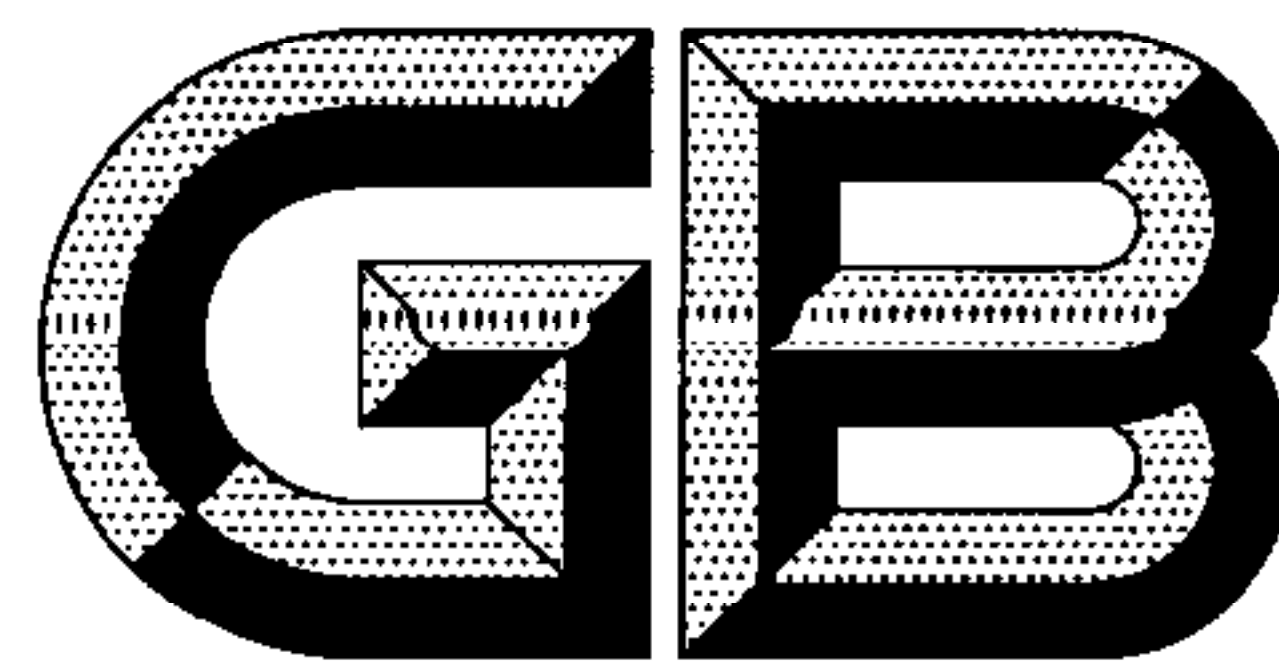




中华人民共和国国家标准

GB 17378.6—2007
代替 GB 17378.6—1998

海洋监测规范 第 6 部分：生物体分析

The specification for marine monitoring—
Part 6: Organism analysis

2007-10-18 发布

2008-05-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
海洋监测规范
第 6 部分：生物体分析
GB 17378.6—2007

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街 16 号
邮政编码：100045

网址 www.spc.net.cn

电话：68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 5 字数 148 千字
2008 年 3 月第一版 2008 年 3 月第一次印刷

*

书号：155066·1-30647

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话：(010)68533533

目 次

前言 Ⅲ

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 一般规定 1

5 总汞 5

5.1 原子荧光法 5

5.2 冷原子吸收光度法 7

6 铜 9

6.1 无火焰原子吸收分光光度法(连续测定铜、铅和镉)..... 9

6.2 阳极溶出伏安法..... 11

6.3 火焰原子吸收分光光度法..... 13

7 铅..... 14

7.1 无火焰原子吸收分光光度法..... 14

7.2 阳极溶出伏安法..... 14

7.3 火焰原子吸收分光光度法..... 16

8 镉..... 17

8.1 无火焰原子吸收分光光度法..... 17

8.2 阳极溶出伏安法..... 17

8.3 火焰原子吸收分光光度法..... 19

9 锌..... 20

9.1 火焰原子吸收分光光度法..... 20

9.2 阳极溶出伏安法..... 21

10 铬 23

10.1 无火焰原子吸收分光光度法 23

10.2 二苯碳酰二肼分光光度法 24

11 砷 26

11.1 原子荧光法 26

11.2 砷钼酸-结晶紫分光光度法 28

11.3 氢化物原子吸收分光光度法 31

11.4 催化极谱法 33

12 硒 35

12.1 荧光分光光度法 35

12.2 二氨基联苯胺四盐酸盐分光光度法 37

12.3 催化极谱法 39

13 石油烃——荧光分光光度法 41

14 666、DDT——气相色谱法 43

15 多氯联苯——气相色谱法 47

16 狄氏剂——气相色谱法 49

附录 A （规范性附录）记录表 50

附录 B （资料性附录）方法检出限 66

附录 C （资料性附录）有机氯农药——毛细管气相色谱测定法 67

附录 D （资料性附录）多氯联苯——毛细管气相色谱测定法 71

图 1 冷原子吸收测汞装置 8

图 2 层析柱 45

表 1 从分析样中抽取检查样的比例 5

表 2 平行双样相对偏差表 5

表 3 有机氯农药标准溶液各组分含量一览表 44

表 A.1 生物样品____分析标准(工作)曲线数据记录(原子荧光法) 50

表 A.2 生物样品____分析记录(原子荧光法) 51

表 A.3 生物样品____分析标准(工作)曲线数据记录(分光光度法) 52

表 A.4 生物样品____分析记录(分光光度法) 53

表 A.5 生物样品____分析标准(工作)曲线数据记录(无火焰原子吸收分光光度法) 54

表 A.6 生物样品____分析记录(无火焰原子吸收分光光度法) 55

表 A.7 生物样品____分析记录(阳极溶出伏安法) 56

表 A.8 生物样品____分析标准(工作)曲线数据记录(火焰原子吸收分光光度法) 57

表 A.9 生物样品____分析记录(火焰原子吸收分光光度法) 58

表 A.10 生物样品____标准(工作)曲线数据记录(催化极谱法)..... 59

表 A.11 生物样品____分析记录(催化极谱法)..... 60

表 A.12 生物样品____分析标准(工作)曲线数据记录(荧光分光光度法)..... 61

表 A.13 生物样品____分析记录(荧光分光光度法)..... 62

表 A.14 生物样品 666、DDT、狄氏剂分析记录(气相色谱法) 63

表 A.15 生物样品 PCB 分析记录(气相色谱法) 64

表 A.16 海洋监测生物体分析结果报表 65

表 B.1 测定方法检出限 66

表 C.1 海洋生物样品中有机氯农药分析记录表 70

表 D.1 海洋生物样品中多氯联苯分析记录表 74

前 言

本部分的全部技术内容为强制性。

GB 17378《海洋监测规范》分为七个部分：

- 第1部分：总则；
- 第2部分：数据处理与分析质量控制；
- 第3部分：样品采集、贮存与运输；
- 第4部分：海水分析；
- 第5部分：沉积物分析；
- 第6部分：生物体分析；
- 第7部分：近海污染生态调查和生物监测。

本部分为 GB 17378 的第 6 部分，代替 GB 17378.6—1998《海洋监测规范 第 6 部分：生物体分析》。

本部分与 GB 17378.6—1998 相比主要变化如下：

- 测定项目、方法及检出限调整为“资料性附录”(1998 年版的第 5 章；本版的附录 B)；
- 增加了总汞的“原子荧光测定法”(见 5.1)；
- 取消了总汞的“双硫脲分光光度法”(1998 年版的 6.2)；
- 增加了砷的“原子荧光测定法”(见 11.1)；
- 修改了铜、铅和镉的无火焰原子吸收分光光度测定法，调整为“铜、铅和镉的连续测定法”(1998 年版的 7.1、8.1、9.1；本版的 6.1、7.1、8.1)；
- 取消了铜的“二乙基二硫代氨基甲酸钠分光光度法”(1998 年版的 7.4)；
- 取消了铅的“双硫脲分光光度法”(1998 年版的 8.3)；
- 取消了镉的“双硫脲分光光度法”(1998 年版的 9.3)；
- 取消了锌的“双硫脲分光光度法”(1998 年版的 10.3)；
- 修改了石油烃的“荧光分光光度法”(1998 年版的第 14 章；本版的第 13 章)；
- 修改完善了各测试方法的记录表格并调整为“规范性附录”(见附录 A)；
- 增加了有机氯农药的“毛细管气相色谱法”(见附录 C)；
- 增加了多氯联苯的“毛细管气相色谱法”(见附录 D)。

本部分的附录 A 为规范性附录，附录 B、附录 C 和附录 D 为资料性附录。

本部分由国家海洋局提出。

本部分由全国海洋标准化技术委员会(SAC/TC 283)归口。

本部分起草单位：国家海洋环境监测中心。

本部分主要起草人：马永安、徐恒振、于涛、贺广凯、尚龙生、赵云英、孙茜、韩庚辰、关道明、王健国、许昆灿、张春明、陈维岳、洪君超、陈邦龙。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB 17378.6—1998。

海洋监测规范 第6部分:生物体分析

1 范围

GB 17378 的本部分规定了贻贝、虾及鱼等海洋生物体中有害物质残留量的测定方法,并对样品采集、运输、贮存、预处理和测定结果的计算等提出技术要求。

本部分适用于大洋、近海和沿海水域的海洋生物污染调查与监测。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 GB 17378 的本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本部分,然而,鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本部分。

GB 17378.3 海洋监测规范 第3部分:样品采集、贮存与运输

GB 17378.4 海洋监测规范 第4部分:海水分析

GB 17378.5 海洋监测规范 第5部分:沉积物分析

3 术语和定义

下列术语和定义适用于 GB 17378 的本部分。

3.1

蒸至近干 evaporation to dryness

溶剂蒸发至小体积(0.2 mL~0.3 mL),留有残渣呈湿润状。

3.2

标线 standard line

计量容器体积的刻度线。

[GB 17378.5—2007,定义 3.1]

4 一般规定

4.1 样品的采集与制备

4.1.1 采样种类

贝类、虾和鱼类。贝类一般采集菲律宾蛤仔、文蛤、四角蛤蜊、紫贻贝、翡翠贻贝、毛蚶、缢蛏、僧帽牡蛎等。

4.1.2 试剂

4.1.2.1 去离子水或等效蒸馏水,其痕量金属含量应低于分析方法的检出限,或用未受沾污的海水。

4.1.2.2 合成洗涤剂。

4.1.3 仪器和设备

仪器和设备如下:

——塑料冷冻箱:配有冰袋。用于贻贝贮存和运输时,底部应具有栅板,以免样品浸入水中;

——冰箱;

——低温冰箱;

——塑料板和尺子:用于长度测量;

- 塑料刀;
- 玻璃或陶瓷碟:制备样品用;
- 镊子:塑料制品或其他合适材料的制品;
- 高密度聚乙烯袋和塑料容器:供速冻保存样品用,装样前,应用合成洗涤剂清洗,并用蒸馏水洗净;
- 分析天平:感量 0.1 mg;
- 塑料洗瓶;
- 刮刀:供采集样品用;
- 塑料桶:容量 20 L~50 L;
- 大号金属刀:无锈斑,供切取鱼组织用;
- 匀浆器:不锈钢或其他适宜材料的制品;
- 称量瓶:容量 50 mL;
- 电热烘箱;
- 干燥箱;
- 冷冻干燥设备。

4.1.4 采样与运输

4.1.4.1 准备工作

用合成洗涤剂(见 4.1.2.2)清洗冷冻箱、高密度聚乙烯袋、塑料板及尺、大号金属刀、刮刀,再用蒸馏水或海水(见 4.1.2.1)漂洗干净。

4.1.4.2 贻贝样品的采集

用清洁刮刀从其附着物上采集贻贝样。

选取足够数量的完好贻贝存于冷冻箱中。若需长途运输(炎热天超过 2 h),应把贻贝样品盛于塑料桶中,将现场采集的清洁海水淋洒在贻贝上,样品保持润湿状但不能浸入水中。

若样品处理须在采样 24 h 后进行,可将贻贝样存于高密度塑料袋中,压出袋内空气,将袋口打结或热封,将此袋和样品标签一起放入聚乙烯袋中并封口,存于低温冰箱中。

4.1.4.3 虾与中小型鱼样采集

按要求选取足够数量的完好的生物样,放入干净的聚乙烯袋中,应防止刺破袋子。挤出袋内空气,将袋口打结或热封,将此袋和样品标签一起放入另一聚乙烯袋中,并封口,低温冷藏。若贮存期不太长时(热天不超过 48 h),可用冰箱或冷冻箱存放样品。

4.1.4.4 大型鱼样采集

测量并记下鱼样的叉长、体重和性别。

用清洁的金属刀切下至少 100 g 肌肉组织,厚度至少 5 cm,样品处理时,切除沾污或内脏部分。存于清洁的聚乙烯袋中,挤出空气并封口,将此袋与样品标签一起放入另一聚乙烯袋中,封口,于低温冰箱中贮存。若保存时间不太长(热天不超过 48 h),可用冰箱或冷冻箱贮放样品。

4.1.4.5 样品的运输

样品采集后,若长途运输,应把样品放入样品箱(或塑料桶)中,对不需封装的样品应将现场清洁海水淋洒在样品上,保持样品润湿状(不得浸入水中);若样品处理,应在采样 24 h 后进行,可将样品放在聚乙烯袋中,压出袋内空气,将袋口打结。将此袋和样品标签一起放入另一聚乙烯袋(或洁净的广口玻璃瓶)中,封口、冷冻保存。其他按照 GB 17378.3 规定执行。

4.1.5 样品预处理

4.1.5.1 准备工作

必要时将冷冻样品在冰箱($-2^{\circ}\text{C}\sim 4^{\circ}\text{C}$)中放置过夜,使部分解冻以便切片。

用合成洗涤剂(见 4.1.2.2)清洗塑料刀、碟、镊子、塑料板及尺和称重塑料膜,用蒸馏水或清洁海水

(见 4.1.2.1)漂洗干净。工作台用洗净的塑料膜罩上。用合成洗涤剂(见 4.1.2.2)仔细地洗手,后用蒸馏水或清洁海水(见 4.1.2.1)漂洗干净。

4.1.5.2 贝类样的制备

用塑料刀或塑料刷除去贝壳外部所有的附着物。

用蒸馏水或清洁海水(见 4.1.2.1)漂洗每一个样品个体,让其自然流干,拉出足丝。用天平称个体全重,并记下重量。

用另一把塑料刀插入足丝伸出口,切断闭合肌,打开贝壳。

用蒸馏水或清洁海水(见 4.1.2.1)洗贝壳内的软组织,用塑料刀和镊子取出软组织,让水流尽。

单个体样品:将软组织放入已称重的塑料容器内,再称重,记下鲜重。盖紧,贴上标签。用尺子测量并记录贝壳长度。

多个体样品:按上述步骤将至少 10 个个体的软组织放入已知重量的塑料容器中,称重,记下鲜重。于匀浆器中匀化样品,将匀浆样放回原塑料容器,再称重,并记录总重量,计算匀浆样重。贴上样品标签。

各生物个体大小应相近,并在取出生物组织前分别测量其个体长度和总重量。

4.1.5.3 虾样制备

4.1.5.3.1 单个体样品

用尺子量虾体长,将虾放在聚乙烯称样膜上,称重,记下长度和鲜重。

用塑料刀将腹部与头胸部及尾部分开,小心将其内脏从腹部取出。腿全部切除。将腹部翻下,用塑料刀沿腹部外甲边缘切开,用塑料镊子取下内侧外甲并弃去。

用另一把塑料刀松动腹部肌肉,并用镊子取出肌肉。

检查性腺,记录所鉴别的性别。

用镊子将肌肉移入塑料容器中,称重并记录鲜重。盖紧容器,标上号码。将几个容器一起放入同一塑料袋中,并附样品登记清单,结紧袋口,低温冰箱中保存。

4.1.5.3.2 多个体样品

按上述方法制备样品,仔细地记录各个体长度、鲜重、腹部肌肉重和性别。每个样品须包括 6 个以上性别相同、大小相近的个体肌肉。将样品放入匀浆器中匀化腹部肌肉,转入已知重量的塑料容器中盖紧,标上号码,称重,记下鲜重和其他数据。

将几个塑料容器放在同一塑料袋中,并附上样品登记清单,结紧袋口,在低温冰箱中保存。

4.1.5.4 中小型鱼样制备

4.1.5.4.1 单个体样品

测量鱼的叉长,并于聚乙烯称样膜上称重。鉴定性腺性别,记下叉长和体重。

用蒸馏水或清洁海水(见 4.1.2.1)洗涤鱼样,将它放在工作台上,用塑料刀切除胸鳍并切开背鳍附近自头至尾部的鱼皮。

在鳃附近和尾部,横过鱼体各切一刀;在腹部,鳃和尾部两侧各切一刀。四刀只切在鱼体一侧,且不得切太深,以免切开内脏,沾污肉片。

用镊子将鱼皮与肉片分离,谨防外表皮沾污肉片。

用另一把塑料刀将肌肉与脊椎分离,并用镊子取下肌肉。将组织盛于塑料容器中,称重并记录重量。

若一侧的肌肉量不能满足分析用量,取另一侧肌肉补充。

盖紧容器,贴上标签或记号,做好记录,于低温冰箱中保存。

4.1.5.4.2 多个体样品

仔细记下各个体体长、鲜重、肌肉重。鉴定性别。个体数不应少于 6 个,且性别应相同,大小相近。

用匀浆器匀化鱼组织,将匀浆样转入已知重量的塑料容器中,盖紧,贴上标签并称重,记下匀浆样重

和其他数据。置于低温冰箱中存放。

4.1.5.5 大型鱼样制备

若必要,将现场采集的样品放在 $-2^{\circ}\text{C}\sim 4^{\circ}\text{C}$ 冰箱中过夜,使部分解冻以便于切片。

用蒸馏水或清洁海水(见 4.1.2.1)洗涤鱼样。将鱼样置于清洁的工作台上,剔除残存的皮和骨,用塑料刀切去表层,再用另一把塑料刀重复操作一次,留下不受污染的肌肉组织。将肌肉组织放入塑料容器中,盖紧,贴上标签,称重,将数据记入记录表,样品存于低温冰箱中。

4.1.5.6 干样制备

将部分新鲜试样按 4.1.6.1 或 4.1.6.2 步骤烘干,计算干湿比,以校正水分含量。干燥后的样品用玛瑙研钵磨碎,全部过 80 目 $\sim$ 100 目($180\ \mu\text{m}\sim 154\ \mu\text{m}$)尼龙筛,供痕量元素分析用。

4.1.6 干重测定

4.1.6.1 烘干

将称量瓶放入 105°C 烘箱,2 h 后,取出称量瓶,置于干燥器中冷却 30 min。

盖好瓶盖,用分析天平称重,记下重量。取 5 g $\sim$ 10 g 上述生物制备样于称量瓶中,盖好瓶盖,再称重($\pm 0.5\ \text{mg}$)并记下重量。

将盛样品的称量瓶半开盖放入 105°C 烘箱中,24 h 后取出,置于干燥器中冷却 30 min。盖好瓶盖后称重并记录所称重量。

重复烘干操作,至前后两次烘干后的重量差小于总重量的 0.5%。计算干重和干湿比。

4.1.6.2 冷冻干燥

对类脂物含量高的生物样品,不能烘干至恒重,则应用冷冻干燥。准确称取 1 g $\sim$ 2 g 上述生物制备样于干净的冷冻干燥的样品容器中,冷冻干燥 24 h 后称重一次。再次冷冻干燥 24 h,再称重。两次称重的重量差应小于总重量的 0.5%。否则,应继续干燥至符合要求。计算干重和干湿比。

4.1.7 注意事项

本规定执行中应注意如下事项:

- 在实验室附近采集贻贝,不存在特殊的运输和贮藏问题。运往实验室时,应使贻贝样通风并用海水保持润湿。采自潮间带的贻贝,在空气中可生存 24 h。运输时不应将贻贝放在水中;
- 手洗净之后,不应接触解剖组织,应戴上手套;若条件许可,准备工作和样品制备均应在洁净条件下进行;
- 制备多个体样品时,应取性别相同、个体大小相近的生物。取出软组织之前,应分别测量各个体的体长和重量;
- 样品消化前,将盛有样品的容器总重量与贮存时之重量进行比较,可发现贮存期间样品是否失重;
- 不同部位肌肉的痕量金属含量可能存在差别,故实际样品的有关资料应尽可能记录详细;
- 用于有机氯农药和石油烃测定的生物样品,样品采集和预处理的设备和试剂作适当的相应改变,应避免采用塑料器皿和含有卤代烃试剂;
- 生物体中总汞及有害有机物的测定,不应用干燥样品,应用湿样测定,结果仍以干样中被测物的含量来表示。

4.2 规定和要求

4.2.1 分析样品的烘干:未注明干燥温度及时间时,均指 $105^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$,干燥 2 h。

4.2.2 标准溶液配制中,所有的移液管和容量瓶均应进行检定或容量校正。

4.2.3 除另有注明外,所用容器的净化均先用硝酸溶液(1+3)浸泡 2 d $\sim$ 3 d 后,再用去离子水仔细淋洗干净,晾干后备用。

4.2.4 pH 值除注明测量方法外,均可用精密或广泛 pH 试纸测量。

4.2.5 为检查分析结果的质量,应从一批分析样中按表 1 任意抽取检查样,分别装袋并另编样号,将基

本样与检查样交分析测试人员,按以下要求进行测定:

- 抽查样的测项与基本样相同;
- 当分析样数量较多时,基本样与检查样可不应安排在同批内进行测试;
- 测试所得结果按表 2 所列双样相对偏差值控制分析质量。当某测项双样检查结果超差率大于 30%时,此批基本样中该测项应全部重新称样测定;
- 若仍出现上述超差情况,分析测试人员应认真检查分析原因(如标准溶液的配制,环境质量,所用仪器设备有无不正常情况等)后,再进行这批样品(基本样与检查样)的测定;
- 当某测项双样检查结果超差率小于 30%时,超差的样品应重新称样进行测定,直至新测定结果合格为止。按平行双样的均值报出结果;
- 每批分析的样品(20 个左右)应插入 2 个~3 个有证标准物质样品(另行编号),以检验有无系统误差。

表 1 从分析样中抽取检查样的比例

分析样个数/个	<10	10~30	>30
检查样抽取比例/%	50	40	30

表 2 平行双样相对偏差表

分析结果所在数量级	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	
相对偏差容许限/%	4	8	15	20	30	40	计算: $\frac{ A-B }{A+B} \times 100$

4.3 说明

- 4.3.1 各种酸碱的密度(ρ)是指 20℃时的质量除以体积,单位为 g/mL。
- 4.3.2 干燥剂在不指明具体名称时,均指变色硅胶。
- 4.3.3 所配制的元素的标准溶液的浓度均指该元素的浓度。
- 4.3.4 没有指明溶剂的溶液都是水溶液。

5 总汞

5.1 原子荧光法

5.1.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物体中总汞的测定。
本方法为仲裁方法。

5.1.2 方法原理

在硝酸-高氯酸消化体系中,生物体中的汞全量转化为汞离子进入溶液。用硼氢化钾作为还原剂将溶液中的汞离子还原成汞蒸汽。以氩气为载气使原子汞蒸汽进入原子荧光光度计的原子化器中,用特种汞空心阴极灯为激发光源,测定汞原子荧光强度。

5.1.3 试剂及其配制

- 5.1.3.1 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42\text{ g/mL}$,优级纯。
- 5.1.3.2 高氯酸(HClO_4):优级纯。
- 5.1.3.3 盐酸(HCl): $\rho=1.19\text{ g/mL}$,优级纯。
- 5.1.3.4 草酸($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。
- 5.1.3.5 硼氢化钾(KBH_4)。
- 5.1.3.6 氢氧化钾(KOH):优级纯。
- 5.1.3.7 硝酸溶液(1+19):将 1 体积硝酸(见 5.1.3.1)与 19 体积水混合。

5.1.3.8 草酸溶液(1%):称取 10 g 草酸(见 5.1.3.4)溶解于 1 000 mL 去离子水中,置于棕色试剂瓶中保存。

5.1.3.9 硼氢化钾溶液(0.05 g/L):称取 1 g 氢氧化钾(见 5.1.3.6)溶于 200 mL 去离子水中,加入 0.5 g 硼氢化钾(见 5.1.3.5)溶解后移取 20 mL 于 1 000 mL 容量瓶中,用去离子水稀释至标线。使用前配制。

5.1.3.10 汞标准贮备溶液(1.00 g/L):准确称取 0.135 4 g 氯化汞(HgCl_2 , 优级纯,预先在硫酸干燥器中放置 24 h 以上)于 50 mL 干净的烧杯中,用少量硝酸溶液(见 5.1.3.7)溶解后,全量转入 100 mL 容量瓶中,加硝酸溶液(见 5.1.3.7)至标线,混匀。

5.1.3.11 汞标准中间溶液 A(10.0 mg/L):移取 1.00 mL 汞标准贮备溶液(见 5.1.3.10)置于 100 mL 容量瓶中,加硝酸溶液(见 5.1.3.7)至标线,混匀。

5.1.3.12 汞标准中间溶液 B(0.100 mg/L):移取 1.00 mL 汞标准中间溶液 A(见 5.1.3.11)置于 100 mL 容量瓶中,加硝酸溶液(见 5.1.3.7)至标线,混匀。

5.1.3.13 汞标准使用溶液(10.0 $\mu\text{g/L}$):移取 10.00 mL 汞标准中间溶液 B(见 5.1.3.12)置于 100 mL 容量瓶中,加硝酸溶液(见 5.1.3.7)至标线,混匀。

5.1.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

- 原子荧光光度计;
- 容量瓶:容量 50 mL、100 mL、1 000 mL;
- 移液管:容量 1 mL、2 mL、5 mL、10 mL;
- 烧杯:容量 50 mL、100 mL、1 000 mL;
- 电加热板;
- 氩气;
- 实验室常用仪器与设备。

5.1.5 分析步骤

5.1.5.1 绘制标准曲线

5.1.5.1.1 于 7 个 100 mL 容量瓶中分别加入 50 mL 去离子水、10 mL 硝酸(见 5.1.3.1)和 10 mL 盐酸(见 5.1.3.3),再分别加入 0 mL、0.25 mL、0.50 mL、1.00 mL、2.00 mL、4.00 mL、8.00 mL 汞标准使用溶液(见 5.1.3.13),用去离子水定容至标线,混匀。

5.1.5.1.2 向原子荧光光度计的氢化物发生器中依次加入汞标准系列溶液各 2 mL,分别测定标准空白荧光强度(I_0)和标准样品荧光强度(I_1)。

5.1.5.1.3 将数据记入表 A.1 中,以荧光强度($I_1 - I_0$)为纵坐标,以汞的质量(ng)为横坐标,绘制标准曲线(给出线性回归方程)并计算线性回归系数。

5.1.5.2 样品测定

5.1.5.2.1 准确称取 0.1 g~0.5 g 生物干样或 1 g~5 g 生物湿样($\pm 0.000 1\text{g}$),放入 50 mL 烧杯中,加入 10 mL 硝酸(见 5.1.3.1),1 mL 高氯酸(见 5.1.3.2),盖上表面皿,放置过夜。次日将样品置于 140°C ~ 160°C 电热板上加热,消化至黄棕色烟雾散尽,消化液清亮透明,近无色或浅黄色为止。取下冷却至室温,加入 5 mL 盐酸(见 5.1.3.3),全量转移到 50 mL 容量瓶中,用 1% 草酸溶液(见 5.1.3.8)定容至标线,混匀,静置 20 min 后测试。

5.1.5.2.2 除不加生物样品外,其余步骤完全等同于样品消化(见 5.1.5.3.1)。由此制备的溶液作为分析空白液。

5.1.5.2.3 分别取 2.0 mL 分析空白(见 5.1.5.3.2)和样品消化液(见 5.1.5.3.1)加入到原子荧光光度计的氢化物发生器中,分别测定分析空白荧光强度(I_b)和样品消化液的荧光强度(I_s)。以($I_s - I_b$)值从标准曲线上查出相应的汞的质量(ng),或用线性回归方程计算得出汞的质量(ng)。

5.1.6 记录和计算

将测定结果记入表 A.2 中,按式(1)计算生物体中汞的含量:

$$w_{\text{Hg}} = \frac{m \cdot V_1}{V_2 \cdot M(1 - w_{\text{H}_2\text{O}})} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

w_{Hg} ——生物干样中总汞的含量(质量分数, 10^{-9});

m ——从标准曲线上查得的汞量,单位为纳克(ng);

V_1 ——样品消化液的体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——样品测定分样的体积,单位为毫升(mL);

M ——样品的称取量,单位为克(g);

$w_{\text{H}_2\text{O}}$ ——湿样的含水率(质量分数,%).

5.1.7 精密度和准确度

汞含量为 0.052×10^{-6} 时,再现性相对标准偏差为 8%;平均相对误差为 1%;重复性相对标准偏差为 5%。

5.1.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

- 除非另作说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为去离子水或等效无汞水;
- 对含碘量高的生物样品,应加入适量的硝酸银消除碘对测定的干扰;
- 试验用器皿用硝酸溶液(1+3)浸泡 24 h 以上,洗净,并检查空白是否合格;
- 生物样品取样量较大时,可适当增加硝酸用量;
- 每批生物样品测定完成后,用酸性高锰酸钾溶液清洗荧光光度计的氢化物发生器,并用水洗净;
- 标准系列溶液的介质组成应尽可能与试样消化液组成相近;
- 所用的试剂,特别是硝酸和盐酸,在使用前应作空白试验;
- 适当地调节样品的称取量,确保测得值在标准曲线范围内。

5.2 冷原子吸收光度法

5.2.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物体中总汞的测定。对含碘量高的生物样品,应添加适量硝酸银消除碘对测定的干扰。

5.2.2 方法原理

以五氧化二钒作催化剂,用硝酸-硫酸消化生物样品,将有机汞全部转化为无机汞,再用氯化亚锡将汞离子还原成金属汞,用气-液平衡开路吸气冷原子吸收测定系统于 253.7 nm 波长测定总汞含量。

5.2.3 试剂及其配制

5.2.3.1 五氧化二钒(V_2O_5)。

5.2.3.2 无水氯化钙(CaCl_2),用于装填干燥管。

5.2.3.3 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42 \text{ g/mL}$ 。

5.2.3.4 硫酸(H_2SO_4): $\rho=1.84 \text{ g/mL}$,优级纯。

5.2.3.5 盐酸(HCl): $\rho=1.19 \text{ g/mL}$ 。

5.2.3.6 硫酸溶液(0.5 mol/L):在不断搅拌下,将 28 mL 硫酸(见 5.2.3.4)缓慢加入 972 mL 水中。

5.2.3.7 盐酸溶液(1+1):将盐酸(见 5.2.3.5)与等体积水混合。

5.2.3.8 硝酸溶液(1+19):1 份硝酸(见 5.2.3.3)与 19 份水混合。

5.2.3.9 氯化亚锡溶液(100 g/L):称取 10 g 氯化亚锡于烧杯中,加入 100 mL 盐酸溶液(见 5.2.3.7),加热至溶解,冷却后装于棕色瓶内,使用时用等体积水稀释。若汞含量高,可用鼓泡法去除,直至溶液中

汞含量不能检出。

5.2.3.10 低汞海水：表层海水经滤纸过滤，每升海水缓慢加入 28 mL 硫酸（见 5.2.3.4）酸化，海水汞含量应低于 $0.005\ \mu\text{g/L}$ 。

5.2.3.11 汞标准贮备溶液（ $1.00\ \text{mg/mL}$ ）：称取 $0.1354\ \text{g}$ 氯化汞（ HgCl_2 ，预先在硫酸干燥器中干燥）于 10 mL 烧杯中，用硝酸溶液（见 5.2.3.8）溶解。全量转入 100 mL 量瓶中，用硝酸溶液（见 5.2.3.8）稀释至标线，混匀。保存期一年。

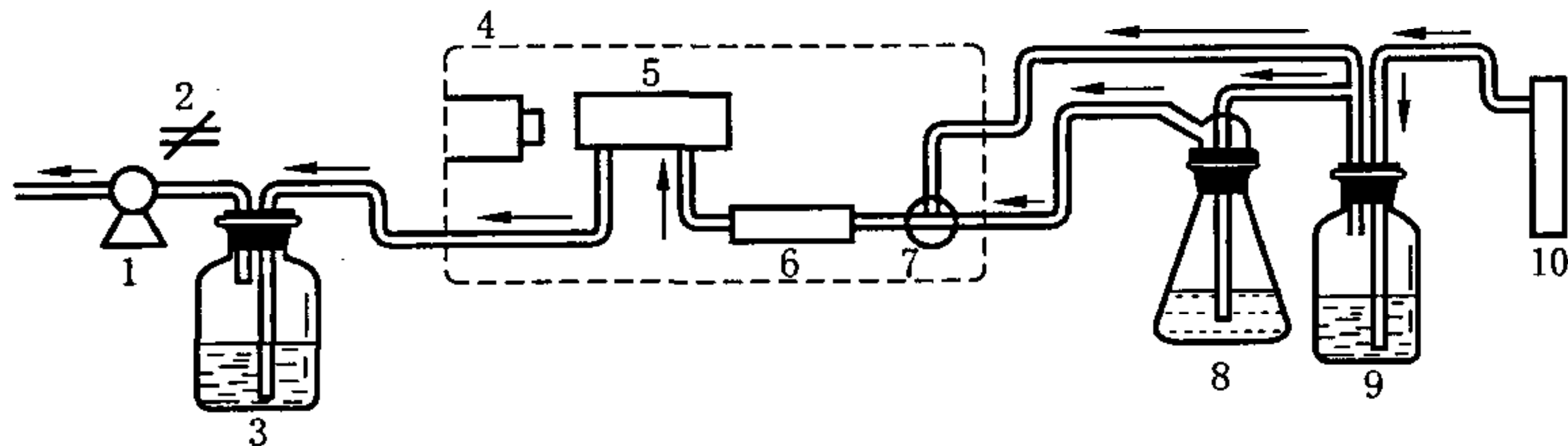
5.2.3.12 汞标准中间溶液（ $10.0\ \mu\text{g/mL}$ ）：量取 1.00 mL 汞标准贮备溶液（见 5.2.3.11）于 100 mL 量瓶中，用硝酸溶液（见 5.2.3.8）稀释至标线，混匀。保存期 7 d。

5.2.3.13 汞标准使用溶液（ $0.100\ \mu\text{g/mL}$ ）：量取 1.00 mL 汞标准中间溶液（见 5.2.3.12）于 100 mL 量瓶中，用硫酸溶液（见 5.2.3.6）稀释至标线，混匀。当天配制。

5.2.4 仪器及设备

仪器和设备如下：

- 测汞装置（见图 1）；
- 汞蒸气发生瓶：250 mL 锥形洗瓶改制，将洗瓶通气管下端截断，使管端刚离开待测溶液液面；
- 电热板；
- 容量瓶：容量 50 mL、100 mL；
- 移液管：容量 1 mL、2 mL、5 mL、10 mL；
- 烧杯：容量 50 mL、100 mL、1 000 mL；
- 实验室常备仪器及设备。



- 1——抽气泵；
- 2——空气流量调节阀；
- 3——含汞废气吸收器；
- 4——测汞仪；
- 5——光吸收池；
- 6——干燥管；
- 7——三通阀；
- 8——汞蒸气发生瓶；
- 9——空气净化装置；
- 10——气体流量计。

图 1 冷原子吸收测汞装置

5.2.5 分析步骤

5.2.5.1 绘制标准曲线

按以下步骤绘制标准曲线：

- a) 取 6 个 250 mL 汞蒸气发生瓶，加 100 mL 低汞海水（见 5.2.3.10），然后分别加入 0 mL、0.10 mL、0.20 mL、0.30 mL、0.40 mL、0.50 mL 汞标准使用溶液（见 5.2.3.13），混匀；
- b) 将测汞仪上的三通开关转至调零档，以 $1\ \text{L/min} \sim 1.5\ \text{L/min}$ 流量的空气流通过光吸收池；
- c) 将汞蒸气发生瓶依次连接于测汞仪上，加入 2 mL 氯化亚锡溶液（见 5.2.3.9），迅速塞紧汞蒸气发生瓶的塞子，振摇 1 min；

- d) 调节测汞仪零点,将三通开关转到测定档,测定吸光值(A_i)及标准空白吸光值(A_0);
- e) 将数据填入表 A.3 中。以吸光值 $A_i - A_0$ 为纵坐标,相应的汞含量(μg)为横坐标,绘制标准曲线。

5.2.5.2 样品消化

准确称取 2.5 g(± 0.0001 g)湿样,放入 100 mL 烧杯中,加入 40 mg 五氧化二钒(见 5.2.3.1),8 mL 硝酸(见 5.2.3.3),盖上表面皿,置于 $140^\circ\text{C} \sim 160^\circ\text{C}$ 电热板上加热 10 min。取下,稍冷后加入 15 mL 硫酸(见 5.2.3.4),继续加热 20 min。取下,稍冷后加 10 mL 水,再加热 30 min,取下,冷却后全量转入 100 mL 量瓶中,加水稀释至标线,混匀。此液为样品消化液。同时制备分析空白试液。

5.2.5.3 样品测定

量取适量样品消化液(见 5.2.5.2)于汞蒸气发生瓶中,加水至 100 mL。其余按 5.2.5.1.b)~5.2.5.1.d)步骤测定吸光值(A_s)及分析空白吸光值(A_b)。以($A_s - A_b$)的值从标准曲线上查出相应的汞的量(μg)。

5.2.6 记录与计算

将测定数据填入表 A.4 中,按式(2)计算样品干样中汞的含量:

$$w_{\text{Hg}} = \frac{mV_1}{V_2MF} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- w_{Hg} ——生物干样中总汞的含量(质量分数, 10^{-6});
- m ——从标准曲线上查得的汞的量,单位为微克(μg);
- V_1 ——样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
- V_2 ——测定分样体积,单位为毫升(mL);
- M ——样品的称取量,单位为克(g);
- F ——样品的干湿比。

5.2.7 精密度和准确度

汞含量为 0.25×10^{-6} 时,相对标准偏差为 4%;4 个实验室测定同一牡蛎互校样,相对标准偏差为 9.1%。

5.2.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

- 除非另作说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为去离子水或等效纯水;
- 试验用器皿用硝酸溶液(1+3)浸泡 24 h 以上,洗净,并检查空白是否合格;
- 用过的汞蒸气发生瓶,应用酸性高锰酸钾溶液漂洗,用水洗净;
- 绘制汞标准曲线时,也可用氯化钠溶液代替低汞海水。

6 铜

6.1 无火焰原子吸收分光光度法(连续测定铜、铅和镉)

6.1.1 适用范围和应用领域

本法适用于海洋生物体中铜、铅和镉的连续测定。

本方法为仲裁方法。

6.1.2 方法原理

生物样品经硝酸-过氧化氢消化,铜在 324.7 nm 波长,铅在 283.3 nm 波长,镉在 228.8 nm 波长处进行无火焰原子吸收测定。

6.1.3 试剂及其配制

6.1.3.1 硝酸(HNO_3): $\rho = 1.42$ g/mL,优级纯,经石英亚沸蒸馏器蒸馏。

6.1.3.2 过氧化氢(H_2O_2):30%。

6.1.3.3 硝酸溶液(1+2):1体积的硝酸(见6.1.3.1)和2体积的水混合。

6.1.3.4 硝酸溶液(1+99)1体积的硝酸(见6.1.3.1)和99体积的水混合。

6.1.3.5 铜、铅和镉标准贮备溶液(1.000 mg/mL):分别称取0.100 0 g金属铜、铅和镉(纯度99.99%)于3只50 mL烧杯中,用水润湿,加硝酸溶液(见6.1.3.3)溶解,必要时加热直至溶解完全。分别全量转入3只100 mL量瓶中,加硝酸溶液(见6.1.3.3)至标线,混匀。

6.1.3.6 铜、铅和镉标准中间溶液:分别移取2.0 mL铜标准贮备液(见6.1.3.5),1.0 mL铅标准贮备液(见6.1.3.5)和0.20 mL镉标准贮备液(见6.1.3.5)于同一100 mL量瓶中,用硝酸溶液(见6.1.3.4)稀释至标线,混匀。此溶液铜为20.0 $\mu\text{g/mL}$,铅为10.0 $\mu\text{g/mL}$,镉为2.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

6.1.3.7 铜、铅和镉标准使用溶液:量取1.00 mL铜、铅和镉标准中间溶液(见6.1.3.6)于100 mL量瓶中,用硝酸溶液(见6.1.3.4)稀释至标线,混匀。此溶液铜为0.20 $\mu\text{g/mL}$,铅为0.10 $\mu\text{g/mL}$,镉为0.02 $\mu\text{g/mL}$ 。

6.1.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

- 无火焰原子吸收分光光度计;
- 空心阴极灯;
- 氩气钢瓶:纯度99.99%;
- 洁净工作台(洁净100级);
- 电热板。

6.1.5 分析步骤

6.1.5.1 绘制标准曲线

按以下步骤绘制标准曲线:

- a) 取6支10 mL具塞比色管,分别移入0 mL、0.50 mL、1.00 mL、1.50 mL、2.00 mL、2.50 mL铜、铅和镉标准使用溶液(见6.1.3.7),加硝酸溶液(见6.1.3.4)稀释至标线,混匀。
- b) 移取20 μL 试液,按选定的仪器工作条件,测定标准系列溶液的吸光值(A_i)和标准空白值(A_0);
- c) 将数值记入表A.5中,以吸光值($A_i - A_0$)为纵坐标,相应金属元素的浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标,绘制标准曲线。

6.1.5.2 样品消化

6.1.5.2.1 准确称取0.1 g($\pm 0.000 1$ g)干样于50 mL烧杯中,用几滴水湿润样品,加入2 mL硝酸(见6.1.3.1),盖上表面皿,置于电热板上,低温加热至泡沫基本消失。

6.1.5.2.2 取下烧杯,缓慢地加入0.5 mL过氧化氢(见6.1.3.2),盖上表面皿,于电热板160℃~200℃加热约20 min,补加1 mL过氧化氢(见6.1.3.2),继续加热并蒸至约剩1 mL。

6.1.5.2.3 再加1 mL硝酸(见6.1.3.1),1.5 mL过氧化氢(见6.1.3.2),盖上表面皿,于电热板160℃~200℃加热,并蒸至约0.5 mL,全量转入10 mL具塞比色管中,加水至标线,混匀。同时制备分析空白样品。

6.1.5.3 样品测定

量取20 μL 样品消化液,按选定的仪器技术参数测定相应金属元素的吸光值(A_s);同时,测定分析空白样品吸光值(A_b)。以($A_s - A_b$)的值从标准曲线上查出相应金属元素的浓度($\mu\text{g/mL}$)。

6.1.6 记录与计算

将测得数据记入表A.6中,按式(3)计算生物体干样中铜、铅和镉的含量。

$$w_{\text{Me}} = \frac{\rho_{\text{Me}} V}{M} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

w_{Me} ——生物体干样中铜、铅和镉的含量(质量分数, 10^{-6});

ρ_{Me} ——从标准曲线上查得的铜、铅和镉的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V ——样品消化液的体积,单位为毫升(mL);

M ——干样品称取量,单位为克(g)。

6.1.7 精密度和准确度

铜:六个实验室测定同一互校生物样,测定结果的再现性相对标准偏差为 1.6%。

铅:平行 6 次测定三种生物样品,相对标准偏差分别为 7.5%, 6.4% 和 2.7%;五个实验室测定生物样品(牡蛎),平均值为 1.68×10^{-6} ,再现性标准偏差为 1.1%;六个实验室测定铅含量为 0.54×10^{-6} 的标准物质,相对误差平均为 3.7%。

镉:平行 6 次测定三种生物样品,相对标准偏差分别为 13%、2.8% 和 3.6%;五个实验室测定镉含量为 0.067×10^{-6} 的标准物质,误差平均为 7.2%;五个实验室分析同一生物样品(牡蛎),再现性相对标准偏差为 8.2%。

6.1.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

——除非另作说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为二次去离子水或等效纯水;

——试验用器皿用硝酸溶液(1+3)浸泡 24 h 以上,洗净,使用前用二次去离子水淋洗干净,并检查空白是否合格;

——样品消化时,应始终盖上表面皿;

——不同型号的无火焰原子吸收分光光度计,自行选定仪器最佳技术参数。

6.2 阳极溶出伏安法

6.2.1 适用范围和应用领域

本法适用于海洋生物体中铜的测定。

6.2.2 方法原理

生物样经硝酸-过氧化氢消化,用柠檬酸三铵掩蔽干扰离子。在 pH 值为 8.2 ± 0.2 的乙二胺介质中,当在工作电极上施加一定电压进行电解时,铜被还原并沉积在悬滴汞电极上形成铜-汞齐,然后进行反向电压扫描,汞中的金属铜被氧化溶出,所产生的氧化电流与溶液中铜的浓度呈正比关系,借以进行定量测定。

6.2.3 试剂及其配制

6.2.3.1 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42 \text{ g/mL}$,超纯。

6.2.3.2 过氧化氢(H_2O_2):30%。

6.2.3.3 盐酸(HCl): $\rho=1.19 \text{ g/mL}$,超纯。

6.2.3.4 柠檬酸三铵溶液(50 g/L):称取 5 g 柠檬酸三铵($\text{C}_6\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_7$)于 150 mL 烧杯中,加水溶解后,转入 100 mL 量瓶,加水至标线,混匀。

6.2.3.5 乙二胺($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$):经等温扩散法提纯。

6.2.3.6 精密 pH 试纸:pH 为 7.6~8.5。

6.2.3.7 铜标准贮备溶液(1.000 mg/mL):见 6.1.3.5。

6.2.3.8 铜标准中间溶液(10.0 $\mu\text{g/mL}$):量取 1.00 mL 铜标准贮备溶液(见 6.2.3.7)于 100 mL 量瓶中,加入 1.0 mL 盐酸(见 6.2.3.3),加水至标线,混匀。

6.2.3.9 铜标准使用溶液(2.00 $\mu\text{g/mL}$):量取 20.0 mL 铜标准中间溶液(见 6.2.3.8)于 100 mL 量瓶中,加水至近 100 mL,用乙二胺溶液(见 6.2.3.5)调节 pH 值为 3~4,加水至标线,混匀。使用时配制。

6.2.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

- 极谱仪:具有向正电压方向扫描的功能。若用脉冲阳极溶出伏安法,需用脉冲极谱仪;
- 记录仪:配用仪器自带的图形记录仪或 X-Y 函数记录仪;
- 电极:
 - a) 工作电极:悬滴汞电极;
 - b) 参比电极:Ag/AgCl 电极;
 - c) 辅助电极:铂金电极;
- 电解池:规格及形状须一致;
- 恒速电磁搅拌器;
- 电热板:温度可调,铺有薄型石棉板或 3 cm 厚细砂;
- 电炉:铺有石棉网;
- 精密微量移液管:容量 100 μL , 400 μL , 1 000 μL ;
- 实验室常备仪器及设备。

6.2.5 分析步骤

6.2.5.1 样品消化

准确称取 0.25 g($\pm 0.000\ 1\ \text{g}$)干样于 50 mL 烧杯中,加几滴水湿润,加入 2 mL 硝酸(见 6.2.3.1),盖上表面皿,于电热板上低温加热,待泡沫基本消失后,缓慢地加入 1 mL 过氧化氢(见 6.2.3.2),于 160℃~200℃蒸至近干,分别补加 0.5 mL 硝酸和过氧化氢,蒸至近干,再重复一次。用水洗净表面皿,洗涤液并入消化液中,移去表面皿。继续蒸干后移到电炉上,约 450℃加热至不溶物呈白色(除尽有机物质),加入 2 mL 盐酸(见 6.2.3.3),于高温电热板上蒸干。取下冷却,加入 1 mL 盐酸溶液(1+1),于电热板上微热浸取不溶物,全量转入 50 mL 量瓶中,加水至标线,混匀,制成样品消化溶液,同时制备分析空白样品。

6.2.5.2 样品的测定

样品的测定按以下步骤进行:

- a) 量取 10.0 mL 样品消化液(见 6.2.5.1)于电解池中,加入 100 μL 柠檬酸三铵溶液(见 6.2.3.4),混匀。用乙二胺(见 6.2.3.5)调节 pH 值为 8.2 ± 0.2 用精密 pH 试纸(见 6.2.3.6)检验;
- b) 接通仪器(测定前开机预热 20 min)。将三个电极插入电解池中,输入选定的仪器参数;
- c) 启动运转旋钮,待运转结束,记下峰电流值 I_{s1} ;
- d) 加入 100 μL 铜标准使用溶液(见 6.2.3.9),下同 6.2.5.2.c)操作,记下峰电流值 I_{s2} 。

6.2.5.3 空白的测定

按 6.2.5.2 步骤测定分析空白样品,并记下空白峰电流值 I_{b1} 和添加铜标准溶液后的峰电流值 I_{b2} 。

6.2.6 记录与计算

将所测得的峰电流值记入表 A.7 中,按式(4)计算样品中铜的含量:

$$w_{\text{Cu}} = \left(\frac{I_{s1}}{I_{s2} - I_{s1}} - \frac{I_{b1}}{I_{b2} - I_{b1}} \right) \frac{V_2 \rho_{\text{Cu}} V_0}{V_1 M} \dots\dots\dots (4)$$

式中:

- w_{Cu} ——生物体干样中铜的含量(质量分数, 10^{-6});
- I_{s1} ——样品消化液的峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;
- I_{s2} ——样品消化液加入铜标准使用溶液后所得的峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;
- I_{b1} ——分析空白的峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;
- I_{b2} ——分析空白液添加铜标准使用液后的峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;
- V_0 ——样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
- V_1 ——测定时量取样品消化液的体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——加入铜标准使用溶液的体积,单位为毫升(mL);

ρ_{Cu} ——铜标准使用溶液的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

M ——样品的称样重量,单位为克(g)。

6.2.7 精密度和准确度

4个实验室测定同一生物样品(牡蛎),平均值为 65.3×10^{-6} ,再现性相对标准偏差为 11%;测定铜含量为 17.2×10^{-6} 的标准物质时,相对误差平均为 3.0%。

6.2.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

- 除非另作说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为二次去离子水或等效纯水;
- 消化液中有有机物质应除尽,否则会导致铜的测定结果偏低,甚至出现不正常溶出峰;
- 悬汞滴体积须一致;
- 电解池的容积、几何形状及电极的位置应保持一致;
- 悬汞滴表面或毛细管口上部不应有气泡;
- 搅拌速率应恒定;
- 电解时间、扫描速率、脉冲高度等均影响峰电流应严加控制,力求一致;
- 毛细管沾污常会引起电流峰不重现,溶出曲线混乱或毛细管内汞线断开。毛细管不使用时,应在空气中干燥贮存。毛细管在浸入新的溶液之前应先挤出一滴汞;
- 所用玻璃器皿应用硝酸浸泡 1 d 以上,用二次去离子水反复洗净,再用无铜蒸馏水淋洗一遍。精密微量移液管的吸头用同法浸泡及洗净后,于低温(低于 60°C)烘干,可反复使用;
- 使用不同型号的极谱仪,应选择最佳仪器工作条件。

6.3 火焰原子吸收分光光度法

6.3.1 适用范围和应用领域

本法适用于海洋生物中铜的测定。

6.3.2 方法原理

生物干样经硝酸-过氧化氢消化,于 324.7 nm 波长处直接进行火焰原子吸收分光光度测定。

6.3.3 试剂及其配制

6.3.3.1 过氧化氢(H_2O_2):30%。

6.3.3.2 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42\text{ g/mL}$,优级纯。

6.3.3.3 硝酸溶液(1+99):1 体积硝酸(见 6.3.3.2)与 99 体积水混合。

6.3.3.4 铜标准贮备溶液(1.000 mg/mL):见 6.1.3.5。

6.3.3.5 铜标准中间溶液($100\text{ }\mu\text{g/mL}$):量取 10.0 mL 铜标准贮备溶液(见 6.3.3.4)于 100 mL 量瓶中,加硝酸溶液(见 6.3.3.3)至标线,混匀。

6.3.3.6 铜标准使用溶液($10.0\text{ }\mu\text{g/mL}$):量取 10.0 mL 铜标准中间溶液(见 6.3.3.5)于 100 mL 量瓶中,加硝酸溶液(见 6.3.3.3)至标线,混匀。

6.3.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

- 火焰原子吸收分光光度计;
- 铜空心阴极灯;
- 空气压缩机;
- 乙炔钢瓶;
- 洁净工作台;
- 实验室常备仪器及设备。

6.3.5 分析步骤

6.3.5.1 绘制标准曲线

6.3.5.1.1 移取 0 mL、0.40 mL、0.80 mL、1.20 mL、1.60 mL、2.00 mL 铜标准使用溶液(见 6.3.3.6)于 10 mL 具塞比色管中,加水至标线,混匀。按选定的仪器技术参数,用水调零,测定吸光值(A_i)。

6.3.5.1.2 将数据记入表 A.8 中,以吸光值($A_i - A_0$)为纵坐标,相应的铜的浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标,绘制标准曲线。

6.3.5.2 样品的消化

6.3.5.2.1 准确称取 0.2 g(± 0.0001 g)干样于 50 mL 烧杯中,用几滴水湿润样品,加入 2 mL 硝酸(见 6.3.3.2),盖上表面皿,于电热板上低温加热至泡沫基本消失。

6.3.5.2.2 取下烧杯,缓慢地加入 0.5 mL 过氧化氢(见 6.3.3.1),盖上表面皿,于电热板 $160^\circ\text{C} \sim 200^\circ\text{C}$ 加热 2 min 左右。补加 1 mL 过氧化氢(见 6.3.3.1),继续加热并蒸至约 1 mL。

6.3.5.2.3 再加 1 mL 硝酸(见 6.3.3.2),1.5 mL 过氧化氢(见 6.3.3.1),盖上表面皿,于电热板 $160^\circ\text{C} \sim 200^\circ\text{C}$ 加热,并蒸发至约 0.5 mL。冷却后,全量转入 10 mL 具塞比色管中,加水至标线,混匀,制得样品消化液,同时,制备分析空白样品。

6.3.5.3 样品测定

按选定的仪器测定参数,用水调零,测定样品制备液的吸光值(A_s)和分析空白样品吸光值(A_b)。以($A_s - A_b$)值从标准曲线上查出相应的铜浓度($\mu\text{g/mL}$)。

6.3.6 记录与计算

将测得的数据记入表 A.9 中,按式(5)计算生物样品的铜含量:

$$w_{\text{Cu}} = \rho_{\text{Cu}} V / M \dots\dots\dots (5)$$

式中:

- w_{Cu} ——生物体干样中铜的含量(质量分数, 10^{-6});
- ρ_{Cu} ——从标准曲线上查得的铜的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
- V ——样品制备液的体积,单位为毫升(mL);
- M ——样品称取量,单位为克(g)。

6.3.7 精密度和准确度

6 个实验室测定同一生物样(牡蛎),再现性相对标准偏差为 2.7%。

6.3.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

- 除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为二次去离子水或等效纯水;
- 试验用器皿用硝酸溶液(1+3)浸泡 24 h 以上,洗净,使用前用二次去离子水淋洗干净,并检查空白是否合格;
- 样品消化时,须始终盖上表面皿;
- 不同型号的原子吸收分光光度计,须选定仪器最佳技术参数。

7 铅

7.1 无火焰原子吸收分光光度法

无火焰原子吸收分光光度法见 6.1。

7.2 阳极溶出伏安法

7.2.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物体中铅的测定。

7.2.2 方法原理

生物干样经硝酸-过氧化氢消化,在 pH 值为 2.0~2.5 的介质中,当对工作电极施加一定电压进行

电解时,铅被还原并沉积在悬滴汞电极上形成铅-汞齐。然后进行反向电压扫描,汞齐中的金属铅被氧化溶出,其氧化电流与溶液中铅的浓度呈正比关系,以此进行定量测定。

7.2.3 试剂及其配制

- 7.2.3.1 硝酸(HNO₃): $\rho=1.42\text{ g/mL}$,超纯。
- 7.2.3.2 过氧化氢(H₂O₂):30%。
- 7.2.3.3 盐酸(HCl): $\rho=1.18\text{ g/mL}$,超纯。
- 7.2.3.4 氨水(NH₄OH):用 $\rho=0.90\text{ g/mL}$ 的氨水经等温扩散法提纯。
- 7.2.3.5 精密 pH 试纸:pH0.5~5.0。
- 7.2.3.6 铅标准贮备溶液(1.000 mg/mL):见 6.1.3.5。
- 7.2.3.7 铅标准中间溶液(10.0 $\mu\text{g/mL}$):量取 1.00 mL 铅标准贮备溶液(见 7.2.3.6)于 100 mL 容量瓶中,加入 1 mL 盐酸(见 7.2.3.3),加水至标线,混匀。
- 7.2.3.8 铅标准使用溶液(1.00 $\mu\text{g/mL}$):量取 10.0 mL 铅标准中间溶液(见 7.2.3.7)于 100 mL 容量瓶中,加水至近 100 mL,用氨水(见 7.2.3.4)调节 pH 值为 2.0~2.5,加水至标线,混匀。

7.2.4 仪器及设备

仪器及设备见 6.2.4。

7.2.5 分析步骤

7.2.5.1 样品消化

样品消化见 6.2.5.1。

7.2.5.2 样品的测定

7.2.5.2.1 量取 10.0 mL 样品消化液于电解池中,用氨水(见 7.2.3.4)调节 pH 值为 2.0~2.5,并用精密 pH 试纸(见 7.2.3.5)检验。

7.2.5.2.2 接通仪器(测定前开机预热 20 min)。将三个电极插入电解池中,输入选定的仪器技术参数。

7.2.5.2.3 启动仪器的运转旋钮,待运转结束后,记下峰电流值 I_{s1} 。

7.2.5.2.4 在原溶液中加入 100 μL 铅标准使用溶液(见 7.2.3.8),以下操作同 7.2.5.2.3,记下峰电流值 I_{s2} 。

7.2.5.3 空白的测定

按 7.2.5.2 步骤测定分析空白制备液的峰电流值 I_{b1} 和添加铅标准后的峰电流值 I_{b2} 。

7.2.6 记录与计算

将所测得的峰电流值记入表 A.7 中,按式(6)计算样品中铅的含量:

$$\omega_{\text{Pb}} = \left(\frac{I_{s1}}{I_{s2} - I_{s1}} - \frac{I_{b1}}{I_{b2} - I_{b1}} \right) \frac{V_2 \rho_{\text{Pb}} V_0}{V_1 M} \dots\dots\dots (6)$$

式中:

- ω_{Pb} ——生物体干样中铅的含量(质量分数,10⁻⁶);
- I_{s1} ——样品消化液的峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;
- I_{s2} ——样品消化液加入铅标准使用溶液后所得峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;
- I_{b1} ——分析空白试液的峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;
- I_{b2} ——分析空白试液加入铅标准使用溶液后所得峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;
- V_0 ——样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
- V_1 ——测定时量取样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
- V_2 ——加入铅标准使用溶液的体积,单位为毫升(mL);
- ρ_{Pb} ——铅标准使用溶液的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
- M ——样品称取量,单位为微克(g)。

7.2.7 精密度和准确度

铅含量为 1.98×10^{-6} 时,测定结果的平均值为 1.94×10^{-6} ,再现性相对标准偏差为 5.2%;含量为 0.54×10^{-6} 时,测定结果的相对误差为 5.8%。

7.2.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

- 除非另作说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为去离子水或等效纯水;
- 使用不同型号的极谱仪,应选择最佳仪器工作条件;
- 其他见 6.2.7。

7.3 火焰原子吸收分光光度法

7.3.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物样品中铅的测定。

7.3.2 方法原理

生物干样经硝酸-高氯酸消化,在酸性介质中,铅与碘化钾形成络合物,用甲基异丁酮萃取后于波长 217.0 nm 处进行铅的火焰原子吸收测定。

7.3.3 试剂及其配制

7.3.3.1 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42 \text{ g/mL}$,优级纯。

7.3.3.2 硝酸溶液(1+3):用 1 体积硝酸(见 7.3.3.1)与 3 体积的水混匀。

7.3.3.3 硝酸溶液(1+99):用 1 体积硝酸(见 7.3.3.1)与 99 体积的水混匀。

7.3.3.4 高氯酸(HClO_4): $\rho=1.67 \text{ g/mL}$,优级纯。

7.3.3.5 盐酸(HCl): $\rho=1.19 \text{ g/mL}$,优级纯。

7.3.3.6 盐酸溶液(1 mol/L):将 84 mL 盐酸(见 7.3.3.5)用水稀释至 1 L。

7.3.3.7 抗坏血酸($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$)。

7.3.3.8 甲基异丁酮($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$):简称 MIBK。

7.3.3.9 碘化钾溶液(4 mol/L):溶解 166 g 碘化钾(KI)于水中,加水至 250 mL,贮于棕色试剂瓶中,暗处保存。

7.3.3.10 铅标准贮备溶液(1.000 mg/mL):见 6.1.3.5。

7.3.3.11 铅标准使用溶液(10.0 $\mu\text{g/mL}$):量取 1.00 mL 铅标准贮备溶液(见 7.3.3.10)于 100 mL 容量瓶中,加硝酸溶液(见 7.3.3.3)至标线,混匀。

7.3.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

- 火焰原子吸收分光光度计;
- 铅空心阴极灯;
- 空气压缩机;
- 乙炔钢瓶;
- 精密可调微量移液管:100 μL ;
- 实验室常备仪器及设备。

7.3.5 分析步骤

7.3.5.1 绘制标准曲线:

按以下步骤绘制标准曲线:

- 取 6 个 25 mL 量瓶,分别加入 0 μL 、60 μL 、120 μL 、180 μL 、240 μL 、300 μL 铅标准使用溶液(见 7.3.3.11),分别加入 15.0 mL 同种类生物样品消化液;
- 加入 2 mL 盐酸(见 7.3.3.5),2 mL 碘化钾溶液(见 7.3.3.9)和 0.2 g 抗坏血酸(见 7.3.3.7)混匀,加入 3.00 mL MIBK(见 7.3.3.8),振荡 2 min,待分层后,插一塑料管至瓶底,通过塑料

管加水,使有机相上升至量瓶颈部。按选定的仪器技术参数,以 MIBK(用水饱和过)调零,测定有机相的吸光值(A_i)和(A_b);

c) 将数据记入表 A. 8 中。以吸光值($A_i - A_b$)为纵坐标,相应铅的量(μg)为横坐标,绘制工作曲线。

7.3.5.2 样品消化:

准确称取 2 g ($\pm 0.000\ 1$ g)干样于 100 mL 烧杯中,加入 4 mL 硝酸(见 7.3.3.1),盖上表面皿,低温加热至无气泡产生,稍冷后加入 2 mL 硝酸(见 7.3.3.1)和 4 mL 高氯酸(见 7.3.3.4),在电炉上加热至溶液呈透明的淡黄色,移开表面皿,蒸发至白烟冒尽,残留物用 10 mL 盐酸(见 7.3.3.5)加热溶解,冷却后全量转入 50 mL 量瓶中,加水至标线,混匀,制得样品消化液。同时制备分析空白样品。

7.3.5.3 样品测定:

量取 15 mL 样品消化液于 25 mL 量瓶中,其余按绘制标准曲线 7.3.5.1.b) 步骤测定吸光值 A_s 。同时按上述步骤测定分析空白样品的吸光值 A_b 。以($A_s - A_b$)的值从工作曲线上查出相应的铅的量(μg)。

7.3.6 记录与计算

将测得的数据记入表 A. 9 中,按式(7)计算生物体中铅的含量:

$$w_{\text{Pb}} = \frac{m V_1}{V_2 M} \dots\dots\dots (7)$$

式中:

- w_{Pb} ——生物体干样中铅的含量(质量分数, 10^{-6});
- m ——从工作曲线上查得的相应的铅的量,单位为微克(μg);
- V_1 ——样品制备液的体积,单位为毫升(mL);
- V_2 ——用于测定的样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
- M ——样品的称取量,单位为克(g)。

7.3.7 精密度和准确度

铅含量为 2.20×10^{-6} 时,相对标准偏差为 10.5%;再现性相对标准偏差为 13.9%。

7.3.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

- 除非另作说明,本方法所用试剂均为分析纯。水为蒸馏水经石英蒸馏器蒸馏或等效纯水;
- 所有玻璃器皿应经(1+3)硝酸溶液浸泡 3 d 以上,然后用水洗净;
- 生物样品消化时,初次加入浓硝酸后应静置至其大部分生物组织消解后再加热;
- MIBK 萃取液应在 2 h 内测定完毕;
- 根据原子吸收分光光度计的型号,选定最佳仪器技术参数。

8 镉

8.1 无火焰原子吸收分光光度法

无火焰原子吸收分光光度法见 6.1。

8.2 阳极溶出伏安法

8.2.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物体中镉的测定。

8.2.2 方法原理

生物干样经硝酸-过氧化氢消化,在 pH 值为 2.0~2.5 介质中,当在工作电极上施加一定电压进行电解时,镉被还原并沉积在悬滴汞电极上形成镉-汞齐。然后进行反向电压扫描,汞齐中的金属镉被氧化溶出,其氧化电流与溶液中镉的浓度呈正比关系,借以进行定量测定。

8.2.3 试剂及其配制

- 8.2.3.1 硝酸(HNO₃) $\rho=1.42\text{ g/mL}$,优级纯。
- 8.2.3.2 过氧化氢(H₂O₂):30%。
- 8.2.3.3 盐酸(HCl): $\rho=1.19\text{ g/mL}$,优级纯。
- 8.2.3.4 氨水(NH₄OH):经等温扩散法提纯。
- 8.2.3.5 精密 pH 试纸:pH 值 0.5~5.0。
- 8.2.3.6 镉标准贮备溶液(1.00 mg/mL):见 6.1.3.5。
- 8.2.3.7 镉标准中间溶液(10.0 $\mu\text{g/mL}$):量取 1.00 mL 镉标准贮备溶液(见 8.2.3.6)于 100 mL 量瓶中,加 1 mL 盐酸(见 8.2.3.3),加水至标线,混匀。
- 8.2.3.8 镉标准使用溶液(1.00 $\mu\text{g/mL}$):量取 10.0 mL 镉标准中间溶液(见 8.2.3.7)于 100 mL 量瓶中,加水至近 100 mL,用氨水(见 8.2.3.4)调节 pH 值为 2.0~2.5,加水至标线,混匀。

8.2.4 仪器及设备

仪器及设备见 6.2.4。

8.2.5 分析步骤

8.2.5.1 样品消化

样品消化见 6.2.5.1。

8.2.5.2 样品的测定

- 8.2.5.2.1 量取 10.0 mL 样品试液于电解池中,用氨水(见 8.2.3.4)调节 pH 值为 2.0~2.5,并用精密 pH 试纸(见 8.2.3.5)检验。
- 8.2.5.2.2 接通仪器(测定前开机预热 20 min)。将三种电极插入电解池中,输入选定的仪器技术参数。
- 8.2.5.2.3 启动仪器的运转旋钮。待运转结束后,记下峰电流值 I_{s1} 。
- 8.2.5.2.4 在原溶液中加入 100 μL 镉标准使用溶液(见 8.2.3.8),下同 8.2.5.2.3 操作,记下峰电流值 I_{s2} 。

8.2.5.3 空白的测定

按 8.2.5.2 步骤测定分析空白消化液的峰电流值(I_{b1})和添加镉标准后的峰电流值(I_{b2})。

8.2.6 记录与计算

将测得的峰电流值记入表 A.7 中,按式(8)计算样品镉的含量:

$$w_{\text{Cd}} = \left(\frac{I_{s1}}{I_{s2} - I_{s1}} - \frac{I_{b1}}{I_{b2} - I_{b1}} \right) \frac{\rho_{\text{Cd}} V_2 V_0}{V_1 M} \dots\dots\dots (8)$$

式中:

- w_{Cd} ——生物体干样中镉的含量(质量分数,10⁻⁶);
- I_{s1} ——样品消化液的峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;
- I_{s2} ——样品消化液中加入镉标准使用溶液后所得峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;
- I_{b1} ——分析空白消化液的峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;
- I_{b2} ——分析空白消化液中加入镉标准使用溶液后峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;
- V_0 ——样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
- V_1 ——测定时量取样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
- V_2 ——加入镉标准使用溶液的体积,单位为毫升(mL);
- ρ_{Cd} ——镉标准使用溶液的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
- M ——样品的称取量,单位为克(g)。

8.2.7 精密度和准确度

五个实验室测定同一生物样品(牡蛎),测定结果的再现性相对标准偏差为 8.4%。

8.2.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项：

- 除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为去离子水或等效纯水；
- 使用不同型号的极谱仪，应选择最佳仪器操作条件；
- 其他注意事项见 6.2.7。

8.3 火焰原子吸收分光光度法

8.3.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物样品中镉的测定。

8.3.2 方法原理

生物干样经硝酸-高氯酸湿法消化，于波长 228.8 nm 处进行镉的火焰原子吸收测定。

8.3.3 试剂及其配制

8.3.3.1 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42\text{ g/mL}$, 优级纯。

8.3.3.2 硝酸溶液(1+1): 硝酸(见 8.3.3.1)与等体积水混合。

8.3.3.3 硝酸溶液(1+99): 1 体积硝酸(见 8.3.3.1)与 99 体积水混合。

8.3.3.4 高氯酸(HClO_4): $\rho=1.67\text{ g/mL}$, 优级纯。

8.3.3.5 盐酸(HCl): $\rho=1.19\text{ g/mL}$, 优级纯。

8.3.3.6 盐酸溶液(1+1): 盐酸(见 8.3.3.5)与等体积水混合。

8.3.3.7 镉标准贮备溶液(1.000 mg/mL): 见 6.1.3.5。

8.3.3.8 镉标准使用溶液($10.0\text{ }\mu\text{g/mL}$): 量取 1.00 mL 镉标准贮备溶液(见 8.3.3.7)于 100 mL 量瓶中，加 1 mL 盐酸(见 8.3.3.5)，加水至标线，混匀。

8.3.4 仪器及设备

仪器和设备如下：

- 火焰原子吸收分光光度计；
- 镉空心阴极灯；
- 空气压缩机；
- 乙炔钢瓶；
- 电热板；
- 调压变压器；1 kVA；
- 实验室常备仪器及设备。

8.3.5 分析步骤

8.3.5.1 绘制标准曲线

按以下步骤绘制标准曲线：

- a) 分别量取 0 mL、0.25 mL、0.50 mL、1.00 mL、1.50 mL、2.00 mL、2.50 mL 镉标准使用溶液(见 8.3.3.8)于 7 个 50 mL 量瓶中，用水稀释至标线，混匀；
- b) 按选定的仪器技术参数，用水调零测定吸光值(A_i)及标准空白吸光值(A_0)；
- c) 将测得吸光值记入表 A.8 中。以吸光值($A_i - A_0$)为纵坐标，相应的镉的浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标绘制标准曲线。

8.3.5.2 样品消化

称取 $2\text{g}(\pm 0.000\text{ }1\text{ g})$ 干样于 100 mL 烧杯中，加入 4 mL 硝酸(见 8.3.3.1)，盖上表面皿，在电热板上低温加热至无气泡产生，冷却后，加入 2 mL 硝酸(见 8.3.3.1)和 4 mL 高氯酸(见 8.3.3.4)，再加热至溶液呈透明的淡黄色。移开表面皿蒸发至白烟冒尽，残留物用 10 mL 盐酸溶液(见 8.3.3.6)加热溶解，冷却后，全量转入 25 mL 量瓶中，用水稀释至标线。制得样品消化液，同时制备分析空白样品。

8.3.5.3 样品测定

按选定的仪器技术参数,用水调零,直接测定样品制备液的吸光值 A_s ,同时测定分析空白样品的吸光值 A_b 。以 $A_s - A_b$ 的值从标准曲线上查出相应的镉的浓度。

8.3.6 记录与计算

将测得的数据记入表 A.9 中,按式(9)计算生物体样品的镉含量:

$$w_{Cd} = \frac{\rho_{Cd} V}{M} \dots\dots\dots (9)$$

式中:

- w_{Cd} ——生物体干样中镉的含量(质量分数, 10^{-6});
- ρ_{Cd} ——从标准曲线上查得的镉的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
- V ——样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
- M ——样品的称取量,单位为克(g)。

8.3.7 精密度和准确度

镉含量为 1.93×10^{-6} 时,测定结果的相对标准偏差为 1.1%;再现性相对标准偏差为 8.7%。

8.3.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

- 除非另作说明,本方法所用试剂均为分析纯,水用市售蒸馏水经石英蒸馏器蒸馏或等效纯水;
- 所有玻璃器皿经硝酸溶液(1+3)浸泡 2 d 以上,然后用水洗净;
- 生物样消化时初次加入浓硝酸后宜放置至其大部分生物组织消解后再加热;
- 根据原子吸收分光光度计型号,选定最佳仪器技术参数。

9 锌

9.1 火焰原子吸收分光光度法

9.1.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物中锌的测定。
本方法为仲裁方法。

9.1.2 方法原理

生物样品经硝酸-过氧化氢消化后,于 213.8 nm 波长处直接进行锌的火焰原子吸收分光光度测定。

9.1.3 试剂及其配制

- 9.1.3.1 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42 \text{ g/mL}$,优级纯。
- 9.1.3.2 盐酸(HCl): $\rho=1.19 \text{ g/mL}$,优级纯。
- 9.1.3.3 盐酸溶液(1+99):1 体积盐酸(9.1.3.2)与 99 体积水混匀。
- 9.1.3.4 过氧化氢(H_2O_2):30%。
- 9.1.3.5 锌标准贮备溶液(1.000 g/L):称取 0.200 0 g 金属锌(纯度 99.99%以上)于 50 mL 烧杯中,加入 5 mL 硝酸溶液(1+1),盖上表面皿,加热溶解,冷却后,全量移入 200 mL 量瓶中,加水至标线,混匀。
- 9.1.3.6 锌标准使用溶液(20.0 $\mu\text{g/mL}$):量取 2.00 mL 锌标准贮备溶液(见 9.1.3.5)于 100 mL 量瓶中,加盐酸溶液(见 9.1.3.3)至标线,混匀。

9.1.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

- 火焰原子吸收分光光度计;
- 锌空心阴极灯;
- 空气压缩机;

- 乙炔钢瓶；
- 洁净工作台；
- 电热板；
- 实验室常备仪器及设备。

9.1.5 分析步骤

9.1.5.1 绘制标准曲线

9.1.5.1.1 分别移取 0 mL、0.40 mL、0.80 mL、1.20 mL、1.60 mL、2.00 mL 锌标准使用溶液(见 9.1.3.6)于 6 个 10 mL 具塞比色管中,加水至标线,混匀。按选定的仪器技术参数,用水调零,测定标准系列溶液的吸光值 A_i 及标准空白吸光值 A_0 。

9.1.5.1.2 将测得数据记入表 A.8 中,以吸光值 $A_i - A_0$ 为纵坐标,相应的锌的浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标,绘制标准曲线。

9.1.5.2 样品消化

样品消化见 6.1.5.2。

9.1.5.3 样品的测定

按选定的仪器技术参数,用水调零,测定样品消化液的吸光值 A_s 和分析空白样品的吸光值 A_b 。以 $(A_s - A_b)$ 的值从标准曲线上查出相应的锌的浓度。

9.1.6 记录与计算

将测得数据记入表 A.9 中,按式(10)计算样品中锌含量:

$$w_{\text{Zn}} = \frac{\rho_{\text{Zn}} V}{M} \dots\dots\dots (10)$$

式中:

- w_{Zn} ——生物体干样中锌含量(质量分数, 10^{-6});
- ρ_{Zn} ——从标准曲线上查得的锌的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
- V ——样品制备液的体积,单位为毫升(mL);
- M ——样品的称取量,单位为克(g)。

9.1.7 精密度和准确度

六个实验室测定同一生物样品(牡蛎),测定结果的再现性相对标准偏差为 4.9 %。

9.1.8 注意事项

- 本方法执行中应注意如下事项:
- 除非另有说明,本方法所有试剂均为分析纯,水为二次去离子水或等效纯水;
- 本方法中所用器皿均先用硝酸溶液(1+3)浸泡 1 d 以上,使用前用水淋洗干净;
- 样品消化时,应始终盖上表面皿;
- 不同型号的原子吸收分光光度计,自行选定仪器最佳技术参数。

9.2 阳极溶出伏安法

9.2.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物体中锌的测定。

9.2.2 方法原理

样品经硝酸-过氧化氢消化。在镉存在下,用氨水调节溶液 pH 值为 2.2~2.8,当对工作电极上施加一定电压进行电解时,锌被还原并沉积在悬滴汞电极上形成锌-汞齐。然后进行反向电压扫描,汞齐中的金属锌被氧化溶出,所产生的氧化电流与溶液中锌的浓度是正比关系,以此进行定量测定。

9.2.3 试剂及其配制

- 9.2.3.1 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42 \text{ g/mL}$,优级纯。
- 9.2.3.2 盐酸(HCl): $\rho=1.19 \text{ g/mL}$,优级纯。

9.2.3.3 过氧化氢(H_2O_2):30%。

9.2.3.4 氨水(NH_4OH):经等温扩散法提纯。

9.2.3.5 精密 pH 试纸:pH 值为 0.5~5.0。

9.2.3.6 镓贮备溶液($100\text{ }\mu\text{g/mL}$):称取 0.013 5 g 氧化镓于烧杯中,用 2 mL 盐酸溶液(1+1)微热溶解,转入 100 mL 量瓶中,加水至标线,混匀。

9.2.3.7 镓使用溶液($5.0\text{ }\mu\text{g/mL}$):量取 5.0 mL 镓贮备溶液(见 9.2.3.6)于 100 mL 量瓶中,加水近 100 mL,用氨水(见 9.2.3.4)调节 pH 值为 2.2~2.8,然后加水至标线,混匀。

9.2.3.8 锌标准贮备溶液(1.00 mg/mL):见 9.1.3.5。

9.2.3.9 锌标准中间溶液($100\text{ }\mu\text{g/mL}$):量取 10.0 mL 锌标准贮备溶液(见 9.2.3.8)于 100 mL 量瓶中,加入 1 mL 盐酸(见 9.2.3.2),加水至标线,混匀。

9.2.3.10 锌标准使用溶液($3.00\text{ }\mu\text{g/mL}$):量取 3.00 mL 锌标准中间溶液(见 9.2.3.9)于 100 mL 量瓶中,加水近 100 mL,用氨水(见 9.2.3.4)调节 pH 值为 2.2~2.8,加水至标线,混匀。

9.2.4 仪器及设备

仪器及设备见 6.2.4。

9.2.5 分析步骤

9.2.5.1 样品消化

准确称取 0.25 g($\pm 0.000\text{ }1\text{ g}$)干样于 50 mL 烧杯中,用几滴水润湿,加入 2 mL 硝酸(见 9.2.3.1),盖上表面皿,于电热板上低温加热,待泡沫消失后,加入 1 mL 过氧化氢(见 9.2.3.3),低温蒸至近干,补加 0.5 mL 硝酸(见 9.2.3.1)和 0.5 mL 过氧化氢(见 9.2.3.3),蒸干,再重复两次。用水洗净表面皿,洗涤液并入消化液中,移去表面皿,继续蒸干,然后移到电炉上约 450°C ,加热至不溶物呈白色(除尽有机物),加入 2 mL 盐酸(见 9.2.3.2),于高温电热板上蒸干,取下冷却,加入 1 mL 盐酸溶液(1+1),于电热板上微热浸取不溶物。冷却后全量移入 50 mL 量瓶中,加水到标线,混匀,得样品消化液。

同时,制备分析空白样品。

9.2.5.2 样品的测定

样品的测定按以下步骤进行:

- a) 量取 2.00 mL~5.00 mL 样品消化液于电解池中,加入 100 μL 镓使用溶液(见 9.2.3.7),加水至约 10 mL,用氨水(见 9.2.3.4)调节 pH 值为 2.2~2.8,并用精密 pH 试纸(见 9.2.3.5)测试;
- b) 接通仪器(测定前开机预热 20 min)。将三种电极插入电解池中,输入选定的仪器技术参数;
- c) 启动仪器运转旋钮,待运转结束后,记下峰电流值 I_{s1} ;
- d) 在原溶液中加入 100 μL 锌标准使用溶液(见 9.2.3.10),以下同 9.2.5.2. b)~9.2.5.2. c) 操作。记下峰电流值 I_{s2} 。

9.2.5.3 空白测定

按 9.2.5.2 步骤测定分析空白样品的峰电流值 I_{b1} 和添加锌标准后的峰电流值 I_{b2} 。

9.2.6 记录与计算

将测得的峰电流值记入表 A.7 中,按式(11)计算样品中锌的含量:

$$w_{\text{Zn}} = \left(\frac{I_{s1}}{I_{s2} - I_{s1}} - \frac{I_{b1}}{I_{b2} - I_{b1}} \right) \frac{\rho_{\text{Zn}} V_2 V_0}{V_1 M} \dots\dots\dots (11)$$

式中:

w_{Zn} ——生物体干样中锌的含量(质量分数, 10^{-6});

I_{s1} ——样品消化液的峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;

I_{s2} ——样品消化液加入锌标准使用溶液后的峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;

I_{b1} ——分析空白消化液的峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;

I_{b2} ——分析空白制备液加入锌标准使用溶液后的峰电流值,单位为纳安(nA)、毫米(mm)或格;

- V_0 ——样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
 V_1 ——测定时量取样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
 V_2 ——加入锌标准使用溶液的体积,单位为毫升(mL);
 ρ_{Zn} ——锌标准使用溶液的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
 M ——样品的称取量,单位为克(g)。

9.2.7 精密度和准确度

4个实验室测定同一生物样(牡蛎),测定结果的平均值为 305×10^{-6} ,再现性相对标准偏差为 5.0%;测定含量为 172×10^{-6} 的标准物质时,测定结果的相对误差平均为 0.2%。

9.2.8 注意事项

注意事项见 6.2.7。

10 铬

10.1 无火焰原子吸收分光光度法

10.1.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物中铬的测定。

本方法为仲裁方法。

10.1.2 方法原理

生物干样经硝酸-过氧化氢消化后,在 357.9 nm 波长处,直接进行铬的无火焰原子吸收分光光度测定。

10.1.3 试剂及其配制

10.1.3.1 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42 \text{ g/mL}$,优级纯,用石英亚沸蒸馏器蒸馏提纯。

10.1.3.2 硝酸溶液(1+99):1 体积硝酸(见 10.1.3.1)与 99 体积水混合。

10.1.3.3 过氧化氢(H_2O_2):30%。

10.1.3.4 抗坏血酸($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$)溶液:100 g/L。

10.1.3.5 铬标准贮备溶液($100.0 \mu\text{g/mL}$):铬标准贮备溶液($100 \mu\text{g/mL}$):称取 0.282 9 g 重铬酸钾($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$,优级纯,预先于 $105^\circ\text{C} \sim 110^\circ\text{C}$ 烘干 2 h),溶于水中,全量转入 1 000 mL 量瓶中,加水至标线,混匀。

10.1.3.6 铬标准使用溶液($1.00 \mu\text{g/mL}$):量取 1.00 mL 铬标准贮备溶液(见 10.1.3.5)于 100 mL 量瓶中,加硝酸溶液(见 10.1.3.2)至标线,混匀。

10.1.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

- 无火焰原子吸收分光光度计;
- 氩气钢瓶;
- 铬空心阴极灯;
- 洁净工作台;
- 实验室常备仪器及设备。

10.1.5 分析步骤

10.1.5.1 绘制标准曲线

按以下步骤绘制标准曲线:

- a) 分别移取 0 mL、0.50 mL、1.00 mL、1.50 mL、2.00 mL、2.50 mL 铬标准使用溶液(见 10.1.3.6)于 6 只 10 mL 具塞比色管中,加 1 mL 抗坏血酸溶液(见 10.1.3.4),加水至标线,混匀;
- b) 量取 10 μL 溶液加入石墨管中,按选定的仪器技术参数测定标准系列溶液的吸光值(A_i)及标准空白吸光值(A_0);

- c) 将测得数据记入表 A. 5 中,以吸光值($A_i - A_0$)为纵坐标,相应的铬的浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标,绘制标准曲线。

10.1.5.2 样品的消化

样品的消化按以下步骤进行:

- a) 准确称取 0.2 g($\pm 0.000\ 1\ \text{g}$)干样于 50 mL 烧杯中,用几滴水湿润样品,加入 2 mL 硝酸(见 10.1.3.1),盖上表面皿,置于电热板,低温加热至泡沫基本消失;
- b) 取下烧杯冷却,慢慢地加入 0.5 mL 过氧化氢(见 10.1.3.3),盖上表面皿,在电热板上于 $160^\circ\text{C} \sim 200^\circ\text{C}$ 加热约 20 min,补加 1.5 mL 过氧化氢(见 10.1.3.3),继续加热并蒸发至约 1 mL;
- c) 加 1 mL 硝酸(见 10.1.3.1),1.5 mL 过氧化氢(见 10.1.3.3),盖上表面皿,在电热板上于 $160^\circ\text{C} \sim 200^\circ\text{C}$ 加热,并蒸发至约 0.5 mL,全量转入 10 mL 具塞比色管中,加 1 mL 抗坏血酸溶液(见 10.1.3.4),加水至标线,混匀。制成样品消化液。同时,制备分析空白样品;

10.1.5.3 样品的测定

量取 20 μL 样品消化液,按选定的仪器技术参数测定吸光值(A_s)和分析空白样品的吸光值(A_b)。以($A_s - A_b$)的值从标准曲线上查出相应的铬的浓度($\mu\text{g/mL}$)。

10.1.6 记录与计算

将测定结果记入表 A. 6 中,按式(12)计算生物样品铬含量:

$$w_{\text{Cr}} = \frac{\rho_{\text{Cr}} V}{M} \dots\dots\dots (12)$$

式中:

- w_{Cr} ——生物体干样品中铬的含量(质量分数, 10^{-6});
- ρ_{Cr} ——从标准曲线上查出的铬的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
- V ——样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
- M ——样品重量,单位为克(g)。

10.1.7 精密度和准确度

六个实验室测定同一生物样(牡蛎),测定结果的再现性相对标准偏差为 10%。

10.1.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

- 除非另作说明,本方法所有试剂为分析纯,水为二次去离子水或等效纯水;
- 所用器皿均先用硝酸溶液(1+1)浸泡 1 d 以上,使用前用二次去离子水淋洗干净;
- 样品消化时应始终盖上表面皿;
- 若样品制备液铬的浓度超过标准曲线范围时,应作适当稀释并补加适量抗坏血酸,使其试液中铬的浓度在标准曲线浓度范围内。此时,分析空白制备液也应作相应处理。结果计算中应乘以稀释因数;
- 不同型号的无火焰原子吸收分光光度计,自行选定仪器最佳技术参数。

10.2 二苯碳酰二肼分光光度法

10.2.1 适用范围和应用领域

本方法适用于生物体中铬的测定。

10.2.2 方法原理

生物干样经硝酸-硫酸-高氯酸消化后,在一定酸度下,用高锰酸钾将三价铬氧化为六价铬,六价铬离子与二苯碳酰二肼生成紫红色络合物,于 540 nm 波长处进行分光光度法测定。

10.2.3 试剂及其配制

- 10.2.3.1 硫酸(H_2SO_4): $\rho = 1.84\ \text{g/mL}$,优级纯。
- 10.2.3.2 硝酸(HNO_3): $\rho = 1.42\ \text{g/mL}$,优级纯。

- 10.2.3.3 高氯酸(HClO_4): $\rho=1.67\text{ g/mL}$,优级纯。
- 10.2.3.4 磷酸溶液(1+1):将磷酸($\rho=1.69\text{ g/mL}$)与等体积水混合。
- 10.2.3.5 硫酸溶液(1+1):将1体积硫酸(见10.2.3.1)慢慢加入等体积水中,混匀。
- 10.2.3.6 硫酸溶液(1+8):将1体积硫酸(见10.2.3.1)慢慢加入8体积水中,混匀。
- 10.2.3.7 氢氧化铵(NH_4OH): $\rho=0.9\text{ g/mL}$ 。
- 10.2.3.8 高锰酸钾溶液(5 g/L):称取0.5 g高锰酸钾(KMnO_4),溶于100 mL沸水中,冷却后,贮存于棕色瓶中。
- 10.2.3.9 亚硝酸钠溶液(100 g/L):称取10 g亚硝酸钠(NaNO_2),溶于水并稀释至100 mL。
- 10.2.3.10 尿素溶液(200 g/L):称取20 g尿素($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$),溶于水并稀释至100 mL,盛于棕色瓶。放置时间不宜太长。
- 10.2.3.11 二苯碳酰二肼丙酮溶液(2.5 g/L):称取0.25 g二苯碳酰二肼($\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$)用少量丙酮($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$)溶解,然后用丙酮溶液(见10.2.3.15)稀释至100 mL,盛于棕色瓶中,置冰箱中保存。
- 10.2.3.12 酚酞指示剂(1 g/L):称取0.1 g酚酞,溶于100 mL乙醇中。
- 10.2.3.13 铬标准贮备溶液(100 $\mu\text{g/mL}$):称取0.282 9 g重铬酸钾($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$,优级纯,预先于 $105^\circ\text{C}\sim 110^\circ\text{C}$ 烘干2 h),溶于水中,全量转入1 000 mL量瓶中,加水至标线,混匀。
- 10.2.3.14 铬标准使用溶液(5.00 $\mu\text{g/mL}$):量取5.00 mL铬标准贮备溶液(见10.2.3.13)于100 mL量瓶中,加水至标线,混匀。
- 10.2.3.15 丙酮溶液(1+1):将丙酮与等体积水混合。

10.2.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

- 分光光度计;
- 电热板;
- 实验室常备仪器及设备。

10.2.5 分析步骤

10.2.5.1 绘制工作曲线

按以下步骤绘制标准曲线:

- a) 取6个150 mL锥形瓶,加5 mL水,分别加入0 mL、0.50 mL、1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL铬标准使用溶液(见10.2.3.14);
- b) 加入10 mL硝酸(见10.2.3.2)并慢慢加入4 mL硫酸(见10.2.3.1)和2 mL高氯酸(见10.2.3.3),放入数粒玻璃珠,瓶口放一小玻璃漏斗,置于电热板上,不超过 180°C 加热至白烟冒尽;
- c) 冷却后,全量转入50 mL量瓶中,用水稀释至标准,混匀;
- d) 量取10 mL上述消化液于50 mL高型烧杯中,加数滴酚酞指示剂(见10.2.3.12),用氢氧化铵(见10.2.3.7)中和至溶液呈淡粉红色,加数粒玻璃珠,加热微沸至无氨味或用广泛pH试纸于瓶口不变色为止;
- e) 稍冷后,加入0.5 mL硫酸溶液(见10.2.3.5),0.5 mL高锰酸钾溶液(见10.2.3.8),在电热板沙浴上(100°C 左右)加热氧化15 min。加热过程中,若紫红色消失,应补加高锰酸钾溶液使保持红色;
- f) 冷却后,加5 mL尿素溶液(见10.2.3.10)摇匀,然后边摇边滴加亚硝酸钠溶液(见10.2.3.9)至紫红色刚刚消失。加2 mL磷酸溶液(见10.2.3.4),混匀;
- g) 将溶液全量转入25 mL量瓶或具塞比色管中,加1 mL二苯碳酰二肼丙酮溶液(见10.2.3.11)立即加水至标线并混匀。10 min后,用3 cm测定池,以水为参比,于540 nm波长测定标准系列吸光值 A_i 及标准空白的吸光值 A_0 ;

- h) 将测定数据记入表 A. 3 中。以吸光值($A_i - A_0$)为纵坐标,相应的铬的含量(μg)为横坐标绘制工作曲线。

10.2.5.2 样品的消化

样品的消化按以下步骤进行:

- 准确称取 2 g($\pm 0.000\ 1\ \text{g}$)干样于 150 mL 锥形瓶中,加 10 mL 硝酸(见 10.2.3.2),再慢慢地加入 4 mL 硫酸(见 10.2.3.1),摇匀,放置过夜;
- 加 2 mL 高氯酸(见 10.2.3.3),瓶口放一小玻璃漏斗,置于电热板上,不超过 180°C ,加热消化至白烟冒尽,溶液呈透明无色或淡黄色。在加热过程中,若出现样品碳化,颜色变深,需取下稍冷,补加 1 mL~2 mL 硝酸(见 10.2.3.2),再继续加热消化;
- 加 10 mL 水稀释,用中速定量滤纸滤去残渣,并用热水洗涤残渣,滤液和洗涤液收集于 50 mL 量瓶中,用水稀释至标线,混匀。制得样品消化液。同时,制备分析空白样品。

10.2.5.3 样品测定

量取 10 mL 样品消化液于 50 mL 高型烧杯中,按绘制工作曲线 10.2.5.1.d)~10.2.5.1.g) 步骤测定样品制备液的吸光值(A_s)及分析空白样品吸光值(A_b),以($A_s - A_b$)的值从工作曲线上查出相应的铬含量。

10.2.6 记录与计算

将测定数据记入表 A. 4 中,按式(13)计算生物样品中铬的含量:

$$w_{\text{Cr}} = \frac{m V_0}{V_1 M} \dots\dots\dots (13)$$

式中:

- w_{Cr} ——生物体干样的总铬的含量(质量分数, 10^{-6});
- m ——从工作曲线上查得的铬的量,单位为微克(μg);
- V_0 ——样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
- V_1 ——测定时量取样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
- M ——样品重量,单位为克(g)。

10.2.7 精密度和准确度

铬含量分别为 0.85×10^{-6} 和 2.88×10^{-6} 时,相对标准偏差分别为 7.1% 和 6.1%;再现性相对标准偏差为 18%。

10.2.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

- 除非另作说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为二次蒸馏水或等效纯水;
- 三价铁离子对本方法有干扰,可用磷酸或焦磷酸钠消除;
- 所用玻璃器皿用稀王水洗涤,不得用重铬酸钾洗液,以免沾污;
- 滴加还原剂时,应充分摇匀,细心控制用量,防止六价铬被还原;
- 络合物颜色稳定性随温度升高而下降,一般应在 2 h 内测定完毕;当室温高于 30°C 时,应在半小时内测定完毕;
- 二苯碳酰二肼丙酮溶液若变黄或浑浊时,应重配。

11 砷

11.1 原子荧光法

11.1.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物体中砷的测定。
本方法为仲裁方法。

11.1.2 方法原理

生物样品经硝酸-高氯酸消解后,以硼氢化钾作还原剂将砷还原成挥发性氢化物,以氩气为载气使挥发性氢化物进入原子荧光光度计的原子化器中,进行原子荧光测定。

11.1.3 试剂及其配制

11.1.3.1 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42\text{ g/mL}$,优级纯。

11.1.3.2 硫酸(H_2SO_4): $\rho=1.84\text{ g/mL}$,优级纯。

11.1.3.3 高氯酸(HClO_4):优级纯。

11.1.3.4 氢氧化钠(NaOH)。

11.1.3.5 硼氢化钾(KBH_4)。

11.1.3.6 氢氧化钾(KOH):优级纯。

11.1.3.7 硫脲($\text{CH}_4\text{N}_2\text{S}$)。

11.1.3.8 抗坏血酸($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$)。

11.1.3.9 硫酸溶液(1+9):将1份硫酸(见11.1.3.2)与9份水混合。

11.1.3.10 硼氢化钾溶液(7g/L):称取7g硼氢化钾(见11.1.3.5)于预先加有2g氢氧化钾(见11.1.3.6)的水中,溶解后稀释至1000 mL。使用时配制。

11.1.3.11 氢氧化钠溶液(10%):称取10g氢氧化钠(见11.1.3.4),加水溶解后稀释至100 mL;

11.1.3.12 硫脲+抗坏血酸还原剂:称取12.5g硫脲(见11.1.3.7)和7.5g抗坏血酸(见11.1.3.8)溶于250 mL水中。使用前配制。

11.1.3.13 砷标准贮备溶液($100.0\text{ }\mu\text{g/mL}$):准确称取0.1320 g三氧化二砷(As_2O_3 ,优级纯,预先在 105°C 烘2 h,保存于干燥器中),置于100 mL烧杯中,加入10 mL氢氧化钠溶液(见11.1.3.11),搅拌使其溶解,全量转入1000 mL容量瓶中,加25 mL硫酸溶液(见11.1.3.9),加水定容至标线,混匀;

11.1.3.14 砷标准中间溶液($5.00\text{ }\mu\text{g/mL}$):移取5.00 mL砷标准贮备溶液(见11.1.3.13)于100 mL容量瓶中,加10 mL硫酸溶液(见11.1.3.9),加水定容至标线,混匀。

11.1.3.15 砷标准使用溶液($0.50\text{ }\mu\text{g/mL}$):准确移取10.0 mL砷标准中间溶液(见11.1.3.14)于100 mL容量瓶中,加10 mL硫酸溶液(见11.1.3.9),加水定容至标线,混匀(使用时配制)。

11.1.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

——原子荧光光度计;

——容量瓶:容量50 mL、100 mL、250 mL、500 mL、1000 mL;

——移液管:容量10 mL;

——烧杯:容量50 mL、1000 mL;

——电加热板;

——氩气;

——实验室常用仪器与设备。

11.1.5 分析步骤

11.1.5.1 绘制标准曲线

按以下步骤绘制标准曲线:

a) 于7个50 mL容量瓶中分别移取0 mL、0.50 mL、1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL砷标准使用溶液(见11.1.3.15),25 mL硫酸溶液(见11.1.3.9)和5 mL硫脲+抗坏血酸还原剂(见11.1.3.12),用水稀释至标线,混匀,放置15 min;

b) 按选定的仪器工作条件,依次加入砷标准系列溶液各2 mL,分别测定标准空白荧光强度(I_0)和标准样品荧光强度(I_i);

c) 将数据记入表A.1中,以荧光强度($I_i - I_0$)为纵坐标,相应的砷浓度($\mu\text{g/L}$)为横坐标,绘制标

准曲线(给出线性回归方程)并计算线性回归系数。

11.1.5.2 样品测定

样品测定按以下步骤进行:

- a) 准确称取 0.2 g~0.5 g 生物干样或 2 g~10 g 生物湿样(精确至±0.000 1 g)于 50 mL 烧杯中,加入 10 mL 硝酸(见 11.1.3.1),盖上表面皿,摇匀后放置过夜。次日将样品置于电热板,在 160℃下加热消化至溶液无色。若溶液仍有未分解物质或色泽较深,补加 5 mL 硝酸(见 11.1.3.1),继续消化至溶液无色,消化时不能蒸干。再加入 1 mL 高氯酸(见 11.1.3.3),加热消化至剩少许溶液,取下烧杯,冷却,用水定量转入 50 mL 容量瓶中,加 25.0 mL 硫酸溶液(11.1.3.9)和 5 mL 硫脲+抗坏血酸还原剂(见 11.1.3.12),用水稀释至刻度,充分混匀,放置 30 min 后测试;
- b) 除不加生物样品外,其余步骤完全等同于样品消化[见 11.1.5.3. a)]。由此制备的溶液作为分析空白样品;
- c) 取 2 mL 分析空白样品[见 11.1.5.2. b)]和 2 mL 样品消化液[见 11.1.5.3. a)],分别测定分析空白荧光强度(I_b)和样品消化液的荧光强度(I_s)。以($I_s - I_b$)值从标准曲线上查出相应的砷的浓度,或用线性回归方程计算得出砷的浓度。

11.1.6 记录和计算

将测定结果记入表 A.2 中,按式(14)计算生物体中砷的含量:

$$w_{AS} = \frac{CV}{M} \dots\dots\dots (14)$$

式中:

- w_{AS} ——样品中砷含量(质量分数, 10^{-6});
- C ——标准曲线上查得砷含量,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);
- M ——生物样称取量,单位为克(g);
- V ——生物样消化液的体积,单位为升(L)。

11.1.7 精密度和准确度

砷含量为 6.67×10^{-6} 时,测定结果的再现性相对标准偏差为 7%,相对误差为 1%;重复性相对标准偏差为 1.5%。

11.1.8 注意事项

- 本方法执行中应注意如下事项:
- 除非另作说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为去离子水或等效无砷水;
- 所用器皿需用硝酸溶液(1+6)浸泡 2d 以上,使用前用纯水冲洗;
- 生物样品取样量较大时,可适当增加硝酸用量;
- 所用的试剂,在使用前应作空白试验;
- 空白高的试剂,特别是酸,将会严重影响方法的准确度。

11.2 砷钼酸-结晶紫分光光度法

11.2.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物体中砷的测定。

11.2.2 方法原理

生物样品经硝酸-高氯酸-硫酸消化,在酸性介质中,用碘化钾、氯化亚锡和金属锌将砷还原为砷化氢,并被高锰酸钾-硝酸银溶液吸收。砷与钼杂多酸-结晶紫形成络合物,于波长 545 nm 处进行分光光度测定。

11.2.3 试剂及其配制

11.2.3.1 无砷锌粒:10 目~20 目($1\,700\,\mu\text{m} \sim 830\,\mu\text{m}$)。

- 11.2.3.2 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42\text{ g/mL}$,优级纯。
- 11.2.3.3 高氯酸(HClO_4): $\rho=1.67\text{ g/mL}$,优级纯。
- 11.2.3.4 硫酸(H_2SO_4): $\rho=1.84\text{ g/mL}$,优级纯。
- 11.2.3.5 硫酸溶液(1+1):在搅拌下,将1体积硫酸(见11.2.3.4)缓慢地加到1体积水中,混匀。
- 11.2.3.6 硫酸溶液(1+17):在搅拌下,将1体积硫酸(见11.2.3.4)缓慢地加到17体积水中,混匀。
- 11.2.3.7 氢氧化钠溶液(200 g/L):将10 g 氢氧化钠(NaOH)溶于水中,加水至50 mL,混匀。贮于聚乙烯瓶中。
- 11.2.3.8 过氧化氢溶液(1+99):量取1 mL 过氧化氢(H_2O_2 ,30%)与99 mL 水混合。当日配制。
- 11.2.3.9 氯化亚锡溶液(400 g/L):称取40 g 氯化亚锡($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)溶于50 mL 盐酸(HCl , $\rho=1.19\text{ g/mL}$,优级纯)中,加水至100 mL,混匀。
- 11.2.3.10 碘化钾溶液(150 g/L):称取15 g 碘化钾(KI ,优级纯)溶于水中,加水至100 mL,混匀。临用时配制。
- 11.2.3.11 硝酸银溶液(5 g/L):称取0.5 g 硝酸银(AgNO_3)溶于100 mL 水中,加数滴硝酸(见11.2.3.2)酸化,混匀。盛于棕色试剂瓶中。
- 11.2.3.12 钼酸铵溶液(4.0 g/L):称取0.4 g 钼酸铵[(NH_4)₆ $\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$]于100 mL 水中,加热溶解,冷却后盛于试剂瓶中。
- 11.2.3.13 聚乙烯醇溶液(5 g/L):称取0.5 g 聚乙烯醇[($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$)₁₂₄,PV-124]于200 mL 烧杯中,加100 mL 沸水,搅拌溶解至清亮,临用时配制。
- 11.2.3.14 结晶紫溶液(0.5 g/L):称取500 mg 结晶紫($\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{CN}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)于250 mL 烧杯中,加入100 mL 水,搅拌溶解,用脱脂棉过滤后使用。
- 11.2.3.15 砷标准贮备溶液(500.0 $\mu\text{g/mL}$):称取0.330 1 g 三氧化二砷(As_2O_3 ,优级纯,预先在105℃烘干2 h,置于硅胶干燥器中保存)于50 mL 烧杯中,用10 mL 氢氧化钠溶液(见11.2.3.7)溶解后,用硫酸溶液(见11.2.3.5)酸化至弱酸性,全量移入500 mL 量瓶中,加水至标线,混匀。
- 11.2.3.16 砷标准中间溶液(10.0 $\mu\text{g/mL}$):量取1.00 mL 砷标准贮备溶液(见11.2.3.15)于50 mL 量瓶中,加水至标线,混匀。
- 11.2.3.17 砷标准使用溶液(1.00 $\mu\text{g/mL}$):量取10.0 mL 砷标准中间溶液(见11.2.3.16)于100 mL 量瓶中,加水至标线,混匀。
- 11.2.3.18 乙酸铅棉花:称取10 g 乙酸铅[(CH_3COO)₂ $\text{Pb} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$],加几滴乙酸,用水溶解后,加水至100 mL,混匀。将脱脂棉浸于此溶液中,1 h 后取出,自然晾干或低于60℃处烘干。贮于广口试剂瓶中。
- 11.2.3.19 高锰酸钾溶液(30 g/L):称取3 g 高锰酸钾(KMnO_4 ,优级纯)溶于100 mL 水中,混匀。

11.2.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

- 分光光度;
- 砷化氢发生吸收装置:见GB 17378.5;
- 实验室常备仪器及设备。

11.2.5 分析步骤

11.2.5.1 绘制标准曲线

按以下步骤绘制标准曲线:

- a) 分别量取0 mL、1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL、5.00 mL 砷标准使用溶液(见11.2.3.17)于砷化氢发生瓶中,加水至50 mL;
- b) 加入5 mL 硫酸溶液(见11.2.3.5),5 mL 碘化钾溶液(见11.2.3.10)和3 mL 氯化亚锡溶液(见11.2.3.9),混匀,放置15 min;
- c) 加2 mL 硝酸银溶液(见11.2.3.11),3.75 mL 硫酸溶液(见11.2.3.6),0.2 mL 高锰酸钾溶液

(见 11.2.3.19)于吸收管中,将一端塞有乙酸铅棉花(见 11.2.3.18)的导气管插入吸收管中。加 3 g 无砷锌粒(见 11.2.3.1)于砷化氢发生瓶中,立即按图 6 连接好砷化氢-吸收装置,吸收 40 min;

- d) 取出吸收管,将吸收液全量转入 25 mL 具塞比色管中,滴加过氧化氢溶液(见 11.2.3.8)使红色恰好消褪,加入 4 mL 钼酸铵溶液(见 11.2.3.12),混匀,放置 15 min,加入 4 mL 聚乙烯醇溶液(见 11.2.3.13),混匀,加入 4 mL 结晶紫溶液(见 11.2.3.14),立即混匀,加水至 25 mL,混匀,放置 30 min~40 min。于 545 nm 波长处,用 1 cm 测定池测定标准系列吸光值 A_i 及标准空白的吸光值 A_0 ;
- e) 将测定结果记入表 A.3 中。以吸光值($A_i - A_0$)为纵坐标,相应的砷的量(μg)为横坐标绘制标准曲线。

11.2.5.2 样品消化

样品的消化按以下步骤进行:

- a) 称取 0.2 g~1g($\pm 0.000\ 1\ \text{g}$)生物干样放入砷化氢发生瓶中,加几滴水润湿,加入 10 mL 硝酸(见 11.2.3.2);
- b) 将发生瓶置于电热板上,于 140 °C 左右加热至反应平缓后,然后逐渐升温,在 160 °C~180 °C 下加热,并蒸发剩约 1 mL,取下冷却;
- c) 加入 3 mL 硝酸(见 11.2.3.2),1 mL 高氯酸(见 11.2.3.3)和 2 mL 硫酸(见 11.2.3.4),置于电热板上,加热蒸至冒大量白烟,取下冷却。用水中洗瓶壁,继续加热并蒸发至冒大量白烟,此时消化液应透明清亮,取下冷却。加入 30 mL 水,加热溶解,冷却,制得样品消化液。同时制备分析空白样品。

11.2.5.3 样品的测定

按 11.2.5.1. b)~11.2.5.1. d) 步骤测定样品消化液的吸光值(A_s)和分析空白样品的吸光值(A_b)。以($A_s - A_b$)的值从标准曲线上查出相应的砷的量。

11.2.6 记录与计算

将测得数据记入表 A.4 中,按式(15)计算生物体中砷含量:

$$w_{As} = \frac{m}{M} \dots\dots\dots (15)$$

式中:

w_{As} ——生物体干样中砷的含量(质量分数, 10^{-6});

m ——从标准曲线上查得的砷的量,单位为微克(μg);

M ——样品的称取量,单位为克(g)。

11.2.7 精密度和准确度

5 个实验室测定同一生物样品(牡蛎),测定结果的再现性相对标准偏差为 14.4%。

11.2.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

- 除非另作说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为二次去离子或等效纯水;
- 玻璃器皿应用硝酸溶液(1+3)浸泡过夜,再用二次去离子水洗净;
- 加入结晶紫溶液后应立即混匀,否则结果的重现性不佳。结晶紫的纯度应预先检验,试剂空白的吸光值(以水作参比)一般应小于 0.2 为宜;
- 加入的试剂量应一致,以获得良好的精密度;
- 对砷含量较低的生物样品,可适当增加称样量,并适当增加消化的酸用量;
- 玻璃导气管球部装填的乙酸铅棉花应松散均匀,使气体遇到的阻力基本一致;
- 砷化氢发生装置应十分严密,防止漏气。吸收液的液柱高度要求在 8 cm 以上。

11.3 氢化物原子吸收分光光度法

11.3.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物中砷的测定。

11.3.2 方法原理

样品经硝酸-硫酸消化。在酸性介质中,用抗坏血酸将五价砷还原成三价砷,用硼氢化钾将三价砷转化成砷化氢,由载气将砷化氢导入原子化器,于 193.7 nm 波长处进行原子吸收分光光度测定。

11.3.3 试剂及其配制

11.3.3.1 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42\text{ g/mL}$,优级纯。

11.3.3.2 硫酸(H_2SO_4): $\rho=1.84\text{ g/mL}$,工艺超纯。

11.3.3.3 硫酸溶液(1+19):1份硫酸(11.3.3.2)缓慢地加入 19 份水中,混匀。

11.3.3.4 盐酸(HCl): $\rho=1.19\text{ g/mL}$ 。

11.3.3.5 无砷盐酸溶液:将 900 mL 水和 100 mL 盐酸(见 11.3.3.4)加入 2 000 mL 广口聚乙烯瓶中,用刻度吸管将 100 mL 硼氢化钾溶液(见 11.3.3.7)由瓶底滴入瓶内,用氮气流(1.5 L/min)鼓泡 3 min 驱除砷化氢。重复加硼氢化钾溶液(见 11.3.3.7)再鼓泡 1 次。临用前,加 3 g 抗坏血酸(见 11.3.3.8)和 5 g 硫脲(见 11.3.3.9)。

11.3.3.6 氢氧化钠溶液(10 g/L):称取 10 g 氢氧化钠(NaOH ,优级纯)溶于 1 L 水中,存于聚乙烯瓶中。

11.3.3.7 硼氢化钾溶液(15 g/L):称取 15 g 硼氢化钾(KBH_4)溶于 100 mL 氢氧化钠溶液(见 11.3.3.6)中,加水至 1 L,经双层滤纸过滤混匀,冰箱内保存,一周有效。使用时,液温需与室温一致。

11.3.3.8 抗坏血酸($\text{H}_6\text{H}_8\text{O}_6$)。

11.3.3.9 硫脲($\text{N}_2\text{H}_4\text{CS}$):优级纯。

11.3.3.10 混合还原剂:称取 5 g 硫脲(见 11.3.3.9)和 3 g 抗坏血酸(见 11.3.3.8),溶于 100 mL 水中。

11.3.3.11 砷标准贮备溶液(500.0 mg/mL):见 11.2.3.15。

11.3.3.12 砷标准中间溶液($10.0\text{ }\mu\text{g/mL}$):见 11.2.3.16。

11.3.3.13 砷标准使用溶液($0.100\text{ }\mu\text{g/mL}$):移取 1.00 mL 砷标准中间溶液(见 11.3.3.12)于 100 mL 量瓶中,加水到标线,混匀。

11.3.4 仪器与设备

仪器和设备如下:

——原子吸收分光光度计,配有氢化物原子化装置;

——氢化物发生装置;

——砷空心阴极灯;

——高压罐:容积 30 mL。

11.3.5 分析步骤

11.3.5.1 绘制标准曲线

按以下步骤绘制标准曲线:

a) 依次量取 0 mL、0.10 mL、0.20 mL、0.30 mL、0.40 mL、0.50 mL 砷标准使用溶液(见 11.3.3.13)于反应瓶中,加入 10 mL 无砷盐酸溶液(见 11.3.3.5);

b) 按 11.3.5.3~11.3.5.4 步骤测定吸收峰值(A_i),将此值连同空白值(A_0)记入表 A.8 中;

c) 以吸光值($A_i - A_0$)为纵坐标,相应的砷量(μg)为横坐标,绘制标准曲线。

11.3.5.2 样品的消化

样品的消化按以下步骤进行:

a) 准确称取 0.3 g($\pm 0.0001\text{ g}$)生物干样,于高压罐中,加入 4 mL 硝酸(见 11.3.3.1),放置 4 h,

再加入 1 mL 硫酸(见 11.3.3.2),拧紧高压罐盖。于 130℃ 恒温干燥箱中加热 1 h,再在 180℃ 下加热 2 h,取出冷却;

- b) 将高压罐的聚四氟乙烯容器置于 180℃~200℃ 电热板上加热蒸发,至消化液体积约为 1 mL,取下冷却;
- c) 将消化液全量转入 25 mL 量瓶中,加无砷盐酸溶液(见 11.3.3.5)至标线,混匀,此为样品消化液 D;
- d) 量取 5 mL~10 mL 样品消化液 D(视砷含量高低可适当增减)于 100 mL 量瓶中,加 10 mL 混合还原剂(见 11.3.3.10),加无砷盐酸溶液(见 11.3.3.5)至标线,混匀。放置 15 min 后待测。此为样品分析试液 D₁;
- e) 按同样步骤制备样品分析空白样品。

11.3.5.3 冲洗管路

按以下步骤冲洗管路:

- a) 接通仪器电源,将原子化器预热半小时;
- b) 调好载气流速;
- c) 加 10 mL 无砷盐酸溶液(见 11.3.3.5)于反应瓶中;
- d) 接通记录仪,松开弹簧夹,以 24 mL/min 流速滴加硼氢化钾溶液(见 11.3.3.7),当吸收峰顶刚过,夹紧弹簧夹,关闭记录仪,放掉废液。按 11.3.5.2.c)~11.3.5.2.d) 两步反复操作,直至空白值稳定(以稳定后的空白值为标准空白吸收峰值 A₀)。

11.3.5.4 样品测定

量取 10.0 mL 样品分析试液于反应瓶中,其余按绘制标准曲线 11.3.5.1 步骤测定样品分析试液的吸光值(A_s)及分析空白样品吸光值(A_b),以(A_s-A_b)值从标准曲线上查出相应的砷量(μg)。

11.3.6 记录与计算

将测定数据记入表 A.9 中,按式(16)计算生物样品中砷含量:

$$w_{As} = \frac{mV_0V_1}{V_2V_3M} \dots\dots\dots (16)$$

式中:

- w_{As}——生物体干样中砷的含量(质量分数,10⁻⁶);
- m——从标准曲线上查的砷的量,单位为微克(μg);
- V₀——样品消化液“D”的体积,单位为毫升(mL);
- V₁——样品分析试液制备体积,单位为毫升(mL);
- V₂——配制样品分析试液“D”时,量取样品消化液“D”的体积,单位为毫升(mL);
- V₃——测定时,量取样品分析试液“D₁”的体积,单位为毫升(mL);
- M——样品的称取量,单位为克(g)。

11.3.7 精密度和准确度

测定砷含量为 0.044×10⁻⁶ 的标准物质时,再现性相对标准偏差为 8.8%,相对误差平均为 5.7%。

11.3.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

- 除非另作说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为二次去离子水或等效纯水;
- 称样较多时,可适当增加硝酸用量;
- 仪器应预热,温度达平衡后再正式工作。加热电压要稳定。每份样品分析间隔时间应尽量一致;
- 工作进行中,重做一条标准曲线与前曲线相比较,检查灵敏度是否一致;
- 硼氢化钾流速、浓度及反应液的温度,载气流速对结果都有影响,应保持条件一致;

- 增加样品称取量或减少消化溶液的定容体积,可提高测定灵敏度,降低检出限;
- 所用器皿均应用硝酸溶液(1+6)浸泡 2 d 以上,并用纯水冲洗 5 次,方可使用。

11.4 催化极谱法

11.4.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物体中砷的测定。

11.4.2 方法原理

样品经硝酸-高氯酸分解,在硫酸介质中,用过氧化氢将五价砷还原成三价砷,用硫酸钡共沉淀铅排除干扰。三价砷在碲-硫酸-碘化铵介质中能得到灵敏的催化波,其催化电流随砷浓度的增加而增加,以此进行砷的定量测定。

11.4.3 试剂及其配制

11.4.3.1 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42\text{ g/mL}$ 。

11.4.3.2 高氯酸(HClO_4): $\rho=1.67\text{ g/mL}$,优级纯。

11.4.3.3 硫酸溶液(1+1):1 体积硫酸(H_2SO_4 , $\rho=1.84\text{ g/mL}$,优级纯)慢慢加入 1 体积水中,混匀。

11.4.3.4 过氧化氢(H_2O_2):30%。

11.4.3.5 碲溶液($50\text{ }\mu\text{g/mL}$):称取 0.010 g 碲粉(纯度 99.99%)于 50 mL 烧杯中,加入 1 mL 硝酸(11.4.3.1),于电热板上加热溶解,加入 5 mL 硫酸溶液(见 11.4.3.3),加热至刚冒白烟,取下冷却,转入 200 mL 量瓶中,加水至标线,混匀。

11.4.3.6 氯化钡溶液(7 mg/mL):称取 0.7 g 氯化钡($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)溶于水中,加水至 100 mL,混匀。

11.4.3.7 碘化铵溶液(2.0 mol/L):称取 14.5 g 碘化铵(NH_4I)于 50 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至标线,混匀。

11.4.3.8 动物胶溶液(1 g/L):称取 0.1 g 动物胶溶于 100 mL 热水中。

11.4.3.9 砷标准贮备溶液($100.0\text{ }\mu\text{g/mL}$):称取 0.1320 g 三氧化二砷(As_2O_3 ,经 105°C 烘干 2 h)于 50 mL 聚四氟乙烯烧杯中,加入 8 mL 氢氧化钠溶液(20 g/L ,用优级纯 NaOH 配制)和 2 mL 过氧化氢(11.4.3.4),在沸水浴上加热溶解并蒸干。加入 3 mL 氨水(NH_4OH , $\rho=0.90\text{ g/mL}$),蒸干,重复一次。加入 3 mL 氨水和少量水,温热溶解盐类。加入 6 mL 硫酸溶液(见 11.4.3.3),全量转入 1 000 mL 量瓶中,加水至标线,混匀。

11.4.3.10 砷标准中间溶液($10.0\text{ }\mu\text{g/mL}$):量取 10.0 mL 砷标准贮备溶液(见 11.4.3.9),放入 100 mL 量瓶中,加 0.25 mL 硫酸溶液(见 11.4.3.3),加水至标线,混匀。

11.4.3.11 砷标准使用溶液($0.20\text{ }\mu\text{g/mL}$):量取 2.00 mL 砷标准中间溶液(见 11.4.3.10)放入 100 mL 量瓶中,加入 0.25 mL 硫酸溶液(见 11.4.3.3),加水至标线,混匀。

11.4.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

- 极谱仪:具有二次导数功能的示波极谱仪;
- 三电极系统:滴汞电极、甘汞电极、铂电极;
- 离心机: $3\text{ }000\text{ r/min}$,可调速;
- 精密微量移液管:容量 $100\text{ }\mu\text{L}$, $500\text{ }\mu\text{L}$, $1\text{ }000\text{ }\mu\text{L}$;
- 实验室常备仪器和设备。

11.4.5 分析步骤

11.4.5.1 绘制工作曲线

按以下步骤绘制标准曲线:

- a) 取 6 支 10 mL 具塞比色管,各加入 3.0 mL 分析空白制备液,分别加入 0 mL、0.50 mL、1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL 砷标准使用溶液(见 11.4.3.11);

- b) 加 1.5 mL 硫酸溶液(见 11.4.3.3),0.40 mL 碲溶液(见 11.4.3.5),加水至标线,混匀。加 1.0 mL 碘化铵溶液(见 11.4.3.7)和 0.1 mL 动物胶溶液(见 11.4.3.8),混匀,放置半小时;
- c) 于起始电压-0.44 V 处,用二次导数极谱记录砷催化波的峰电流值(I_{pi})及标准空白峰电流值(I_{p0})(波高×电流倍率);
- d) 将测得数据记入表 A.10 中,以峰电流值($I_{pi}-I_{p0}$)为纵坐标,相应砷的量(μg)为横坐标,绘制工作曲线。

11.4.5.2 样品的消化

准确称取 0.1 g(±0.000 1 g)干样于 50 mL 烧杯中,加入 5 mL 硝酸(见 11.4.3.1)盖上表面皿,于电热板 140℃ 左右,加热消化至近干,取下稍冷,加 2 mL 硝酸(见 11.4.3.1)及 2 mL 高氯酸(见 11.4.3.2),升高温度至 180℃~200℃,蒸干,用水淋洗表面皿,并移去,加热蒸干。用水仔细地淋洗杯壁,蒸至白烟冒尽。加 0.5 mL 硫酸溶液(见 11.4.3.3),继续加热至刚冒白烟,取下冷却,加入 2 mL~3 mL 水微热浸取残渣并全量转入 25 mL 具塞比色管中,加 1 mL 氯化钡溶液(见 11.4.3.6),加水至标线,塞紧塞子,剧烈振荡 2 min,放置澄清,制得样品消化液。

同时按上述步骤制备分析空白样品。

11.4.5.3 样品的测定

量取 3.0 mL 样品消化液的上层清液于 10 mL 具塞比色管中,其余按 11.4.5.1.b)~11.4.5.1.d) 步骤测定样品制备液的峰电流值(I_{ps})和分析空白样品的峰电流值(I_{pb}),以($I_{ps}-I_{pb}$)的值从工作曲线上查出相应的砷的量。

11.4.6 记录与计算

将测得的数据记入表 A.11 中,按式(17)计算生物体中砷含量。

$$w_{As} = \frac{mV_0}{V_1M} \dots\dots\dots (17)$$

式中:

- w_{As} ——生物体干样中砷的含量(质量分数,10⁻⁶);
- m ——从工作曲线上查得的砷的量,单位为微克(μg);
- V_0 ——样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
- V_1 ——用于测定的样品消化的体积,单位为毫升(mL);
- M ——样品的称取量,单位为克(g)。

11.4.7 精密度和准确度

6 个实验室分析同一生物样品(牡蛎),测定结果的再现性相对标准偏差为 4.9%。

11.4.8 注意事项

- 本方法执行中应注意如下事项:
- 除非另作说明,本方法所用试剂为分析纯,水为二次去离子水或等效纯水;
- 消化结束后,残渣不呈灰褐色,表明有机物已被破坏殆尽;
- 硝酸及高氯酸应除尽,否则加入过氧化氢后不能将五价砷还原成三价砷。样品消化时,用水淋洗杯壁,然后蒸干,再加入硫酸蒸至刚冒白烟;
- 测定时溶液中铁量如超过 1 mg 时,峰电流值会下降。本方法对含有 12 mg 砷的试液,当其铁含量高达 8.3%时,不影响测定;
- 配制好的极谱底液应放置半小时后测定,否则极谱不稳定,无法测得准确的峰电流值;
- 起始电压应固定;
- 测试时,室温应高于 14℃,低于此温度时,波形不好,甚至得不到极谱波,温度最好控制在 20℃~28℃之间。温度过高时,易析出 I_2 ,因此,极谱室应有空调设备;
- 若样品中砷的含量低于 5×10⁻⁶时,可在测定液中加入 0.100 μg 砷,测定后,再扣去其添加的

0.100 μg 砷。

12 硒

12.1 荧光分光光度法

12.1.1 适用范围和应用领域

本方法适用于生物样品中硒的测定。

本方法为仲裁方法。

12.1.2 方法原理

生物样品经硫酸-高氯酸-钼酸钠消解,在酸性介质中,四价硒与2,3-二氨基萘反应生成有绿色荧光的4,5-苯并苯硒脑,用环己烷萃取,在激发波长376 nm,发射波长520 nm下,进行荧光分光光度测定。

12.1.3 试剂及其配制

12.1.3.1 盐酸(HCl): $\rho=1.19\text{ g/mL}$ 。

12.1.3.2 盐酸溶液(1+99):将1份盐酸(12.1.3.1)与99份水混合。

12.1.3.3 硫酸(H_2SO_4): $\rho=1.84\text{ g/mL}$ 。

12.1.3.4 高氯酸(HClO_4): $\rho=1.67\text{ g/mL}$ 。

12.1.3.5 高氯酸-硫酸-钼酸钠混合溶液:称取7.5 g钼酸钠($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)溶于水中,加入200 mL高氯酸(见12.1.3.4)和150 mL硫酸(见12.1.3.3)混匀,贮于500 mL试剂瓶中。

12.1.3.6 硫酸-氢溴酸混合溶液:量取200 mL硫酸(见12.1.3.3)在搅拌条件下,缓慢地加入200 mL水中,加30 mL氢溴酸(HBr , $\rho=1.38\text{ g/mL}$),混匀。置砂浴上加热至冒白烟。

12.1.3.7 氨水溶液(1+1):等体积水和氨水混匀。

12.1.3.8 乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na)溶液(74 g/L):称取37 g乙二胺四乙酸二钠($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)于250 mL烧杯中,加适量水加热溶解,移入500 mL量瓶中,冷却后加水至标线,混匀。

12.1.3.9 盐酸羟胺溶液(100 g/L):称取10 g盐酸羟胺($\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$)于100 mL烧杯中,用水溶解后加水至100 mL,混匀。

12.1.3.10 乙二胺四乙酸二钠-盐酸羟胺混合溶液:量取100 mL乙二胺四乙酸二钠溶液(见12.1.3.8)和10 mL盐酸羟胺溶液(见12.1.3.9)于1 000 mL量瓶中,加水至标线,混匀。

12.1.3.11 2,3-二氨基萘(DAN)溶液(1.0 g/L):称取400 mg DAN($\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2$)于500 mL烧杯中,加400 mL盐酸溶液(见12.1.3.2)溶解,转入1 000 mL锥形分液漏斗中(漏斗颈部塞有脱脂棉),在振荡器上振荡15 min使其全部溶解。加入80 mL环己烷(见12.1.3.12)再振荡5 min,静置分层后,收集水相,弃去有机相。再用环己烷(见12.1.3.12)纯化水相数次。检查最后有机相的荧光强度,至其荧光值降到接近纯环己烷的荧光强度为止,将纯化后的DAN溶液贮于棕色瓶中,加入环己烷(见12.1.3.12)使其覆盖液面约1 cm厚,置于冰箱中保存。有效期一个月。

12.1.3.12 环己烷(C_6H_{12}):若含有荧光杂质,用重蒸馏提纯,用过的环己烷蒸馏后可再使用。

12.1.3.13 硒标准贮备液(400.0 $\mu\text{g/mL}$):称取0.140 5 g二氧化硒(SeO_2 ,纯度99.99%)于50 mL烧杯中,用适量水溶解后,全量转入250 mL容量瓶中,加盐酸溶液(见12.1.3.2)至标线,混匀。

12.1.3.14 硒标准中间溶液(4.00 $\mu\text{g/mL}$):量取2.50 mL硒标准贮备溶液(见12.1.3.13)于250 mL容量瓶中,加盐酸溶液(见12.1.3.2)至标线,混匀。

12.1.3.15 硒标准使用溶液(0.100 $\mu\text{g/mL}$):量取2.50 mL硒标准中间溶液(见12.1.3.14)于100 mL容量瓶中,加盐酸溶液(见12.1.3.2)至标线,混匀。

12.1.3.16 甲酚红指示剂溶液(0.4 g/L):称取40 mg甲酚红($\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{S}$)于100 mL烧杯中,加少量水及2滴氨水溶液(见12.1.3.7)溶解,加水至100 mL,混匀。

12.1.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

- 荧光分光光度计;
- 电动振荡机;
- 锥形分液漏斗:容量 60 mL,100 mL;
- 实验室常备仪器及设备。

12.1.5 分析步骤

12.1.5.1 绘制工作曲线

按以下步骤绘制标准曲线:

- 取 6 个 250 mL 锥形瓶,分别加入 0 mL、1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL、5.00 mL 硒标准使用溶液(见 12.1.3.15)加水约 10 mL,混匀;
- 加 5 mL 高氯酸-硫酸-钼酸钠混合溶液(见 12.1.3.5),混匀。在电炉上低温加热至冒浓白烟(烟不逸出瓶口),溶液转为淡绿色。然后升高温度,继续冒白烟 1 min,取下冷却;
- 加 10 mL 乙二胺四乙酸二钠-盐酸羟胺混合溶液(见 12.1.3.10),加 4 滴~5 滴甲酚红指示剂溶液(见 12.1.3.16),用氨水溶液(见 12.1.3.7)或盐酸溶液(见 12.1.3.2)调节 pH,使溶液呈粉橙色(pH 值为 1.5~2.0),加 3 mL DAN 溶液(见 12.1.3.11),摇匀。置沸水浴中加热 5 min,取下冷却至室温;
- 将溶液全量转入 60 mL 分液漏斗中,加入 3 mL 环己烷(见 12.1.3.12),振摇 2 min,分层后弃去水相;
- 将环己烷层从分液漏斗中倒入 1 cm 测定池中,以 376 nm 激发波长,520nm 发射波长,环己烷(见 12.1.3.12)作参比,测定硒的荧光强度(I_i)及分析空白的荧光强度(I_0);
- 将数据记入表 A.12 中,以荧光强度($I_i - I_0$)为纵坐标,相应硒的量(μg)为横坐标绘制工作曲线。

12.1.5.2 样品的消化

准确称取 0.05~0.20 g($\pm 0.000\ 1\ \text{g}$)生物干样,放入 250 mL 锥形瓶中,加少量水湿润。加入 5 mL 高氯酸-硫酸-钼酸钠混合溶液(见 12.1.3.5),混匀。在电炉上低温加热至冒浓白烟(烟不逸出瓶口),溶液转为淡绿色。然后升高温度,继续冒白烟 1 min,取下冷却,制得样品制备液。

同时制备分析空白样品。

12.1.5.3 样品测定

按照绘制工作曲线 12.1.5.1.c)~13.1.5.1.e) 步骤测定样品消化液荧光强度(I_s)和分析空白样品的荧光强度(I_b)。以($I_s - I_b$)的值从工作曲线上查出相应的硒的量。

12.1.6 记录和计算

将测得数据记入表 A.13 中,按式(18)计算生物样品中硒含量:

$$w_{\text{Se}} = \frac{m}{M} \dots\dots\dots (18)$$

式中:

- w_{Se} ——生物体干样中硒的含量(质量分数, 10^{-6});
- m ——从工作贡线上查得的硒的量,单位为微克(μg);
- M ——样品的称取量,单位为克(g)。

12.1.7 精密度和准确度

硒含量分别为 1.03×10^{-6} 和 3.85×10^{-6} 时,测试结果的相对标准偏差分别为 5.3% 和 8.8%;再现性相对标准偏差为 15%。

12.1.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

- 除非另作说明,本方法中所用试剂为分析纯,水为去离子水或等效纯水;
- 消化过程中粘附在锥形瓶壁的棕色物用较高温度的酸回流时可以消除;
- 生物样消解后无需用盐酸将六价硒还原,在此消解条件下,各种形态硒都可以转化为四价;
- 配制 DAN 时应在暗处进行。在沸水浴上加热 5 min 后,用冷水冷却,时间应控制在 10 min 内;
- 甲酚红指示剂有两个变色范围,当 pH 值为 2~3 时,由红变黄;pH 值为 7.2~8.8 时,由黄变红。本方法中,当调节溶液 pH 值使溶液呈粉橙色时,其 pH 值为 1.5~2.0;当 pH 值 < 1.5 时,为桃红色,因此调节溶液 pH 时,要注意颜色变化,必要时可用精密 pH 试纸确证;
- 玻璃器皿均应用硝酸溶液(1+3)浸泡 1 d 以上,洗净后使用。

12.2 二氨基联苯胺四盐酸盐分光光度法

12.2.1 适用范围和应用领域

本方法适用于生物样品中硒的测定。

12.2.2 方法原理

生物样品经硝酸-高氯酸消化,六价硒用盐酸还原为四价硒。在酸性介质中,四价硒与 3,3'-二氨基联苯胺四盐酸盐形成黄色络合物,在 pH 值为 6~8 条件下用甲基苯萃取,于波长 420 nm 处进行分光光度测定。

12.2.3 试剂及其配制

12.2.3.1 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42\text{ g/mL}$,优级纯

12.2.3.2 高氯酸(HClO_4): $\rho=1.67\text{ g/mL}$,优级纯。

12.2.3.3 盐酸(HCl): $\rho=1.19\text{ g/mL}$,优级纯。

12.2.3.4 盐酸溶液(1+1):等体积水与盐酸(见 12.2.3.3)混合

12.2.3.5 盐酸溶液(1+100):1 体积盐酸(见 12.2.3.3)与 100 体积水混合。

12.2.3.6 氨水($\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$): $\rho=0.90\text{ g/mL}$

12.2.3.7 甲苯(C_7H_8):用活性炭吸附,滤纸过滤。

12.2.3.8 无水硫酸钠(Na_2SO_4):500℃灼烧 4 h。

12.2.3.9 活性炭:20 目~40 目($830\mu\text{m}\sim380\mu\text{m}$),于 300℃高温炉中活化 4 h。

12.2.3.10 乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na)溶液(74 g/L):称取 74 g 乙二胺四乙酸二钠($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{NaO}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$),加适量水加热溶解,冷却后加水至 1 000 mL,混匀。

12.2.3.11 盐酸羟胺溶液(200 g/L):称取 20 g 盐酸羟胺($\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$),溶于 100 mL 水中,混匀。

12.2.3.12 3,3'-氨基联苯胺四盐酸盐(DAB)溶液(5 g/L):称取 0.5 g DAB($\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{C}_{14}\text{N}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)加水溶解,若有残渣时,需过滤除去不溶物。最后用水稀释至 100 mL,使用时配制。

12.2.3.13 硒标准贮备溶液(1 mg/mL):称取 0.140 5 g 二氧化硒(SeO_2),溶于少量水中,全量移入 100 mL 量瓶中,用盐酸溶液(见 12.2.3.5)稀释至标线,混匀。

12.2.3.14 硒标准中间溶液(100 $\mu\text{g/mL}$):量取 10.0 mL 硒标准贮备溶液(见 12.2.3.13)于 100 mL 量瓶中,用盐酸溶液(见 12.2.3.5)稀释至标线,混匀。

12.2.3.15 硒标准使用溶液(1.00 $\mu\text{g/mL}$):移取 1.00 mL 硒标准中间溶液(见 12.2.3.14)于 100 mL 量瓶中,用盐酸溶液(见 12.2.3.5)稀释至标线,混匀。

12.2.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

- 分光光度计;
- 酸度计;
- 离心机,附离心管 10 mL;
- 控温仪;

- 电热板；
- 实验室常备仪器及设备。

12.2.5 分析步骤

12.2.5.1 绘制工作曲线

按以下步骤绘制标准曲线：

- a) 于 5 支 50 mL 试管内，分别加入 0 mL、0.50 mL、1.00 mL、3.00 mL、5.00 mL 硒标准使用液（见 12.2.3.15）。加 10 mL 水和 8 mL 硝酸（见 12.2.3.1）后，置于加热板上，在低于 100℃ 下加热消化，至红棕色氧化氮烟雾冒尽时，取下稍冷。加 2 mL 高氯酸（见 12.2.3.2），缓慢升温至 150℃~180℃，试管内冒出浓密白烟后，再继续加热 20 min，取下冷却；
- b) 加 1 mL 盐酸溶液（见 12.2.3.4），置于 100℃ 加热 10 min（将六价硒转化为四价硒），取下冷却；
- c) 加 1 mL 水，0.5 mL 氨水（见 12.2.3.6），2 mL 盐酸羟胺溶液（见 12.2.3.11），2 mL EDTA-2Na 溶液（见 12.2.3.10）混匀。用氨水（见 12.2.3.6）和盐酸溶液（见 12.2.3.4）调节酸度至 pH 为 1~2。加 2 mL DAB 溶液（见 12.2.3.12）混匀。室温下放置 1 h，再用氨水（见 12.2.3.6）调节溶液酸度至 pH 为 6~8；
- d) 将溶液全量转入 125 mL 分液漏斗中，加入 5 mL 甲苯（见 12.2.3.7），振荡 2 min，分层后弃去下层水相，有机相置于离心管内离心分离或用适量无水硫酸钠脱水。用 3 cm 测定池，用甲苯（见 12.2.3.7）调零，于 420 nm 处测定吸光值(A_i)及分析空白吸光值(A_b)；
- e) 将测定数据记入表 A.3 中，以吸光值($A_i - A_b$)为纵坐标，相应硒的量(μg)为横坐标绘制工作曲线。

12.2.5.2 样品消化

准确称取 0.5 g~2 g(± 0.0001 g)生物干样，置于 50 mL 试管内。加 8 mL 硝酸（见 12.2.3.1）后，置于加热板上，在低于 100℃ 下加热消化。至红棕色氧化氮烟雾冒尽时，取下稍冷。加 2 mL 高氯酸（见 12.2.3.2），再缓慢升温至 150℃~180℃。试管内冒出浓密白烟后，继续消化 20 min。此时消化液应透明无色。若呈黑褐色，需补加适量硝酸（见 12.2.3.1），继续消化至呈无色。取下冷却，制得样品消化液。同时，制备分析空白样品。

12.2.5.3 样品的测定

按绘制工作曲线的步骤 12.2.5.1. b)~12.2.5.1. d) 测定样品消化液的吸光值(A_s)和分析空白样品吸光值(A_b)。以($A_s - A_b$)值从工作曲线上查出相应硒的量(μg)。

12.2.6 记录与计算

将测定数据记入表 A.4 中，按式(19)计算生物样品中硒含量：

$$w_{\text{Se}} = \frac{m}{M} \dots\dots\dots (19)$$

式中：

- w_{Se} ——生物体干样中硒含量(质量分数, 10^{-6})；
- m ——从工作曲线上查得的硒的量, 单位为微克(μg)；
- M ——样品的称取量, 单位为克(g)。

12.2.7 精密度和准确度

硒含量分别为 1.5×10^{-6} 、 2.54×10^{-6} 和 5.38×10^{-6} 时，测试结果的相对标准偏差分别为 12.2%、3.9% 和 3.5%；含量为 0.94×10^{-6} 时，测定结果的平均相对误差为 23%；5 个试验室测试同一生物样品(牡蛎)，结果的平均值为 3.15×10^{-6} ，再现性相对标准偏差 27%。

12.2.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项：

- 除非另作说明,本方法所用试剂为分析纯。水为去离子水或等效纯水;
- 玻璃器皿均须经硝酸溶液(1+3)浸泡 1 d 以上,洗净后使用;
- 3,3'-二氨基联苯胺四盐酸盐应避光密封保存;
- 硒及其卤化物为易挥发物质,消化温度应控制低于 180℃。长时间高温消化或消化液干涸均会造成挥发损失。

12.3 催化极谱法

12.3.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物体中硒的测定。

12.3.2 方法原理

生物样品经硝酸-高氯酸分解,制备成盐酸溶液。然后于高氯酸中,以柠檬酸三铵、EDTA 为掩蔽剂,四价硒被亚硫酸还原成单质硒。在氟化铵-氢氧化铵缓冲溶液中(pH 值=10),Se 与 SO_3^{2-} 生成 SeSO_3^{2-} 。在碘酸钾存在下, SeSO_3^{2-} 产生一个很灵敏的硒极谱催化波。其峰电流值随硒浓度增加而增加,以此定量测定硒。

12.3.3 试剂及其配制

12.3.3.1 硒标准贮备溶液(0.200 mg/mL):称取 0.014 05 g 二氧化硒(SeO_2 ,纯度 99%)于 50 mL 烧杯中,溶于少量水中,全量转入 500 mL 量瓶中,加 4 mL 盐酸(见 12.3.3.9),加水至标线,混匀。

12.3.3.2 硒标准中间溶液 A(4.00 $\mu\text{g/mL}$):量取 5.00 mL 硒标准贮备溶液(见 12.3.3.1)于 250 mL 容量瓶中,加 2 mL 盐酸(HCl , $\rho=1.19 \text{ g/mL}$),加水至标线,混匀。

12.3.3.3 硒标准中间溶液 B(0.100 $\mu\text{g/mL}$):量取 5.00 mL 硒标准中间溶液 A(见 12.3.3.2)于 20 mL 容量瓶中,加 5 mL 盐酸溶液(见 12.3.3.10),加水至标线,混匀。临用前配制。

12.3.3.4 硒标准使用溶液(5.00 ng/mL):量取 5.00 mL 硒标准中间溶液 B(见 12.3.3.3)于 100 mL 容量瓶中,加 2 mL 盐酸溶液(见 12.3.3.10),加水至标线,混匀。临用前配制。

12.3.3.5 亚硫酸钠溶液(50 g/L):称取 5 g 亚硫酸钠($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)于 500 mL 烧杯中,加水溶解并稀释至 100 mL,混匀。

12.3.3.6 柠檬酸三铵-乙二胺四乙酸二钠混合溶液:称取 5 g 柠檬酸三铵 $[(\text{NH}_4)_3 \cdot \text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7]$ 和 2 g 乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na,优级纯)于 100 mL 烧杯中,加水溶解稀释至 100 mL,混匀。

12.3.3.7 碘酸钾溶液(12 g/L):称取 1.2 g 碘酸钾(KIO_3 ,优级纯)加水溶解,并稀释至 100 mL,混匀。

12.3.3.8 氟化铵-氢氧化铵缓冲溶液(pH 值=10):称取 20 g 氟化铵(NH_4F)于 100 mL 烧杯中,加水溶解后转入 200 mL 量瓶中,加入 60 mL 氢氧化铵(NH_4OH , $\rho=0.90 \text{ g/mL}$,优级纯),加水至标线,混匀后转存于聚乙烯塑料瓶中。

12.3.3.9 盐酸(HCl): $\rho=1.19 \text{ g/mL}$,优级纯。

12.3.3.10 盐酸溶液(1+2):1 体积盐酸(见 12.3.3.9)与 2 体积水混合。

12.3.3.11 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42 \text{ g/mL}$,优级纯。

12.3.3.12 高氯酸(HClO_4): $\rho=1.67 \text{ g/mL}$,优级纯。

12.3.3.13 高氯酸溶液(1+1):1 体积高氯酸(见 12.3.3.12)缓缓地加入等体积水中,混匀。

12.3.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

- 示波级谱仪;
- 三电极系统:滴汞电极、甘汞电极、铂电极;
- 电热板;
- 实验室常备仪器及设备。

12.3.5 分析步骤

12.3.5.1 绘制标准曲线

按以下步骤绘制标准曲线:

- a) 分别量取 0 mL、0.20 mL、0.40 mL、0.60 mL、0.80 mL、1.20 mL 硒标准使用溶液(见 12.3.3.4)于 5 mL 烧杯中,加入 0.3 mL 高氯酸溶液(见 12.3.3.13),于电热板上加热至刚冒浓白烟,取下冷却;
- b) 加入 0.5 mL 柠檬酸三铵-乙二胺四乙酸二钠混合溶液(见 12.3.3.6),0.5 mL 亚硫酸钠溶液(见 12.3.3.5),混匀,放置 20 min;
- c) 加入 1.0 mL 氟化铵-氢氧化铵缓冲溶液(见 12.3.3.8),混匀。加入 0.5 mL 碘酸钾溶液(见 12.3.3.7),混匀后加盖放置 10 min;
- d) 于起始电压-0.6V 处,用导数部分记录硒的催化波的峰电流值(I_{pi})及标准空白峰电流值(I_{p0})峰电位为-0.86 V;
- e) 将测得数据记入表 A.10 中。以峰电流值 $I_{pi} - I_{p0}$ 为纵坐标,相应的硒量(ng)为横坐标,绘制标准曲线。

12.3.5.2 样品消化

准确称取 0.1 g(± 0.0001 g)干样于 50 mL 烧杯中,用几滴水润湿,加入 2 mL 硝酸(见 12.3.3.11),盖上表面皿,于电热板 140℃左右加热 20 min,冒烟时加入 1.5 mL 高氯酸(见 12.3.3.12),于 150℃~180℃加热至刚冒浓白烟,取下稍冷,补加 2 mL 硝酸(见 12.3.3.11),继续加热至溶液剩下约 0.5 mL(不能蒸干),用少许水淋洗杯壁及表面皿,再蒸至刚冒浓白烟,取下冷却后,加入 20 mL 盐酸溶液(见 12.3.3.10),盖上表面皿,于 100℃的电热板上微热 5 min,溶解残渣。用水洗表面皿,全量转入 25 mL 量瓶中,加水至标线,混匀,放置澄清,制得样品消化液。同时,制备分析空白样品。

12.3.5.3 样品测定

量取 1 mL~5 mL 样品消化清液于 5 mL 烧杯中,加入 0.2 mL 高氯酸溶液(见 12.3.3.13),于电热板上蒸至刚冒浓白烟,取下冷却后,其余按绘制标准曲线的步骤 12.3.5.1.b)~12.3.5.1.d),测定峰电流 I_{ps} ,并测定分析空白样品的峰电流 I_{pb} ,以($I_{ps} - I_{pb}$)值,在标准曲线上查出相应硒的量(ng)。

12.3.6 记录与计算

将测得数据记入附录 A 表 A.11 中,按式(20)计算生物样品中硒的含量:

$$w_{Se} = \frac{mV_0}{V_1M} \dots\dots\dots (20)$$

式中:

- w_{Se} ——生物体干样中硒的含量(质量分数, 10^{-9});
- V_0 ——样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
- V_1 ——用于测定的样品消化液的体积,单位为毫升(mL);
- M ——样品的称取量,单位为克(g);
- m ——由标准曲线查得的硒的量,单位为纳克(ng)。

12.3.7 精密度和准确度

6 个实验室测定硒含量为 $W0.94 \times 10^{-6}$ 的标准物质样品,测定结果的相对误差平均为 5.3%;6 个实验室测定同一生物(牡蛎)样品,测定结果的平均值为 3.44,再现性相对标准偏差为 4.7%。

12.3.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

- 除非另作说明,本方法所用试剂为分析纯。水为去离子水或等效纯水;
- 在样品消化中,加高氯酸于电热板上加热冒白烟时不应蒸干。样品消化液加高氯酸加热这一步,其蒸发后剩下的高氯酸体积应与标准溶液加高氯酸蒸至刚冒浓白烟取下的体积相同;

- 样品消化时,有机质应除尽。加入盐酸溶液(1+2)前的溶液应呈无色,含铁量较高时应呈淡黄色;
- 样品消化溶液中硒的浓度若超过 6 ng/mL 时,应经过适当稀释后测定;
- 测定时的适宜室温为 15℃~25℃,若室温高于 25℃,加入缓冲溶液及碘酸钾溶液后,需在冷水浴中放置 10 min 再进行测定,否则测定的结果不稳;
- 样品消化液在加入碘酸钾溶液后应在半小时内测定完毕。若样品数目多,应分小批量加入极谱底液。

13 石油烃——荧光分光光度法

13.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物体中石油烃的测定。

本方法为仲裁方法。

13.2 方法原理

生物样品经氢氧化钠皂化,用二氯甲烷萃取。将萃取液中的二氯甲烷蒸发后,残留物用石油醚溶解,于激发波长 310 nm,发射波长 360 nm 处进行荧光分光光度测定。

13.3 试剂及其配制

13.3.1 活性炭:60 目(250 μ m)层析用粒状活性炭。

13.3.2 石油醚:沸点范围 60℃~90℃。

13.3.3 氯化钠溶液(NaCl):饱和溶液。

13.3.4 无水乙醇(C_2H_5OH):重蒸馏后使用。

13.3.5 氢氧化钠(NaOH,优级纯)

13.3.6 盐酸(HCl): $\rho=1.19$ g/mL。

13.3.7 二氯甲烷(CH_2Cl_2):重蒸馏后使用。

13.3.8 盐酸溶液(2 mol/L):在搅拌下将 168 mL 盐酸(见 13.3.6)与 1 000 mL 蒸馏水混合。

13.3.9 氢氧化钠溶液(2 mol/L):称取 80 g 氢氧化钠(见 13.3.5)溶于水中,加水至 1 000 mL。

13.3.10 氢氧化钠溶液(6 mol/L):称取 240 g 氢氧化钠(见 13.3.5)溶于水中,加水至 1 000 mL。

13.3.11 活性炭的处理:取 1 000 g 活性炭(见 13.3.1)于烧杯中,用盐酸溶液(见 13.3.8)浸泡 2 h,依次用自来水、蒸馏水冲洗至中性。倾出水分后,用氢氧化钠溶液(见 13.3.9)浸泡 2 h,依次用自来水、蒸馏水冲洗至中性,于 100℃烘干。将烘干的活性炭放入瓷坩埚中,盖好盖子,于 500℃高温炉活化 2 h。炉温降至 50℃左右时,取出放入干燥器中,待用。

13.3.12 活性炭层析柱的制备:将玻璃层析柱清洗干净后,自然干燥,柱头先装入少许玻璃毛或脱脂棉。将处理的活性炭(见 13.3.11)放入烧杯中,用石油醚(见 13.3.2)充分浸泡,排尽活性炭中的空气,边搅拌边倒入玻璃层析柱中,装柱时要注意避免出现气泡。

13.3.13 脱芳石油醚:将石油醚(见 13.3.2)倾入层析柱中,初始流出的石油醚质量较差,注意检查流出石油醚的相对荧光强度,当其小于标准油品(0.1 mg/mL)相对荧光强度的 1%时,以每分钟 60 滴~100 滴的流速收集石油醚于清洁玻璃容器中,混匀后分装于试剂瓶中,待用。

13.3.14 油标准贮备溶液(1.00 mg/mL):准确称取 0.100 g 标准油于称量瓶中,用脱芳石油醚(见 13.3.13)溶解,全量移入 100 mL 容量瓶中,用脱芳石油醚(见 13.3.13)稀释至标线,混匀。

13.3.15 油标准使用溶液(100 μ g/mL):移取 5.00 mL 油标准贮备溶液(见 13.3.14)于 50 mL 容量瓶中,用脱芳石油醚(见 13.3.13)稀释至标线,混匀。

13.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

- 荧光分光光度计;

- 容量瓶:容量 10 mL、50 mL、1 000 mL;
- 移液管:容量 10 mL、20 mL;
- 烧杯:容量 50 mL、1 000 mL;
- 具塞比色管:容量 20 mL;
- 玻璃层析柱:直径 25 mm,长度 900 mm;
- 旋转蒸发器;
- 皂化瓶:碘量瓶或具塞圆底瓶,容量 100 mL;
- 锥形分液漏斗:容量 500 mL;
- 实验室常备仪器与设备。

13.5 分析步骤

13.5.1 绘制工作曲线

按以下步骤绘制标准曲线:

- a) 分别量取 0 mL、0.10 mL、0.30 mL、0.50 mL、0.70 mL、0.90 mL 油标准使用溶液(见 13.3.15)于 100 mL 皂化瓶中,加入 20 mL 氢氧化钠溶液(见 13.3.10),在室温下避光皂化 8 h~12 h,加入 20 mL 无水乙醇溶液(见 13.3.4),充分摇匀,4 小时后进行下一步操作;
- b) 将皂化液转入 500 mL 分液漏斗中,用 10 mL 二氯甲烷(见 13.3.7)洗涤皂化瓶,洗涤液转入分液漏斗中,加 30 mL 氯化钠溶液(见 13.3.3)和 100 mL 水,振荡 3 min(注意放气),静置分层(若分层不好,应延长静置时间);
- c) 将有机相收集于旋转蒸发瓶中。用 10 mL 二氯甲烷(见 13.3.7)再萃取一次,将有机相合并收集于旋转蒸发瓶中;
- d) 将旋转蒸发瓶与旋转蒸发器连接,在 50℃ 水浴中将二氯甲烷萃取液蒸发至 0.5 mL,取下旋转蒸发瓶,用氮气将残留二氯甲烷萃取液吹干,准确加入 10.0 mL 脱芳石油醚(见 13.3.13)溶解残留物;
- e) 将石油醚溶液移入 1cm 石英池内,按选定的仪器参数测定相对荧光强度(I_i)及分析空白相对荧光强度(I_b);
- f) 将测定数据记入表 A.12 中,以相对荧光强度($I_i - I_b$)为纵坐标,相应的石油烃的含量($\mu\text{g/mL}$)为横坐标,绘制工作曲线或计算回归曲线。

13.5.2 样品皂化

准确称取 2 g~5 g(± 0.0001 g)生物样于 100 mL 皂化瓶中,加入 20 mL 氢氧化钠溶液(见 13.3.10),在室温下避光皂化 8 h~12 h,期间每隔 1 h 摇动皂化瓶数次,加入 20 mL 无水乙醇溶液(见 13.3.4),充分摇匀,4 h 后进行萃取,制得样品消化液。同时,制备分析空白样品。

13.5.3 样品测定

按绘制工作曲线 13.5.1.b)~13.5.1.e)步骤,测定样品制备液的相对荧光强度(I_s)和分析空白样品的相对荧光强度(I_b)。以($I_s - I_b$)值从工作曲线上查出相应的石油烃的量。

13.6 记录与计算

将测得数据记入表 A.13 中,按式(21)计算生物样品中石油烃含量。

$$w_{\text{oil}} = (m \cdot V) / (F \cdot M) \quad \dots\dots\dots (21)$$

式中:

w_{oil} ——生物体样品中石油烃的含量(质量分数, 10^{-6});

m ——从工作曲线上查得的石油烃的含量,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V ——萃取剂的体积,单位为毫升(mL);

F ——样品的干/湿比;

M ——样品的称取量,单位为克(g)。

13.7 精密度和准确度

6 个实验室测试同一生物(贻贝)样品,测定结果的重复性相对标准偏差为 5.1%;再现性相对标准偏差为 11.6%;相对误差为 0.5%。

13.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

- 除非另作说明,本方法所用试剂为分析纯,水为去离子水或等效纯水;
- 皂化萃取过程中,试剂加入的顺序,加入纯水的质量和数量对萃取分层有明显影响;
- 全部操作应仔细认真,称量生物样品时,不可沾于瓶口或瓶壁。以免与氢氧化钠溶液接触不充分,影响皂化效果。

14 666、DDT ——气相色谱法

14.1 适用范围和应用领域

本方法适用于生物体中 666、DDT 和狄氏剂的测定。

14.2 方法原理

生物样品中的 666、DDT 和狄氏剂用索氏提取器提取于正己烷中,用佛罗里土吸附柱去除提取液中的脂肪和色素,二氯甲烷-正己烷淋洗液供 666 气相色谱测定,此淋洗液再经活性炭吸附柱去除 PCB₅,丙酮淋洗液供 DDT 和狄氏剂气相色谱测定。

14.3 试剂及其配制

14.3.1 氢氧化钠(NaOH):粒状。

14.3.2 无水硫酸钠(Na₂SO₄):粒状,于 300℃ 处理 2 h,冷至室温。用正己烷(见 14.3.4)于索氏提取器中提取 2 h,冷却,待溶剂挥发后于 130℃ 干燥。

14.3.3 月桂酸(十二碳酸 CH₃(CH₂)₁₀CO₂H)。

14.3.4 正己烷(H₃C(CH₂)₄CH₃):用全玻璃蒸馏器蒸馏,收集 69℃ 馏分。用气相色谱检测无杂质峰出现。蒸馏时可加入几粒氢氧化钾去除氯化物。

14.3.5 二氯甲烷(CH₂Cl₂):用全玻璃蒸馏器蒸馏,收集 38℃~39℃ 馏分,用气相色谱检测至无杂质峰出现。

14.3.6 苯(C₆H₆):用全玻璃蒸馏器蒸馏,收集 80℃ 馏分。用气相色谱检测无杂质峰出现,蒸馏时可加几粒氢氧化钾去除氯化物。

14.3.7 丙酮(CH₃COCH₃):用全玻璃蒸馏器蒸馏,收集 56℃ 馏分,用气相色谱检测无杂质峰出现。

14.3.8 佛罗里土(硅镁吸附剂):100 目~200 目(150 μm~75 μm)。650℃ 处理 2 h。使用前再在 130℃ 恒温箱内活化 4 h,冷至室温,每 100 g 吸附剂加 3 mL~5 mL 水去活性。于具塞瓶中贮存,有效期 7 d。

14.3.9 活性炭:色谱用活性炭经研细后,筛取 40 目~180 目(380 μm~80 μm)粒分,置于滤纸筒内,于索氏抽提器中用丙酮(见 14.3.7)提取 4 h。冷却后,用烧结玻璃漏斗或布氏漏斗抽滤。残留物用冷丙酮洗两次,抽干。待丙酮挥发后,于 130℃ 恒温箱内活化 2 h,冷却。保存在具塞瓶中备用。

14.3.10 有机氯农药标准贮备溶液(1.00 mg/mL):分别称取 α-666, γ-666, δ-666, β-666, pp'-DDE, op'-DDT, pp'-DDD, pp'-DDT, 狄氏剂(纯度均为 99%)各 25.0 mg 于 25 mL 容量瓶中,用正己烷(见 14.3.4)溶解,β-666 先用少量苯溶解。用正己烷(见 14.3.4)稀释至标线,混匀。

14.3.11 有机氯农药混合标准中间溶液:各量取 1.00 mL α-666、γ-666、δ-666;5.00 mL β-666、pp'-DDE、op'-DDT;10.0 mL pp'-DDD、pp'-DDT;2.00 mL 狄氏剂有机氯农药标准贮备溶液(见 14.3.10),合并于 100 mL 容量瓶中,用正己烷(见 14.3.4)稀释至标线,混匀。此溶液各组分含量见表 3。

14.3.12 有机氯农药混合标准使用溶液 A:量取 1.00 mL 有机氯农药混合标准中间溶液(见 14.3.11)于 100 mL 容量瓶中,用正己烷(见 14.3.4)稀释至标线,混匀。此溶液各组分含量见表 3。

14.3.13 有机氯农药混合标准使用溶液 B:量取 1.00 mL 有机氯农药混合标准使用溶液 A

(见 14.3.12)于 10 mL 容量瓶中,用正己烷(14.3.4)稀释至标线,混匀。此溶液各组分含量见表 3。

表 3 有机氯农药标准溶液各组分含量一览表

有机氯农药名称	有机氯农药标准贮备溶液/ (mg/mL)	有机氯农药混合标准中间溶液/ (μg/mL)	有机氯农药混合标准使用溶液 A/ (μg/mL)	有机氯农药混合标准使用溶液 B/ (μg/mL)
α-666	1.00	10.0	0.10	0.010
γ-666	1.00	10.0	0.10	0.010
β-666	1.00	50.0	0.50	0.050
δ-666	1.00	10.0	0.10	0.010
pp'-DDE	1.00	50.0	0.50	0.050
op'-DDT	1.00	50.0	0.50	0.050
pp'-DDD	1.00	100	1.00	0.100
pp'-DDT	1.00	100	1.00	0.100
狄氏剂	1.00	20.0	0.20	0.020

14.3.14 气相色谱材料:固定液 OV-17, OV-210,担体 80 目~100 目(180μm~150μm) Chromosorb W·AW·DMCS。

14.3.15 玻璃棉:先用正己烷(见 14.3.4)后用丙酮(见 14.3.7)浸泡,洗涤,待溶剂挥发干尽后,于 200℃ 恒温箱内加热处理 2 h,冷却,保存在具塞玻璃瓶中。

14.4 仪器及设备

仪器和设备如下:

- 气相色谱仪:具备 Ni⁶³ 电子捕获检测器;
- 索氏抽提器:300 mL 平底烧瓶;
- K-D 浓综器:300 mL 烧瓶及下部有 1.0 mL、5.0 mL 或 10.0 mL 刻度磨口试管;
- 活性碳玻璃层析柱:见图 2A;
- 佛罗里土玻璃层析柱:见图 2B;
- 高温炉:最高温度 1 000℃。
- 全玻璃蒸馏器。

14.5 分析步骤

14.5.1 色谱柱的制备

14.5.1.1 色谱柱:长 2 m,内径 3 mm U 形硬质玻璃管,填充 2%OV-17+4%OV-210/80 目~100 目(180 μm~150 μm),Chromosorb W·AW·DMCS 固定相(见 14.3.14)。

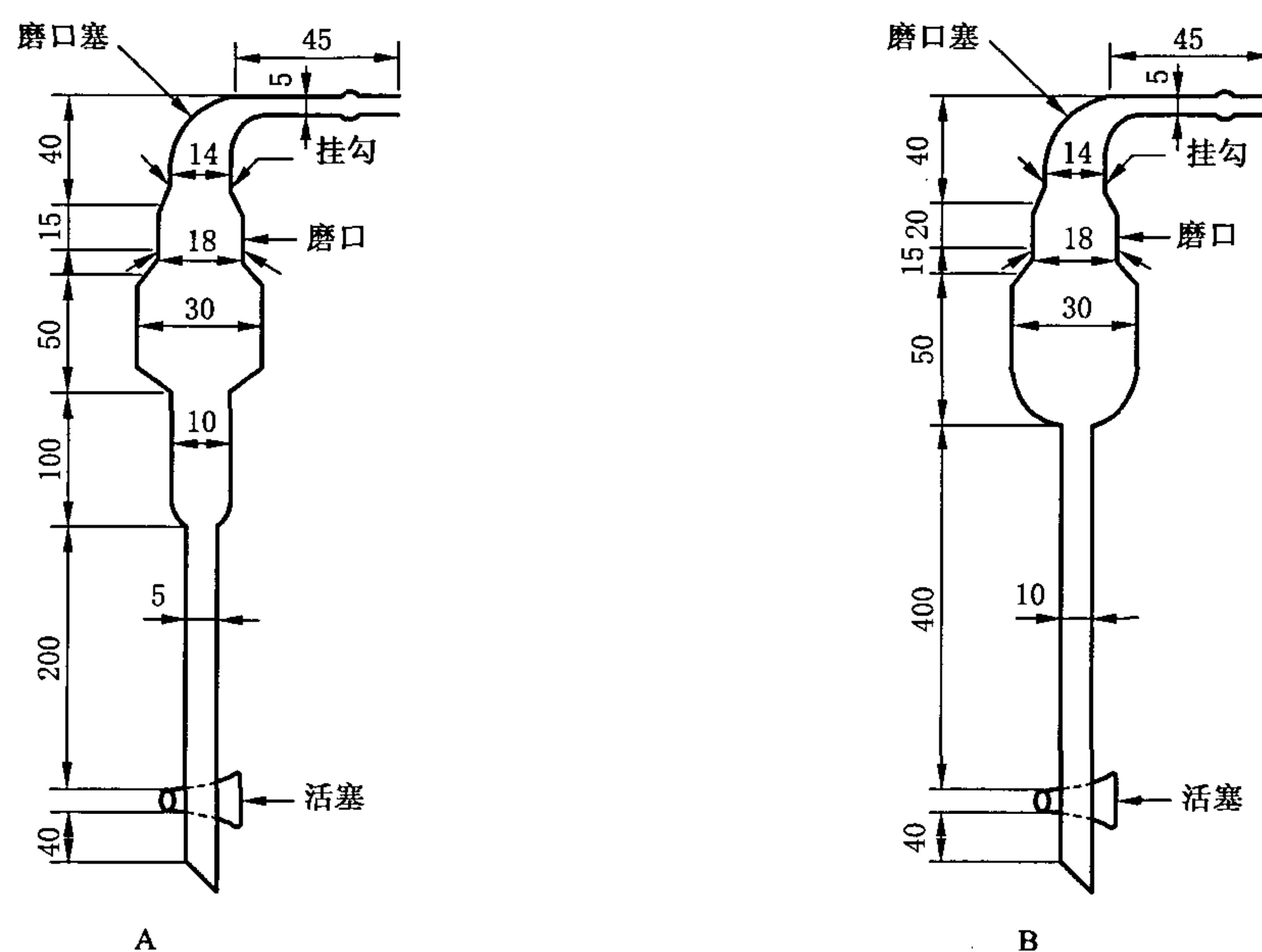
14.5.1.2 色谱柱的制备和老化

色谱柱的制备和老化按以下步骤进行:

- 涂渍固定相:称取 0.020 g OV-17 和 0.040 g OV-210 于烧杯中加丙酮(见 14.3.7)溶解,再加适量丙酮(见 14.3.7)搅匀,加入 10 g 80 目~100 目(180μm~150μm) Chromosorb W·AW·DMCS 担体(见 14.3.14),并使丙酮液面高于担体,轻轻搅拌。待溶剂自然挥发近干后,于 50℃ 干燥。
- 装柱:将 2 m×3 mm(内径)U 形玻璃管一端塞上玻璃棉(见 14.3.15),外包纱布,接在真空泵上,另一端接一小漏斗,将涂渍好固定相的担体(见 14.5.1.2. a))装入柱中,边装边抽气,轻轻敲打使玻璃柱填实,取下小漏斗及玻璃柱。塞入玻璃棉(见 14.3.15)。
- 老化:将色谱柱接于色谱仪柱箱中,一端与进样口连接,另一端暂不接检测器。通入流速为 30 mL/min 的高纯氮气,柱箱温升至 110℃ 老化 1 h 后再升至 200℃ 老化 2 h,最后升至 240℃ 老化 16 h,冷至室温,将色谱柱另一端与检测器连接,柱箱温升至操作温度,载气流速调至

60 mL/min冲洗 8 h,直至基线漂稳定后,可用于分析。

单位为毫米



A——活性炭玻璃层析柱;
B——佛罗里土玻璃层析柱。

图2 层析柱

14.5.1.3 色谱柱分离性能考查

按选定的色谱条件,注射有机氯农药混合标准使用溶液 B(见 14.3.13)绘制色谱图。若 666 四个异构体的谱峰能分开,pp'-DDE 与狄氏剂两个相邻的峰在峰高一半处能分开,说明色谱柱分离性能良好,可用于分析。若两个相邻峰在峰高三分之一处分开,说明分离性能差,则应重新制备色谱柱,直至达到上述要求。

14.5.2 样品提取

准确称取 10 g~20 g(±0.1 g)新鲜生物匀浆样品于烧杯内,加 4~5 倍重量的无水硫酸钠(见 14.3.2),混匀,呈松散状态。装入预先用正己烷处理过的圆形滤纸筒内,放入索氏提取器中,加 150 mL 正己烷(见 14.3.4),于 75℃~80℃ 水浴中回流萃取 8 h。冷至室温,制得样品提取液。

取同样重量的无水硫酸钠(14.3.2),按同样方法进行空白提取,提取液用 K-D 浓缩器浓缩,定容至 1.0 mL,随后按 14.5.3 步骤净化和分离后用气相色谱法测定分析空白液中有机氯农药残留组分的峰高 h_b 。

14.5.3 净化和分离

将样品提取液(见 14.5.2)通过装有 5.0 g 无水硫酸钠(见 14.3.2)的层析柱(400 mm×10 mm 玻璃柱),收集于连接 1 mL 刻度接收管的 K-D 浓缩器中。置于 75℃ 水浴中,通入氮气流,浓缩至 0.5 mL,加入正己烷(见 14.3.4)定容至 1.0 mL。

14.5.3.1 佛罗里土柱净化

装柱:在柱的底部放置少量玻璃棉,关闭活塞,加入 20 mL 正己烷(见 14.3.4),依次加入 10 mm 高的无水硫酸钠(14.3.2)和 5.0 g 佛罗里土(14.3.8)。轻敲柱子使之填充均匀无气泡。于佛罗里土上部再加 10 mm 高的无水硫酸钠(14.3.2)。排出过量正己烷至刚淹没无水硫酸钠,关闭活塞。

净化:将浓缩至 1.0 mL 的正己烷提取液加入柱内,并用少量正己烷(14.3.4)洗涤 K-D 浓缩器,洗涤液一并加入柱内。打开活塞,流出液收集于 K-D 浓缩器中。当液面降至刚淹没无水硫酸钠界面时,加入 100 mL 二氯甲烷-正己烷(30+70)混合溶剂进行淋洗,流速(2~4) mL/min。淋洗液收集于 K-D

浓缩器接收瓶中,并置于 75℃~80℃ 水浴中,通入氮气,浓缩至约 0.5 mL,加正己烷(见 14.3.4)定容至 1.0 mL。取 1μL~5μL 进行色谱测定。在相同色谱条件下,注入与样品中 666 浓度接近,体积相同的有机氯农药混合标准使用溶液 B(见 14.3.13)进行色谱分析。测定 666 各组分的峰高 h_s 。

14.5.3.2 微型活性碳柱分离

装柱:先于柱的底部放置少量玻璃棉,关闭活塞。加入 20 mL 丙酮(见 14.3.7),随后边轻敲柱子边依次装入 10 mm 高的无水硫酸钠(见 14.3.2)和 1.0 g 活性碳(见 14.3.9)。为了填充均匀紧密无气泡,柱顶空气导管与双联橡皮球联接压入空气,同进打开活塞排出丙酮(如丙酮不够,应先加入 10 mL~20 mL)。观察柱内填充物确无气泡后,在活性碳上部再加入 10 mm 高的无水硫酸钠(见 14.3.2),排出过量丙酮至刚淹没硫酸钠界面,关闭活塞。

分离:将定容至 1.0 mL 的净化液(见 14.5.3.1)加入柱内,用 1 mL~2 mL 正己烷(见 14.3.4)洗涤浓缩管,洗涤液合并于柱内。打开活塞,流出液收集于 K-D 浓缩器中。当液面降至无水硫酸钠界面时,加入 100 mL 丙酮(见 14.3.7)淋洗,流速(2~4) mL/min,收集的洗脱液含有有机氯农药,而大部分多氯联苯吸附于柱中不被洗脱,将盛洗脱液的浓缩器置于 65℃~70℃ 水浴中,通入氮气,浓缩至 0.5 mL,加正己烷定容至 1.0 mL。取(1~5)μL 进行色谱分析。在相同色谱条件下,注入与样品中有机氯农药浓度接近但体积相同的有机氯农药混合标准使用溶液 B(见 14.3.13)进行色谱分析。测量 DDT、狄氏剂色谱峰高 h_s 。

14.6 记录与计算

14.6.1 定性

将 666、DDT、狄氏剂测得数据记入表 A.14 中,并按下述步骤定性和定量。

对比样品和标样色谱图中各相应组分的保留时间,或按式(22)计算相对于 pp'-DDE 的保留时间(pp'-DDE=100)进行定性。

$$RRT = \frac{RT \times 100}{RT_{pp'-DDE}} \dots\dots\dots (22)$$

式中:

RRT——相对保留时间;

RT——农药的保留时间,单位为分(min);

$RT_{pp'-DDE}$ ——pp'-DDE 的保留时间,单位为分(min)。

14.6.2 定量

采用外标法,根据峰高(h)按式(23)计算有机氯农药各组分的含量。666、DDT 的含量等于各组分含量之和。

$$w_i = \frac{(h_s - h_b) K \cdot V_1}{F \cdot V_2 \cdot M} \times 1\,000 \dots\dots\dots (23)$$

式中:

w_i ——生物体干样中有机氯农药各组分的含量(质量分数,10⁻⁹);

K——农药的仪器响应系数,即注入标准的农药组分的量与其峰高或峰面积之比;

h_s ——样品提取浓缩液或分离浓缩液中待测物的峰高,单位为毫米(mm);

h_b ——分析空白浓缩液中待测物的峰高,单位为毫米(mm);

V_1 ——净化浓缩液或分离浓缩液的定容体积,单位为毫升(mL);

F——生物样的干湿比;

V_2 ——注入待测溶液的体积,单位为微升(μL);

M——样品的称取量,单位为克(g)。

14.7 精密度和准确度

666、DDT:相对误差 $\Sigma 666$ 为 5.71%~12.5%、 ΣDDT 为 3.05%~11.12%;相对标准差 $\Sigma 666$ 为

4.19%~7.06%、 Σ DDT 为 6.05%~8.25%；重复性相对标准差 Σ 666 为 2.31%~3.85%、 Σ DDT 为 3.28%~5.14%。

狄氏剂：相对误差 5.14%~21.45%；相对标准差 5.16%~9.63%；重复性相对标准差 2.89%~5.34%。

14.8 注意事项

本方法执行中应注意如下事项：

- 除非另有说明，本方法所用试剂为分析纯，水为去离子水或等效纯水；
- 色谱仪在长时间使用时，应经常注射标准样品，以检查电子捕获检测器污染情况，及由此而产生的响应和线性范围的变化；
- 标准样品和待测样品的注入体积应相同；
- 同一标准样品在实验开始和终了时峰高的变化应不超过 5%。一般情况下注入待测样品净化液后，应接着注入标准样品，两者不能相隔太久；
- 应根据具体仪器型号选择气相色谱的最佳仪器操作参数；
- 本方法系以贻贝和牡蛎为分析对象建立的，对其他海洋生物体中 666、DDT 和狄氏剂测定，前处理应作适当修改。用佛罗里土层析柱净化萃取液时，应先试验二氯甲烷和正己烷淋洗剂 (30+70, V/V) 的用量和佛罗里土用量，确认脂肪、色素被完全除去后，才能用活性炭柱分离去除 PCBs；
- 溶剂应经全玻璃蒸馏器蒸馏，玻璃器皿应洗净。

15 多氯联苯——气相色谱法

15.1 适用范围和应用领域

本方法适用于生物体样品中 PCBs 的测定。

15.2 方法原理

生物样品中的多氯联苯，用索氏提取法萃取于正己烷中，用佛罗里硅土和活性炭柱分离萃取液中的脂肪、色素、有机氯农药等干扰物后，进行多氯联苯的气相色谱测定。

15.3 试剂及其配制

15.3.1 PCBs 标准贮备溶液 (500.0 $\mu\text{g/mL}$)：分别称取 12.50 mg 的 PCB_3 和 PCB_5 标准物，置于 2 个 25 mL 量瓶中，用正己烷溶解并稀释至标线，混匀。

15.3.2 PCBs 标准中间溶液 (10.0 $\mu\text{g/mL}$)：分别量取 1.00 mL 标准贮备溶液 (见 15.3.1) 于 2 个 50 mL 量瓶中，加正己烷至标线，混匀。

15.3.3 PCBs 标准使用溶液 (1.00 $\mu\text{g/mL}$)：分别量取 5.00 mL 标准中间溶液 (见 15.3.2) 于 2 个 50 mL 量瓶中，加正己烷至标线，混匀。标准使用溶液分装于已净化的安瓿瓶中。每支约 0.5 mL。熔封后贴上标签，置于 4℃ 冰箱中，可长期保存，临用时打开。

15.3.4 PCB_3 和 PCB_5 混合标准使用溶液 (1.00 $\mu\text{g/mL}$)：分别量取 0.5 mL PCB_3 和 PCB_5 标准使用溶液 (见 15.3.3) 置于同一具塞玻璃容器中，混匀。

其他试剂见 14.3。

15.4 仪器及设备

仪器及设备见 14.4。

15.5 分析步骤

15.5.1 色谱柱的制备

色谱柱的制备见 14.5.1。

15.5.2 样品提取

准确称取约 10 g~20 g (± 0.1 g) 新鲜生物匀浆样品于烧杯内，加 4 倍~5 倍重量的无水硫酸钠，混

匀,呈松散状态。装入先用正己烷处理过的圆形滤纸筒内,放入索氏抽提器中,加 150 mL 正己烷,于 75℃~80℃水浴中回流萃取 8 h。冷至室温,制得样品提取液。

取同样重量的无水硫酸钠,按同样方法进行空白提取。提取液用 K-D 深缩器浓缩,定容至 1.0 mL,随后按 15.5.3 步骤净化分离,测定分析空白试液中 PCBs 组分的峰高 h_b 。

15.5.3 净化和分离

15.5.3.1 佛罗里土柱净化

将样品提取液,通过装有 5.0 g 无水硫酸钠的层析柱(400 mm×10 mm 玻璃柱),收集于连接 1 mL 刻度接收管的 K-D 浓缩器中。置于 75℃水浴中,通过氮气流,浓缩至 0.5 mL,加入正己烷定容至 1.0 mL。

装柱:在柱的底部放置少量玻璃棉,关闭活塞,加入 20 mL 正己烷后,依次加入 10 mm 高的无水硫酸钠和 5.0 g 佛罗里土轻敲柱子使之填充均匀无气泡。于佛罗里土上部再加 10 mm 高的无水硫酸钠。排出过量正己烷至刚淹没硫酸钠界面,关闭活塞。

净化:将浓缩至 1.0 mL 的正己烷浓缩提取液加入柱内,并用少量正己烷洗涤 K-D 浓缩器,洗涤液也加入柱内,打开活塞,流出液收集于 K-D 浓缩器中,当液面降至刚淹没硫酸钠界面时,加入 100 mL 二氯甲烷-正己烷(30+70)混合溶剂进行淋洗,流速(2~4) mL/min。将盛洗脱液的 K-D 浓缩器置于 75℃~80℃水浴中,通入氮气,浓缩至约 0.5 mL,加正己烷定容至 1.0 mL。此淋洗液的浓缩液中含有 666 各组分。

15.5.3.2 微型活性碳柱分离

装柱:先于柱的底部放置少量玻璃棉,关闭活塞。加入 20 mL 丙酮,随后边轻敲柱子边依次装入 10 mm 高的无水硫酸钠和 1.0 g 活性炭。为了填充均匀无气泡,柱顶空气导管与双联橡皮球联接压入空气,同时打开活塞排出丙酮(如丙酮不够,应先加入 10 mL~20 mL)。观察柱内填充物确无气泡后,在活性炭上部再加入 10 mm 高的无水硫酸钠,排出过量丙酮至刚淹没硫酸钠界面,关闭活塞。

分离:将 1.0 mL 净化液(见 15.5.3.1)加入上述柱内,用 1 mL~2 mL 正己烷洗涤浓缩管,洗涤液合并于柱内。打开活塞,流出液收集于 K-D 浓缩器中。当液面下降至硫酸钠界面时,加入 100 mL 丙酮淋洗,流速(2~4) mL/min,收集的洗脱液为第一馏分(含有机氯农药);接着用 100 mL 苯按相同的流速淋洗柱子。淋洗液收集于另一个 K-D 浓缩器中,为第二馏分(含 PCB)。将第一馏分置于 65℃~70℃水浴中,第二馏分置于 85℃~90℃水浴中,分别通入氮气浓缩至 0.5 mL,加正己烷定容至 1.0 mL。分别各取(1~5)μL 第一馏分和第二馏分的定容溶液作色谱分析。在相同色谱条件下注入与第二馏分样品浓度接近、体积相同的 PCBs 混合标准使用溶液(见 15.3.4)和 pp'-DDE 标准溶液进行色谱分析。根据样品谱图和 PCBs 标准样谱图,定量测定第一馏分和第二馏分 PCB 的含量。第一馏分和第二馏分中 PCB 含量之和,即为生物体中 PCB 的残留量。

15.6 记录与计算

15.6.1 定性

将测得数据记入表 A.15 中,并按下述步骤定性和定量。

对比样品和标样色谱图中各相应组分的保留时间,或按照式(24)计算相对于 pp'-DDE 的保留时间(pp'-DDE=100)进行定性。

$$RRT = \frac{RT \times 100}{RT_{pp'-DDE}} \dots\dots\dots (24)$$

式中:

RRT——相对保留时间;

RT——样品 PCB 谱峰的保留时间,单位为分(min);

$RT_{pp'-DDE}$ ——pp'-DDE 的保留时间,单位为分(min)。

15.6.2 定量

采用外标法,根据峰高(h)按式(25)计算样品中 PCBs 含量:

$$w_{\text{PCB}} = \frac{(h_s - h_b)K \cdot V_1}{F \cdot V_2 \cdot M} \times 1\,000 \dots\dots\dots (25)$$

式中:

- w_{PCB} ——生物体干样中 PCB 的残留量(质量分数, 10^{-9});
- K ——PCB 的仪器响应系数,即标准 PCBs 的量与其峰高或峰面积之比;
- h_s ——样品提取浓缩液中 PCBs 的峰高,单位为毫米(mm);
- h_b ——试剂空白浓缩液中 PCBs 的峰高,单位为毫米(mm);
- V_1 ——净化浓缩液或分离浓缩液的定容体积,单位为毫升(mL);
- F ——生物样的干/湿比;
- V_2 ——注入待测溶液的体积,单位为微升(μL);
- M ——样品的称取量,单位为克(g)。

15.7 精密度和准确度

相对误差 17%~28%;相对标准差 4.8%~9.0%;重复性相对标准差 2.9%~4.6%。

15.8 注意事项

- 本方法执行中应注意如下事项:
- 除非另有说明,本方法所用试剂为分析纯,水为去离子水或等效纯水。
- 本方法系以贻贝和牡蛎为分析对象建立的,对其他海洋生物 PCB 的分析,前处理应作适当的修改。用佛罗里土柱净化萃取液时,应先试验二氯甲烷和正己烷淋洗剂(30+70,体积比)的用量和佛罗里土用量,确认脂肪、色素被完全除去后,才能用活性炭柱分离出 PCB。
- 其他见 14.8。

16 狄氏剂——气相色谱法

狄氏剂——气相色谱法见 14.1

附 录 A
(规范性附录)
记 录 表

表 A.1~表 A.16 给出了通用的记录格式,生物样品分析记录应满足这些记录要求。

表 A.1 生物样品_____分析标准(工作)曲线数据记录
(原子荧光法)

仪器型号_____分析日期:_____年____月____日 共____页第____页

序号	加标准 使用液/ mL	标准加 入量/ ng	浓度/ ($\mu\text{g/L}$)	荧光强度 I_s			$\bar{I}_s - \bar{I}_b$	残 差 d_i
				1	2	平均		
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
备 注	标准使用液浓度/($\mu\text{g/L}$): 定容体积/mL: 室温: $^{\circ}\text{C}$ 湿度: %			线性回归拟合标准(工作)曲线方程: $I = a + bx$ $a =$ $b =$ $r =$				
				$d_i = I - (\bar{I}_s - \bar{I}_b)$ I 由标准(工作)曲线方程算出				
				测定波长: nm 测定池光程: cm				

分析者_____校对者_____审核者_____

表 A.2 生物样品_____分析记录
(原子荧光法)

海区_____监测船_____采样日期：____年__月__日
仪器型号_____分析日期：____年__月__日
共____页第____页

序号	站 号	样品名称	样品称量/ g	荧光强度 I_s			$\bar{I}_s - \bar{I}_b$	样品含量 $w/$ 10^{-6}
				1	2	平均		
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								
备注	空白 I_b						定容体积：	mL

分析者_____校对者_____审核者_____

表 A.3 生物样品_____分析标准(工作)曲线数据记录
(分光光度法)

仪器型号_____分析日期：_____年____月____日共____页第____页

序号	加标准 使用液/ mL	标准加 入量/ μg	浓度/ (μg/mL)	吸光值 A_i			$\overline{A_i} - \overline{A_0}$	残 差 d_i
				1	2	平均		
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
备 注	标准使用液浓度： μg/mL mol/L 定容体积： mL 室温： ℃ 湿度： %			线性回归拟合标准(工作)曲线方程： $A = a + bx$ $a =$$b =$$r =$				
				$d_i = A - (\overline{A_i} - \overline{A_0})$ A 由标准(工作)曲线方程算出				
				测定波长： nm 测定池光程： cm				

分析者_____校对者_____审核者_____

表 A.4 生物样品_____分析记录
(_____分光光度法)

海区_____监测船_____采样日期：_____年____月____日
仪器型号_____分析日期：_____年____月____日
共____页第____页

序号	站 号	样品名称	取样量/ g	吸光值 A_s			$\overline{A_s} - \overline{A_b}$	样品含量 $w/$ 10^{-6}
				1	2	平均		
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
备注	空白 A_b						定容体积： mL	

分析者_____校对者_____审核者_____

表 A.5 生物样品_____分析标准(工作)曲线数据记录
(无火焰原子吸收分光光度法)

仪器型号_____测定日期：_____年____月____日共____页第____页

序号	加标准 使用液/ mL	标准加 入量/ μg	浓度/ (μg/mL)	吸光值 A _i			$\overline{A_i} - \overline{A_0}$	残 差 d_i
				1	2	平均		
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
备注	标准使用液浓度： μg/mL 定容体积： mL 进样体积： μL 室温： ℃ 湿度： %			线性回归拟合标准(工作)曲线方程： $A = a + bx$ $a =$ $b =$ $r =$				
				$d_i = A - (\overline{A_i} - \overline{A_0})$ A 由标准(工作)曲线方程算出				
				背景扣除方式：氘灯 塞曼 交流塞曼				
				温 度 程 序：				

分析者_____校对者_____审核者_____

表 A.6 生物样品_____分析记录
(无火焰原子吸收分光光度法)

海区_____监测船_____采样日期：_____年____月____日
仪器型号_____分析日期：_____年____月____日
共____页第____页

序号	站 号	样品名称	取样量/ g	吸光值 A_s			$\overline{A_s} - \overline{A_b}$	吸光值 A_s
				1	2	平均		
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
备注				A_b			定容体积	mL
				进样体积： μL			检出限	

分析者_____校对者_____审核者_____

表 A.7 生物样品_____分析记录
(阳极溶出伏安法)

海区_____监测船_____采样日期：_____年____月____日
仪器型号_____分析日期：_____年____月____日
共____页第____页

序号	站号	样品名称	取样量/ g	取样量/ mL	峰电流 i_p / 格		加标后 I_p / 格		样品浓度 / ($\mu\text{g/L}$)		
					1	2	1	2	1	2	平均
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											
17											
18											
备注	添加标准溶液体积 $V_{\text{标}} =$ _____ mL 添加标准溶液浓度 $\rho_{\text{标}} =$ _____ $\mu\text{g/mL}$ 检出限：_____ 定 容：_____ mL										

分析者_____校对者_____审核者_____

表 A.8 生物样品_____分析标准(工作)曲线数据记录
(火焰原子吸收分光光度法)

仪器型号_____测定日期：_____年____月____日共____页第____页

序号	加标准 使用液/ mL	标准加 入量/ μg	浓度/ (μg/mL)	吸光值 A_i			$\overline{A_i} - \overline{A_0}$	残 差 d_i
				1	2	平均		
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
备 注	标准使用液浓度： μg/mL 定容体积： mL 室温： ℃ 湿度： %			线性回归拟合标准(工作)曲线方程： $A = a + bx$ $a =$ $b =$ $r =$				
				$d_i = A - (\overline{A_i} - \overline{A_0})$ A 由标准(工作)曲线方程算出				
				测定谱线： nm 狭缝： 灯电流： mA 工作方式：单/双光束				
				空气流速： L/min 乙炔流速： L/min 试液提升： mL				

分析者_____校对者_____审核者_____

表 A.9 生物样品_____分析记录
(火焰原子吸收分光光度法)

海区_____监测船_____采样日期：_____年____月____日
仪器型号_____分析日期：_____年____月____日
共____页第____页

序号	站 号	样品名称	取样量/ g	吸光值 A_s			$\overline{A_s} - \overline{A_b}$	吸光值 A_s
				1	2	平均		
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
备 注				A_b			定容体积	mL
							进样体积： μL	检出限

分析者_____校对者_____审核者_____

表 A.10 生物样品_____标准(工作)曲线数据记录
(催化极谱法)

仪器型号_____分析日期：_____年____月____日共____页第____页

序 号	被测物用量/ μg	峰 高/ mm	电 流 倍 率	峰电流值 I_p
				峰高×电流倍率
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
备 注	室温： ℃ 湿度： %		线性回归方程： $y=a+bx$ a : b : r :	
			标准使用溶液浓度： μg/mL	
			标准系列定容体积： mL	
			起始电压：— V	

分析者_____校对者_____审核者_____

表 A.11 生物样品_____分析记录
(催化极谱法)

海区_____监测船_____采样日期：_____年____月____日
仪器型号_____分析日期：_____年____月____日
共____页第____页

序号	站号	样品名称	取样量/ g	峰高/ mm	电 流 倍 率	峰电流值(I_p) 峰高×电流倍率	相当于被 测物的量/ μg	样品含量 w / 10^{-6}
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
样品消化液定容体积： mL								

分析者_____校对者_____审核者_____

表 A.12 生物样品_____分析标准(工作)曲线数据记录
(荧光分光光度法)

仪器型号_____测定日期：_____年____月____日共____页第____页

序号	加标准使用液/ mL	标准加入量/ μg	浓度/ (μg/mL)	荧光强度 I_i			$\overline{I_i} - \overline{I_0}$	残 差 d_i
				1	2	平均		
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
备注	标准使用液浓度： μg/mL 定容体积： mL 室温： °C 湿度： %			线性回归拟合标准(工作)曲线方程： $A = a + bx$ $a =$ $b =$ $r =$				
				$d_i = I - (\overline{I_i} - \overline{I_0})$ I 由标准(工作)曲线方程算出				
				激发波长： nm 发射波长： nm 测 定 池： cm				

分析者_____校对者_____审核者_____

表 A.13 生物样品_____分析记录
(荧光分光光度法)

海区_____监测船_____采样日期：_____年__月__日
仪器型号_____分析日期：_____年__月__日
共____页第____页

序号	站 号	样品名称	取样量/ g	荧光强度 I_s			$I_s - I_b$	样品含量 $w/$ 10^{-6}
				1	2	平均		
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
备注				I_b			定容体积	mL
							检出限	

分析者_____校对者_____审核者_____

表 A.14 生物样品 666、DDT、狄氏剂分析记录
(气相色谱法)

采样日期：____年__月__日至__月__日
海 区：____ 监测船：____ 分析日期：____年__月__日至__月__日

共__页第__页

序号站号	样品名称	取 样 量/ g	浓缩液/ mL		进样体积/ μL		峰高/ mm							样品含量 w/ 10 ⁻⁶							
			佛罗里 土净 化液	活性 碳分 离液	佛罗里 土净 化液	活性 碳分 离液	α- 666	γ- 666	β- 666	σ- 666	p,p'- DDE- 666	p,p'- DDD- DDT	p,p'- DDD- DDT	p,p'- DDE- DDT	o,p'- DDT	p,p'- DDD- DDT	666 总量	p,p'- DDE- DDT	狄氏 剂	666 总量	狄氏 剂
1																					
2																					
3																					
4																					
5																					
6																					
7																					
8																					
9																					
10																					
备注	检出限： μL μL	进样体积： μL	仪器型号： 柱温： 检测室温度： 氮气流速： 气化室温度： 柱前压力： mL/min, 衰 减：																		

分析者：____ 校对者：____ 审核者：____

表 A.15 生物样品 PCB 分析记录
(气相色谱法)

表 A.16 海洋监测生物体分析结果报表

监测部门_____ 监测日期：____年__月__日至__月__日 第____页

海区_____ 监测船_____ 分析日期：____年__月__日至__月__日 共____页

共 页 第 页

序号	站号	采样 时间 日、时	生物种 学名 拉丁文	俗名 中文	年龄	平均 体长	平均 体重/ g	分析 部位	总汞/ 10 ⁻⁶	铜/ 10 ⁻⁶	铅/ 10 ⁻⁶	镉/ 10 ⁻⁶	砷/ 10 ⁻⁶	硒/ 10 ⁻⁶	666/ 10 ⁻⁹	DDT/ 10 ⁻⁹
1																
2																
3																
4																
5																
6																
7																
8																
9																
10																
备 注																

制表者_____ 校对者_____ 复校者_____ 负责人_____ 制表日期：____年__月__日

附 录 B
(资料性附录)
方法检出限

各测项及分析方法的检出限如表 B.1 所示。

表 B.1 测定方法检出限

章条 编号	测项及分析方法	检出限 $w/10^{-6}$	章条 编号	测项及分析方法	检出限 $w/10^{-6}$
5	汞		11.2	砷钼酸-结晶紫分光光度法	2.0
5.1	原子荧光法	0.002	11.3	氢化物-原子吸收分光光度法	0.4
5.2	冷原子吸收光度法	0.01	11.4	催化极谱法	2.0
6	铜		12	硒	
6.1	无火焰原子吸收分光光度法	0.4	12.1	荧光分光光度法	0.2
6.2	阳极溶出伏安法	1.0	12.2	二氨基联苯胺四盐酸盐分光光度法	0.5
6.3	火焰原子吸收分光光度法	2.0	12.3	催化极谱法	0.03
7	铅		13	石油烃——荧光分光光度法	0.2
7.1	无火焰原子吸收分光光度法	0.04	14	666,DDT——气相色谱法	α -666:5 γ -666:7 β -666,:3 δ -666:9 pp'-DDE:5 op'-DDT:17 pp'-DDD:8 pp'-DDT:40
7.2	阳极溶出伏安法	0.3			
7.3	火焰原子吸收分光光度法	0.6			
8	镉				
8.1	无火焰原子吸收分光光度法	0.005			
8.2	阳极溶出伏安法	0.4			
8.3	火焰原子吸收分光光度法	0.08			
9	锌				
9.1	火焰原子吸收分光光度法	0.4	15	多氯联苯——气相色谱法	43.1
9.2	阳极溶出伏安法	2.0	16	狄氏剂——气相色谱法	3
10	铬				
10.1	二苯碳酰二肼分光光度法	0.40			
10.2	无火焰原子吸收分光光度法	0.04			
11	砷				
11.1	原子荧光法	0.2			
注：666、DDT 各组分，多氯联苯和狄氏剂的检出限单位为 pg。					

附 录 C

(资料性附录)

有机氯农药——毛细管气相色谱测定法

C.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物体中 α -666、 β -666、 γ -666、 δ -666、七氯、艾氏剂、环氧七氯、硫丹-I、pp'-DDE、狄氏剂、异狄氏剂、硫丹-II、pp'-DDD、异狄氏剂乙醛、硫丹硫酸盐、pp'-DDT 等有机氯农药(OCPs)的测定。

检出限(ng/g): α -666 0.027; β -666 0.052; γ -666 0.026; δ -666 0.024; 七氯 0.028; 艾氏剂 0.025; 环氧七氯 0.026; 硫丹-I 0.028; pp'-DDE 0.028; 狄氏剂 0.029; 异狄氏剂 0.038; 硫丹-II 0.036; pp'-DDD 0.041; 异狄氏剂乙醛 0.038; 硫丹硫酸盐 0.043; pp'-DDT 0.041。

C.2 方法原理

海洋生物样品中的 OCPs 用超声法提取或索氏法提取于正己烷中。提取液经净化浓缩后,用毛细管气相色谱测定,与标准样品比较定量。

C.3 试剂及其配制

C.3.1 正己烷:用全玻璃蒸馏器重新蒸馏,收集 68℃~69℃馏分。

C.3.2 丙酮:用全玻璃蒸馏器重新蒸馏,收集 58℃~59℃馏分。

C.3.3 浓硫酸:优级纯。

C.3.4 无水硫酸钠:500℃烘 6 h,冷却后置干燥器中保存。

C.3.5 无水硫酸钠水溶液(2 %):20 g 无水硫酸钠溶于水中,稀释至 1 000 mL。

C.3.6 中性氧化铝:100 目~200 目(150 μ m~75 μ m),400℃烘 4 h,冷却后加 3%~4%水去活化,置干燥器中保存。

C.3.7 佛罗里土:100 目~200 目(150 μ m~75 μ m),140℃烘 4 h,冷却后置干燥器中保存。

C.3.8 铜粉:优级纯,纯度 99.8%。

C.3.9 有机氯农药混合标准贮备溶液:用异辛烷配制 16 种有机氯农药标准溶液,其中含有 α -666、 β -666、 γ -666、 δ -666、七氯、艾氏剂、环氧七氯、硫丹-I、pp'-DDE、狄氏剂、异狄氏剂、硫丹-II、pp'-DDD、异狄氏剂乙醛、硫丹硫酸盐、pp'-DDT 等有机氯农药,浓度分别为 1 mg/mL。

C.3.10 有机氯农药混合标准使用溶液:用正己烷稀释有机氯农药混合标准贮备溶液(E.3.9)而成,各组分含量为 0.05 μ g/mL。

C.4 仪器与设备

仪器与设备如下:

- 气相色谱仪:配 Ni⁶³ 电子捕获鉴定器;
- 旋转蒸发器;
- 超声波清洗器;
- 毛细管色谱柱:石英 SE-54 交联柱,内径 0.22 mm,长 25 m,膜厚度 0.25 μ m;
- 全玻璃蒸馏器;
- 索氏提取器;
- 梨型分液漏斗:容量 500 mL;

- 具塞比色管:容量 100 mL;
- 多孔水浴;
- 微量注射器:容量 5 μL 、10 μL ;
- 实验室常用仪器与设备。

C.5 分析步骤

C.5.1 样品制备

将采集的海洋生物样品用海水洗涤,除去杂物和壳等,取其组织,匀浆处理,收集备用。

C.5.2 样品提取

C.5.2.1 超声提取法

准确称取 3.0 g(精确至 $\pm 0.000\ 1\ \text{g}$)生物干样与 10 g 无水硫酸钠(C. 3. 4)混匀(或 30 g $\pm 0.000\ 1\ \text{g}$ 生物湿样与 30 g 无水硫酸钠混匀),呈松散状,置于预先用正己烷处理过的圆形滤纸筒内,放入 100 mL 具塞比色管内,加 60 mL 正己烷-丙酮(1+1)浸泡 12 h 后,超声提取 20 min。静置,将上清液转移至预先加入 250 mL 无水硫酸钠溶液(C. 3. 5)的梨型分液漏斗内,再分别加入 30 mL 丙酮重复超声提取 3 次,合并于分液漏斗中,振摇 1 min,静止分层,除去水相,收集正己烷相,做为样品提取液待净化。

C.5.2.2 索氏提取法

准确称取 3.0 g(精确至 $\pm 0.000\ 1\ \text{g}$)生物干样与 10 g 无水硫酸钠(C. 3. 4)混匀(或 30 g $\pm 0.000\ 1\ \text{g}$ 生物湿样与 30 g 无水硫酸钠混匀),呈松散状,置于预先用正己烷处理过的圆形滤纸筒内,放入索氏提取器中,加 100 mL 正己烷-丙酮(1+1)浸泡 12 h。在 75℃~80℃水浴中回流提取 16 h。冷至室温后,将提取液转移到已加入 250 mL 无水硫酸钠水溶液(C. 3. 5)的梨型分液漏斗中,分别用 30 mL 丙酮冲洗索氏提取器 3 次,合并于分液漏斗中,振摇 1 min,静止分层,除去水相,收集正己烷相,做为样品提取液待净化。

C.5.3 样品净化

将提取液移入梨型分液漏斗,加 30 mL 浓硫酸,振摇 1 min,静止分层,除去硫酸相。若浓硫酸净化后的正己烷相有颜色,应重复用浓硫酸净化,直至无色透明。再加入 250 mL 无水硫酸钠溶液(C. 3. 5)于分液漏斗中,振摇 1 min,静止分层,除去水相,重复洗涤 3 次,直至正己烷相呈中性。收集正己烷相于旋转蒸发器浓缩瓶中,浓缩至近干,用正己烷定容至 1.0 mL,做为样品净化液,待测定。

C.5.4 分析空白

除不加生物样外,其他与样品提取(C. 5. 2)和样品净化(C. 5. 3)步骤相同,做为分析空白液,待测定。

C.5.5 加标回收样

不加生物样,加入 20.0 g 无水硫酸钠(C. 3. 4)和 1.0 mL 有机氯农药混合标准使用溶液(C. 3. 10),其他与样品提取(C. 5. 2)和样品净化(C. 5. 3)步骤相同,做为加标回收样,待测定。

C.5.6 样品测定

C.5.6.1 色谱仪的校准

在选定分析条件下,色谱仪基线噪音 $\leq 0.2\ \text{mV}$,基线漂移 $\leq 0.5\ \text{mV}/30\ \text{min}$ 时,注射 1.0 μL 有机氯农药混合标准使用溶液(C. 3. 10),应有很好的分离。输出信号进行适当衰减使记录仪上最高峰 $\leq 95\%$ 。

C.5.6.2 测定

在上述相同色谱条件下,分别注入相同体积的分析空白液(C. 5. 4)、样品净化液(C. 5. 3)、有机氯农药混合标准使用溶液(C. 3. 10)以及加标回收样(C. 5. 5),测得各组分的保留时间、峰高或峰面积,进行定性分析与定量分析。

C.6 记录与计算

将测定结果记入表 C.1 中,按式(C.1)计算生物样品中 OCPs 含量:

$$w_i = \frac{(A_i - A_k) \times C_i \times V_b \times V_i \times 1\,000}{A_b \times V_j \times W \times (1 - R)} \dots\dots\dots (C.1)$$

式中:

- w_i ——样品中 OCPs 的含量,单位为纳克每克(ng/g);
- A_i ——样品 i 组分的峰面积或峰高值;
- A_k ——分析空白 i 组分的峰面积或峰高值;
- A_b ——标准样 i 组分的峰面积或峰高值;
- V_i ——样品提取液体积,单位为毫升(mL);
- V_b ——标准样进样体积,单位为微升(μ L);
- V_j ——样品样进样体积,单位为微升(μ L);
- C_i ——标准样 i 组分的浓度,单位为微克每毫升(μ g/mL);
- W ——样品重量,单位为克(g);
- R ——样品的水分含量(质量分数,%).

OCPs 的总量等于各组分含量之和。

C.7 注意事项

本方法执行中应注意如下事项:

- 除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为去离子水或等效纯水;
- 为避免有机物质的沾污,应将生物样品盛装在全玻璃广口瓶或金属容器内;
- 所用器皿,使用前用正己烷冲洗;
- 所用试剂,使用前做空白检验;
- 样品中存在共提取色素物质对本法有干扰,用氧化铝层析法消除色素;
- 样品中若存在含硫物质对本法有干扰,用铜粉消除。

表 C.1 海洋生物样品中有机氯农药分析记录表

采样日期：____年____月____日
海区____监测船____分析日期：____年____月____日 共____页第____页

序 号		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
站 号											
瓶 号											
浓缩体积/mL											
进样体积/ μ L											
峰 面 积 μ Vs 或 峰 高 μ V	α -666										
	β -666										
	γ -666										
	δ -666										
	七氯										
	艾氏剂										
	环氧七氯										
	硫丹-I										
	pp'-DDE										
	狄氏剂										
	异狄氏剂										
	硫丹-II										
	pp'-DDD										
	异狄氏剂乙醛										
	硫丹硫酸盐										
	pp'-DDT										
样 品 含 量/ (ng/g)	α -666										
	β -666										
	γ -666										
	δ -666										
	七氯										
	艾氏剂										
	环氧七氯										
	硫丹-I										
	pp'-DDE										
	狄氏剂										
	异狄氏剂										
	硫丹-II										
	pp'-DDD										
	异狄氏剂乙醛										
	硫丹硫酸盐										
	pp'-DDT										

分析者____校对者____审核者____

附录 D

(资料性附录)

多氯联苯——毛细管气相色谱测定法

D.1 适用范围和应用领域

本方法适用于海洋生物体中多氯联苯(PCBs)的测定。

检出限(ng/g): CB28 0.05; CB 52 0.068; CB155 0.054; CB101 0.05; CB112 0.038; CB118 0.052; CB153 0.049; CB138 0.038; CB180 0.029; CB198 0.033。

D.2 方法原理

海洋生物样品中的 PCBs 用超声或索氏法提取于正己烷中。提取液经净化浓缩后,用毛细管气相色谱测定,与标准样品比较定量。

D.3 试剂及其配制

D.3.1 正己烷:用全玻璃蒸馏器重新蒸馏,收集 68℃~69℃馏分。

D.3.2 丙酮:用全玻璃蒸馏器重新蒸馏,收集 58℃~59℃馏分。

D.3.3 浓硫酸:优级纯。

D.3.4 无水硫酸钠:500℃烘 6 h,冷却后置干燥器中保存。

D.3.5 无水硫酸钠水溶液(2%):20 g 无水硫酸钠溶于水中,稀释至 1 000 mL。

D.3.6 铜粉:优级纯,纯度 99.8%。

D.3.7 多氯联苯混合标准贮备溶液:用异辛烷配制 10 组分 PCBs 标准溶液,其中含有 CB28、CB52、CB101、CB112、CB118、CB138、CB153、CB155、CB180、CB198 等单组分 PCB,含量分别为 10 μg/mL。

D.3.8 多氯联苯混合标准使用溶液:用正己烷稀释多氯联苯标准贮存溶液(D.3.7)而成,各组分含量为 0.1 μg/mL。

D.4 仪器与设备

仪器与设备如下:

——气相色谱仪:配 Ni⁶³ 电子捕获鉴定器;

——旋转蒸发器;

——超声波清洗器;

——毛细管色谱柱:石英 SE-54 交联柱子,内径 0.22 mm,长 25 m,固定相液膜厚度 0.25 μm;

——全玻璃蒸馏器;

——索氏提取器;

——梨型分液漏斗:容量 500 mL;

——具塞比色管:容量 100 mL;

——多孔水浴;

——微量注射器:容量 5 μL、10 μL。

——实验室常用仪器与设备。

D.5 分析步骤

D.5.1 样品制备

将采集的海洋生物样品用海水洗涤,除去杂物和壳等,取其组织,匀浆处理,收集备用。

D.5.2 样品提取

D.5.2.1 超声提取法

准确称取 3.0 g(精确至±0.000 1 g)生物干样与 10 g 无水硫酸钠(D. 3. 4)混匀(或 30 g±0.000 1 g生物湿样与 30 g 无水硫酸钠混匀),呈松散状,置于预先用正己烷处理过的圆形滤纸筒内,放入 100 mL 具塞比色管内,加 60 mL 正己烷-丙酮(1+1)浸泡 12 h 后,超声提取 20 min。静置,将上清液转移至预先加入 250 mL 无水硫酸钠溶液(D. 3. 5)的梨型分液漏斗内,再分别加入 30 mL 丙酮重复超声提取 3 次,合并于分液漏斗中,振摇 1 min,静止分层,除去水相,收集正己烷相,做为样品提取液待净化。

D.5.2.2 索氏提取法

准确称取 3.0 g(精确至±0.000 1 g)生物干样与 10 g 无水硫酸钠(D. 3. 4)混匀(或 30 g±0.000 1 g生物湿样与 30 g 无水硫酸钠混匀),呈松散状,置于预先用正己烷处理过的圆形滤纸筒内,放入索氏提取器中,加 100 mL 正己烷-丙酮(1+1)浸泡 12 h。在 75℃~80℃水浴中回流提取 16 h。冷至室温后,将提取液转移到已加入 250 mL 无水硫酸钠水溶液(D. 3. 5)的梨型分液漏斗中,分别用 30 mL 丙酮冲洗索氏提取器 3 次,合并于分液漏斗中,振摇 1 min,静止分层,除去水相,收集正己烷相,做为样品提取液待净化。

D.5.3 样品净化

将提取液移入梨型分液漏斗,加 30 mL 浓硫酸,振摇 1 min,静止分层,除去硫酸相。若浓硫酸净化后的正己烷相有颜色,应重复用浓硫酸净化,直至无色透明。再加入 250 mL 无水硫酸钠溶液(D. 3. 5)于分液漏斗中,振摇 1 min,静止分层,除去水相,重复洗涤 3 次,直至正己烷相呈中性。收集正己烷相于旋转蒸发器浓缩瓶中,浓缩至近干,用正己烷定容至 1.0 mL,做为样品净化液,待测定。

D.5.4 分析空白

除不加生物样外,其他与样品提取(D. 5. 2)和样品净化(D. 5. 3)步骤相同,做为分析空白液,待测定。

D.5.5 加标回收样

不加生物样,加入 20.0 g 无水硫酸钠(D. 3. 4)和 1.0 mL 有机氯农药混合标准使用溶液(D. 3. 8),其他与样品提取(D. 5. 2)和样品净化(D. 5. 3)步骤相同,做为加标回收样,待测定。

D.5.6 样品测定

D.5.6.1 色谱仪的校准

在选定分析条件下,色谱仪基线噪音≤0.2 mV,基线漂移≤0.5 mV/30 min 时,注射 1.0 μL 有机氯农药混合标准使用溶液(D. 3. 8)应有很好的分离。输出信号进行适当衰减使记录仪上最高峰≤95%。

D.5.6.2 测定

在上述相同色谱条件下,分别注入相同体积的分析空白液(D. 5. 4)、样品净化液(D. 5. 3)、有机氯农药混合标准使用溶液(D. 3. 10)以及加标回收样(D. 5. 5),测得各组分的保留时间、峰高或峰面积,进行定性分析与定量分析。

D.6 记录与计算

将测定结果记入表 D. 1 中,按式(D. 1)计算生物样品中 PCBs 含量:

$$w_i = \frac{(A_i - A_k) \times C_i \times V_b \times V_i \times 1\,000}{A_b \times V_j \times W \times (1 - R)} \dots\dots\dots (D. 1)$$

式中:

w_i ——样品中 PCBs 的含量,单位为纳克每克(ng/g);

A_i ——样品 i 组分的峰面积或峰高值;

A_k ——分析空白 i 组分的峰面积或峰高值；
 A_b ——标准样 i 组分的峰面积或峰高值；
 V_i ——样品提取液体积，单位为毫升(mL)；
 V_b ——标准样进样体积，单位为微升(μ L)；
 V_j ——样品样进样体积，单位为微升(μ L)；
 C_i ——标准样 i 组分的浓度，单位为微克每毫升(μ g/mL)；
 W ——样品重量，单位为克(g)；
 R ——样品的水分含量(质量分数，%)。
PCBs 的总量等于各组分含量之和。

D.7 注意事项

本方法执行中应注意以下事项：

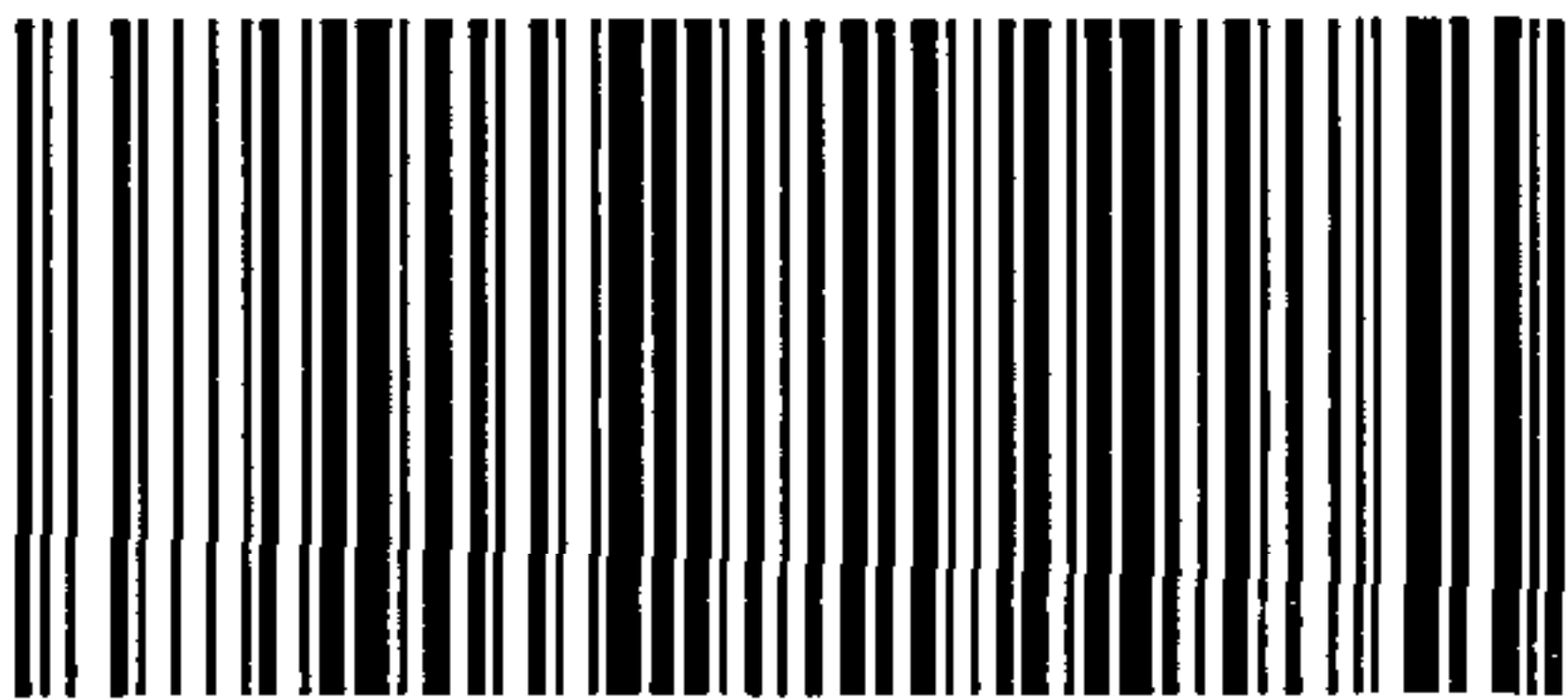
- 沉积物样品应盛装在全玻璃广口瓶或金属容器中，以避免有机物质沾污；
- 所用器皿，使用前用正己烷冲洗；
- 所用试剂，使用前做空白检验；
- 样品中存在共提取色素物质对本法有干扰，用氧化铝层析法消除色素；
- 样品中若存在含硫物质对本法有干扰，用铜粉消除。

表 D.1 海洋生物样品中多氯联苯分析记录表

采样日期：____年____月____日
海区____监测船____分析日期： 年 月 日 共____页第____页

序 号		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
站 号											
瓶 号											
浓缩体积/mL											
进样体积/ μ L											
峰 面 积 μ s 或 峰 高 μ V	CB28										
	CB52										
	CB155										
	CB101										
	CB112										
	CB118										
	CB153										
	CB138										
	CB180										
	CB198										
样 品 的 含 量/ (ng/g)	CB28										
	CB52										
	CB155										
	CB101										
	CB112										
	CB118										
	CB153										
	CB138										
	CB180										
	CB198										

分析者____校对者____审核者____



GB 17378.6-2007

版权专有 侵权必究

*

书号:155066·1-30647