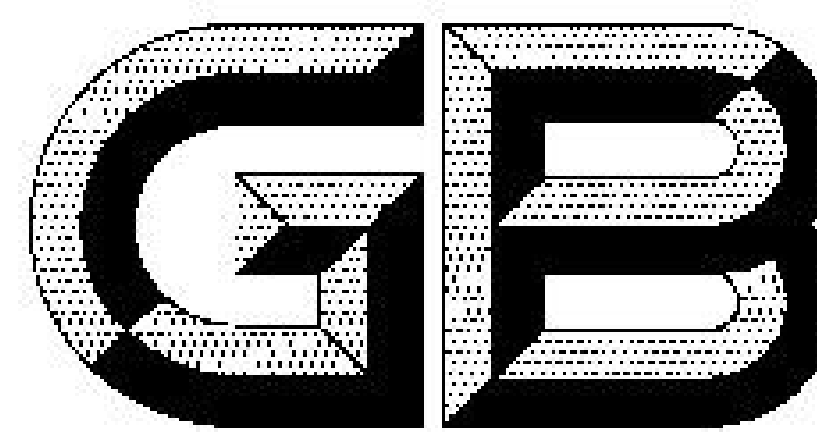




中华人民共和国国家标准

GB/T 43968—2024

高效液相色谱-原子荧光光谱仪联用分析 方法通则

General rules for high performance liquid chromatography-atomic fluorescence
spectrometry analysis method



2024-04-25 发布

2024-11-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

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 分析方法原理 1

5 试剂和材料 2

 5.1 氩气 2

 5.2 水 2

 5.3 试剂 2

 5.4 标准物质/标准样品 2

6 仪器 2

 6.1 仪器主要组成部分 2

 6.2 仪器性能要求 2

7 样品处理 2

8 分析步骤及方法 2

 8.1 分析条件的选择 2

 8.2 基线稳定性的确认 3

 8.3 干扰的消除 3

 8.4 进样 3

 8.5 定性分析 3

 8.6 定量分析 3

 8.7 质量控制 5

9 分析结果的表述 5

 9.1 定量分析的结果计算 5

 9.2 分析方法与测定结果的评价 5

10 安全注意事项 6

附录 A（资料性） 常用分离模式 7



前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国科学技术部提出。

本文件由全国仪器分析测试标准化技术委员会(SAC/TC 481)归口。

本文件起草单位：清华大学、北京海光仪器有限公司、北京吉天仪器有限公司、北京北分瑞利分析仪器(集团)有限责任公司、北京宝德仪器有限公司、北京清质分析技术有限公司、北京电子科技职业学院、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、广东省科学院测试分析研究所(中国广州分析测试中心)、上海烟草集团北京卷烟厂有限公司。

本文件主要起草人：范博文、刘海涛、黄秀、邢志、梁敬、未敏、冯婷、陈璐、王晓芳、李铭、李曙光、毛雪飞、郭鹏然、宋玉梅、李雪、杨振东、刘德水、方军、周漪波。



高效液相色谱-原子荧光光谱仪联用分析 方法通则

1 范围

本文件确立了高效液相色谱-原子荧光光谱仪联用法进行元素含量及其形态分析的通用规则。
本文件适用于对易形成氢化物、气态组分或冷蒸气的元素含量及其形态的定性、定量分析。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 4842 氩
GB/T 6379.1 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第1部分：总则与定义
GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
GB/T 13966 分析仪器术语
GB/T 16631 高效液相色谱法通则
GB/T 27411 检测实验室中常用不确定度评定方法与表示
GB/T 27417 合格评定 化学分析方法确认和验证指南
JJG 1151 液相色谱-原子荧光联用仪
JY/T 0566 原子荧光光谱分析方法通则

3 术语和定义



GB/T 6379.1、GB/T 13966、GB/T 16631、GB/T 27411、GB/T 27417 和 JY/T 0566 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

化学形态 chemical species
一种化学元素的特定形式，定义为同位素组成、电子或氧化状态和（或）络合物或分子结构。

3.2

形态分析 speciation analysis
识别和（或）定量测量样品中特定元素的一种或多种化学形态的分析工作。

4 分析方法原理

试样中含特定元素的各待测组分随流动相进入色谱柱后被分离，特定元素再以一定方式生成气态物质并在原子化器中还原成基态原子；根据各组分中特定元素的基态原子受光源特定波长辐射激发后，发出的荧光时间分辨信号（即色谱图）进行待测组分形态的定性和定量分析。根据试样与标准物质/标准样品各待测组分色谱峰的保留时间对比进行定性分析，根据试样与标准物质/标准样品各待测

组分的色谱峰高或峰面积对比进行定量分析。

5 试剂和材料

5.1 氩气

符合 GB/T 4842 中纯氩的规格。

5.2 水

符合 GB/T 6682 中实验室用水的一级水规格。

5.3 试剂

试剂应是分析纯或分析纯以上的试剂。试剂不应干扰分析。

流动相的溶剂应是高效液相色谱级或相同等级及以上的产品,溶剂不应干扰分析。流动相配制宜经过脱气及过滤处理,以防止影响后续的组分分离。

5.4 标准物质/标准样品

应使用有证标准物质/有证标准样品。

6 仪器

6.1 仪器主要组成部分

高效液相色谱-原子荧光光谱联用仪主要由输液系统、进样系统、分离系统、在线消解装置、原子荧光检测系统和数据处理系统组成。

6.2 仪器性能要求

仪器在投入使用前,应对检测分析结果的准确性或有效性有影响的设备和用于测量环境条件等辅助测量设备进行检定或校准。高效液相色谱-原子荧光光谱联用仪的性能应符合 JJG 1151 要求。

7 样品处理

样品在分析之前,应针对分析目的使用合适的方法进行处理。处理过程避免待测组分的形态转化、损失或污染等对测定结果的影响,应同时制备相应的空白溶液以及校准溶液。若针对该分析目的、样品性质和测试项目有标准方法,则按标准方法进行处理。样品应溶解在少量洗脱能力等于或小于初始流动相的溶剂中。

8 分析步骤及方法

8.1 分析条件的选择

8.1.1 仪器开机

按照仪器操作说明书对仪器进行开机预热。

8.1.2 高效液相色谱条件的选择

应根据试样和所要分离组分的性质,选择合适的分离模式、色谱柱类型、流动相、进样体积、柱温及洗脱程序。常见分离模式见附录 A。

8.1.3 原子荧光光谱仪分析条件的选择

根据分析需要选择合适的空心阴极灯及灯电流、原子化器高度、光电倍增管负高压、载气和屏蔽气的气体流量等参数,使仪器的分析性能满足测试需求。

8.2 基线稳定性的确认

仪器开机稳定后,检查仪器的基线噪声和基线漂移,确认基线的波动对测定没有影响。基线噪声和基线漂移按 JJG 1151 的要求。

8.3 干扰的消除

8.3.1 化学干扰

可采取化学分离等手段对干扰进行消除。

8.3.2 荧光淬灭干扰

提高原子化效率,减少原子蒸气中的干扰粒子。

8.4 进样

若采用手动进样的方式,则使用液相色谱注射器将一定体积的样品注入进样阀,扳动阀钮进样。若采用自动进样器进样,则设定合适的自动进样器条件。

8.5 定性分析

在相同的分析条件下,分别测定标准物质/标准样品和试样中各待测组分色谱峰的保留时间;若样品中的全部组分已经确定且达到基线分离,则组分的保留时间可作为定性的依据。

8.6 定量分析

8.6.1 概述

根据各组分色谱峰的峰高或峰面积,按以下方法计算试样溶液中待测组分的质量浓度。无论采用下述哪一种方法,峰高或峰面积和质量浓度的关系曲线(校准曲线)绘制后,尽快测定试样溶液。若质量浓度是由仪器软件自动计算,确保软件的计算原理与以下方法一致。

8.6.2 标准曲线法

配制不少于 6 个不同质量浓度的标准溶液(包括溶剂空白,多个标准溶液之间的质量浓度应分布合理,标准溶液应现用现配),按照质量浓度从低到高依次测定标准溶液中各分离组分的峰高或峰面积,以标准溶液中待测组分的质量浓度为横坐标,相应的待测组分色谱峰峰高或峰面积为纵坐标,绘制校准曲线、计算回归方程,其相关系数不小于 0.99。在相同条件下分离试样溶液中各待测组分,测定各组分峰高或峰面积,按公式(1)计算试样溶液中待测组分的质量浓度(见图 1)。当试样中待测组分质量浓度高于校准曲线范围时,应将样品稀释至校准曲线范围内重新测定。

$$\rho_{\text{检}} = \frac{S_{\text{检}} - b}{a}$$

.....(1)

式中：

$\rho_{\text{检}}$ ——试样溶液中待测组分的质量浓度；

$S_{\text{检}}$ ——试样溶液中待测组分色谱峰的峰高或峰面积；

b ——校准曲线与纵坐标轴截距；

a ——校准曲线斜率。

此方法只适合于无基体干扰情况时的测定。

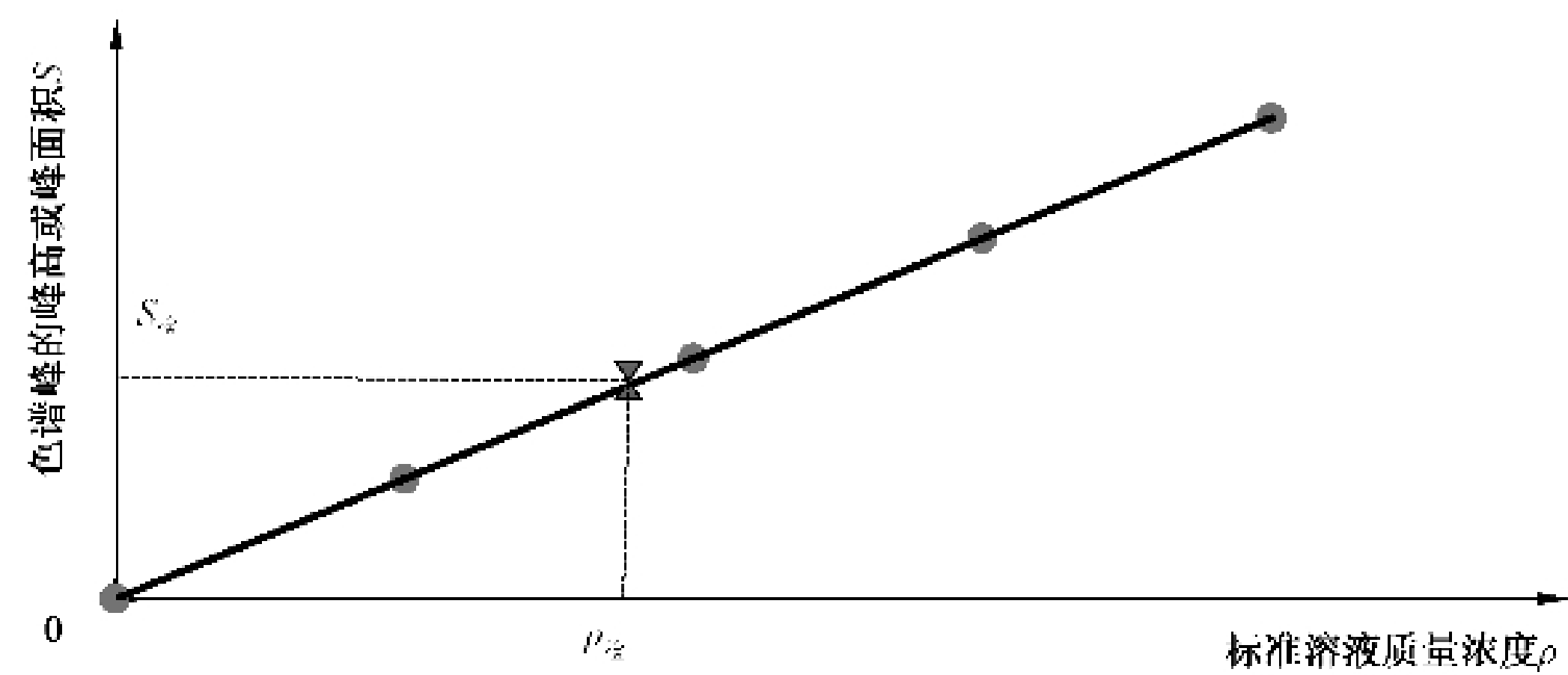


图 1 标准曲线法校准曲线

8.6.3 标准加入法

分别取等体积的试样溶液 n 份，一份不加标准溶液，其余 $n-1$ 份溶液分别按比例加入不同体积标准溶液，再稀释至相同体积，溶液质量浓度通常分别为 $\rho_{\text{检}}, \rho_{\text{检}} + \rho_0, \rho_{\text{检}} + 2\rho_0, \dots, \rho_{\text{检}} + (n-1)\rho_0$ (ρ_0 为标准溶液质量浓度；溶液应现用现配)。在规定仪器条件下，依次测定这 n 份溶液各组分色谱峰的峰高或峰面积，以加入标准溶液的质量浓度为横坐标，相应的待测组分色谱峰的峰高或峰面积为纵坐标绘制校准曲线，其相关系数不小于 0.99。曲线反向延伸与质量浓度轴反向延伸的交点的绝对值即为溶液中待测组分的质量浓度 $\rho_{\text{检}}$ ，见图 2。根据 $\rho_{\text{检}}$ 计算试样溶液中待测组分质量浓度。

使用标准加入法时：

至少采用 5 点(包括试样溶液本身)来绘制外推关系曲线，同时首次加入的标准溶液质量浓度与试样溶液质量浓度大致相同，即 $\rho_{\text{检}} \approx \rho_0$ 。

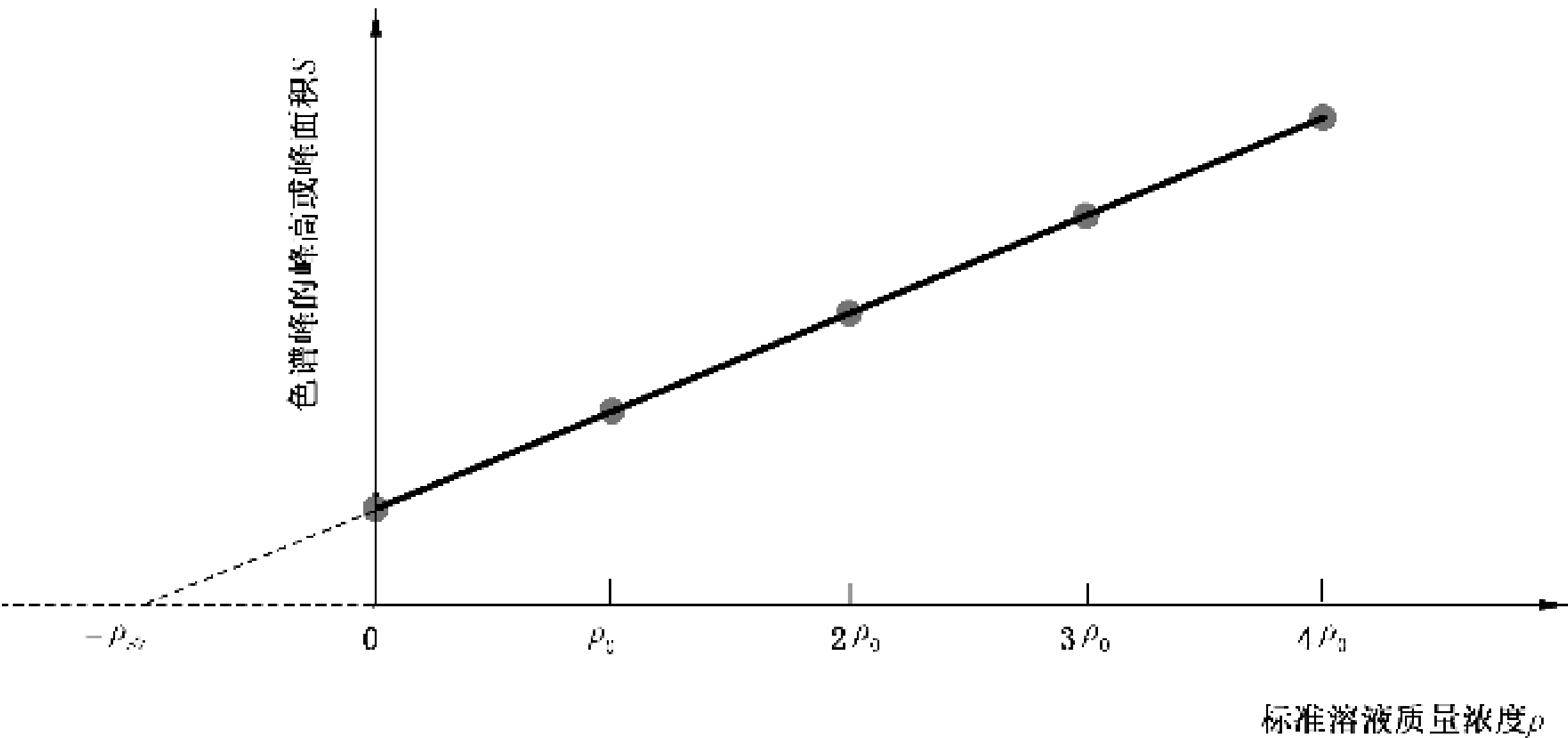


图 2 标准加入法校准曲线

8.7 质量控制

为确保分析结果的准确,样品分析过程中应添加质控样品。质控样品采用与分析样品具有相同或相似基质的标准物质/标准样品。在无质控样品时,使用其他质控方法进行质量控制。

9 分析结果的表述

9.1 定量分析的结果计算

待测样品取样量按质量计算时,样品中被测组分含量以质量分数(mg/kg)表示,计算方法见公式(2)。

$$X = \frac{(\rho_{\text{检}} - \rho_{\text{空白}}) \times V \times f}{m \times 1\,000}$$

.....(2)

- 式中:
- X ——样品中被测组分的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
 - $\rho_{\text{检}}$ ——试样溶液中被测组分的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);
 - $\rho_{\text{空白}}$ ——试样空白溶液中被测组分的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);
 - V ——试样溶液的体积,单位为毫升(mL);
 - f ——稀释倍数;
 - m ——待测样品取样量,单位为克(g)。

待测样品取样量按体积计算时,样品中被测组分含量以质量浓度(mg/L)表示,计算方法见公式(3)。

$$X = \frac{(\rho_{\text{检}} - \rho_{\text{空白}}) \times V_1 \times f}{V_2 \times 1\,000}$$

.....(3)

- 式中:
- X ——样品中被测组分的含量,单位为毫克每升(mg/L);
 - $\rho_{\text{检}}$ ——试样溶液中被测组分的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);
 - $\rho_{\text{空白}}$ ——试样空白溶液中被测组分的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);
 - V_1 ——试样溶液的体积,单位为毫升(mL);
 - f ——稀释倍数;
 - V_2 ——待测样品取样量,单位为毫升(mL)。

9.2 分析方法与测定结果的评价

9.2.1 概述

分析方法用检出限和定量限、准确度(正确度和精密度)来评定;分析结果用测量不确定度评定。

9.2.2 检出限和定量限

检出限与定量限按照 GB/T 27417 中的方法与原则评估。

9.2.3 准确度(精密度和正确度)

9.2.3.1 精密度

精密度反映偶然误差的分布,通常用标准偏差 s 或相对标准偏差 RSD 来表示,计算方法见公式(4)和公式(5)。精密度与质量浓度有关,报告精密度时应指明获得该精密度的被测组分的质量浓度,同时标明测量次数 $n(n \geq 7)$ 。

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

.....(4)

$$RSD = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\%$$

.....(5)

式中：

s —— n 次测量值的实验标准偏差,单位为毫克每升(mg/L)；

n ——测量次数；

x_i ——第 i 次测量值,单位为毫克每升(mg/L)；

$\bar{x}$ —— n 次测量值平均值,单位为毫克每升(mg/L)；

RSD—— n 次测量值的相对实验标准偏差。

9.2.3.2 正确度

正确度反映测量值与真值的系统误差,在实际工作中,可使用与分析样品具有相同或相似基体的标准物质/标准样品进行对照试验;或加入被测定组分的纯物质进行回收试验以评估正确度。当用标准物质/标准样品对照试验评估正确度时,以绝对误差或相对误差表征正确度;当用回收试验评估正确度时,以回收率 R 表征正确度,回收率 R 计算方法见公式(6)。

$$R = \frac{\rho_i - \rho_0}{\rho_a} \times 100\%$$

.....(6)

式中：

R ——回收率；

ρ_i ——加入 ρ_a 后的测定值,单位为毫克每升(mg/L)；

ρ_0 ——初始测定值,单位为毫克每升(mg/L)；

ρ_a ——标准加入量,单位为毫克每升(mg/L)。

9.2.4 测量不确定度

如果需要分析检测结果的测量不确定度,按照 GB/T 27411 中的评定方法和原则进行评定。

10 安全注意事项

- 10.1 实验室人员应认真遵守实验室操作规范,遵守仪器使用规范,遵守化学品使用规范,熟练掌握试验与仪器操作过程。
- 10.2 应按高压钢瓶安全操作规定使用高压气体钢瓶。
- 10.3 仪器室排风良好,应在通风柜内使用有毒、易燃易爆的试剂。
- 10.4 废弃的流动相液体应集中收集,做好标记、贴上标签,按规定交由有资质的处置单位进行统一处理。
- 10.5 仪器应单独接地,并符合安装要求。
- 10.6 实验室环境温湿度应满足仪器使用要求。
- 10.7 注意用电安全。

附 录 A
(资料性)
常用分离模式

A.1 食品中无机砷测定仪器参考条件

A.1.1 液相色谱参考条件

色谱柱:阴离子交换色谱柱(柱长 250 mm,内径 4 mm),或等效柱。阴离子交换色谱保护柱(柱长 10 mm,内径 4 mm),或等效柱。

流动相组成如下。

- a) 等度洗脱。流动相:15 mmol/L 磷酸二氢铵溶液(pH=6.0);流动相洗脱方式:等度洗脱;流动相流速:1.0 mL/min;进样体积:100 μL。适用于稻米及稻米加工食品。
- b) 梯度洗脱。流动相 A:1 mmol/L 磷酸二氢铵溶液(pH=9.0);流动相 B:20 mmol/L 磷酸二氢铵溶液(pH=8.0)。梯度洗脱条件见表 A.1。流动相流速:1.0 mL/min;进样体积:100 μL。适用于水产动物样品、含水产动物组成的样品、含藻类等海产植物的样品。

A.1.2 原子荧光检测参考条件

负高压:320 V;砷灯总电流:90 mA;主电流/辅助电流:55/35;原子化方式:火焰原子化器;原子化器温度:中温。

载液:20%盐酸溶液,流速 4 mL/min;还原剂:30 g/L 硼氢化钾溶液,流速 4 mL/min;载气流速 400 mL/min;辅助气流速:400 mL/min。

表 A.1 食品中无机砷测定液相色谱梯度洗脱条件

组成	时间/min					
	0	8	10	20	22	32
流动相 A/%	100	100	0	0	100	100
流动相 B/%	0	0	100	100	0	0

A.2 食品中有机汞测定仪器参考条件

A.2.1 液相色谱参考条件

色谱柱:C₁₈ 分析柱(柱长 150 mm,内径 4.6 mm,粒径 5 μm),C18 预柱(柱长 10 mm,内径 4.6 mm,粒径 5 μm)。

流动相:5%甲醇+0.06 mol/L 乙酸铵+0.1% L-半胱氨酸;流动相洗脱方式:等度洗脱;流速:1.0 mL/min;进样体积:100 μL。

A.2.2 原子荧光检测参考条件

负高压:300 V;汞灯电流:30 mA;原子化方式:冷原子;

载液:10%盐酸溶液,流速:4 mL/min;还原剂:2 g/L 硼氢化钾溶液,流速 4 mL/min;载气流速 500 mL/min;辅助气流速:600 mL/min。

A.3 富硒农产品中硒代氨基酸含量测试方法仪器参考条件

A.3.1 液相色谱参考条件

色谱柱：阴离子交换色谱柱（柱长 250 mm，内径 4.1 mm，粒径 10 μm ），或等效柱；阴离子交换色谱保护柱（柱长 25 mm，内径 2.3 mm，粒径 12 μm ~20 μm ），或等效柱。

流动相：0.04 mol/L 磷酸氢二铵；流动相洗脱方式：等度洗脱；流速：1.0 mL/min；进样体积：100 μL 。

A.3.2 原子荧光检测参考条件

负高压：300 V；灯电流/辅阴极：100 mA/45 mA；原子化温度：800 $^{\circ}\text{C}$ ；炉高：8 mm；载气流速：300 mL/min；屏蔽气流速：700 mL/min。

载液：10% 盐酸溶液，流速：4 mL/min；还原剂：12 g/L 硼氢化钠，流速：4 mL/min；氧化剂：10 g/L 碘化钾，流速：4 mL/min。

