



中华人民共和国国家标准

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

1998-06-22 发布

1999-01-01 实施

国家质量技术监督局 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—1998

*
中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街 16 号
邮政编码:100045
电 话:68522112
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售
版权专有 不得翻印

*
开本 880×1230 1/16 印张 4½ 字数 143 千字
1999 年 1 月第一版 1999 年 11 月第二次印刷
印数 601—1 200

*
书号:155066·1-15445 定价 35.00 元

*
标 目 361—39

前 言

本标准是《海洋监测规范》的第6部分,是在HY 003.6—91行业标准的基础上修订而成的。本标准规定了生物体分析的要求和分析方法。

《海洋监测规范》包括下列部分:

- GB 17378.1—1998 海洋监测规范 第1部分:总则
- GB 17378.2—1998 海洋监测规范 第2部分:数据处理与分析质量控制
- GB 17378.3—1998 海洋监测规范 第3部分:样品采集、贮存与运输
- GB 17378.4—1998 海洋监测规范 第4部分:海水分析
- GB 17378.5—1998 海洋监测规范 第5部分:沉积物分析
- GB 17378.6—1998 海洋监测规范 第6部分:生物体分析
- GB 17378.7—1998 海洋监测规范 第7部分:近海污染生态调查和生物监测

本标准的附录A是标准的附录。

本标准由国家海洋局提出。

本标准由国家海洋标准计量中心归口。

本标准由国家海洋局第三海洋研究所负责起草。

本标准主要起草人:许昆灿、张春明、陈维岳、洪君超、陈邦龙。

目 次

前言	I
1 范围	1
2 引用标准	1
3 定义	1
4 一般规定	1
5 测定项目、方法及检出限	6
6 总汞	6
7 铜	11
8 铅	18
9 镉	26
10 锌	33
11 铬	39
12 砷	43
13 硒	50
14 石油烃	56
15 666、DDT	57
16 多氯联苯	62
17 狄氏剂	65
附录 A(标准的附录) 记录表	66

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—1998

The specification for marine monitoring

Part 6: Organism analysis

1 范围

本标准规定了海洋生物(贻贝、虾及鱼)中13项有害物质含量的测定方法,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。

本标准适用于大洋、近海和沿海水域的海洋生物污染调查与监测。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB 17378.2—1998 海洋监测规范 第2部分:数据处理与分析质量控制

GB 17378.4—1998 海洋监测规范 第4部分:海水分析

GB 17378.5—1998 海洋监测规范 第5部分:沉积物分析

3 定义

本标准采用下列定义。

3.1 蒸至近干 evaporation to dryness

将溶剂蒸发至小体积(0.2 mL~0.3 mL),若有残渣时,残渣应湿润状。

4 一般规定

4.1 样品的采集与制备

4.1.1 采样对象

贻贝、虾和鱼类。

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。或用未受沾污的表层海水。

4.1.2.2 合成洗涤剂。

4.1.3 仪器和设备

- 塑料冷冻箱:配有冰袋。用于贻贝贮存和运输时,底部必须具有栅板,以免样品浸入水中;
- 冰箱;
- 低温冰箱;
- 聚乙烯袋;

国家质量技术监督局 1998-06-22 批准

1999-01-01 实施

- 塑料板和尺子:用于长度测量;
- 塑料刀;
- 玻璃或陶瓷碟(供制备样品用);
- 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,须用合成洗涤剂清洗,并用蒸馏水洗净;
- 高密度聚乙烯膜:供罩工作台用;
- 小张聚乙烯膜:供称重用;
- 分析天平:感量 0.1 mg;
- 塑料洗瓶;
- 刮刀:供采集贻贝用;
- 塑料桶:20~50 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;
- 塑料刷:毛刷坚硬,用以去除贻贝外壳的附着物;
- 称量瓶: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(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,再用蒸馏水或表层海水(4.1.2.1)漂洗干净。

4.1.4.2 贻贝采集

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

按一定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,要防止刺破袋子。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。只有在贮存期不太长时(热天不超过 48 h),方可使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,以便在样品处理(4.1.5.5)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。

4.1.5 样品预处理

4.1.5.1 准备工作

若必要时将冷冻样在冰箱(-2~4℃)中放置过夜,使部分解冻以便切片。

用合成洗涤剂(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(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(4.1.2.2)仔细地洗手,后用蒸馏水或

清洁的海水(4.1.2.1)漂洗干净。

4.1.5.2 贻贝样的制备

用塑料刀或塑料刷除去贝壳外部所有的附着物。

用蒸馏水或清洁的海水(4.1.2.1)漂洗每一个贻贝,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,切开闭合肌,打开贻贝(见图1)。

用蒸馏水或清洁的表层海水(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。

1) 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(见图1)。

2) 多个体样品:按上述步骤将至少10个贻贝的软组织放于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,将匀浆放回原塑料容器,再称重,并记录总重量,计算匀浆重。贴上样品标签。

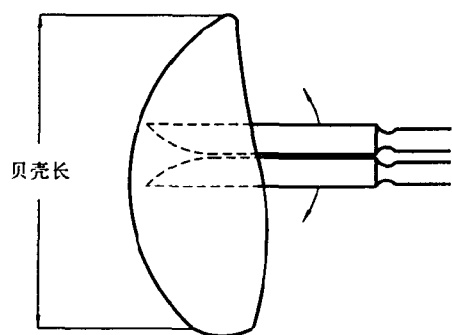


图1 切断闭合肌

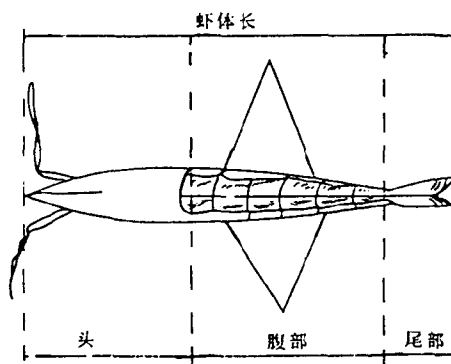
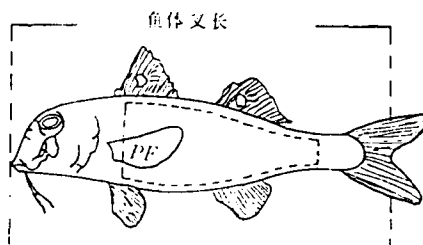


图2 虾体图



PF—胸鳍;DF—脊鳍,虚线表示刀切位置

图3 鱼体简图

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(见图2),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(图2)。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,并附一张样品清单,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。记下叉长和体重。

用蒸馏水或清洁表层海水(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(图3)。

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。最好在切片时,由另一人帮助按住鱼的头尾。

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,记录各所有数据,于低温冰箱中保存。

鉴定性腺性别。

4.1.5.4.2 多个体试样:制备方法如下。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(4.1.4.4)放在 $-2\sim 4^{\circ}\text{C}$ 冰箱中过夜,使部分解冻以便于切片。

用蒸馏水或清洁海水(4.1.2.1)洗涤鱼样,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,留下不受污染的均匀的肌肉组织。将肌肉组织放入塑料容器中,盖紧,贴上标签,称重,将全部数据记入记录表,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,全部筛过80~100目(尼龙筛),供痕量元素分析用。

4.1.6 干重测定

4.1.6.1 烘干

半开称量瓶的磨口盖,放入 105°C 烘箱中。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5~10 g生物制备样(4.1.5)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,则须用冷冻干燥。

准确称取1~2 g生物制备样(4.1.5)于干净的冷冻干燥的样品容器中,冷冻干燥24 h,再称重一次。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(F)。

4.1.7 注意事项

4.1.7.1 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,仅须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。浸在海水中的贻贝,会吸水并排泄废物。贻贝在空气中,贝壳闭合,代谢速度大大降低,故运输时,不应将贻贝放在水中。

4.1.7.2 手洗净之后,不应接触解剖组织,最好戴上手套;若条件许可,准备工作和样品制备均应在洁净条件下进行。

4.1.7.3 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,应分别测量各个体体长和重量。

4.1.7.4 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。

4.1.7.5 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。

4.1.7.6 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或石油烃的试剂。

4.1.7.7 生物体中总汞及有害有机物的测定,不宜用干燥后的样品。该时,用湿样测定,结果仍以干样中被测物的含量来表示。

4.2 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,所有的移液管均应事先进行容量校正。量瓶均用一级品。

4.2.3 所有容器的净化除另有注明外,均先用 (1+3) 硝酸浸泡 2~3 d 后,再用去离子水仔细淋洗干净,晾干后备用。

4.2.4 数据处理按 GB 17378.2—1998 要求执行。

4.2.5 文内 pH 值除注明测量方法外,均可用精密或广泛 pH 试纸测量。

表 1 从分析样中抽取检查样的比例

分析样个数	<10	10~30	>30
检查样抽取百分数	50	40	30

4.2.6 为检查分析结果的质量,由业务主管部门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有关人员进行测定。

4.2.6.1 抽查样的测项与基本样相同。

4.2.6.2 当分析样数量较多时,基本样与检查样可不必安排在同批内进行测试。

4.2.6.3 测试所得的结果由业务主管部门汇总,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要全部重新称样进行测定。若仍出现上述超差情况,主管部门应与分析人员认真检查分析原因(如标准溶液的配制,环境质量,所有仪器设备有无不正常情况等)后,再进行这批分析样(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,超差的样品需重新称样进行测定,直至新测定结果合格为止。按平行双样的均值报出结果。

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: $\frac{ A-B }{A+B} \times 100\%$

每批分析的样品(20 个左右)由业务主管部门插入 2~3 个标准生物样品(另行编号),以检验有无系统误差。

4.3 说明

4.3.1 各种酸碱的密度(ρ)是指 20°C 时的 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 测定项目、方法及检出限

测定项目方法及检出限见表3。

表3 测定项目方法检出限

项目	分析方法	检出限 $W(10^{-6})$	项目	分析方法	检出限 $W(10^{-6})$
总汞	冷原子吸收光度法	0.01	铬	二苯碳酰二肼分光光度法	0.40
	双硫脲分光光度法	0.01		无火焰原子吸收分光光度法	0.04
铜	无火焰原子吸收分光光度法	0.4	砷	砷钼酸-结晶紫分光光度法	2
	阳极溶出伏安法	1		氢化物原子吸收分光光度法	0.4
	火焰原子吸收分光光度法	2		催化极谱法	2
	二乙基二硫代胺基甲酸铵分光光度法	0.8	镉	无火焰原子吸收分光光度法	0.005
铅	无火焰原子吸收分光光度法	0.04		阳极溶出伏安法	0.4
	阳极溶出伏安法	0.3		火焰原子吸收分光光度法	0.08
	火焰原子吸收分光光度法	0.6		双硫脲分光光度法	0.3
	双硫脲分光光度法	0.5	硒	荧光分光光度法	0.2
锌	火焰原子吸收分光光度法	0.4		二氨基联苯胺四盐酸盐分光光度法	0.5
	阳极溶出伏安法	2		催化极谱法	0.03
	双硫脲分光光度法	0.1		气相色谱法	43 pg
石油烃	荧光分光光度法	1(湿重)	多氧联苯	气相色谱法	43 pg
有机氯 农药 (666、 DDT)	气相色谱法	α -666 5 pg	狄氏剂	气相色谱法	3 pg
		γ -666 7 pg			
		β -666 3 pg			
		σ -666 9 pg			
		pp' -DDE 5 pg			
		op' -DDT 17 pg			
		pp' -DDD 8 pg			
		pp' -DDT 40 pg			

6 总汞

6.1 冷原子吸收光度法

6.1.1 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。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。

检出下限(W): 0.01×10^{-6}

6.1.2 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。

6.1.3 试剂及其配制

除非另作说明,所用试剂均为分析纯,水为去离子水或等效纯水。

6.1.3.1 五氧化二钒(V_2O_5)6.1.3.2 无水氯化钙($CaCl_2$),用于装填干燥管。6.1.3.3 硝酸(HNO_3): $\rho=1.42$ g/mL。6.1.3.4 硫酸(H_2SO_4): $\rho=1.84$ g/mL,工艺超纯。

6.1.3.5 硫酸溶液:0.5 mol/L

在不断搅拌下,将 28 mL 硫酸(6.1.3.4)徐徐加入 972 mL 水中。

6.1.3.6 盐酸溶液:1+1

将盐酸(HCl , $\rho=1.19\text{ g/mL}$)与等体积水混合。

6.1.3.7 硝酸溶液:1+19

用 1 份硝酸(6.1.3.3)与 19 份水混合。

6.1.3.8 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(6.1.3.6),加热至溶解,冷却后装于棕色瓶内,使用时用等体积水稀释。若汞杂质含量高,可用鼓泡法去除,直至溶液中汞含量不能检出。

6.1.3.9 低汞海水:表层海水经滤纸过滤,向每升海水徐徐加入 28 mL 硫酸(6.1.3.4)酸化,海水汞含量应低于 $0.005\text{ }\mu\text{g/L}$ 。

6.1.3.10 汞标准贮备溶液:1.00 mg/mL

称取 0.135 4 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(6.1.3.7)溶解。全量转入 100 mL 量瓶中,用硝酸溶液(6.1.3.7)稀释至标线,混匀。保存期一年。

6.1.3.11 汞标准中间溶液:10.0 $\mu\text{g/mL}$

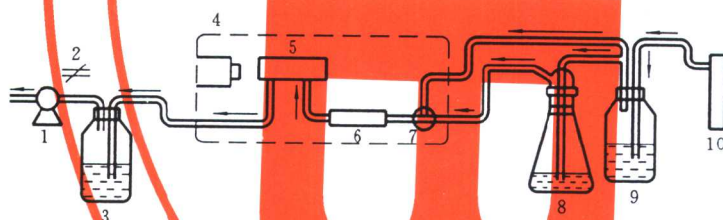
量取 1.00 mL 汞标准贮备溶液(6.1.3.10)于 100 mL 量瓶中,用硝酸溶液(6.1.3.7)稀释至标线,混匀。保存期一星期。

6.1.3.12 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(6.1.3.11)于 100 mL 量瓶中,用硫酸溶液(6.1.3.5)稀释至标线,混匀。当天配制。

6.1.4 仪器及设备

——测汞装置(图 4);



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 4 冷原子吸收测汞装置

——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:铺上约 3 cm 厚细砂;

——实验室常备仪器及设备。

6.1.5 分析步骤

6.1.5.1 绘制标准曲线

6.1.5.1.1 取 6 个 250 mL 汞蒸气发生瓶,加 100 mL 低汞海水(6.1.3.9),然后分别加入 0, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.50 mL 汞标准使用溶液(6.1.3.12),混匀。

6.1.5.1.2 将测汞仪上的三通开关转至调零档,以 $1\sim 1.5\text{ L/min}$ 流速的空气流通过光吸收池。

6.1.5.1.3 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(6.1.3.8),迅速塞紧汞蒸气发生瓶的塞子,振摇 1 min。

6.1.5.1.4 调节测汞仪零点,将三通开关转到测定档,测其吸光值 A_i 及标准空白吸光值 A_0 。

6.1.5.1.5 将数据填入表 GB 17378.4—1998 附录表 A5 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。

6.1.5.2 样品消化

准确称取 2.5 g (±0.001 g) 湿样, 放入 100 mL 高型烧杯中, 加入 40 mg 五氧化二钒 (6.1.3.1), 8 mL 硝酸 (6.1.3.3), 盖上表面皿, 置于 140~160℃ 电热板上加热 10 min。取下, 稍冷后加入 15 mL 硫酸 (6.1.3.4), 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, 加水稀至标线, 混匀, 得样品消化液。同时制备分析空白试液。

6.1.5.3 样品测定

量取适量样品制备液于汞蒸气发生瓶中, 加水至 100 mL。其余按 6.1.5.1.2~6.1.5.1.4 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)。

6.1.6 记录与计算

将样品测定数据填入表 A1 中, 按式 (1) 计算样品干样中汞的含量:

$$W_{\text{Hg}} = \frac{mV_1}{V_2MF} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中: W_{Hg} ——生物干样中总汞的含量质量比, 10^{-6} ;

m ——从标准曲线上查得的汞的量, μg ;

V_1 ——样品消化液的体积, mL;

V_2 ——测定分样体积, mL;

M ——样品的称取量, g;

F ——样品的干/湿比。

6.1.7 精密度和准确度

平行测定 6 个样品, 其汞含量 (质量比) 为 0.25×10^{-6} , 相对标准偏差为 4%, 4 个实验室测定同一牡蛎互校样, 其结果相对标准偏差为 9.1%。

6.1.8 注意事项

6.1.8.1 器皿均用 (1+3) 硝酸溶液浸泡 3 d 以上, 洗净, 并检查是否合格。

6.1.8.2 用过的汞蒸气发生瓶, 须用酸性高锰酸钾溶液漂洗, 用水洗净。

6.1.8.3 绘制汞标准曲线时, 也可用氯化钠溶液代替低汞海水。

6.2 双硫腙分光光度法

6.2.1 适用范围和应用领域

本法适用于海洋生物体中总汞的测定。碘有干扰, 故海藻中总汞的测定不宜直接用此法。

检出限: 0.01×10^{-6} 。

6.2.2 方法原理

样品经硝酸-过氧化氢-高锰酸钾消化, 用氯化亚锡将汞离子还原为金属汞。用曝气法使汞蒸气吸收于高锰酸钾溶液中, 汞离子与双硫腙反应后用四氯化碳萃取其生成的橙色螯合物, 于 485 nm 波长处进行分光光度测定。

6.2.3 试剂及其配制

除非另作说明, 所用试剂均为分析纯, 水为无汞去离子水或等效纯水。

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

6.2.3.2 过氧化氢 (H_2O_2): 30%, 优级纯。

6.2.3.3 硫酸溶液: 1+1, 1+40

在搅拌下, 将 1 体积硫酸 (H_2SO_4 , $\rho = 1.84 \text{ g/mL}$, 优级纯) 徐徐加到 1 及 40 体积水中。

6.2.3.4 氢氧化铵溶液: $c(\text{NH}_4\text{OH}) = 1 \text{ mol/L}$ 。

6.2.3.5 高锰酸钾溶液: 50 g/L。 (盛于棕色试剂瓶中, 暗处保存)。

6.2.3.6 氯化亚锡溶液: 200 g/L

称取 100 g 氯化亚锡 ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 于 500 mL 烧杯中, 加入 500 mL (1+1) 盐酸溶液, 加热至氯化亚锡完全溶解, 冷却后, 盛于棕色试剂瓶中若汞杂质含量高, 可用鼓泡法去除之, 直至溶液中汞检不出。

6.2.3.7 高锰酸钾吸收液:5 g/L

将 10 mL (1+1) 硫酸溶液 (6.2.3.3) 加到 10 mL 高锰酸钾溶液 (6.2.3.5) 中, 加水至 100 mL, 混匀, (盛于棕色试剂瓶中, 暗处保存)。

6.2.3.8 盐酸羟胺溶液:100 g/L

称取 10 g 盐酸羟胺 ($\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$), 用水溶解, 加水至 100 mL。用 5 mL 双硫脲使用溶液 (6.2.3.12) 提取数次, 至有机相呈绿色为止, 弃去有机相, 水相盛于试剂瓶中。

6.2.3.9 乙二胺四乙酸二钠溶液:50 g/L

称取 5 g EDTA (二钠), 用水溶解, 加水至 100 mL。用 5 mL 双硫脲使用溶液 (6.2.3.12) 提取数次, 至有机相呈绿色为止, 弃去有机相, 水相盛于滴瓶中。

6.2.3.10 四氯化碳 (CCl_4)

6.2.3.11 双硫脲贮备溶液

称取 100 mg 双硫脲 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_2\text{NCSNHHC}_6\text{H}_5$) 溶于 100 mL 四氯化碳 (6.2.3.10) 中, 盛于棕色试剂瓶中。置冰箱中保存。

6.2.3.12 双硫脲使用溶液:透光率 70%

按下方法确定双硫脲贮备溶液 (6.2.3.11) 的吸光值:

量取 1.00 mL 双硫脲贮备溶液 (6.2.3.11) 于 10 mL 量瓶中, 加四氯化碳 (6.2.3.10) 至标线, 混匀。以四氯化碳 (6.2.3.10) 调零, 于 500 nm 处用 1 cm 测定池测定其吸光值 A_1 。根据稀释因子, 得双硫脲贮备溶液 (6.2.3.11) 的吸光值为 $10A_1$ 。

根据式 (2) 计算配制一定体积双硫脲使用溶液所需贮备溶液的体积:

$$V_2 = \frac{V_1 \lg \frac{1}{T}}{10A_1} \dots\dots\dots (2)$$

式中: V_2 ——配制 V_1 体积双硫脲使用溶液时, 所需双硫脲贮备溶液的体积, mL;

V_1 ——欲配制的双硫脲使用溶液的体积, mL;

A_1 ——双硫脲贮备溶液稀释 10 倍后的吸光值;

T ——欲配制双硫脲使用溶液的透光率, %。本法采用 70% 透光率。

量取 V_2 体积双硫脲贮备溶液 (6.2.3.11), 加四氯化碳 (6.2.3.10) 至 V_1 体积, 混匀, 得透光率为 70% 的双硫脲使用溶液 (使用时配制)。

6.2.3.13 汞标准贮备溶液:100 $\mu\text{g/mL}$

称取 0.135 4 g 氯化汞 (HgCl_2 , 优级纯) 于 100 mL 烧杯中, 用 5 mL (1+1) 硫酸溶液 (6.2.3.3) 溶解后, 全量转入 1 000 mL 量瓶中, 加水至标线, 混匀。

6.2.3.14 汞标准使用溶液:1.00 $\mu\text{g/mL}$

量取 1.00 mL 汞标准贮备溶液 (6.2.3.13) 于 100 mL 量瓶中, 用 (1+40) 硫酸溶液 (6.2.3.3) 稀释至标线, 混匀, 使用时配制。

6.2.4 仪器及设备

- 分光光度计;
- 汞蒸气发生瓶: 见 6.1.4.2;
- 吸收管: 10 mL;
- 抽气泵;
- 气体流量计;
- 电热恒温水浴锅;
- 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 10 g(±0.01 g)生物湿样于 150 mL 锥形瓶中,加入 20 mL 硝酸(6.2.3.1),于室温下消化过夜,补加 5 mL 硝酸(6.2.3.1),于 90℃ 水浴中消化 1.5 h,每 20 min 摇动一次。滴加 2 mL 过氧化氢(6.2.3.2),继续消化半小时,取出稍冷后,加入高锰酸钾溶液(6.2.3.5)至有大量褐色沉淀产生,且半小时内不消失,否则再外加高锰酸钾溶液(6.2.3.5)。制得样品消化液,同时制备分析空白试液。

6.2.5.2 绘制标准曲线

6.2.5.2.1 取 6 支 25 mL 具塞比色管,加入 10 mL 高锰酸钾吸收液(6.2.3.7),分别移入 0,1.00,2.00,3.00,4.00,5.00 mL 的汞标准使用溶液(6.2.3.14),加水至 20 mL,滴加盐酸羟胺溶液(6.2.3.8)至红色消失,再多加 2 滴。

6.2.5.2.2 加入 5.00 mL 双硫脲使用液(6.2.3.12),剧烈振荡 2 min(注意放气),静置分层。吸去上层水相。再用水洗涤有机相 2~3 次(每次用水 20 mL),吸去水相。

6.2.5.2.3 加入 2 滴 EDTA(二钠)溶液(6.2.3.9),用氢氧化铵(6.2.3.4)溶液洗涤 2 次,每次 10 mL,有机相移入 60 mL 锥形分液漏斗(管颈塞有脱脂棉)中。

6.2.5.2.4 将有机相滤入 1 cm 测定池中,以四氯化碳(6.2.3.10)调零,于波长 485 nm 处测定吸光值 A_i 及标准空白吸光值 A_0 。

6.2.5.2.5 将测定数值记入 GB 17378.4—1998 附录表 A4 中,以吸光值($A_i - A_0$)为纵坐标,相应的汞的量(μg)为横坐标,绘制标准曲线。

6.2.5.3 样品测定

6.2.5.3.1 滴加盐酸羟胺溶液(6.2.3.8)于样品制备液中,至红色完全消失,全量转入 250 mL 汞蒸气发生瓶中,用 100 mL 水分三次洗涤锥形瓶,洗涤液合并于汞蒸气发生瓶中。

6.2.5.3.2 取两支 10 mL 吸收管,各加入 10 mL 吸收液(6.2.3.7),一支作空气净化管,一支作样品汞蒸气吸收管。按曝气-吸收装置示意图将气路系统接好,空气净化吸收管不必每次更换。

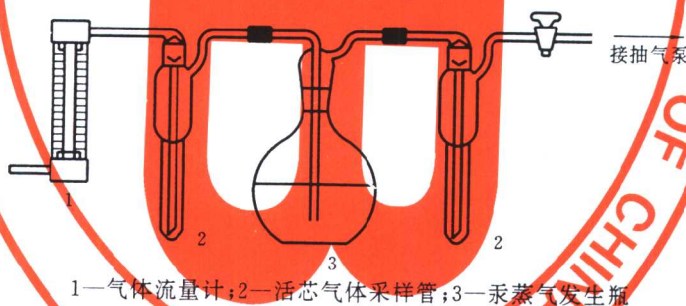


图5 曝气-吸收装置图

6.2.5.3.3 加 2 mL 氯化亚锡溶液(6.2.3.6)于汞蒸气发生瓶中,立即塞紧瓶塞。接通气泵,以 1 500 mL/min 空气流速曝气 15 min。

6.2.5.3.4 取下汞蒸气吸收管,将吸收液移入 25 mL 具塞比色管中,用 10 mL 水分三次洗涤吸收管,洗涤液并入比色管中。滴加盐酸羟胺溶液(6.2.3.8)至红色褪尽,再多加 2 滴,充分振荡,开盖放置 30 min。

6.2.5.3.5 以下按 6.2.5.2.2~6.2.5.2.4 步骤测定样品制备液的吸光值(A_s)。

同时,按上述步骤测定分析空白的吸光值 A_b 。

6.2.6 记录与计算

将测得数据记入表 A1 中,按式(3)计算生物干样中总汞的含量:

$$W_{\text{Hg}} = \frac{m}{FM} \dots\dots\dots (3)$$

式中: W_{Hg} ——生物干样中总汞的含量质量比, 10^{-6} ;

m ——从标准曲线上查得的汞的量, μg ;

F ——样品的干湿比;

M ——样品称取量, g 。

6.2.7 精密度和准确度

五个实验室测定含汞的质量比为 0.29×10^{-6} 的样品, 重复性相对标准偏差为 0.95%。在 0.5 g 猪肝成分分析标准物质(GB W08 551)中加入 2 μg 汞, 平均回收率为 95.9%。

6.2.8 注意事项

6.2.8.1 样品消化时, 过氧化氢需逐滴加入, 以防过氧化氢剧烈分解, 消化液溅溢, 造成汞损失。

6.2.8.2 样品测定步骤 6.2.5.3.4 中, 开盖放置 30 min, 是为消除反应产生的氯气及氮氧化物的影响。

6.2.8.3 样品测定步骤 6.2.5.2.2 中, 水洗有机相是为了消除二价锰的干扰。

6.2.8.4 玻璃器皿均需用(1+3)硝酸溶液浸泡 1 天后洗净使用。

7 铜

7.1 无火焰原子吸收分光光度法

7.1.1 适用范围和应用领域

本法适用于海洋生物中铜的测定。

检出限(W): 0.4×10^{-6} 。

7.1.2 方法原理

生物样品经硝酸-过氧化氢消化, 于波长 324.7 nm 处直接进行石墨炉原子吸收分光光度测定。

7.1.3 试剂及其配制

除非另作说明, 所用试剂均为分析纯, 水为二次去离子水或等效纯水。

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

7.1.3.2 过氧化氢(H_2O_2): 30%。

7.1.3.3 铜标准贮备溶液: 1.000 mg/mL

称取 0.200 0 g 金属铜粉(纯度 99.99%)于 50 mL 烧杯中, 加入 5 mL (1+2) 硝酸溶液, 加热溶解, 冷却后, 全量转入 200 mL 量瓶中, 加水至标线, 混匀。

7.1.3.4 铜标准中间溶液: 100 $\mu\text{g/mL}$

量取 10.0 mL 铜标准贮备溶液(7.1.3.3)于 100 mL 量瓶中, 加(1+99)硝酸溶液至标线, 混匀。使用时配制。

7.1.3.5 铜标准使用溶液: 2.000 $\mu\text{g/mL}$

量取 2.00 mL 铜标准中间溶液(7.1.3.4)于 100 mL 量瓶中, 加(1+99)硝酸溶液至标线, 混匀。使用时配制。

7.1.4 仪器及设备

——石墨炉原子吸收分光光度计: 配有自动进样装置;

——铜空心阴极灯;

——氩气钢瓶: 纯度 99.99%;

——洁净工作台(洁净 100 级);

——电热板。

7.1.5 分析步骤

7.1.5.1 样品消化

7.1.5.1.1 准确称取 0.1 g ($\pm 0.001 \text{ g}$) 干样于 50 mL 烧杯中, 用几滴水湿润样品, 加入 2 mL 硝酸(7.1.3.1), 盖上表面皿, 置于电热板上, 低温加热至泡沫基本消失。

7.1.5.1.2 取下烧杯,徐徐地加入 0.5 mL 过氧化氢(7.1.3.2),盖上表面皿,于电热板上加热(160~200℃)约 20 min,补加 1 mL 过氧化氢(7.1.3.2),继续加热并蒸至约剩 1 mL。

7.1.5.1.3 再加 1 mL 硝酸(7.1.3.1),1.5 mL 过氧化氢(7.1.3.2),盖上表面皿,于电热板上加热(160~200℃)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,制成样品液。

同时制备分析空白试液。

7.1.5.2 绘制标准曲线

7.1.5.2.1 移取 0,0.50,1.00,1.50,2.00,2.50 mL 铜标准使用溶液(7.1.3.5)于 10 mL 具塞比色管中,加水至标线,混匀。移取 20 μ L 试液,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)。

7.1.5.2.2 将数值记入 GB 17378.4—1998 附录表 A5 中,以吸光值($A_i - A_0$)为纵坐标,相应的铜的浓度(μ g/mL)为横坐标,绘制标准曲线。

7.1.5.3 样品测定

量取 20 μ L 样品消化液,按选定的仪器技术参数测定铜的吸光值(A_s);同时,测定分析空白试液吸光值(A_b)。以($A_s - A_b$)的值从标准曲线上查出相应铜的浓度(μ g/mL)。

7.1.6 记录与计算

将测得数据记入表 A1 中,按式(4)计算生物体干样中铜含量:

$$W_{Cu} = \frac{\rho_{Cu} V}{M} \quad \dots\dots\dots (4)$$

式中: W_{Cu} ——生物体干样中铜含量,质量比, 10^{-6} ;

ρ_{Cu} ——从标准曲线上查得铜的浓度, μ g/mL;

V ——样品消化液的体积, mL;

M ——干样品称取量, g。

7.1.7 精密度

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

7.1.8 注意事项

7.1.8.1 本测定方法中所用的器皿均先用(1+3)硝酸溶液浸泡 1 天以上,使用前用二次去离子水淋洗干净。

7.1.8.2 样品消化时,需始终盖上表面皿。

7.1.8.3 不同型号的石墨炉原子吸收分光光度计,自行选定仪器最佳技术参数,表 4 为 PE-703 型原子吸收分光光度计,HGA-500 型石墨炉的仪器技术参数。

表 4 PE-703 型仪器技术参数

元素	波长 nm	通带宽 nm	灯电流	干燥		灰化		原子化		烧净		原子化时内 气流量, mL/min
				温度 ℃	时间 s	温度 ℃	时间 s	温度 ℃	时间 s	温度 ℃	时间 s	
Cu	324.7	0.7	12	111	10/15	850	10/15	2 650	1/6	2 760	1/3	10

7.2 阳极溶出伏安法

7.2.1 适用范围和应用领域

本法适用于海洋生物体中铜的测定。

检出限(W): 1×10^{-6} 。

7.2.2 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 pH8.2 $\pm$ 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。

7.2.3 试剂及其配制

除非另作说明,所用试剂均为分析纯,水为无铜二次去离子水或等效纯水。

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

7.2.3.2 过氧化氢(H_2O_2):30%。

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

7.2.3.4 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。

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

7.2.3.6 精密 pH 试纸:pH7.6~8.5。

7.2.3.7 汞(Hg):超纯。

7.2.3.8 铜标准贮备溶液:1.000 mg/mL

见 7.1.3.3 条。

7.2.3.9 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(7.2.3.8)于 100 mL 量瓶中,加入 1.0 mL 盐酸(7.2.3.3),加水至标线,混匀。

7.2.3.10 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(7.2.3.9)于 100 mL 量瓶中,加水至近 100 mL,用稀乙二胺溶液(7.2.3.5)调节 pH 值为 3~4,加水至标线,混匀。使用时配制。

7.2.4 仪器及设备

- 极谱仪:它应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:配有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:100,400,1 000 μL ;
- 实验室常备仪器及设备。

7.2.5 分析步骤

7.2.5.1 样品消化

准确称取 0.25 g($\pm 0.001\text{ g}$)干样于 50 mL 烧杯中,用几滴水湿润,加入 2 mL 硝酸(7.2.3.1),盖上表面皿,于电热板上低温加热,待泡沫基本消失后,徐徐地加入 1 mL 过氧化氢(7.2.3.2),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(7.2.3.3),于高温电热板上蒸干。取下冷却,加入 1 mL (1+1)盐酸溶液,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。

7.2.5.2 样品的测定