg/L KI溶液，加入0.01%氢氧化钾溶液中，配制成10mg/L的 $\text{KIO}_3$ 和KI混合溶液，将 $\text{KIO}_3$ 和KI混合溶液逐级稀释至0、0.5、1、5、10、20、50  $\mu\text{g/L}$ ，作为标准曲线系列溶液。

### 2.5.2.2 仪器和设备

本实验所用仪器信息见表2-5-2。

表 2-5-2 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	仪器编号	性能状况	备注
ICP-MS	Agilent7800	SG19462003	良好	
HPLC	Agilent1260	DEACH00365	良好	

### 2.5.2.3 样品的前处理

选用市售面粉，大米粉作为分析样品，称取前进行烘干处理。称取0.2g样品，加入5mL 0.1mol/L氢氧化钾溶液，超声萃取1小时。用超纯水定容至10mL，摇匀，静置后过0.45 μm滤膜，取部分样品放入LC样品瓶中待测。

#### 2.5.2.4 仪器参考条件

仪器工作条件见表2-5-3。

表 2-5-3 仪器工作条件

HPLC工作条件	色谱柱: Agilent Bio WAX (4.6×50mm, 5 μm), 流动相: 0.03M (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> NO <sub>3</sub> , 流速: 1.0mL/min, 进样量: 20 μL, 洗脱方式: 等度洗脱。
ICP-MS工作条件	射频功率: 1550W, 等离子体气流量: 15L/min, 载气流量: 0.85L/min, 补偿气流量: 0.25L/min, 氦气流量: 4.1mL/min, 雾化室温度: 2 °C, 雾化器: MicroMist, 采样深度: 8mm, 采样锥/截取锥: 0.9mm/0.4mm。

#### 2.5.3 验证结果

##### 2.5.3.1 方法线性范围及校准曲线的绘制

按浓度由低到高的顺序分别自动吸取20 μL标准系列溶液以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。相关信息见表2-5-4、表2-5-5，图2-5-1、图2-5-2、图2-5-3。

表 2-5-4 标准系列与响应值

标准系列	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6	STD7
浓度 (μg/L)	0	0.5	1	5	10	20	50
I <sup>3-</sup> 峰面积	204.40	5195.63	10362.36	51543.35	105942.82	210325.79	522234.70
I <sup>-</sup> 峰面积	163.28	3325.11	7080.22	35764.49	72958.85	147516.25	369398.54

表 2-5-5 方法的线性范围、线性方程

线性范围	线性方程参数		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
I <sup>3-</sup>	10452.10	204.40	1
I <sup>-</sup>	7376.55	163.28	1

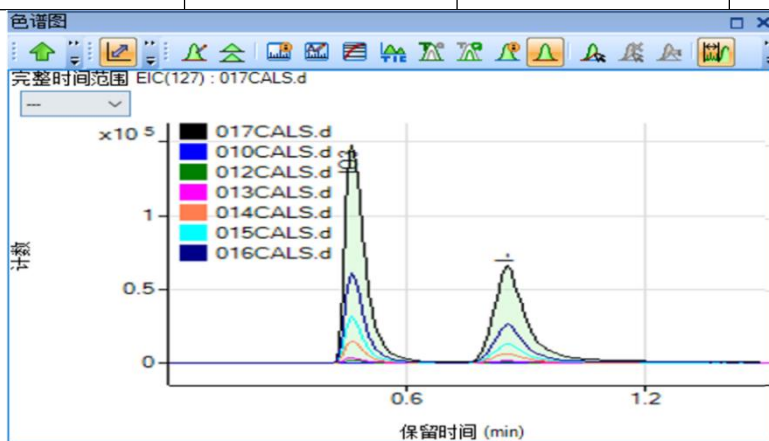


图 2-5-1 标准曲线色谱图

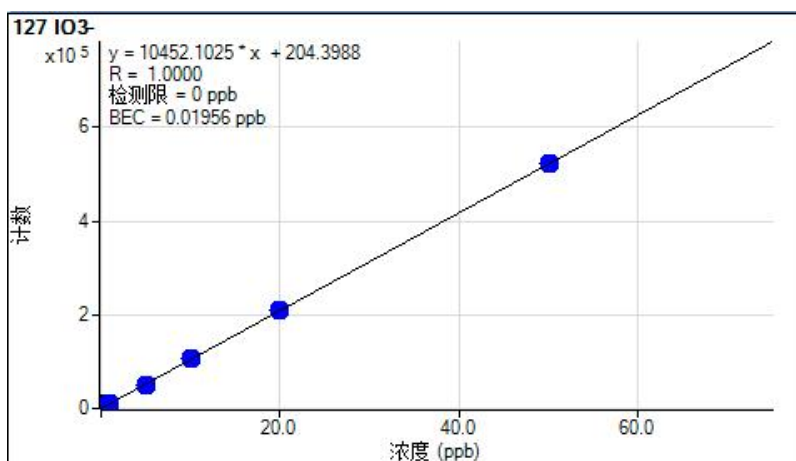


图 2-5-2 IO<sub>3</sub><sup>-</sup>标准曲线图

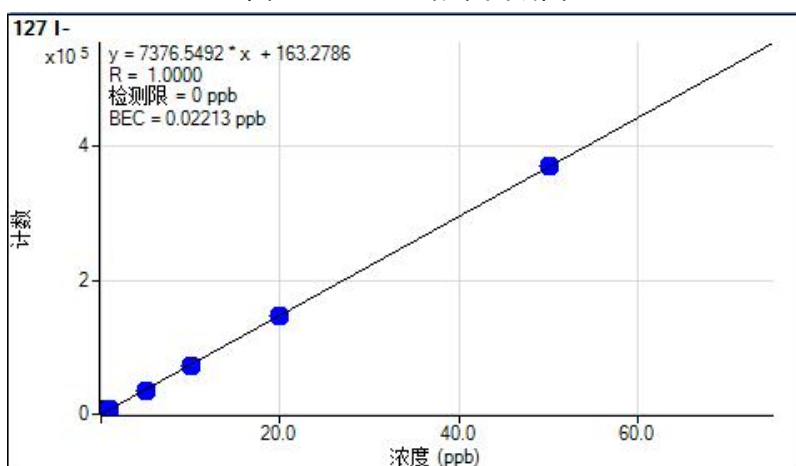


图 2-5-3 I<sup>-</sup>标准曲线图

### 2.5.3.2 检出限、定量限

采用逐级稀释法，以3倍信噪比作为仪器的检出限，以10倍信噪比作为仪器的定量限。

表 2-5-6 仪器检出限及定量限 (μg/L)

组分名称	检出限	定量限
IO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.03	0.1
I <sup>-</sup>	0.03	0.1

### 2.5.3.3 方法精密度及正确度

对面粉和大米粉样品平行称取7份，并加入一定量的标准溶液，按2.5.2.3处理后测定，结果见表2-5-7，大米粉的色谱图见图2-5-4。

表 2-5-7 正确度试验结果

样品名称	组分	样品测定值 (μg/kg)	加标量 (μg/kg)	加标测定值 (μg/kg)	加标回收率 (%)
面粉	IO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	ND	48.97	48.48	99
	I <sup>-</sup>	116.79	48.97	167.03	103

大米粉	$\text{IO}_3^-$	16.11	50.31	68.43	104
	$\text{I}^-$	1057.99	50.31	1115.02	113

\*ND代表未检出

表 2-5-8 精密度试验结果

样品名称	组分	1 μg/kg	2 μg/kg	3 μg/kg	4 μg/kg	5 μg/kg	6 μg/kg	7 μg/kg	平均值 μg/kg	RSD(% )
面粉	$\text{IO}_3^-$	66.80	69.98	67.38	68.36	68.94	68.49	69.07	48.48	1.5
	$\text{I}^-$	167.51	167.65	168.24	166.04	167.36	165.75	166.77	167.03	0.54
大米粉	$\text{IO}_3^-$	66.80	69.98	67.38	68.36	68.94	68.49	69.07	68.43	1.6
	$\text{I}^-$	1129.2 2	1113.4 5	1119.6 2	1095.6 3	1104.8 9	1119.6 2	1122.7 1	1115.0 2	1.0

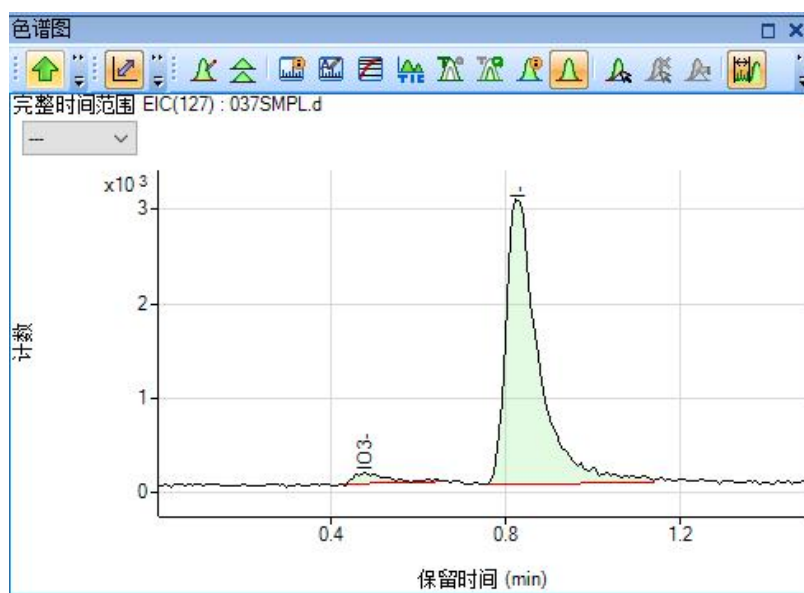


图 2-5-4 大米粉色谱图

#### 2.5.4 小结

实验结果表明：该方法用于测定食品样品中常见的两种碘形态时，线性范围宽、精密度好、正确度高、检出限低等优点，能满足食品中碘形态的测定要求。

#### 2.5.5 问题与建议

实验过程中采用纯水和0.1mol/L氢氧化钾溶液分别对样品进行超声和恒温水浴的方式来进行水溶性碘的前处理提取，发现采用纯水提取对于这些类型的样品并不适用，提取效果较差，测试含碘（碘元素总量）的生物成分标准物质样品基本无响应信号。而采用0.1mol/L氢氧化钾溶液进行超声和恒温水浴提取两种方式，提取效果更好，超声提取效果优于恒温水浴，但提取水溶性碘的结果比含碘（碘元素总量）的生物成分标准物质的标示值偏低。实验进行加标回收测试，回收

率情况良好。后期会验证采用0.1mol/L氢氧化钾溶液对于这些类型的样品进行不同超声时间和不同水浴温度的提取效果。

### 3 赛默飞世尔科技（中国）有限公司广州分公司

#### 3.1 鱼肉中汞形态的测定

##### 3.1.1 基本信息

表 3-1-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	赛默飞世尔科技（中国）有限公司广州分公司
验证人员	王其枫、颜儿作
验证完成日期	2020.9.10
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

##### 3.1.2 实验方法

###### 3.1.2.1 试剂与材料

3.1.2.1.1 硝酸 (HNO<sub>3</sub>), 优级纯, fisher;

3.1.2.1.2 盐酸 (HCl), 优级纯, 国药;

3.1.2.1.3 氢氧化钠 (NaOH), 优级纯, 国药;

3.1.2.1.4 L-半胱氨酸, 优级纯, sigma;

3.1.2.1.5 0.45um有机滤膜, 上海安谱。

3.1.2.1.6 甲基汞 GBW08675, 76.6 μg/g, (中国计量科学研究院); 无机汞 BW085523, 1000μg/L (水利部水环境监测评价研究中心)

###### 3.1.2.1.7 标准系列的配制

用5%盐酸配置无机汞和甲基汞混标浓度分别为: 0, 0.5, 1, 2, 5, 10 μg/L。

###### 3.1.2.2 仪器和设备

列出验证过程中使用的所用仪器和设备详细信息见表3-1-2。

表 3-1-2 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	仪器编号	性能状况	备注
ICP-MS/MS	赛默飞iCAP TQ	---	良好	---
高效液相色谱仪	赛默飞Ultimate3000	---	良好	---
超声波清洗器	中科仪US-2M	---	良好	---

### 3.1.2.3 前处理的方法

称取样品0.4500g，置于15ml塑料离心管中，加入10ml的盐酸溶液（5mol/L），放置过夜。室温下超声水溶液提取60min，期间振摇数次。4度以下以8000r/min转速离心15min。准确吸取2.0ml上清液至5ml离心管中，逐滴加入氢氧化钠溶液（6mol/L），使样液pH为2-7，加入0.1ml的L-半胱氨酸溶液（10g/L），最后定容到5ml。0.45um有机系滤膜过滤，再用水稀释3倍，上机测定。

### 3.1.2.4 仪器工作条件

根据各自仪器性能调至最佳状态，仪器工作条件见表3-1-3。

表 3-1-3 仪器参考条件

HPLC工作条件	色谱柱Acclaim C18, 5 μ m, 4*50mm 流动相: 60mM 乙酸铵, 5% 甲醇, 0.1% L-半胱氨酸, 0.4mL/min, 进样量: 50ul
ICP-MS工作条件	RF: 1550W, 冷却气(L/min):14, 辅助气(L/min):0.8, 雾化气(L/min):1.02, 驻留时间: 0.1s, 分析质量数: 202Hg, He流量: 4.5ml/min

### 3.1.3 验证结果

#### 3.1.3.1 方法线性范围及校准曲线的绘制

按浓度由低到高的顺序分别取50 μ L标准系列溶液以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。各标准系列及其响应值见表3-1-4，线性方程的相关参数见表3-1-5。甲基汞的校准曲线图见图3-1-1，无机汞的校准曲线图见图3-1-2，甲基汞和无机汞的色谱图见图3-1-3。

表 3-1-4 标准系列与响应值

标准系列	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6
浓度(μg/L)	0	0.5	1	2	5	10
无机汞峰面积	10084	28720	44934	85106	210414	413760
甲基汞峰面积	30	18485	34816	67962	172107	350977

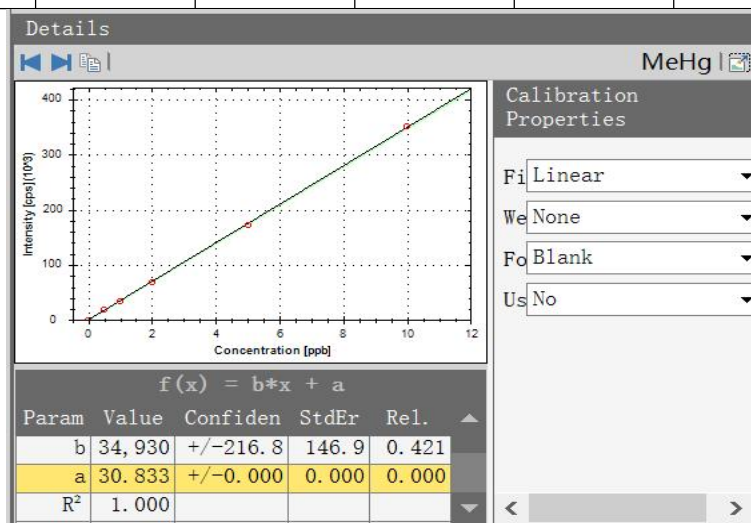


图 3-1-1 甲基汞的校准曲线图

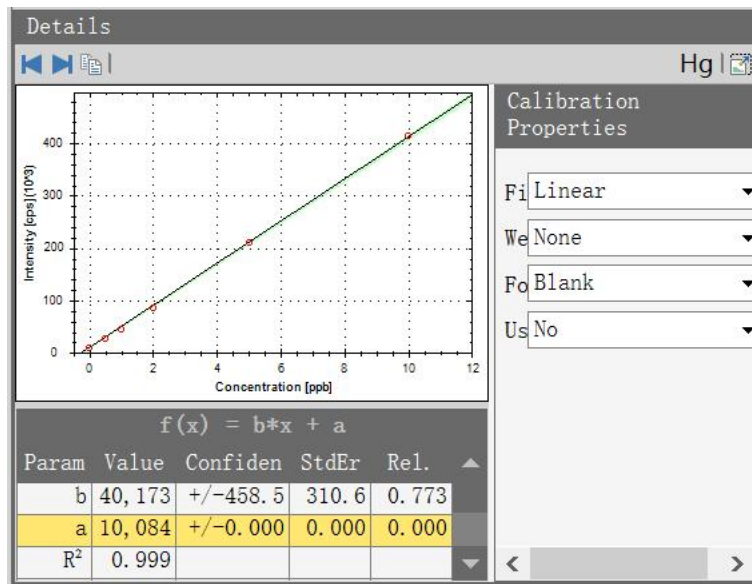


图 3-1-2 无机汞的校准曲线图

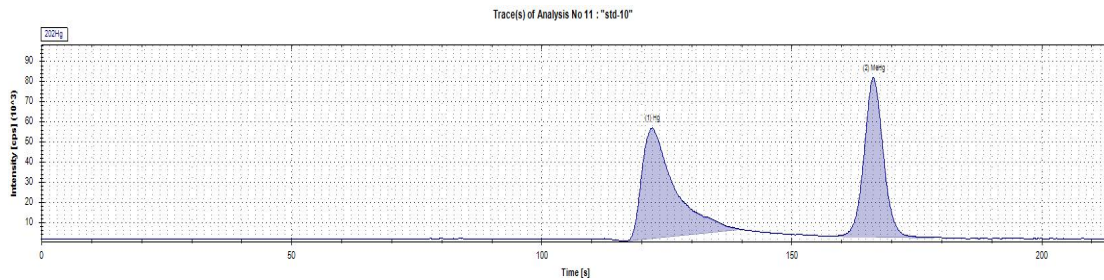


图 3-1-3STD5 标准溶液色谱图

表 3-1-5 方法的线性范围、线性方程

线性范围	线性方程参数		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
无机汞	40173.718	10084.484	0.999
甲基汞	34930.676	30.833	0.999

### 3.1.3.2 检出限、定量限

采用逐级稀释法，以3倍信噪比作为仪器的检出限，以10倍信噪比作为仪器的定量限，详见表3-1-6。

表 3-1-6 仪器检出限及定量限 (μg/L)

组分名称	检出限	定量限
无机汞	0.03	0.09
甲基汞	0.1	0.3

### 3.1.3.3 方法精密度及正确度

取GBW10029鱼肉标准样品，按3.1.2.3处理7份。样品色谱图见图3-1-4，检测结果见表3-1-7和表3-1-8。



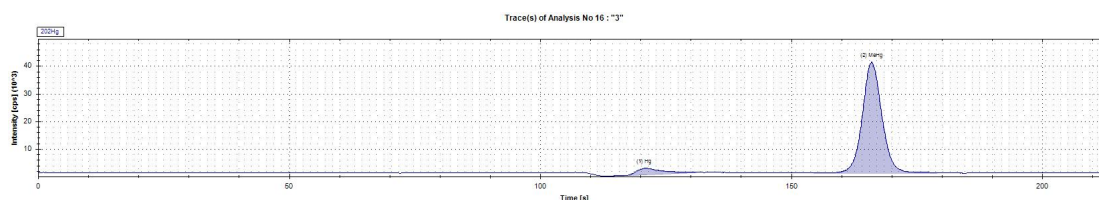


图 3-1-4 GBW10029 鱼肉标准样品色谱图

表 3-1-7 正确度试验结果

标准样品 编号及名称	组分	标示值 ( $\bar{x} \pm s$ , mg/kg)	测定结果均值 (mg/kg)	结果是否都在 不确定度范围内
GBW10029 鱼肉	总汞	0.85 ± 0.03	0.86	是
	无机汞	NA	0.011	——
	甲基汞	0.84 ± 0.03	0.85	是

表 3-1-8 精密度试验结果 (mg/kg)

组分	1	2	3	4	5	6	7	RSD (%)
甲基汞	0.87	0.84	0.86	0.85	0.83	0.84	0.83	1.7
无机汞	0.010	0.011	0.011	0.012	0.011	0.011	0.011	5.2
总汞	0.88	0.851	0.871	0.862	0.841	0.851	0.841	1.5

### 3.1.4 小结

实验结果表明：该方法用于测定鱼肉中汞形态时，线性范围宽、精密度好、正确度高、灵敏度高等优点，能满足鱼肉中汞形态的测定要求。

## 3.2 鱼肉中砷形态的测定

### 3.2.1 基本信息

表 3-2-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	赛默飞世尔科技（中国）有限公司广州分公司
验证人员	王其枫、颜儿作
验证完成日期	2020.9.10
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

### 3.2.2 实验方法

#### 3.2.2.1 试剂与材料

3.2.2.1.1 硝酸 (HNO<sub>3</sub>)，优级纯，fisher。

3.2.2.1.2 正己烷，默克，色谱纯。

3.2.2.1.3 C18小柱，上海安谱。；

3.2.2.1.4 0.45um有机滤膜，上海安谱。

#### 3.2.2.1.5 标准品

砷甜菜碱溶液标准物质，GBW08670，浓度0.518umol/g，2mL/瓶；二甲基砷溶液标准物质，GBW08669，浓度0.706umol/g，2mL/瓶；亚砷酸根溶液标准物质，GBW08666，浓度1.011umol/g，2mL/瓶；砷胆碱溶液标准物质，GBW08671，浓度0.374umol/g，2mL/瓶；一甲基砷溶液标准物质，GBW0868，浓度0.335umol/g，2mL/瓶；砷酸根溶液标准物质，GBW08667，浓度0.233umol/g，2mL/瓶。

#### 3.2.2.1.6 标准系列的配制

用1%硝酸配置6种砷混标浓度分别为：0，2，5，10，20，50 μg/L。

#### 3.2.2.2 仪器和设备

列出验证过程中使用的所用仪器和设备信息见表3-2-2。

表 3-2-2 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	仪器编号	性能状况	备注
ICP-MSMS	赛默飞iCAP TQ		良好	
离心机	赛默飞MULTIFUGE X3R		良好	
恒温箱	上海平轩CH1050		良好	

#### 3.2.2.3 前处理方法

称取0.1650g样品，置于50ml塑料离心管中，加入20ml 0.15mol/L的硝酸溶液，放置过夜。于90度恒温箱中热浸提2.5h，每0.5h振摇1min。提取完毕，取出冷却至室温，8000r/min离心15min。取5ml上清液置于离心管中，加入5ml正己烷，振摇1min后，8000r/min离心15min，弃去上层正己烷。按此过程重复一次。吸取下层清液，经0.45um有机滤膜过滤机C18小柱净化后进样。按同一操作方法作空白试验。

#### 3.2.2.4 仪器参考条件

根据各自仪器性能调至最佳状态。仪器参考条件见表3-2-3。

表 3-2-3 仪器参考条件

HPLC工作条件	色谱柱:As7+AG7；流动相：A相：2mmol碳酸铵，B相：10mmol碳酸铵，流速1ml/min，进样量：50ul
ICP-MS工作条件	RF: 1550W，冷却气(L/min):14，辅助气(L/min):0.8，雾化气(L/min):1.02，驻留时间：0.1s，分析质量数：75As，He流量：4.5ml/min

#### 3.2.3 验证结果

##### 3.2.3.1 方法线性范围及校准曲线的绘制

按浓度由低到高的顺序分别取50 μL标准系列溶液以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。浓度和峰面积的相关数据见表3-2-4，各组分的校准曲线见图3-2-1至图3-2-6，STD3标准点对应的色谱图见图3-2-7，各组分线性方程相关参数见表3-2-5。

表 3-2-4 标准系列与响应值

标准系列	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6
浓度 (μg/L)	0	2	5	10	20	50
AsB峰面积	13	19364	48725	97283	198674	498408
As(III)峰面积	15	5777	30026	63325	120991	290732
DMA峰面积	8	18900	47460	95740	195785	487074
AsC峰面积	13	16625	42593	86738	176462	437914
MMA峰面积	22	17868	44282	85613	184647	459117
As(V)峰面积	1596	23631	50787	79514	197928	490155

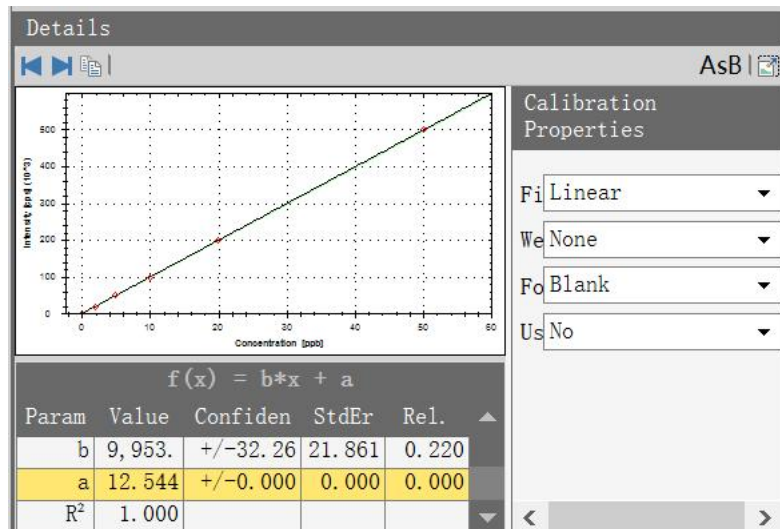


图 3-2-1 AsB 校准曲线图

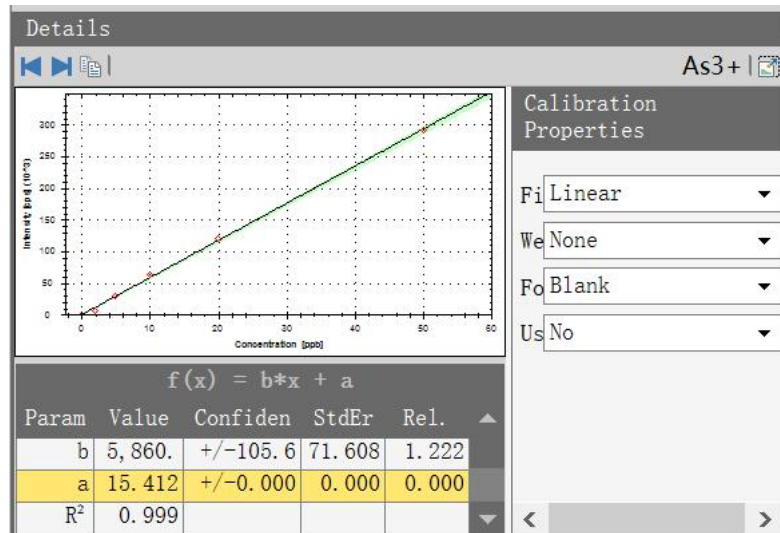


图 3-2-2 As(III) 校准曲线图

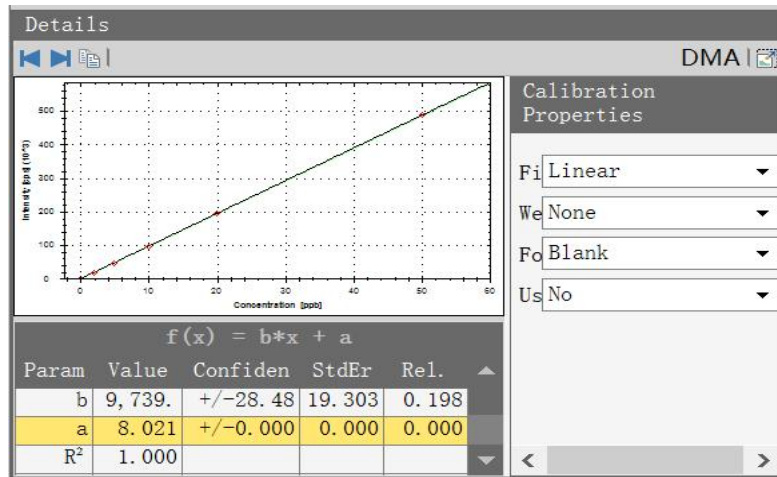


图 3-2-3 DMA 校准曲线图

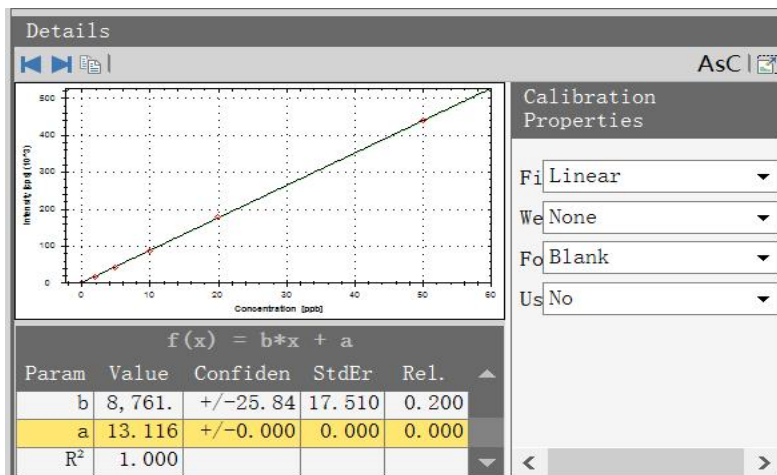


图 3-2-4 AsC 校准曲线图

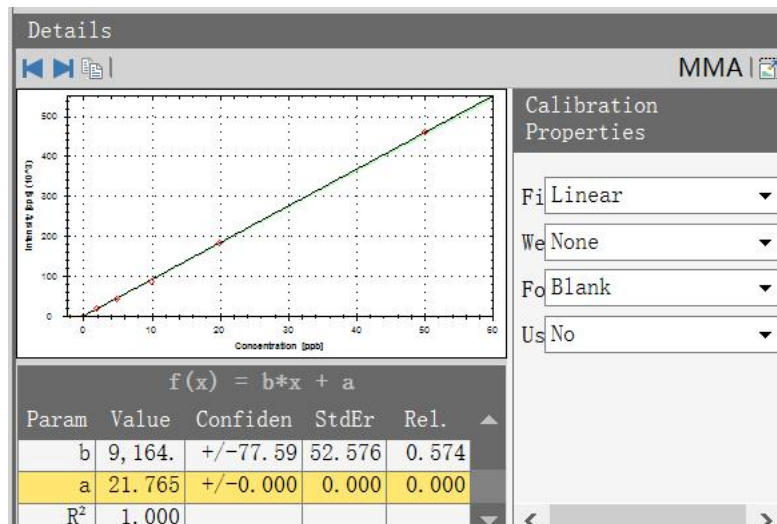


图 3-2-5 MMA 校准曲线图

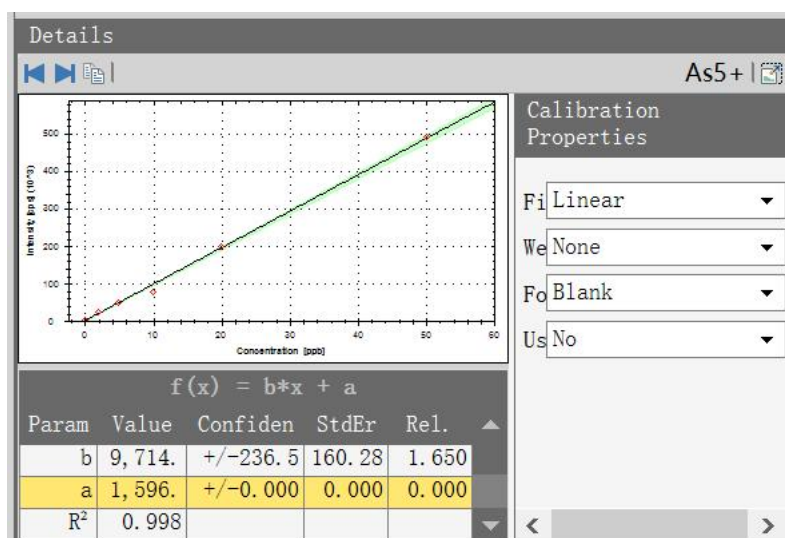


图 3-2-6 As (V) 校准曲线图

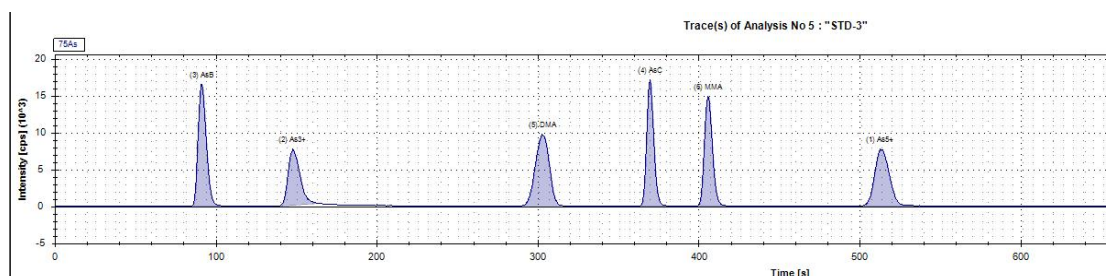


图 3-2-7 STD-3 曲线谱图

表 3-2-5 方法的线性范围、线性方程

线性范围	线性方程参数		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
AsB	9953.116	12.544	0.999
As (III)	5860.021	15.421	0.999
DMA	9739.591	8.021	0.999
AsC	8761.107	13.116	0.999
MMA	9164.791	21.765	0.999
As (V)	9714.024	1596.159	0.999

### 3.2.3.2 检出限、定量限

采用逐级稀释法，以3倍信噪比作为仪器的检出限，以10倍信噪比作为仪器的定量限，结果见3-2-6。

表 3-2-6 仪器检出限及定量限 (μg/L)

组分名称	检出限	定量限
AsB	0.015	0.045
As (III)	0.03	0.09
DMA	0.03	0.09

AsC	0.015	0.045
MMA	0.015	0.045
As (V)	0.01	0.03

### 3.2.3.3 方法精密度及正确度

将BCR-627鱼肉标准样品，按照3.2.2.3处理7份，样品谱图见图3-2-8，检测结果的相关数据见表3-2-7，表3-2-8。

表 3-2-7 正确度试验结果

标准样品编号	组分	标示值 $\mu\text{mol/kg}$	测定结果均值 $\mu\text{mol/kg}$	结果是否都在不确定度范围内
BCR-627	AsB	52 $\pm$ 3	49.78	是
	DMA	2.0 $\pm$ 0.3	2.18	是
	As (III)	无	0.15	——
	AsC	无	0.3	——
	MMA	无	0.14	——
	As (V)	无	0.25	——

表 3-2-8 精密度试验结果 ( $\mu\text{mol/kg}$ )

组分	1	2	3	4	5	6	7	RSD/%
AsB	50.71	49.23	49.22	49.39	49.94	49.82	50.16	1.0
DMA	2.26	2.17	2.14	2.13	2.24	2.18	2.15	2.1
As (III)	0.16	0.16	0.16	0.15	0.15	0.16	0.13	6.7
AsC	0.3	0.31	0.3	0.29	0.3	0.27	0.31	4.3
MMA	0.16	0.14	0.13	0.14	0.15	0.13	0.14	7.0
As (V)	0.25	0.27	0.25	0.26	0.23	0.25	0.25	4.5

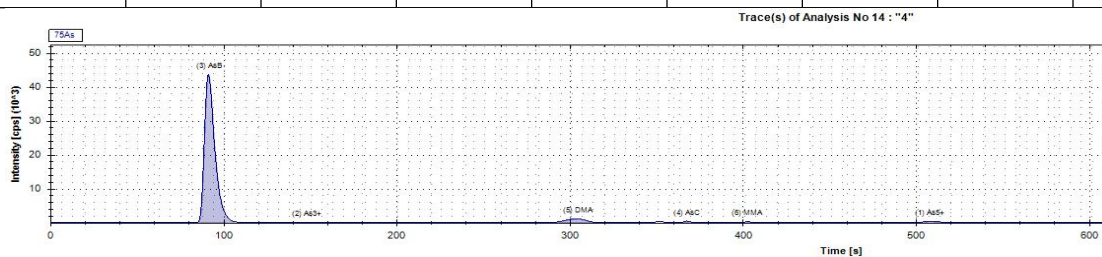


图 3-2-8 样品谱图

### 3.2.4小结

实验结果表明：该方法用于测定鱼肉中砷形态时，线性范围宽、精密度好、正确度高、检出限低等优点，能满足鱼肉中砷形态的测定要求。

## 4 中山大学测试中心

### 4.1 奶粉中维生素B12测定

#### 4.1.1 基本信息

表 4-1-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	中山大学测试中心
验证人员	刘洪涛、冯顺卿
验证完成日期	2020. 11. 10
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

#### 4.1.2 实验方法

##### 4.1.2.1 试剂与材料

4.1.2.1.1 浓盐酸 (Thermo, Fisher)

4.1.2.1.2 甲醇 (Merck)

4.1.2.1.3 乙酸铵 (Sigma-Aldrich)

4.1.2.1.4 维生素B12标准物质 (Dr. Ehrenstorfer)

4.1.2.1.5 流动相A (10 mM乙酸铵): 称取0.7708 g乙酸铵溶于1L超纯水中。

4.1.2.1.6 标准溶液系列: 采用逐级稀释法配制成浓度分别为2, 5, 10, 20, 50, 100 ng/mL的标准溶液系列 (奶粉样品测试), 以及浓度分别为50, 100, 200, 500, 800 ng/mL的标准溶液系列 (线性范围验证)。

4.1.2.1.7 0.01 mol/L盐酸溶液: 吸取42  $\mu$ L浓盐酸于50 mL超纯水中。

##### 4.1.2.2 仪器和设备

4.1.2.2.1 电感耦合等离子体质谱仪 (iCAP Q, Thermo Fisher Scientific)

4.1.2.2.2 高效液相色谱仪 (1260, Agilent)

4.1.2.2.3 超声清洗仪

##### 4.1.2.3 样品前处理

称取1g样品于12 mL离心管中, 加入2mL 0.1 mol/L盐酸溶液及2mL甲醇, 涡旋后, 超声萃取15 min, 离心15 min (12000 rpm), 取上清液过0.22  $\mu$ m滤膜备测, 同时制备全程序空白。

##### 4.1.2.4 仪器工作条件

###### 4.1.2.4.1 色谱条件

色谱分离采用的色谱柱为: Hypersil Gold C18 (Thermo Fisher, 150 $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m), 流动相A为10 mM乙酸铵溶液, 流动相B为甲醇, 采取A:B=8:2的比例等度洗脱, 流速为0.8 mL/min, 进样量为10  $\mu$ L。

###### 4.1.2.4.2 电感耦合等离子体质谱条件

电感耦合等离子体质谱仪联用前须经调谐, 优化灵敏度、氧化物产率、双电荷产率等参数, 优化后的仪器条件见表4-1-2。



表 4-1-2 ICP-MS 仪器参数

仪器参数	条件
RF 功率	1, 550 W
雾化器流速	0.79 L/min
冷却器流速	14 L/min
辅助气流速	0.8 L/min
碰撞气流速 (He)	4.5 mL/min
采样深度	5 mm
滞留时间	0.1 s
半导体制冷温度 (雾化室)	2.7 °C
测量模式	动能歧视 (KED)

#### 4.1.3 验证结果

##### 4.1.3.1 方法线性范围及校准曲线的绘制

标准溶液及样品溶液依次按照优化后的仪器参数上机测试，以归一化的峰面积（以5~10 ng/mL Sc标准溶液响应值为归一化因子，三通在线加入）对应标准溶液浓度建立线性关系，定量测定样品溶液浓度。标准溶液及样品溶液的色谱图见图4-1-1、图4-1-2。

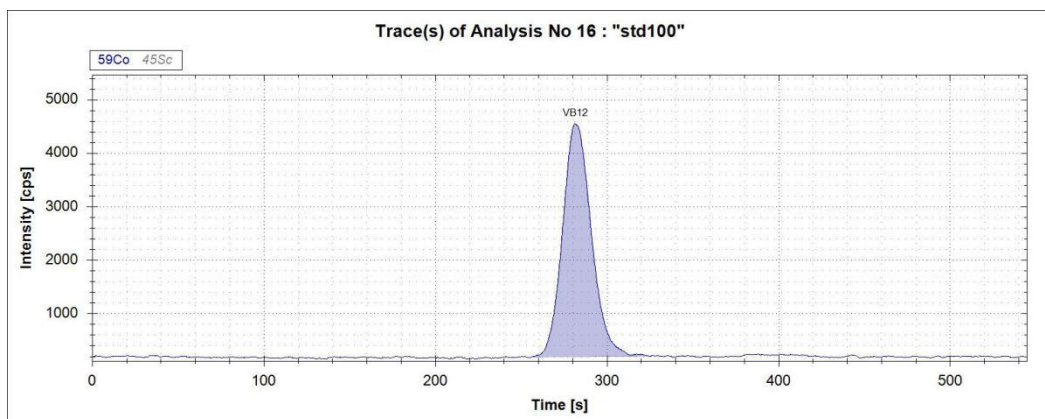


图 4-1-1 维生素 B12 标准溶液色谱图

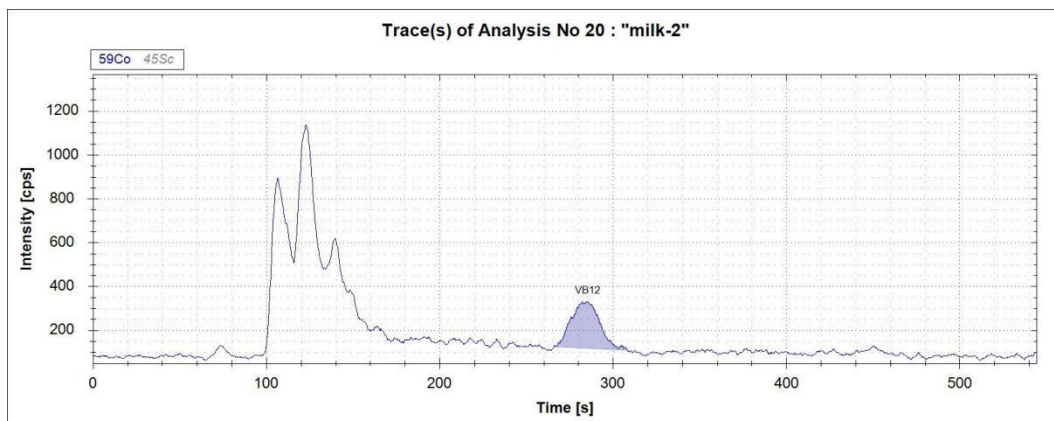


图 4-1-2 维生素 B12 色谱图 (奶粉样品)



以浓度为横坐标，归一化峰面积（以5~10 ng/mL标准溶液响应值为归一化因子，三通在线加入）为纵坐标，绘制标准曲线（图4-1-3，图4-1-4）。

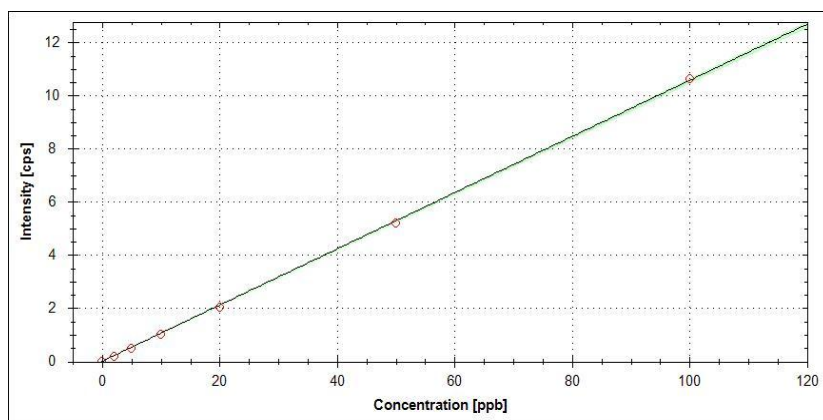


图 4-1-3 维生素 B12 标准曲线 1（奶粉中维生素 B12 测定用）

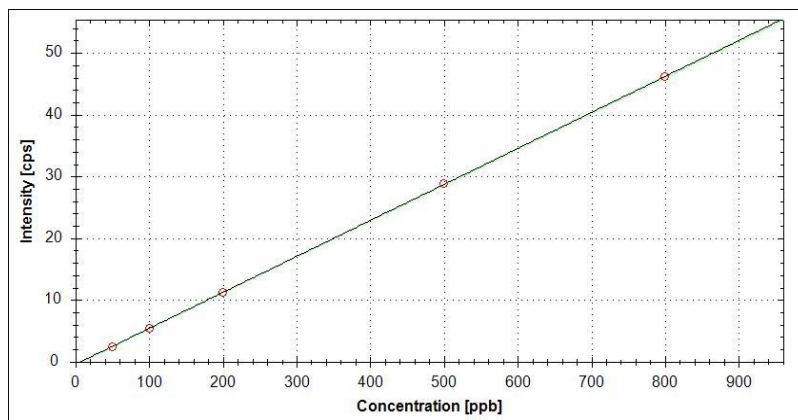


图 4-1-4 维生素 B12 标准曲线 2（线性范围验证）

线性方程见表4-1-3。

表 4-1-3 HPLC-ICP-MS 测定维生素 B12 的线性范围、线性方程

线性范围 (ng/mL)	线性方程参数 ( $y=ax+b$ )		
	$a$	$b$	$r^2$
2~100	0.106	0.009	0.99971
50~800	0.058	-0.401	0.99998

从表4-1-3中可以看到，HPLC-ICP-MS测定维生素B12在低浓度范围及高浓度范围均获得了满意的线性响应，这不仅适合于超低含量维生素B12的检测，亦有可能作为高含量维生素B12的检测方法（如保健品、饲料等样品）。

#### 4.1.3.2 检出限、定量限

以3倍信噪比对应的浓度为检出限，10倍信噪比对应的浓度定量限。在称样量1g、提取液体积为4mL以及进样量为10 μL的条件下，检出限为4.3ng/g，定量限为14ng/g。本次验证样品提取液未进行净化浓缩处理，如果采取增大称样量和提取液体积，并经固相萃取小柱净化浓缩处理，方法检出限及定量限将大大降低。

#### 4.1.3.3 方法精密度和正确度

对一个实际奶粉样品及一个奶粉加标样品进行精密度和正确度验证，各样品/加标样平行处理6份，同时做空白试验，计算结果的相对标准偏差及回收率，结果详见表4-1-4。

表 4-1-4 方法准确度验证结果

序号	样品中VB12含量 (ng/g)	加标量 (ng/g)	加标后样品中VB12含量 (ng/g)	回收率
1	15.5	15	29.0	91.3
2	19.1	15	26.9	77.3
3	18.1	15	28.9	90.7
4	13.5	15	28.0	84.7
5	12.6	15	32.2	113
6	13.2	15	32.6	115
平均	15.3		29.6	95.3
RSD	17.7%		7.8%	

## 4.2 环境水样中含钆造影剂的检测

### 4.2.1 基本信息

表 4-2-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	中山大学测试中心
验证人员	刘洪涛、冯顺卿
验证完成日期	2020.11.10
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

### 4.2.2 实验方法

#### 4.2.2.1 试剂与材料

4.2.2.1.1 甲酸铵（百灵威）

4.2.2.1.2 乙腈（Merck）

4.2.2.1.3 氨水（广州试剂厂）

4.2.2.1.4 Gd-DTPA-BMEA（固体，USP）

4.2.2.1.5 Gd-DTPA-BMA（固体，USP）

4.2.2.1.6 Gd-HP-DO3A（固体，USP）

4.2.2.1.7 Gd-BT-DO3A注射液（1.0 mol/L，Bayer Pharma AG）

4.2.2.1.8 Gd-DTPA注射液（0.5 mol/L，Bayer Pharma AG）

4.2.2.1.9 Gd-EOB-DTPA注射液（0.25 mol/L，Bayer Pharma AG）

4.2.2.1.10 Gd-BOPTA注射液（0.5 mol/L，上海博莱科信谊药业有限公司）

4.2.2.1.11 流动相A（10 mM甲酸铵，pH=9）：称取0.7567 g甲酸铵溶于1 L超纯水中，用氨水调节pH=9。

4.2.2.1.12 Gd-DTPA-BMEA标准溶液（100 mg/L）：称取2.5 mg固体于25 mL容量瓶，定容至刻度。

4.2.2.1.13 Gd-DTPA-BMA标准溶液（100 mg/L）：称取2.5 mg固体于25 mL容量瓶，定容至刻度。

4.2.2.1.14 Gd-HP-DO3A标准溶液（100 mg/L）：称取2.5 mg固体于25 mL容量瓶，定容至刻度。

4.2.2.1.15 中间储备液（1 mg/L）：分别吸取各含钆造影剂标准溶液/对照品溶液适量，加入10 mL容量瓶中，定容至刻度，配制为1 mg/L混合标准溶液。

4.2.2.1.16 标准溶液系列：吸取中间储备液适量，配制浓度分别为0.5，1，2，5，10，20，30 ng/mL标准溶液系列。

#### 4.2.2.2 仪器和设备

4.2.2.2.1 电感耦合等离子体质谱仪（iCAP Q，Thermo Fisher Scientific）

4.2.2.2.2 高效液相色谱仪（1260，Agilent）

#### 4.2.2.3 样品前处理

吸取0.5 mL污水处理厂入水水样于1.5 mL离心管，加入0.5 mL乙腈，氮吹至干，加入0.1 mL流动相（12mM甲酸铵:乙腈=78:22），涡旋后转移至进样瓶，上机测试。

#### 4.2.2.4 仪器工作条件

##### 4.2.2.4.1 色谱条件

色谱分离采用的色谱柱为：ZIC-pHILIC column(150 × 2.1 mm i.d., 5 μm, 200 Å, SeQuant GmbH, Germany)，流动相A为12 mM甲酸铵溶液，流动相B为乙腈，采用梯度洗脱，洗脱程序见表4-2-2，进样量为5 μL。

表 4-2-2 梯度洗脱程序 (含钆造影剂测定)

时间 (min)	流动相A (%)	流动相B (%)	流速 (mL/min)
0	78	22	0.3
3	72	28	0.3
9	72	28	0.3
12	78	22	0.3
17	78	22	0.3

#### 4.2.2.4.2 电感耦合等离子体质谱条件

电感耦合等离子体质谱仪联用前须经调谐, 优化灵敏度、氧化物产率、双电荷产率、加氧量等参数, 优化后的仪器条件见表4-2-3。

表 4-2-3 ICP-MS 仪器参数

仪器参数	条件
RF 功率	1,550 W
雾化器流速	0.604 L/min
冷却器流速	15 L/min
辅助气流速	0.9 L/min
碰撞气流速 (He)	3.03 mL/min
氧气流速	75 mL/min
采样深度	6.5 mm
驻留时间	0.2 s
半导体制冷温度 (雾化室)	-8 °C
测量模式	动能歧视 (KED)

#### 4.2.3 验证结果

##### 4.2.3.1 方法线性范围及校准曲线的绘制

标准溶液及样品溶液依次按照优化后的仪器参数上机测试, 以峰面积对应标准溶液浓度建立线性关系, 定量测定样品溶液浓度。标准溶液及样品溶液的色谱图见图4-2-1、图4-2-2。

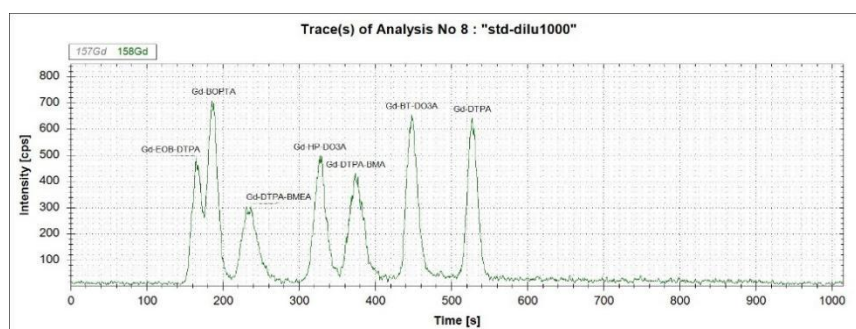


图 4-2-1 含钆造影剂色谱图 (标准溶液)

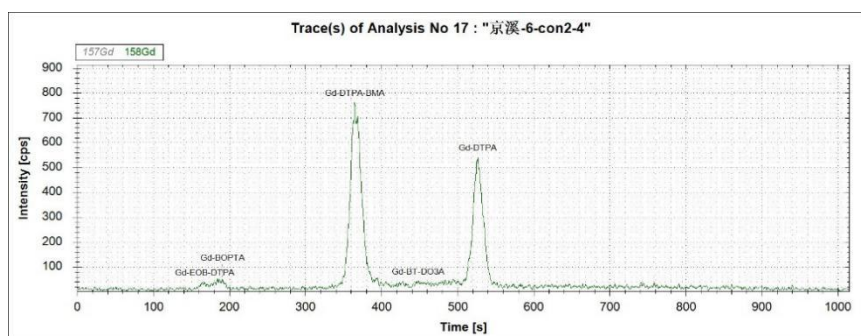
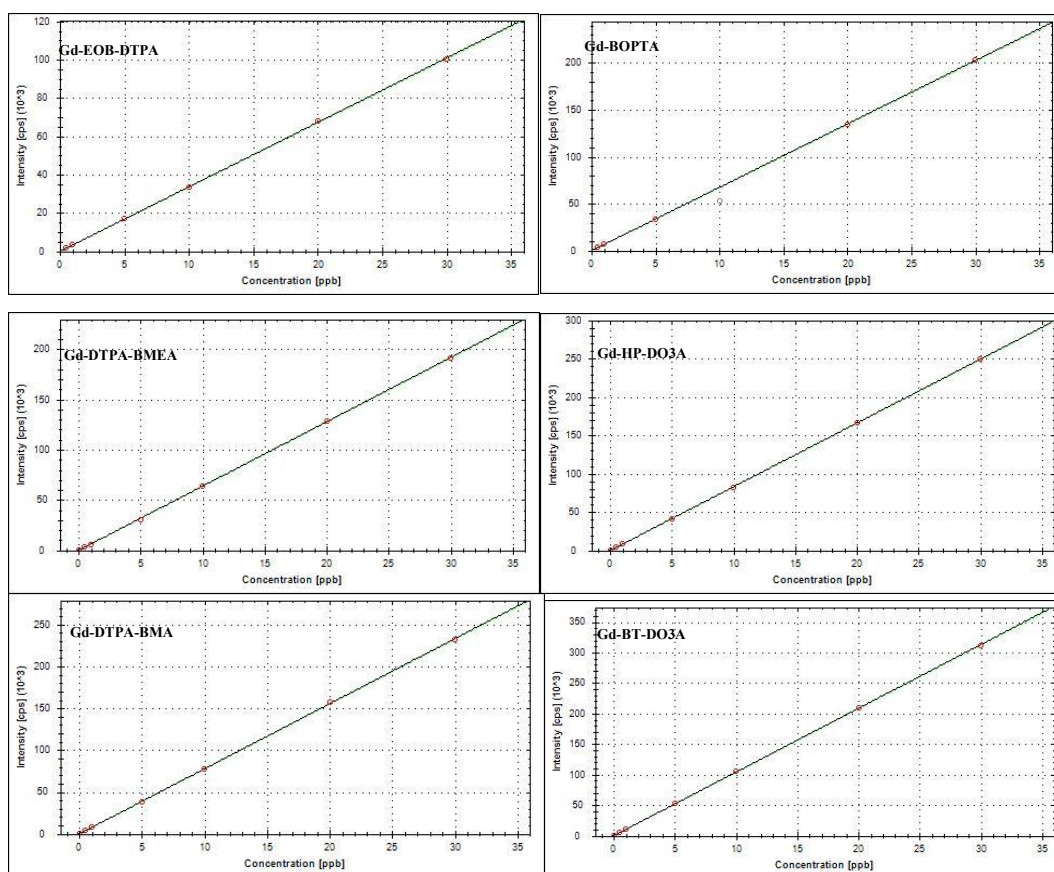


图 4-2-2 含钆造影剂色谱图（污水处理厂入水）

以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线（图4-2-3）。



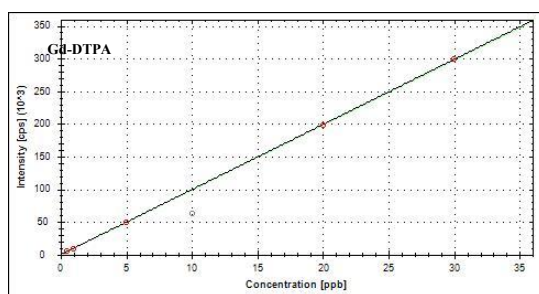


图 4-2-3 含钆造影剂标准曲线

各组分的线性方程见表7。

表 4-2-4 HPLC-MS 测定 7 种含钆造影剂的线性范围、线性方程

化合物	线性范围 ( $\mu\text{g/L}$ )	线性方程参数 ( $y=ax+b$ )		
		$a$	$b$	$r^2$
Gd-EOB-DTPA	0.5-30	3368.440	0	0.99986
Gd-BOPTA	0.5-30	6759.557	0	0.99992
Gd-DTPA-BMEA	0.5-30	6396.260	0	0.99991
Gd-HP-DO3A	0.5-30	8320.161	0	0.99997
Gd-DTPA-BMA	0.5-30	7781.666	0	0.99992
Gd-BT-DO3A	0.5-30	10445.555	0	0.99991
Gd-DTPA	0.5-30	9963.594	0	0.99996

#### 4.2.3.2 检出限、定量限

因为该方法测定样品为水样，基质简单，因此，以3倍信噪比对应的浓度为方法检出限，10倍信噪比对应的浓度方法定量限。各含钆造影剂的检出限和定量限见表4-2-5。

表 4-2-5 仪器检出限、定量限及检出限、定量限

化合物	ILOD ( $\mu\text{g/L}$ )	ILOQ ( $\mu\text{g/L}$ )	MLOD ( $\mu\text{g/L}$ )	MLOQ ( $\mu\text{g/L}$ )
Gd-EOB-DTPA	0.03	0.09	0.006	0.018
Gd-BOPTA	0.03	0.09	0.006	0.018
Gd-DTPA-BMEA	0.07	0.25	0.014	0.050
Gd-HP-DO3A	0.07	0.23	0.014	0.046
Gd-DTPA-BMA	0.08	0.26	0.016	0.052
Gd-BT-DO3A	0.04	0.14	0.008	0.028
Gd-DTPA	0.06	0.22	0.012	0.044

#### 4.2.3.3 方法精密度及正确度

对两个实际环境水样和两个水平的环境水样加标样进行了精密度和正确度验证实验，每个样品/加标样平行处理3份，同时做空白试验，计算结果的相对标准偏差及回收率，结果详见表4-2-6。

表 4-2-6 方法准确度验证结果（含钆造影剂检测）

化合物	平行	样品含量				样品2加标回收率实验结果							
		样品1		样品2		加标1				加标2			
		样品1 ( $\mu\text{g/L}$ )	RSD (%)	样品2 ( $\mu\text{g/L}$ )	RSD (%)	加标量 ( $\mu\text{g/L}$ )	加标后含量 ( $\mu\text{g/L}$ )	回收率 (%)	RSD (%)	加标量 ( $\mu\text{g/L}$ )	加标后含量 ( $\mu\text{g/L}$ )	回收率 (%)	RSD (%)
Gd- EOB- DTPA	1	0.045		0.012		0.2	0.177	82.5		2	1.63	80.7	
	2	0.046		0.014		0.2	0.187	87.6		2	1.66	82.2	
	3	0.049	4.7	0.011	10.9	0.2	0.175	81.2	3.8	2	1.87	92.8	7.7
	平均	0.047		0.012			0.180	83.7			1.72	85.2	
Gd- BOPTA	1	N.D.		0.005		0.2	0.216	104		2	1.86	92.5	
	2	N.D.		0.004		0.2	0.218	105		2	1.80	89.5	
	3	N.D.		0.014	74.5	0.2	0.218	105	0.5	2	1.89	94.2	2.6
	平均			0.007			0.217	105			1.85	92.1	
Gd- DTPA- BMEA	1	N.D.		N.D.		0.2	0.197	98.3		2	1.68	84.0	
	2	N.D.		N.D.		0.2	0.198	99.2		2	1.66	82.9	
	3	N.D.		N.D.		0.2	0.160	79.8	11.8	2	1.79	89.3	4.0
	平均						0.185	92.4			1.71	85.4	
Gd- HP- DO3A	1	N.D.		N.D.		0.2	0.152	75.9		2	1.70	84.9	
	2	N.D.		N.D.		0.2	0.167	83.4		2	1.69	84.7	
	3	N.D.		N.D.		0.2	0.169	84.4	5.7	2	1.71	85.4	0.4
	平均						0.162	81.2			1.70	85.0	
Gd- DTPA- BMA	1	0.256		0.299		0.2	0.454	75.9		2	1.93	81.2	
	2	0.257		0.297		0.2	0.483	90.3		2	1.89	79.3	
	3	0.269	2.9	0.310	2.2	0.2	0.455	76.2	3.5	2	1.88	79.0	1.3
	平均	0.261		0.302			0.464	80.8			1.90	79.8	
Gd- BT- DO3A	1	N.D.		N.D.		0.2	0.143	71.4		2	1.42	70.8	
	2	N.D.		N.D.		0.2	0.159	79.7		2	1.49	74.5	
	3	N.D.		N.D.		0.2	0.143	71.4	6.5	2	1.46	73.2	2.5
	平均						0.148	74.2			1.46	72.8	
Gd- DTPA	1	0.115		0.152		0.2	0.305	74.8		2	1.64	74.4	
	2	0.126		0.151		0.2	0.317	80.9		2	1.65	74.9	
	3	0.120	4.6	0.163	4.5	0.2	0.303	73.8	2.5	2	1.75	79.6	3.4

平均	0.120	0.155	0.308 76.5	1.68 76.3
----	-------	-------	------------	-----------

#### 4.3 小结

实验结果表明，高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用法可应用于不同类型样品中不同元素形态的定量分析，在应用于奶粉中的维生素B12测定及环境水样中的含钆造影剂测定中，线性范围宽、精密度好、正确度高、检出限低，可满足实际检测要求。

## 5 北京吉天仪器有限公司

### 5.1 雄黄中砷形态

#### 5.1.1 基本信息

表 5-1-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	北京吉天仪器有限公司
验证人员	齐悦涵、李晓丽、李顺
验证完成日期	2020.9.18
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

#### 5.1.2 实验方法

##### 5.1.2.1 试剂与材料

5.1.2.1.1 乙二胺四乙酸二钠，二水（西格玛试剂公司）。

5.1.2.1.2 磷酸二氢铵（分析纯，国药集团化学试剂有限公司）。

5.1.2.1.3 磷酸氢二钾（分析纯，国药集团化学试剂有限公司）。

5.1.2.1.4 氢氧化钠（分析纯，国药集团化学试剂有限公司）。

5.1.2.1.5 胰蛋白酶（阿拉丁试剂公司）

5.1.2.1.6 氨水（分析纯，国药集团化学试剂有限公司）。

5.1.2.1.7 人工肠液（①称磷酸二氢钾6.8g加500mL水溶解，用氢氧化钠调pH至6.8，②取胰蛋白酶10g加水溶解，将上述①②溶液混匀，定容至1L）

5.1.2.1.8 As(III)、As(V)标准储备液（中国计量科学研究院）

5.1.2.1.9 标准系列的配制

标准曲线配置：吸取对照品储备液适量，加入0.02mol/L乙二胺四乙酸二钠制成标准溶液，标准溶液配制梯度见表5-1-2：

表 5-1-2 标准曲线浓度表

元素	标准溶液浓度(μg/kg)
----	---------------



As (III)	0、5、10、50、100、200
As (V)	0、5、10、50、100、200

### 5.1.2.2 仪器和设备

本实验中器所用仪器和设备详细信息详见表5-1-3。

表 5-1-3 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	性能状况	备注
电感耦合等离子体质谱仪	EXPEC7000	良好	无
液相色谱	SPARK	良好	无
超声水浴仪	CS-16	良好	无
电子天平	MS104	良好	无
pH计	PHSJ-4F	良好	无

### 5.1.2.3 样品前处理

取一定量的雄黄，将雄黄研磨成粉末，过5号筛（80目），保存备用。取样品粉末20mg（精确0.01mg），置于250ml塑料量瓶中，加入人工肠液约200ml摇匀，置37℃水浴中超声处理（功率300W，频率45kHz）2小时（每隔15min充分摇匀一次），放冷，用人工肠液稀释至刻度，摇匀，取适量至50ml塑料离心管中，静置20-24h，用洗耳球轻轻吹去上层表面溶液，吸取中层溶液约15ml（吸取时应避免带入颗粒），用微孔滤膜（10um）滤过，移取滤液5ml，置50ml容量瓶中后，用0.02mol/L乙二胺四乙酸钠稀释至刻度，摇匀上机测试。用同样前处理方法做空白样品。

### 5.1.2.4 仪器参考条件

根据各自仪器性能调至最佳状态。仪器参考条件见表5-1-4和表5-1-5。

表 5-1-4 液相色谱工作条件

洗脱程序	时间 (min)	流速 (mL/min)	流动相A	流动相B
	0	1	0	100
	15	1	100	0
	20	1	0	100
色谱柱	PRP-X100阴离子交换色谱柱250mmx4.1mm, 10um;			
流动相	A: 0.025mol/L磷酸二氢铵溶液（氨水调节pH=8）; B: 水			

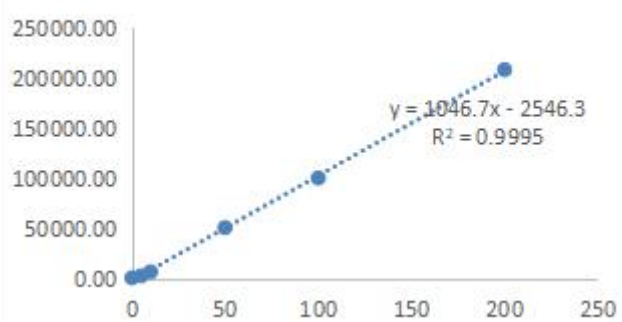
表5-1-5 电感耦合等离子体质谱工作条件

仪器型号	EXPEC7000	采样深度 (mm)	3
RF功率/W	1500	雾化气 (L/min)	1.12
辅助气 (L/min)	1	冷却气 (L/min)	14
驻留时间 (ms)	10		

### 5.1.3 验证结果

#### 5.1.3.1 方法线性范围及校准曲线的绘制

As(III)标准曲线图



As(V)标准曲线图

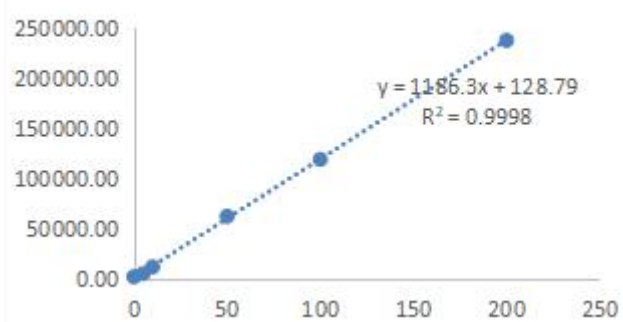


表5-1-8 仪器检出限及定量限 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

分析项目	检出限	定量限
As (III)	0.49	1.63
As (V)	0.30	1.00

### 5.1.3.3 方法精密度及正确度

用处理好的样品进行精密度试验，平行处理7份，同时做空白试验，计算结果的相对标准偏差。通过加标实验验证结果正确度，结果详见表5-1-9和表5-1-10。

表5-1-9 精密度试验结果 (单位: %)

砷形态	1	2	3	4	5	6	7	RSD/%
As (III)	1.22	1.24	1.25	1.20	1.25	1.20	1.23	1.86%
As (V)	0.12	0.12	0.11	0.11	0.12	0.11	0.11	1.88%

表5-1-10 正确度试验结果 (单位:  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

砷形态	本底测定值	加标值	加标测定值	回收率/%
As (III)	4.34	100	106.1	101.76
As (V)	2.01	100	105.7	103.69

## 5.2 鱼肉中汞形态的测定

### 5.2.1 基本信息

表5-2-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	北京吉天仪器有限公司
验证人员	齐悦涵、李晓丽、李顺
验证完成日期	2020.9.18
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

### 5.2.2 实验方法

#### 5.2.2.1 试剂与材料

##### 5.2.2.1.1 乙酸铵 (色谱纯, 国药集团化学试剂有限公司)

- 5.2.2.1.2 甲醇（色谱纯，国药集团化学试剂有限公司）
- 5.2.2.1.3 氨水（分析纯，国药集团化学试剂有限公司）
- 5.2.2.1.4 L-半胱氨酸（生化试剂，国药集团化学试剂有限公司）
- 5.2.2.1.5 四甲基氢氧化铵，25%水溶液（分析纯，国药集团化学试剂有限公司）
- 5.2.2.1.6 流动相的配制：0.1% L-半胱氨酸-10mmol/L乙酸铵-氨水溶液：称取0.771g乙酸铵和1g L-半胱氨酸，加入900mL超纯水溶解，用氨水调节pH至7.0，定容到1000mL。
- 5.2.2.1.7 无机汞和甲基汞标准储备液（中国计量科学研究院）
- 5.2.2.1.8 标准系列的配制

标准曲线配置：吸取汞形态标准储备液适量，加入，0.1%L-半胱氨酸-10mmol/L乙酸铵-氨水溶液制成标准溶液，标准溶液配制梯度见表5-2-2。

表5-2-2 标准曲线浓度表

元素	标准溶液浓度(μg/kg)
无机汞	0、1、2、5、10、20、50
甲基汞	0、1、2、5、10、20、50
乙基汞	0、1、2、5、10、20、50

#### 5.2.2.2 仪器和设备

验证过程中使用的仪器和设备见表5-2-3。

表5-2-3 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	性能状况	备注
电感耦合等离子体质谱仪（配加氧通道）	EXPEC7000	良好	无
液相色谱	SPARK	良好	无
微波萃取仪	EXPEC 790	良好	无
电子天平（0.0001g）	MS104	良好	无
pH计	PHSJ-4F	良好	无

#### 5.2.2.3 样品前处理

准确称取0.5g标准样品（样品编号：CFAPA-QC2018061B-4，大连中实国实检测技术有限公司生产）（精确至0.0001g）于10mL微波萃取管中，加入4mL 25%四甲基氢氧化铵溶液，盖上盖涡旋后混匀，置于微波形态萃取仪中，120℃萃取10min，萃取完毕后，冷却，用0.1% L-半胱氨酸-10mmol/L乙酸铵-氨水溶液定容至10mL，过0.45 μm的微孔滤膜待用。

#### 5.2.2.4 仪器参考条件

根据各自仪器性能调至最佳状态。仪器参考条件见表5-2-4和表5-2-5。

表5-2-4 电感耦合等离子体质谱条件

仪器型号	EXPEC 7000	采样锥和截取锥	Pt
RF功率( W)	1600	雾化气(L/min)	0.9
辅助气(L/min)	1.0	冷却气(L/min)	14

附加气(O <sub>2</sub> , mL/min)	30	雾化室温度(°C)	-10
------------------------------	----	-----------	-----

表5-2-5 液相色谱工作条件

洗脱程序	时间(min)	流速 (mL/min)	流动相A	流动相B
	0	1	8	92
	1	1	8	92
	2	1	50	50
	5	1	50	50
	6	1	8	92
	10	1	8	92
色谱柱	CNW Athena C18 (4.6*150mm, 5 μ m)			
流动相	A: 甲醇, B: 0.1%L-半胱氨酸-10mmol/L乙酸铵-氨水溶液			

### 5.2.3 验证结果

#### 5.2.3.1 方法线性范围及校准曲线的绘制

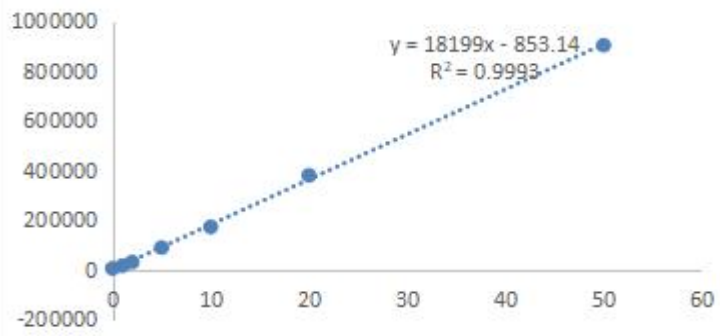
按浓度由低到高的顺序分别取50 μL标准系列溶液进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

各组分标准系列浓度与响应值结果详见表5-2-6。标准曲线图和色谱图及鱼肉标物色谱图见图5-2-1、图5-2-2。

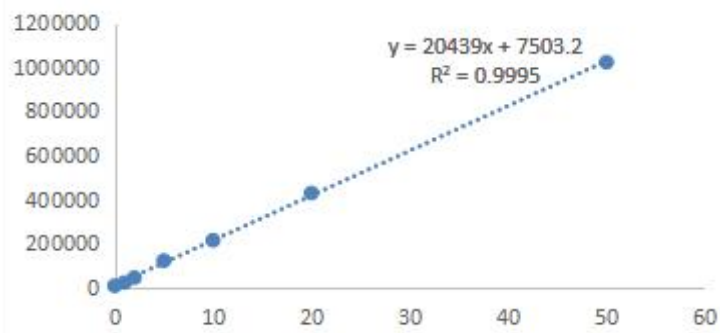
表5-2-6 标准系列与响应值

标准系列	1	2	3	4	5	6	7
浓度(μg/kg)	0	1	2	5	10	20	50
无机汞	4586	15471	30290	88746	171840	380028	904592
甲基汞	5009	19797	42138	119761	212467	427878	1024112
乙基汞	2964	6255	10482	31163	70297	143565	340370

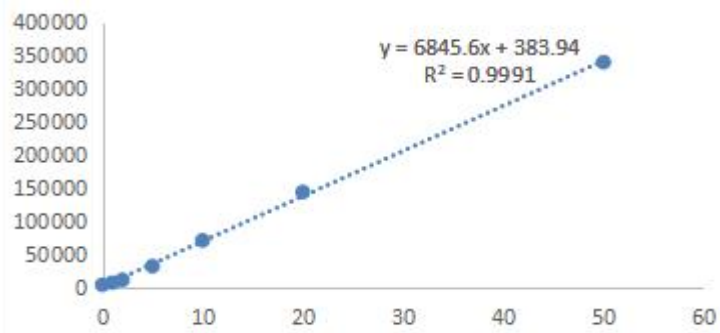
无机汞标准曲线图



甲基汞标准曲线图



乙基汞标准曲线图



各组分的线性方程见表5-2-7。

表5-2-7 方法的线性范围、线性方程

线性范围	线性方程参数		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
无机汞	18199	-853.14	0.9993
甲基汞	20439	7503.2	0.9995
乙基汞	6845.6	383.94	0.9991

### 5.2.3.2 检出限、定量限

以3倍信噪比作为仪器的检出限，以10倍信噪比作为仪器的定量限，结果见表5-2-8。

表5-2-8 仪器检出限及定量限 (μg/kg)

汞形态	检出限	定量限
无机汞	0.16	0.54
甲基汞	0.15	0.50
乙基汞	0.21	0.69

### 5.2.3.3 方法精密度及正确度

用该方法对标准样品CFAPA-QC2018061B-4进行定量分析，平行处理7份，同时做空白试验。计算结果的相对标准偏差。结果见表5-2-9、表5-2-10。

表5-2-9 标准物质试验结果 (单位: mg/kg)

汞形态	样品参考值	测定值
总汞	0.813±0.162	0.746
甲基汞	0.507±0.028	0.529

表5-2-10 精密度试验结果 (单位: mg/kg)

汞形态	1	2	3	4	5	6	7	精密度/%
总汞	0.756	0.727	0.743	0.742	0.759	0.748	0.751	1.43%
甲基汞	0.533	0.519	0.526	0.532	0.531	0.528	0.535	1.02%
无机汞	0.223	0.208	0.217	0.21	0.228	0.22	0.216	3.20%

## 5.3 小结

实验结果表明：该方法用于测定雄黄中As(III)、As(V)以及鱼肉中的总汞、无机汞和甲基汞形态时，线性范围宽、精密度好、正确度高、检出限低等优点，能满足日常分析的测定要求。

## 6 广东省农业科学院农产品公共监测中心

### 6.1 基本信息

表6-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	广东省农业科学院农产品公共监测中心
验证人员	陈岩、杨慧、耿安静
验证完成日期	2020. 10. 14
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

## 6.2 实验方法

### 6.2.1 试剂与材料

6.2.1.1 硝酸 (HNO<sub>3</sub>)。

6.2.1.2 柠檬酸 (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>)

6.2.1.3 氢氧化钠 (NaOH)

6.2.1.4 标准品 硒酸根溶液 (GBW10033)、亚硒酸根溶液 (GBW 10032)、硒代胱氨酸溶液 (GBW 10087)

#### 6.2.1.5 标准系列的配制

6.2.1.5.1 标准中间的配制：分别称取硒酸根溶液 (GBW 10033)、亚硒酸根溶液 (GBW10032) 和硒代胱氨酸溶液 (GBW10087) 3种标准物质约0.1 g于10 mL比色管中，用柠檬酸溶液定容至10 mL，得到硒酸根、亚硒酸根和硒代胱氨酸溶液的浓度为400 μg/kg。

6.2.1.5.2 标准系列工作溶液的配制：移取2 mL、4 mL、8 mL、16 mL、20 mL 硒标准溶液1，定容至100 mL，分别得到硒酸根、亚硒酸根和硒代胱氨酸溶液的浓度为

8.20/16.40/32.80/65.60/ 82.00 μg/L、8.46/16.92/33.84/67.68/84.60 μg/L、

8.74/17.48/34.96/69.92/87.36 μg/L。

### 6.2.2 仪器和设备

仪器和设备详细信息见表6-2。

表6-2 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	仪器编号	性能状况	备注
高效液相色谱	SHIMADZU LC-20A	02-305	良好	
电感耦合等离子体质谱	SHIMADZU ICPMS-2030	02-305	良好	
纯水机	Milli-Q IQ7000	02-231	良好	
pH计	PHS-3C	02-174	良好	



分析天平	TLE 104	02-220	良好	
超声清洗仪	KQ-500DA	02-293	良好	
离心机	TDZ6-WS	02-240	良好	

### 6.2.3 样品的处理

样品经混匀后，缩分至约50 g，粉碎，过60目尼龙筛，储于塑料瓶中，备用。准确称取试样0.5 g~2.0 g，加入25 mL 10 mM柠檬酸缓冲溶液（pH=4.0），置60℃水浴振荡提取30 min，再经超声提取15 min，然后在4000 r/min条件下离心15 min，收集上清液。取1.0 mL滤液过0.22 μm滤膜，装于液相色谱小瓶，待测。

### 6.2.4 仪器参考条件

仪器工作条件见表6-3。

表6-3 仪器工作条件

HPLC工作条件	流动相：柠檬酸10 mM，pH 4.0；流动相流速：1.0 mL/min；进样体积10 μL；色谱柱：Hamilton PRP X-100阴离子交换色谱柱（10 μm 250×4.1 mm）
ICP-MS工作条件	高频功率1.20kW，采样深度5.0 mm，等离子体气8.0 L/min，辅助气1.10 L/min，载气0.70 L/min，氦气流量6 ml/min，能量过滤器7，检测离子 Se m/z=78，信号采集模式：时间分辨模式，硒积分时间0.5 s。

## 6.3 验证结果

### 6.3.1 方法线性范围及校准曲线的绘制

按浓度由低到高的顺序分别取10 μL标准系列溶液以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。标准点色谱图见图6-1，标准系列及响应值见表6-3，标准曲线见图6-2-1，图6-2-2，图6-2-3，标准曲线相关参数见表6-4。

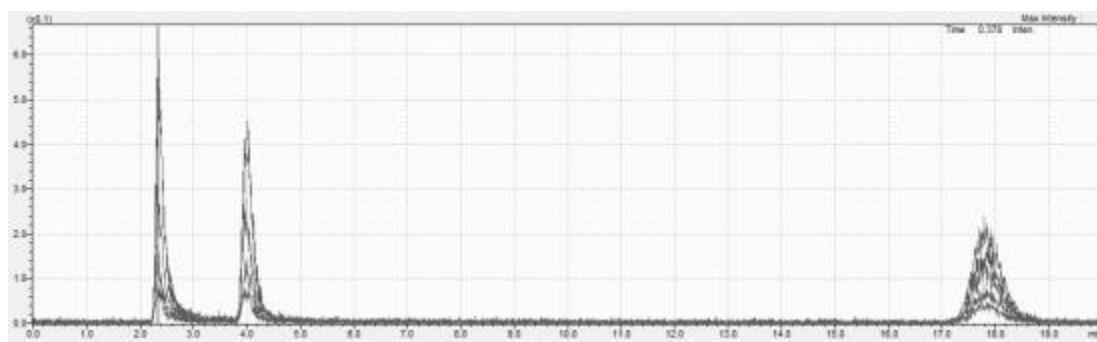


图6-1 标准溶液色谱图

表6-3 标准系列与响应值

标准系列	1	2	3	4	5	6
浓度 (μg/L)	0	8.74	17.48	34.96	69.92	87.36
硒代半胱氨酸峰	0	638.22	1392.80	2823.94	5284.76	6285.16

面积						
浓度 (μg/L)	0	8.46	16.92	33.84	67.68	84.60
亚硒酸盐 峰面积	0	843.32	1344.32	2642.87	4958.24	5819.41
浓度 (μg/L)	0	8.20	16.40	32.80	65.60	82.00
硒酸盐 峰面积	0	862.03	1426.94	2821.85	5277.67	6384.29

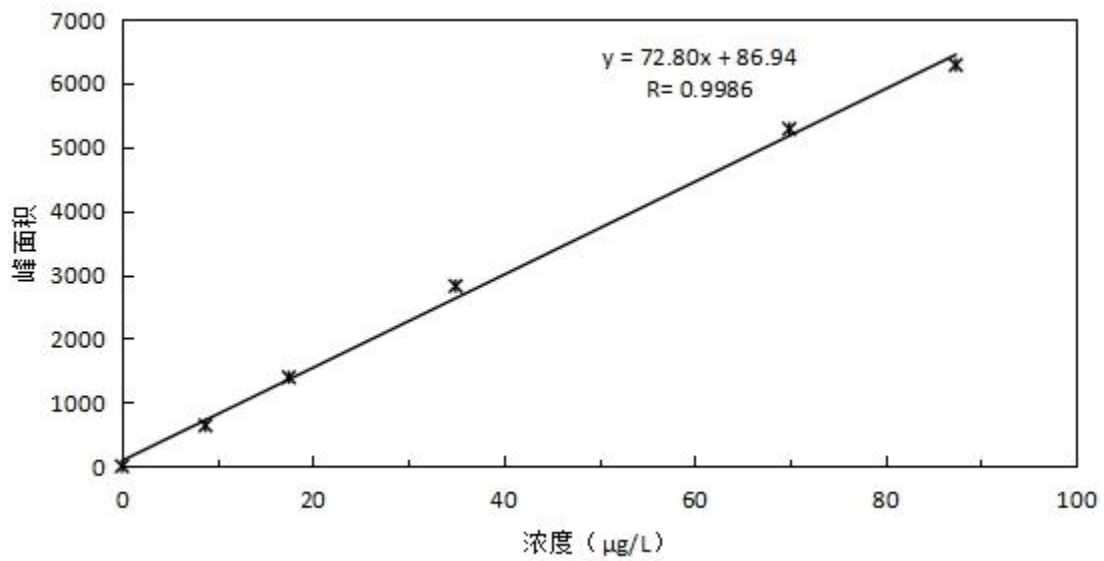


图6-2-1 硒代半胱氨酸标准曲线图

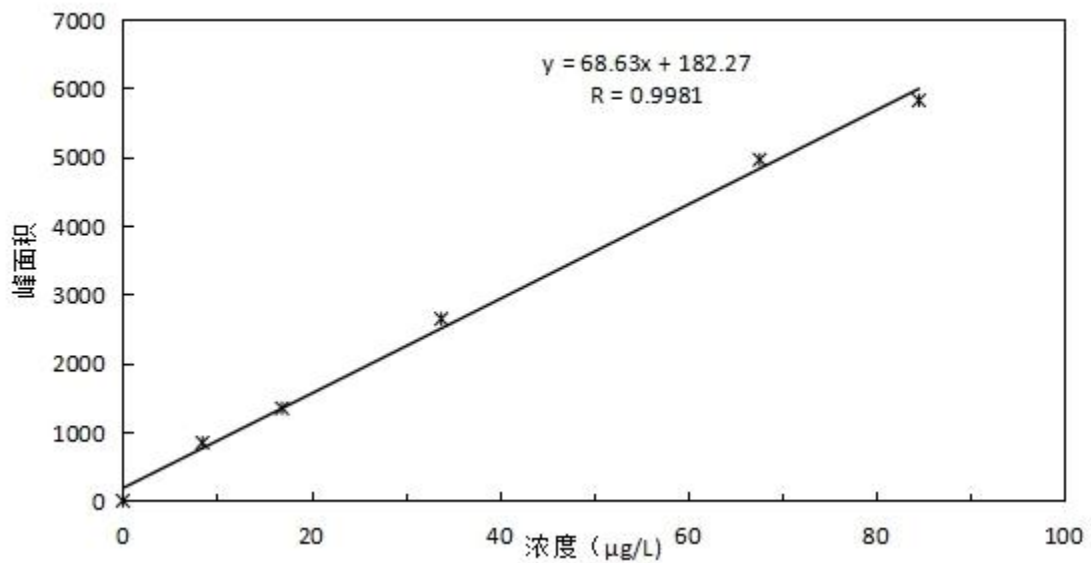


图6-2-2 亚硒酸盐标准曲线图

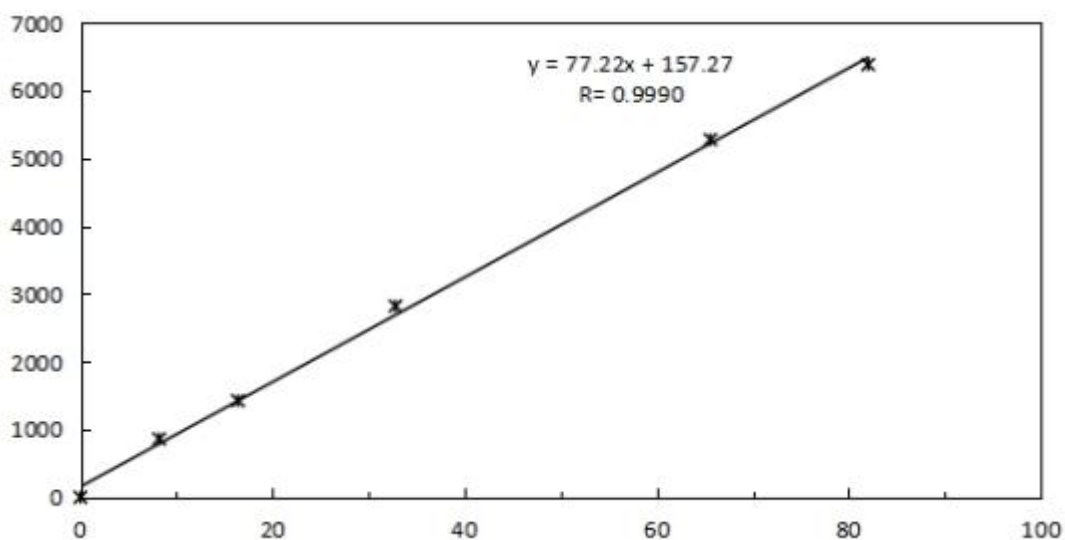


图6-2-3 硒酸盐标准曲线图

表6-4 方法的线性范围、线性方程

线性范围	线性方程参数		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
硒代半胱氨酸	72.80	86.94	0.9986
亚硒酸盐	68.63	182.27	0.9981
硒酸盐	77.22	157.27	0.9990

### 6.3.2 检出限、定量限

采用逐级稀释法，以3倍信噪比作为仪器的检出限，以10倍信噪比作为仪器的定量限，结果详见6-5。

表6-5 仪器检出限及定量限 (μg/L)

分析项目	检出限	定量限
硒代半胱氨酸	1.8	6.0
亚硒酸盐	2.4	8.0
硒酸盐	2.4	8.0

### 6.3.3 方法精密度及正确度

用不同基质类型的样品加入一定量的标准品，同时处理7份，进行精密度试验，和正确度试验，结果详见表6-6。

表6-6 精密度、正确度试验结果

样品名称	组分	添加水平 (mg/kg)	回收率(%)	RSD (%)

大米	硒代胱氨酸	0.2	87.8	4.2
		0.2	80.4	
		0.2	83.9	
		0.2	90.8	
		0.2	82.6	
		0.2	90.3	
		0.2	89.7	
	亚硒酸盐	0.2	86.6	4.4
		0.2	81.9	
		0.2	82.5	
		0.2	88.3	
		0.2	86.4	
		0.2	91.8	
		0.2	93.7	
	硒酸盐	0.2	91.8	3.8
		0.2	84.1	
		0.2	82.3	
		0.2	87.6	
		0.2	86.2	
		0.2	92.2	
		0.2	89.8	
茶叶	硒代胱氨酸	0.2	83.7	4.0
		0.2	89.3	
		0.2	90.6	
		0.2	84.9	
		0.2	94.0	
		0.2	86.3	
		0.2	83.3	
	亚硒酸盐	0.2	84.2	3.7
		0.2	86.4	
		0.2	90.7	
		0.2	82.5	
		0.2	91.4	

		0.2	84.6	3.6
		0.2	91.1	
	硒酸盐	0.2	87.6	
		0.2	84.4	
		0.2	92.1	
		0.2	85.3	
		0.2	81.7	
		0.2	90.6	
		0.2	86.4	

#### 6.4 小结

实验结果表明：该方法用于测定含硒农产品时，线性范围宽、精密度高、正确度好、灵敏度高优点，能满足硒含量大于0.2 mg/kg农产品中硒的形态测定要求。

#### 6.5 问题与建议

硒的形态包括有机硒和无机硒，有机硒形态有多种，目前存在缺少标准品和认证参考物质。

### 7 岛津企业管理（中国）有限公司

#### 7.1 生活饮用水中的三价铬和六价铬测定

##### 7.1.1 基本信息

表7-1-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	岛津企业管理（中国）有限公司
验证人员	钟跃汉、王利华、李青龙、刘子辉
验证完成日期	2020.09.18
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

##### 7.1.2 实验方法

###### 7.1.2.1 试剂与材料

7.1.2.1.1 纯水：GB/T 6682规定的一级水。

7.1.2.1.2 乙二胺四乙酸二钠（EDTA-2Na·2H<sub>2</sub>O）：优级纯，CAS号：139-33-3。

7.1.2.1.3 硝酸铵（NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>）：分析纯，CAS号：6484-52-2。

7.1.2.1.4 氨水（NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O）：优级纯，CAS号：1336-21-6。

7.1.2.1.5 乙二胺四乙酸二钠溶液[ $\rho$  (EDTA-2Na)=40 mmol/L]: 称取14.9 g乙二胺四乙酸二钠, 用纯水(3.3.1)溶解, 并定容到1000 mL容量瓶中。

7.1.2.1.6 氨水溶液(2%, v/v): 吸取2 mL氨水, 缓慢加入到98 mL水中。

7.1.2.1.7 流动相(60 mmol/L硝酸铵和0.6 mmol/L乙二胺四乙酸二钠, pH=7.0): 称取4.8 g硝酸铵, 0.224 g乙二胺四乙酸二钠, 溶于1000 mL水中, 用2%氨水溶液(3.3.6)调节pH至7.1, 摇匀, 超声脱气10 min。

7.1.2.1.8 六价铬溶液标准物质: 1000  $\mu$ g/mL。生产厂家: o2si, 批号: CFGG-060024-08-01

7.1.2.1.9 三价铬溶液标准物质: 1000  $\mu$ g/mL。生产厂家: o2si, 批号: CFGG-060024-13-01

7.1.2.1.10 六价铬标准储备溶液[ $\rho$  (Cr<sup>6+</sup>)=10.0  $\mu$ g/mL]: 准确吸取1.00 mL六价铬溶液标准物质(3.3.8), 置于100 mL容量瓶中, 用纯水(3.3.1)稀释至刻度。于4 °C冰箱中避光密封保存, 可保存一个月。

7.1.2.1.11 三价铬标准储备溶液[ $\rho$  (Cr<sup>3+</sup>)=10.0  $\mu$ g/mL]: 准确吸取1.00 mL六价铬溶液标准物质(3.3.9), 置于100 mL容量瓶中, 用纯水(3.3.1)稀释至刻度。于4 °C冰箱中避光密封保存, 可保存一个月。

7.1.2.1.12 六价铬和三价铬混合标准使用溶液[ $\rho$  =1.0 mg/L]: 分别准确吸取5.00 mL六价铬标准储备溶液(3.3.10)和三价铬标准储备溶液(3.3.11), 置于50 mL容量瓶中, 加入10 mL 40 mmol/L乙二胺四乙酸二钠, 用2%氨水调pH值至7.0左右, 用纯水(3.3.1)稀释至刻度, 乙二胺四乙酸二钠的最终浓度为8 mmol/L, 将标准溶液置于超声波清洗器中50 °C水浴加热1 h, 现用现配。

7.1.2.1.13 六价铬和三价铬混合标准系列溶液: 用流动相将六价铬和三价铬混合标准使用溶液(7.1.2.1.12)逐级稀释成浓度分别为0.0  $\mu$ g/L、1.0  $\mu$ g/L、5.0  $\mu$ g/L、10.0  $\mu$ g/L、50.0  $\mu$ g/L、100.0  $\mu$ g/L的标准系列溶液。现用现配。3.3.5标准系列的配制

#### 7.1.2.2 仪器和设备

列出验证过程中使用的所有仪器和设备。仪器和设备详细信息填写至表7-1-2。

表7-1-2 使用仪器情况登记表

仪器名称	规格型号	仪器编号	性能状况	备注
液相色谱	LC-20Ai	SKC-2-0340	良好	
电感耦合等离子体质谱	ICPMS-2030	SKC-2-0339	良好	

#### 7.1.2.3 样品前处理

取25 mL水样至50 mL容量瓶或刻度试管中, 加入10 mL 40 mmol/L乙二胺四乙酸二钠(3.3.5), 用2%氨水调pH值至7.0左右, 用纯水(3.3.1)稀释至刻度, 乙二胺四乙酸二钠的最终浓度为8 mmol/L, 将样品置于超声波清洗器中50 °C水浴加热1 h, 冷却后经0.45  $\mu$ m微孔滤膜过滤, 待测。同时做空白试验。

#### 7.1.2.4 仪器参考条件

根据各自仪器性能调至最佳状态。仪器参考条件见表7-13。

表7-1-3 仪器参考条件

HPLC工作条件	岛津LC-30A; 阴离子交换分析柱 (50 mm×4 mm, 10 μm) 或等效分析柱; 流动相: 60 mmol/L硝酸铵和0.6 mmol/L乙二胺四乙酸二钠 (pH=7.0); 流速: 1.0 mL/min; 进样体积: 50 μL。
ICP-MS工作条件	岛津ICPMS-2030; 高频功率: 1.20kW; 采样深度: 5.0mm; 雾化室温度: 5℃; 等离子体气流量: 9.0L/min; 冷却气流量: 14 L/min; 氦气碰撞气流量: 4.8 mL/min; 积分时间: 0.2 s; 检测质量数: 202。

7.1.3 验证结果

7.1.3.1 方法线性范围及校准曲线的绘制

按浓度由低到高的顺序分别取10 μL标准系列溶液以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，详见图7-1-1，图7-1-2。

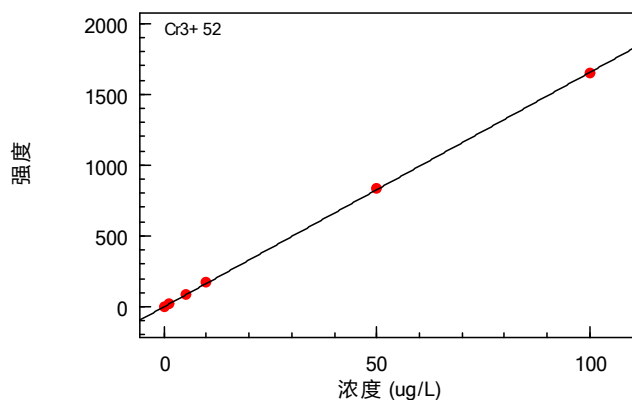


图7-1-1 三价铬标准曲线

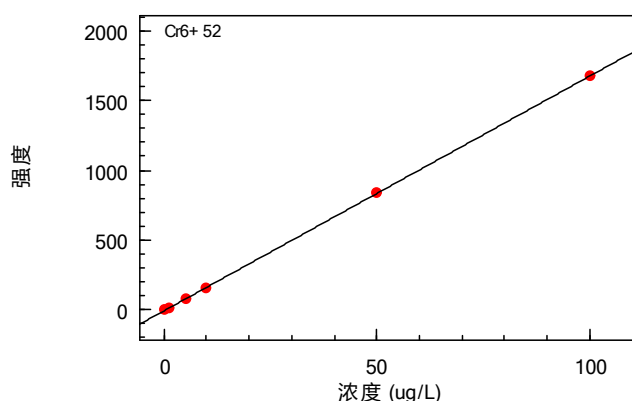


图7-1-2 六价铬标准曲线

各标准点浓度及响应值见表7-1-4。

表7-1-4 标准系列与响应值

标准系列	1	2	3	4	5	6
------	---	---	---	---	---	---

浓度 ( $\mu\text{g/L}$ )	0	1	5	10	50	100
三价铬峰面积	0.000	17.033	80.835	158.583	764.008	1502.943
六价铬峰面积	0.000	12.559	71.771	142.913	755.685	1522.156

各对各组分的线性范围、线性方程相关结果结果见表7-1-5。

表7-1-5 方法的线性范围、线性方程

线性范围	线性方程参数		
	$a$	$b$	$r$
三价铬	0.0669630	-0.4285787	0.99997
六价铬	0.0660488	0.1695192	0.99998

### 7.1.3.2 检出限、定量限

采用逐级稀释法，以3倍信噪比作为仪器的检出限，以10倍信噪比作为仪器的定量限，见表7-1-6。

表7-1-6 仪器检出限及定量限 ( $\text{g/L}$ )

组分名称	检出限	定量限
三价铬	0.0305	0.0752
六价铬	0.0320	0.0785

### 7.1.3.3 方法正确度及精密度

用实际样品加标进行低、中、高浓度的精密度试，均重复测定6次，计算结果的相对标准偏差和回收率，结果详见表7-1-7和表7-1-8，样品加标的色谱图见图7-1-3。

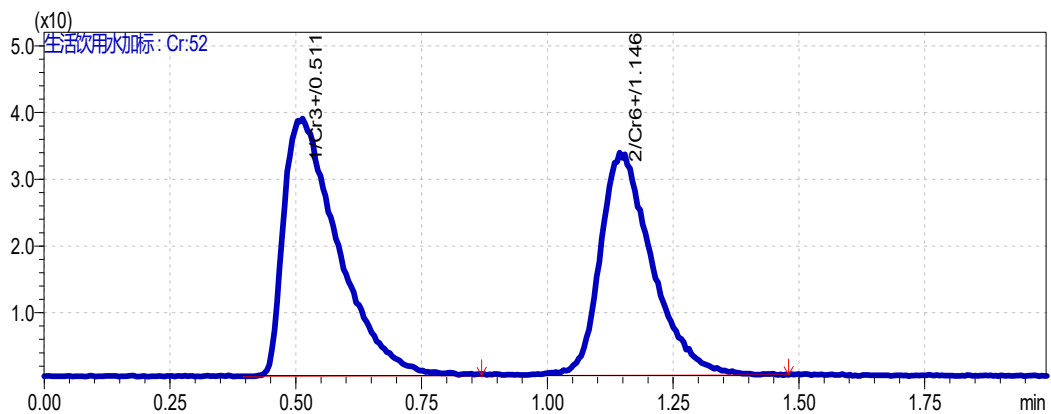


图 3 样品加标色谱图

表7-1-7 正确度试验结果

组分名称	本底浓度 ( $\mu\text{g/L}$ )	加标浓度 ( $\mu\text{g/L}$ )	回收率 (%)						不同加标浓度回收率范围 (%)	不同组分回收率范围 (%)
			1	2	3	4	5	6		
三价铬	N.D.	低 (20)	99.0	98.5	98.5	98.5	98.0	98.0	98.0~99.0	94.4~99.8
	N.D.	中 (50)	95.2	95.0	95.2	95.2	94.4	94.8	94.4~95.2	
	N.D.	高 (80)	94.4	97.4	96.0	99.8	98.2	96.5	94.4~99.8	



六价铬	N.D.	低 (20)	89.5	89.5	88.0	88.0	88.0	87.0	87.0~89.5	86.2~92.3
	N.D.	中 (50)	87.8	87.2	87.8	86.8	88.0	86.2	86.2~88.0	
	N.D.	高 (80)	92.3	91.8	92.0	92.1	92.3	92.1	91.8~92.3	

N.D.：未检出

表7-1-8 精密度试验结果

组分名称	本底浓度 (μg/L)	加标浓度 (μg/L)	测定值 (μg/L)						RSD (%)
			1	2	3	4	5	6	
三价铬	N.D.	低 (20)	19.8	19.7	19.7	19.7	19.6	19.6	0.382
	N.D.	中 (50)	47.6	47.5	47.6	47.6	47.2	47.4	0.337
	N.D.	高 (80)	75.5	77.9	76.8	79.9	78.6	77.2	1.96
六价铬	N.D.	低 (20)	17.9	17.9	17.6	17.6	17.6	17.4	1.11
	N.D.	中 (50)	43.9	43.6	43.9	43.4	44.0	43.1	0.803
	N.D.	高 (80)	73.8	73.5	73.6	73.7	73.9	73.7	0.192

注：1、表中保留3位有效数字，2、 N.D.：未检出

#### 7.1.4 小结

实验结果表明：该方法用于测定生活饮用水中铬形态时，线性范围宽、精密度高、准确性好、灵敏度高优点，能满足生活饮用水中三价铬和六价铬的测定要求。

### 7.2 地龙中无机汞、甲基汞、乙基汞的测定

#### 7.2.1 基本信息

表7-2-1 基本信息表

验证项目	高效液相色谱电感耦合等离子体质谱联用法通则
验证单位	岛津企业管理（中国）有限公司
验证人员	钟跃汉、王利华、李青龙、刘子辉
验证完成日期	2020.09.18
遵守本方法规定的程度	遵守
测定过程中的异常现象	无

#### 7.2.2 实验方法

##### 7.2.2.1 试剂与材料

7.2.2.1.1 纯水：GB/T 6682规定的一级水

7.2.2.1.2 硝酸购于国药集团，为电子纯；

7.2.2.1.3 甲醇购于Sigma-Aldrich，为色谱纯；硝酸银、乙酸铵及L-半胱氨酸，购于国药集团，均为优级纯

7.2.2.1.4 标准品无机汞采用常规元素标液，甲基汞和乙基汞购于国家标准物质中心

### 7.2.2.1.5 标准系列的配制

分别取氯化汞、甲基汞、乙基汞对照品适量，精密称定，加8%甲醇制成每1ml各含100 ng（均以汞计）的混合溶液。

精密吸取对照品贮备液适量，加8%甲醇分别制成每1 mL各含0.5 ng、1 ng、5 ng、10 ng、20 ng（均以汞计）系列浓度的溶液。

### 7.2.2.2 仪器和设备

列出验证过程中使用的所有仪器和设备。仪器和设备详细信息见表7-2-2。

表7-2-2 仪器设备信息表

仪器名称	规格型号	仪器编号	性能状况	备注
液相色谱	LC-20Ai	SKC-2-0340	良好	
电感耦合等离子体质谱	ICPMS-2030	SKC-2-0339	良好	

### 7.2.2.3 样品的处理

市售地龙药材，粉碎混匀后过三号筛，备用。精密称取供试品粉末（过三号筛）0.3 g，加0.1mol/L硝酸银溶液300 μL，精密加入硝酸人工胃液适量至10 mL，置于约40℃水浴中加热约22小时，取出，摇匀，室温放置2小时，取上清液，用一次性双层滤膜（10 μm+3 μm）滤过，取续滤液，即得。同法制备空白溶液和样品加标溶液。

### 7.2.2.4 仪器参考条件

根据各自仪器性能调至最佳状态。仪器参考条件见表7-2-3。

表7-2-3 仪器参考条件

HPLC工作条件	色谱柱 shim-pack GIST (C18) 5 μm, 4.6 mm×150mm 流动相 甲醇-0.01 mol/L 乙酸铵溶液（含0.12% L-半胱氨酸，pH=7.5）（8 : 92） 流速：1.0 mL/min 柱温：40℃ 进样量：50 μL
ICP-MS工作条件	岛津ICPMS-2030；高频功率：1.20kW；采样深度：5.0mm；雾化室温度：5℃；等离子体气流量：9.0L/min；载气流量：0.7 L/min；氦气碰撞气流量：6.0 mL/min；积分时间：0.2 s；检测质量数：202。

## 7.2.3 验证结果

### 7.2.3.1 方法线性范围及校准曲线的绘制

按浓度由低到高的顺序分别取50 μL标准系列溶液以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，详见图7-2-1，图7-2-2，图7-2-3。

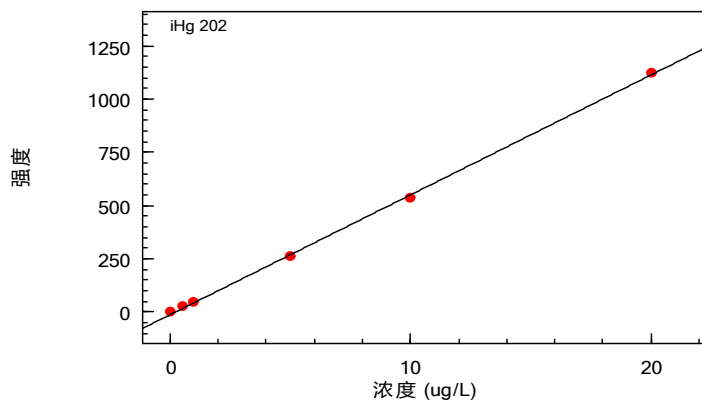


图7-2-1 无机汞标准曲线

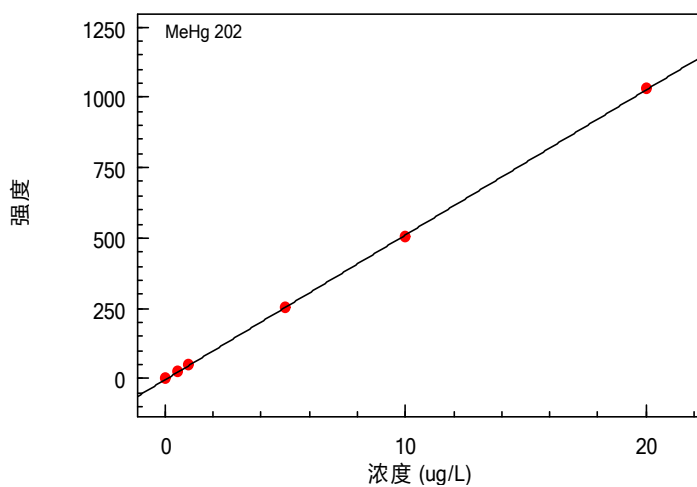


图7-2-2 甲基汞标准曲线

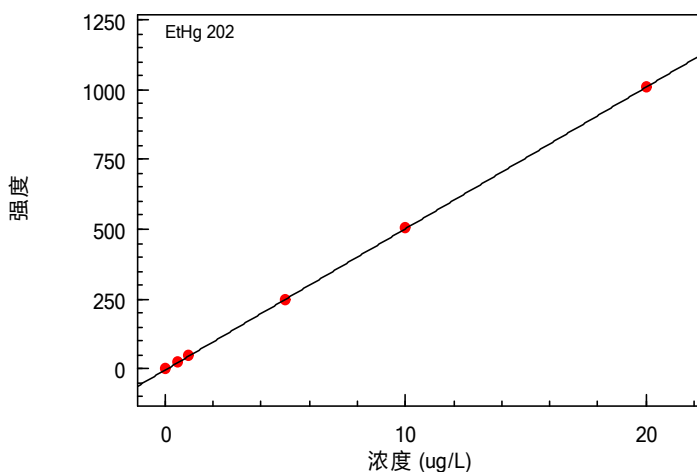


图7-2-3 乙基汞标准曲线

各标准点浓度及响应值见表7-2-4

表7-2-4 标准系列与响应值

标准系列	1	2	3	4	5	6
浓度 ( $\mu\text{g/L}$ )	0	0.5	1	5	10	20

无机汞	0.000	25.78	46.82	262.48	539.42	1125.58
甲基汞	0.000	27.48	52.40	256.25	503.67	1033.66
乙基汞	0.000	24.45	49.48	251.09	505.51	1011.38

各对各组分的线性范围、线性方程相关结果结果见表7-2-5。

表 7-2-5 方法的线性范围、线性方程

线性范围	线性方程参数		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
无机汞	0.0177694	0.1599853	0.99973
甲基汞	0.0194219	0.0189833	0.99991
乙基汞	0.0197603	0.0172238	1.00000

### 7.2.3.2 检出限、定量限

采用逐级稀释法，以3倍信噪比作为仪器的检出限，以10倍信噪比作为仪器的定量限，见表7-2-6。

表7-2-6 仪器检出限及定量限 ( $\mu\text{g/L}$ )

组分名称	检出限	定量限
无机汞	0.08	0.37
甲基汞	0.10	0.40
乙基汞	0.13	0.50

### 7.2.3.3 方法正确度及精密度

称取地龙供试品，加入一定量汞形态的标准溶液，其色谱图见图7-2-4。按本方法平行测定7次，计算无机汞、甲基汞和乙基汞的加标回收结果，结果见表7-2-7。

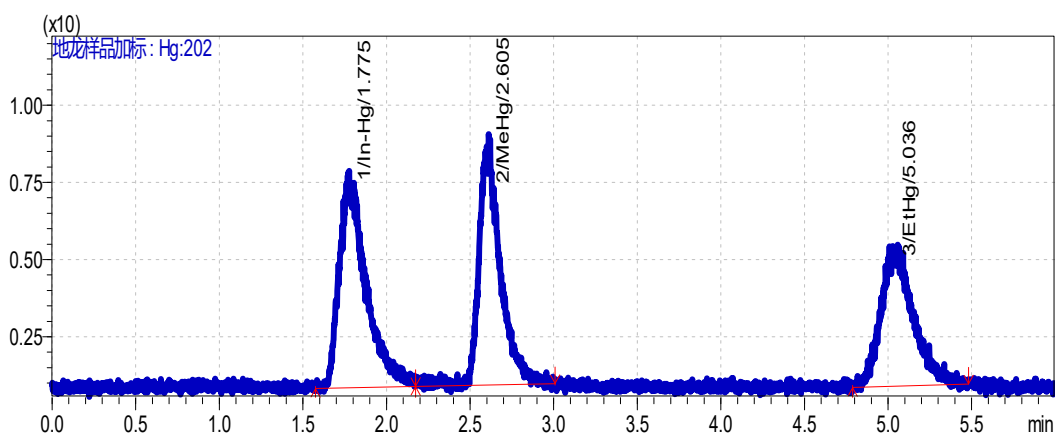


图7-2-4 样品加标色谱图

表 7-2-7 正确度试验结果

组分名称	溶液测定值 ( $\mu\text{g/L}$ )	样品含量 ( $\text{mg/kg}$ )	加标量 ( $\text{mg/kg}$ )	加标后含量 ( $\text{mg/kg}$ )	平均回收率 (%)
无机汞 (iHg)	N. D.	N. D.	0.033	0.032	97%
甲基汞 (MeHg)	N. D.	N. D.	0.033	0.035	106%
乙基汞 (EtHg)	N. D.	N. D.	0.033	0.033	100%

N. D. : 未检出

称取地龙供试品, 加入一定量汞形态的标准溶液, 按本方法平行测定7次, 计算无机汞、甲基汞和乙基汞的测定的精密度情况, 结果见表7-2-8。

表 7-2-8 精密度试验结果

组分名称	本底含量 ( $\text{mg/kg}$ )	加标含量 ( $\text{mg/kg}$ )	测定值 ( $\text{mg/kg}$ )							RSD (%)	
			1	2	3	4	5	6	7		
无机汞 (iHg)	N. D.	0.033	0.031	0.034	0.031	0.032	0.032	0.032	0.032	0.032	3.12
甲基汞 (MeHg)	N. D.	0.033	0.037	0.033	0.037	0.036	0.036	0.036	0.036	0.034	4.25
乙基汞 (EtHg)	N. D.	0.033	0.033	0.033	0.034	0.033	0.033	0.033	0.032	0.033	1.75

N. D. : 未检出

#### 7.2.4 小结

实验结果表明: 该方法用于测定地龙药材中的无机汞、甲基汞和乙基汞3种形态汞的含量时, 线性范围宽、精密度高、准确性好、灵敏度高等优点, 能满足地龙样品中形态汞的测定要求。