

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2822—2015

蜂产品中砷和汞的形态分析 原子荧光法

**Speciation determination of arsenic and mercury in bee products—
Atomic fluorescence spectrometry**

2015-10-09 发布

2015-12-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由农业部畜牧业司提出。

本标准由全国畜牧业标准化技术委员会(SAC/TC 274)归口。

本标准起草单位:农业部农产品及转基因产品质量安全监督检验测试中心(杭州)。

本标准主要起草人:张永志、王钢军、叶雪珠、王强、徐丽红、王钊。

蜂产品中砷和汞的形态分析 原子荧光法

1 范围

本标准规定了采用原子荧光法测定蜂蜜、蜂花粉、蜂王浆及其冻干粉中砷和汞形态的分析方法。

本标准适用于蜂蜜、蜂花粉、蜂王浆及其冻干粉中无机砷(亚砷酸根与砷酸根的总和)、一甲基胂酸(MMA)、二甲基胂酸(DMA)、无机汞、甲基汞和乙基汞的测定。

本标准的方法检出限:无机汞、甲基汞和乙基汞分别为 $2.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $0.80 \mu\text{g}/\text{kg}$ 和 $0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$,无机砷、一甲基胂酸、二甲基胂酸各为 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

本标准的方法定量限:无机汞、甲基汞和乙基汞分别为 $6.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $2.40 \mu\text{g}/\text{kg}$ 和 $0.30 \mu\text{g}/\text{kg}$,无机砷、一甲基胂酸、二甲基胂酸各为 $30 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2 规范性引用文件

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

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

样品中不同形态的砷或汞经过提取、净化,用液相色谱柱分离后,不同形态的砷经过氢化物反应应用原子荧光光谱仪检测;不同形态的汞与氧化剂混合经紫外灯照射在线消解后,形成离子态的汞,再与还原剂作用生成原子态汞,用原子荧光光谱仪检测。通过保留时间和峰面积与标准溶液进行比较,外标法定量。

4 试剂与材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

- 4.1 水,GB/T 6682,一级。
- 4.2 氨水。
- 4.3 乙腈:色谱纯。
- 4.4 甲醇:色谱纯。
- 4.5 10%甲酸溶液:吸取 10 mL 甲酸于装有约 70 mL 水的 100 mL 容量瓶中,加水至 100 mL,摇匀。
- 4.6 7%盐酸溶液:吸取 70 mL 盐酸于装有约 700 mL 水的 1000 mL 容量瓶中,加水至 1000 mL,摇匀。
- 4.7 10%盐酸溶液:吸取 10 mL 盐酸于装有约 70 mL 水的 100 mL 容量瓶中,加水至 100 mL,摇匀。
- 4.8 盐酸—硫脲—氯化钾溶液:称取 1.0 g 硫脲、0.15 g 氯化钾于烧杯中,用 10%盐酸溶液(4.7)溶解后,转入 100 mL 容量瓶中并定容、摇匀。
- 4.9 1%硝酸溶液:吸取 1 mL 硝酸(优级纯)于装有约 70 mL 水的烧杯中,转入 100 mL 容量瓶中并定容、摇匀。
- 4.10 0.1%二乙氨基二硫代甲酸钠溶液:称取 0.1 g 二乙氨基二硫代甲酸钠(分析纯)于 100 mL 烧杯中,用少量水溶解后,转入 100 mL 容量瓶中并定容、摇匀。
- 4.11 10%乙腈溶液:吸取 10 mL 乙腈(色谱纯)于装有少量水的烧杯中,转入 100 mL 容量瓶中并定容、摇匀。

- 4.12 10%甲醇溶液:吸取 10 mL 甲醇(色谱纯)于装有少量水的烧杯中,转入 100 mL 容量瓶中并定容、摇匀。
- 4.13 0.5%氢氧化钾溶液:称取 5.0 g 氢氧化钾于烧杯中,加入少量水溶解后,转入 1 000 mL 容量瓶中并定容、摇匀。
- 4.14 还原剂:称取 1.5 g 硼氢化钾溶于 100 mL 0.5%氢氧化钾溶液(4.13)中,混匀,现用现配。
- 4.15 氧化剂:称取 1.0 g 过硫酸钾溶于 100 mL 0.5%氢氧化钾溶液(4.13)中,混匀。
- 4.16 无机汞(Hg^{2+})标准储备液(100 mg/L):吸取 5 mL 浓度为 1 000 mg/L 的有证标准溶液于 50 mL 容量瓶中,加入 0.5 mL 盐酸后,定容、摇匀。
- 4.17 甲基汞、乙基汞的混合标准储备液(100 mg/L):分别准确称取 125.2 mg 和 132.6 mg 的氯化甲基汞和氯化乙基汞标准品于烧杯中,用少量水转入 1 000 mL 容量瓶中,定容摇匀后,4℃以下冷藏避光保存。
- 4.18 3种形态汞混合标准中间液(1.0 mg/L):准确吸取甲基汞、乙基汞的混合标准储备液(4.17)1.0 mL,无机汞(Hg^{2+})标准储备液(4.16)1.0 mL,定容至 100 mL,现配现用。
- 4.19 3种形态汞混合标准工作液:吸取 0、1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL、5.00 mL 3种形态汞混合标准中间液(4.18),分别置于 100 mL 容量瓶中,并定容摇匀,得到 3种形态汞的质量浓度分别为:0、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL、30.0 ng/mL、40.0 ng/mL、50.0 ng/mL,过 0.45 μm 滤膜,备用。
- 4.20 4种形态砷混合标准工作液:根据亚砷酸根(三价砷)、砷酸根(五价砷)、一甲基胂酸、二甲基胂酸有证标准物质的标示浓度值,分别用 1%的硝酸溶液(4.9)配制成浓度约为 0、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL、30.0 ng/mL、40.0 ng/mL、50.0 ng/mL 的混合标准工作溶液,备用。
- 4.21 乙腈—乙酸铵—(L-半胱氨酸)溶液:称取 2.5 g 乙酸铵(色谱纯)和 0.5 g L-半胱氨酸(含量>98.5%)于 100 mL 烧杯中,用少量水溶解后转入 500 mL 容量瓶中,加入 25 mL 乙腈(色谱纯),加水至 500 mL。过 0.45 μm 滤膜,再超声 30 min,去除气泡,备用。
- 4.22 25 mmol/L 磷酸氢二铵溶液:称取 1.65 g 磷酸氢二铵溶于 500 mL 水中,用 10%甲酸(4.5)调节 pH 为 5.8,过 0.45 μm 滤膜,再超声 30 min,去除气泡,备用。
- 4.23 滤膜:水相,0.45 μm (ϕ 50 mm、 ϕ 13 mm)。
- 4.24 注射针筒:10 mL。
- 4.25 微量注射器:250 μL 。
- 4.26 氩气:纯度不低于 99.99%。

5 仪器

- 5.1 原子荧光形态分析仪(配备液相分离系统:高效液相色谱泵、进样装置以及紫外灯消解装置)。
- 5.2 高速振荡混合器:转数不低于 1 000 r/min。
- 5.3 高速离心机:转数不低于 8 000 r/min。
- 5.4 涡旋混合仪。
- 5.5 分析天平:感量 0.000 1 g,0.001 g。
- 5.6 pH 计:精度为 0.01。
- 5.7 超声波清洗器。
- 5.8 烘箱。

6 试样制备

6.1 蜂蜜

取适量无结晶的样品,搅拌均匀。对于结晶的样品,在密闭的情况下,放置于不超过 60℃ 的水浴中溶解,称样前冷却至室温,搅拌均匀,室温保存。

6.2 蜂王浆及冻干粉

将液体、浆状、粉状的样品充分混合均匀;将低温保存的固体样品进行粉碎磨细。试样于-20℃冰箱中保存备用。

6.3 蜂花粉

进行粉碎磨细,室温保存。

7 分析步骤

7.1 汞形态提取

7.1.1 提取

蜂花粉和蜂王浆冻干粉称取 0.2 g~1.0 g(精确到 0.1 mg),蜂王浆和蜂蜜称取 1.0 g~2.0 g(精确到 0.1 mg),样品于 10 mL 离心管中,加入 2 mL 盐酸—硫脲—氯化钾溶液(4.8),在高速振荡混合器上混旋提取 15 min,离心 10 min,上清液倒入 10 mL 离心管中,剩余的残渣再用 2 mL 10% 盐酸+1% 硫脲+0.15% 氯化钾溶液(4.8)提取 1 次,合并 2 次上清液,加入 0.5 mL 氨水中和。定容到 10 mL,取适量定容后的溶液离心 10 min,过 0.45 μm 孔径滤膜,得到提取液,待测。

7.1.2 净化

颜色较深的提取液应经过净化处理后再进行测定,首先分别用 4 mL 纯乙腈和 4 mL 水将 C₁₈ 的 SPE 小柱(填料为 100 mg)活化,然后用 4 mL 0.1% 二乙氨基二硫代甲酸钠溶液(4.10)改性,再用 4 mL 水冲洗,将 3 mL 样品提取液通过 C₁₈ 的 SPE 小柱,然后用 4 mL 水冲洗小柱,再用 5 mL 10% 乙腈溶液(4.11)清洗,最后用 3 mL 乙腈—乙酸铵—(L-半胱氨酸)溶液(4.21)分 3 次洗脱,合并收集洗脱液用于测定。

7.2 砷形态提取

7.2.1 提取

蜂花粉和蜂王浆冻干粉称取 0.2 g~1.0 g(精确到 0.1 mg),蜂王浆和蜂蜜称取 2.0 g~5.0 g(精确到 0.1 mg),置于 10 mL 具塞玻璃比色管中,加入 10 mL 1% 硝酸溶液(4.9),于 90℃ 烘箱中热浸提 2 h,每 0.5 h 振摇 1 min,浸提完毕,取出冷却至室温,补加硝酸溶液(4.9)转入塑料离心管中,离心 15 min,取上层清液,经 0.45 μm 滤膜过滤,得到提取液,待测,颜色较深的提取液应经过净化处理后再进行测定。

7.2.2 净化

先将 C₁₈ 小柱(规格 1.0 mL)进行活化:用注射针筒抽取 10 mL 的甲醇(4.4)通过滤膜和小柱,通过的时候保持其流速(每秒 2 滴),再用 10 mL 的水通过滤膜和小柱,通过的时候保持其流速(每秒 2 滴),最后用 10 mL 左右的甲醇(4.4)通过滤膜和小柱,通过时保持其流速(每秒 2 滴)。

颜色较深的提取液应经过净化处理后再进行测定,吸取 5 mL 提取液通过滤膜和 C₁₈ 小柱(规格 1.0 mL),弃去前 3 mL,收集流出液,用于测定。每净化完一个样品后依次以 10 mL 甲醇(4.4)、15 mL 水冲洗,可用于对下一个样品提取液的净化。

7.3 液相色谱参考条件

7.3.1 测汞形态的液相色谱参考条件

7.3.1.1 色谱柱参数:C₁₈ 色谱柱,150 mm×4.6 mm,5 μm 粒径或相当者。

7.3.1.2 流动相:乙腈—乙酸铵—(L-半胱氨酸)溶液(4.21)。

7.3.1.3 流速:1.0 mL/min。

7.3.1.4 进样量:100 μL。

7.3.2 测砷形态的液相色谱参考条件

- 7.3.2.1 色谱柱参数:阴离子交换柱,250 mm×4.1 mm,10 μm 粒径或相当者。
- 7.3.2.2 流动相:25 mmol/L 磷酸氢二铵溶液(4.22)。
- 7.3.2.3 流速:1.0 mL/min。
- 7.3.2.4 进样量:100 μL。

7.4 仪器参考条件

7.4.1 测汞仪器参考条件

- 灯电流:30 mA;
- 负高压:300 V;
- 紫外灯:开;
- 载气流量:300 mL/min;
- 屏蔽气流量:600 mL/min;
- 载流(4.6);
- 还原剂(4.14);
- 氧化剂(4.15)。

7.4.2 测砷仪器参考条件

- 灯电流:100 mA;
- 负高压:300 V;
- 载气流量:400 mL/min;
- 屏蔽气流量:600 mL/min;
- 载流(4.6);
- 还原剂(4.14)。

7.5 测定

7.5.1 汞形态的测定

取混合标准工作液(4.19)和样品待测液(7.1.1 获得的提取液或者 7.1.2 净化后的洗脱液)各 100 μL 分别注入原子荧光形态分析仪的液相分离系统进行分离,原子荧光光谱仪进行检测,以其标准溶液峰的保留时间定性,峰面积定量。3 种形态汞的标准样品色谱图参见附录 A。

7.5.2 砷形态的测定

分别吸取 5 mL 混合标准工作液(4.20)和样品待测液于(7.2.1 获得的提取液或者 7.2.2 净化后的流出液)10 mL 离心管中,加入 1 滴氨水(4.2),混匀后,经 0.45 μm 滤膜过滤后,用微量注射器分别取 100 μL 注入原子荧光形态分析仪的液相分离系统进行分离,原子荧光光谱仪进行检测,以其标准溶液峰的保留时间定性,峰面积定量。4 种形态砷标准样品色谱图参见附录 B。

8 结果计算

试样中不同形态汞或砷含量以质量分数 ω_i 计,单位以微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$)表示,按式(1)计算。

$$\omega_i = \frac{(c_i - c_{0i}) \times V \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- c_i —— 样液中不同形态的汞或者砷的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- c_{0i} —— 试剂空白液中不同形态的汞或者砷的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- V —— 试样提取上清液的总体积,单位为毫升(mL);
- m —— 试样质量,单位为克(g)。

注： $\omega_{\text{无机砷}} = \omega_{\text{亚砷酸根}} + \omega_{\text{砷酸根}}$ 。

计算结果保留两位有效数字。

9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过算术平均值的 20%。

附录 A
(资料性附录)
3 种形态汞的混合标准溶液色谱图

3 种形态汞的混合标准溶液色谱图见图 A. 1。

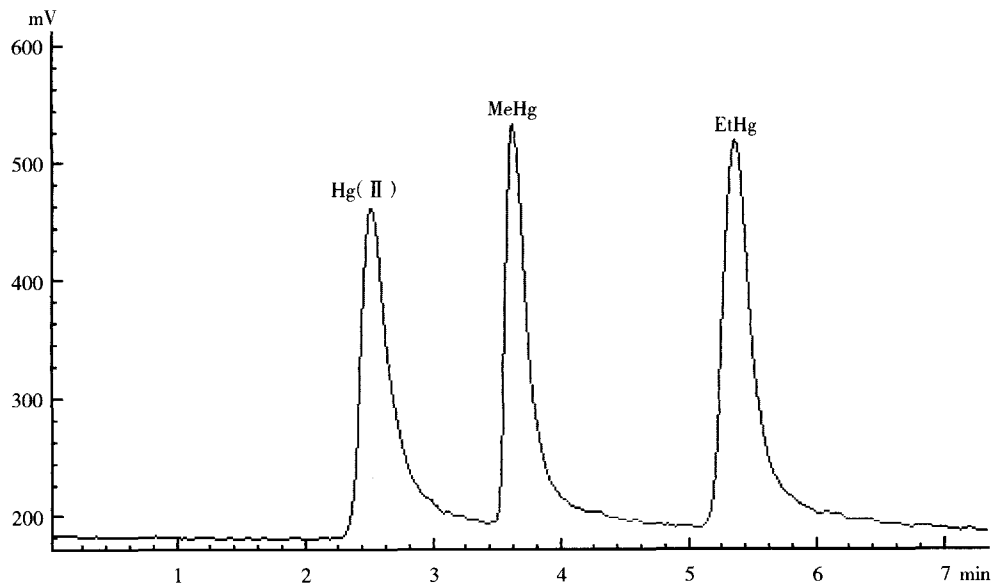


图 A. 1 无机汞[Hg(II)]、甲基汞(MeHg)、乙基汞(EtHg)的混合标准溶液色谱图

附录 B
(资料性附录)
4 种形态砷的混合标准溶液色谱图

4 种形态砷的混合标准溶液色谱图见图 B.1。

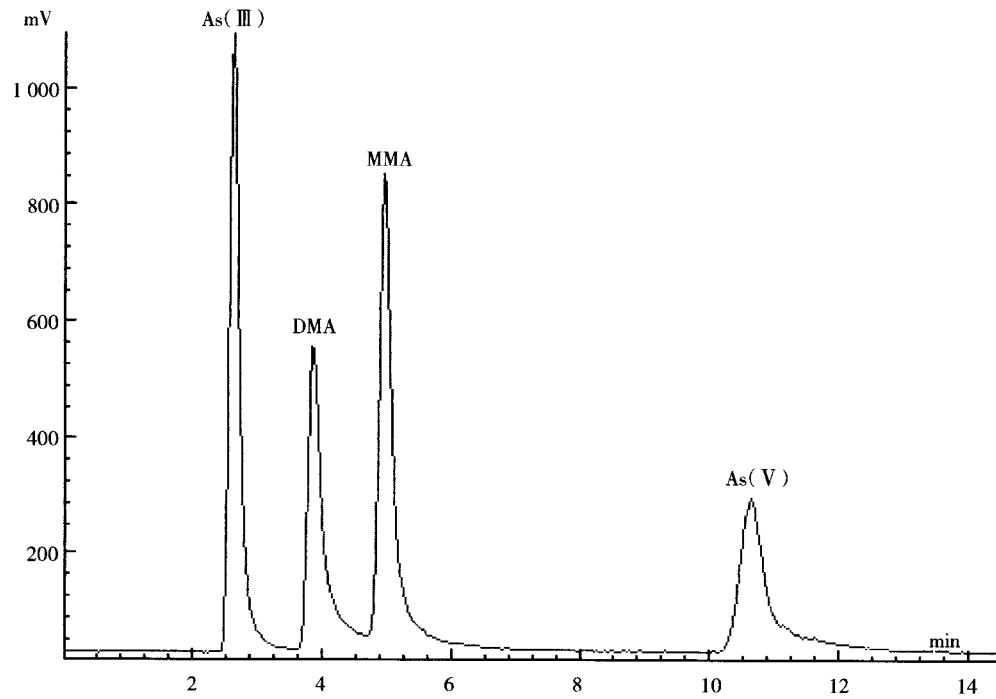


图 B.1 三价砷[As(III)]、二甲基胂酸(DMA)、一甲基胂酸(MMA)、五价砷[As(V)]的混合标准溶液色谱图