



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115096986 A

(43) 申请公布日 2022.09.23

(21) 申请号 202210744008.3

(22) 申请日 2022.06.28

(71) 申请人 中国科学院地球化学研究所
地址 550081 贵州省贵阳市观山湖区林城西路99号

(72) 发明人 李平 王波 杨劲晨 覃重阳
胡焱鑫 冯新斌

(74) 专利代理机构 成都环泰专利代理事务所
(特殊普通合伙) 51242
专利代理师 覃金龙

(51) Int. Cl.
G01N 27/626 (2021.01)
G01N 30/02 (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01)

权利要求书2页 说明书4页

(54) 发明名称

一种高灵敏度检测生物样品甲基汞同位素的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种高灵敏度检测生物样品甲基汞同位素的方法,其直接准确地测量了生物样品甲基汞含量,甲基汞充分提取,没有外源汞的输入,保证了本方法提取的甲基汞同位素比值与实际样品一致,采用离线前处理的方法,增加了生物样品甲基汞同位素分析精度,提高了甲基汞同位素测量过程的可操作性,包括以下步骤:实验前准备、样品前处理过程、回收率和纯度检测、汞同位素检测,该方法通过甲苯、硫酸铜和溴化钠等试剂与生物样品充分震荡混合,使得样品中甲基汞提取到有机相,随后利用硫代硫酸钠溶液将甲基汞从有机相反萃取,以分析样品的甲基汞含量和甲基汞同位素特征,测定硫代硫酸钠溶液甲基汞含量。

1. 一种高灵敏度检测生物样品甲基汞同位素的方法,包括以下步骤:

01:检测前准备

检测耗材及设备:甲苯、硫酸、硝酸、盐酸、溴化钠、无水硫酸铜、硫代硫酸钠、溴酸钾、溴化钾、200mL硼硅玻璃瓶、1000mL硼硅玻璃瓶、15mL聚丙烯离心管、50mL聚丙烯离心管、水平振荡器、马弗炉、离心机、涡旋机、高速离心机和冰箱;

将检测所需玻璃器皿浸泡在浓度为20% HNO_3 溶液中24h以上,完成后用去离子水冲洗三次以上,然后在500℃条件下利用马弗炉烘烤干净;

试剂配制:

NaBr溶液:利用390mL的 H_2O 溶解155gNaBr,然后加入110mL H_2SO_4 ,配制浓度为30%的w/wNaBr溶液;

CuSO_4 溶液:称25g的无水 CuSO_4 到1000mL的 H_2O 中,配制成浓度为2.5%的w/w CuSO_4 溶液;

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液:称800mg的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 到1000mL H_2O 中,配制成浓度为0.005mol/L的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液;

BrCl溶液:准确称取0.76g KBrO_3 和0.54g KBr 到玻璃瓶中,在马弗炉中250℃烧制12h,冷却后加入10mL的 H_2O 和40mL的 HCl ,配制成0.2mol/L的BrCl;

$\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 溶液:称取25g的 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 溶于1000mL的 H_2O 于玻璃瓶中,配制成0.36mol/L的 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 溶液。

02:样品处理过程

准确称量0.1~1g生物样品到50mL离心管中,加入5mL的30%w/w酸性NaBr溶液和10mL的2.5%w/w CuSO_4 溶液,称量整个离心管质量,记为m1;

加入10mL的甲苯溶液到上述离心管中,称量整个离心管质量,记为m2;

利用水平振荡器,将上述溶液以420rpm的速度震荡1.5h,然后利用离心机在3000rpm下离心15min至甲苯相透明;

从50mL离心管回收甲苯相到15mL的离心管中,并准确称量回收甲苯相质量,记为m3;

向15mL的离心管加入4mL的浓度为0.005mol/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液,先涡旋3min,再震荡30min;

利用离心机4000rpm离心15mL离心管30min,尽可能回收硫代硫酸钠相到新离心管中,并存于冰箱待测,该溶液记为S1;

准确称量0.1~1g生物样品到50mL离心管中,在离心管中加入5mL浓度为25%的 HNO_3 ,在70-75℃的温度下消解12h,消解完成后,用60℃超纯水定容待测,该溶液记为S2。

03:回收率和纯度检测

吸取适量S1溶液,用10% HNO_3 稀释到适宜浓度,逐步加入0.05mL浓度为0.2mol/L的BrCl溶液直至溶液呈微黄色,放入冰箱12h待测,该溶液记为S3;

吸取适量S1溶液,用 H_2O 稀释到适宜浓度,放入冰箱待测,该溶液记为S4;

随后利用原子气相色谱法测量S2溶液甲基汞浓度,记为C1;利用冷原子荧光法测量S3溶液总汞浓度,记为C2;利用原子气相色谱法测量S4溶液甲基汞浓度,记为C3;

回收率以C3/C1表示,纯度以C3/C2表示,保证样品回收率和纯度高于90%才用于甲基汞同位素分析,以确保检测过程生物样品甲基汞完全被提取,且没有无机汞的引入。

04:汞同位素检测

向回收率和纯度高于90%的S1溶液中逐步添加0.05mL的浓度为0.2mol/L的BrCl溶液,

直至溶液呈微黄色,放入冰箱12h待测,样品测试前,利用浓度为20%v/v反王水稀释到适宜浓度,并利用 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 溶液还原过量 BrCl ,以备多接收电感耦合等离子质谱仪分析甲基汞同位素特征,多接收电感耦合等离子质谱仪即MC-ICPMS。

2. 根据权利要求1所述的一种高灵敏度检测生物样品甲基汞同位素的方法,所述NaBr的纯度为99.5%。

3. 根据权利要求1所述的一种高灵敏度检测生物样品甲基汞同位素的方法,其特征在于,所述无水 CuSO_4 的纯度和 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 的纯度均高于99%。

4. 根据权利要求1所述的一种高灵敏度检测生物样品甲基汞同位素的方法,其特征在于,所述 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 的纯度为98%。

5. 根据权利要求1所述的一种高灵敏度检测生物样品甲基汞同位素的方法,其特征在于,所述反王水为 $\text{HNO}_3:\text{HCl}$ 按照3:1的比例配置而成。

一种高灵敏度检测生物样品甲基汞同位素的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及检测技术领域,特别是涉及一种高灵敏度检测生物样品甲基汞同位素的方法。

背景技术

[0002] 汞是唯一能以气态单质形式存在于环境中的重金属,具有持久性、长距离传输性和生物累积等特征,是毒性最强的重金属之一。汞在自然界中主要以无机态和有机态等形式存在,其赋存形态与环境行为、生理毒性以及生物可利用性密切相关。在常见汞化合物中,甲基汞的毒性最强,人体小肠甲基汞的吸收效率约为95%,易于穿过胎盘屏障和血脑屏障,从而对神经系统造成严重危害。因此,识别甲基汞的迁移转化过程和来源对厘清形态汞的毒性及生理危害至关重要。

[0003] 目前,原子光谱法、气相色谱法和电感耦合等离子体-质谱法等测量方法已高精度地测量了蔬菜、大米、鱼肉和头发等与人类密切相关的不同基质生物样品的甲基汞含量。随着多接收器等离子体质谱仪(MC-ICP-MS)的开发应用及样品前处理技术的进步,非传统稳定同位素在环境污染物溯源和过程示踪等方面得到广泛的运用,汞稳定同位素已成为国际地球科学和环境科学一个重要的研究手段。总汞同位素已在人群汞暴露源和代谢过程示踪开展了广泛的运用,但是目前仍然没有开发针对不同生物样品甲基汞同位素高精度离线测量的方法,因此,研发一种新型的甲基汞前处理技术对识别汞的生物地球化学性质具有重要意义。

发明内容

[0004] 针对上述问题,本发明提供了一种用于生物样品甲基汞同位素的高灵敏度检测。

[0005] 本发明的技术方案是:一种高灵敏度检测生物样品甲基汞同位素的方法,包括以下步骤:

[0006] 01:检测前准备

[0007] 检测耗材及设备:甲苯、硫酸、硝酸、盐酸、溴化钠、无水硫酸铜、硫代硫酸钠、溴酸钾、溴化钾、200mL硼硅玻璃瓶、1000mL硼硅玻璃瓶、15mL聚丙烯离心管、50mL聚丙烯离心管、水平振荡器、马弗炉、离心机、涡旋机、高速离心机和冰箱;

[0008] 将检测所需玻璃器皿浸泡在浓度为20% HNO_3 溶液中24h以上,完成后用去离子水冲洗三次以上,然后在500℃条件下利用马弗炉烘烧干净;

[0009] 试剂配制:

[0010] NaBr溶液:利用390mL的 H_2O 溶解155gNaBr,然后加入110mL H_2SO_4 ,配制浓度为30%的w/wNaBr溶液;

[0011] CuSO_4 溶液:称25g的无水 CuSO_4 到1000mL的 H_2O 中,配制成浓度为2.5%的w/w CuSO_4 溶液;

[0012] $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液:称800mg的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 到1000mL H_2O 中,配制成浓度为0.005mol/L的

Na₂S₂O₃溶液;

[0013] BrCl溶液:准确称取0.76gKBrO₃和0.54gKBr到玻璃瓶中,在马弗炉中250℃烧制12h,冷却后加入10mL的H₂O和40mL的HCl,配制成0.2mol/L的BrCl;

[0014] NH₂OHCl溶液:称取25g的NH₂OHCl溶于1000mL的H₂O于玻璃瓶中,配制成0.36mol/L的NH₂OHCl溶液。

[0015] 02:样品处理过程

[0016] 准确称量0.1~1g生物样品到50mL离心管中,加入5mL的30%w/w酸性NaBr溶液和10mL的2.5%w/wCuSO₄溶液,称量整个离心管质量,记为m1;

[0017] 加入10mL的甲苯溶液到上述离心管中,称量整个离心管质量,记为m2;

[0018] 利用水平振荡器,将上述溶液以420rpm的速度震荡1.5h,然后利用离心机在3000rpm下离心15min至甲苯相透明;

[0019] 从50mL离心管回收甲苯相到15mL的离心管中,并准确称量回收甲苯相质量,记为m3;

[0020] 向15mL的离心管加入4mL的浓度为0.005mol/LNa₂S₂O₃溶液,先涡旋3min,再震荡30min;

[0021] 利用离心机4000rpm离心15mL离心管30min,尽可能回收硫代硫酸钠相到新离心管中,并存于冰箱待测,该溶液记为S1;

[0022] 准确称量0.1~1g生物样品到50mL离心管中,在离心管中加入5ml浓度为25%的HNO₃,在70-75℃的温度下消解12h,消解完成后,用60℃超纯水定容待测,该溶液记为S2。

[0023] 03:回收率和纯度检测

[0024] 吸取适量S1溶液,用10%HNO₃稀释到适宜浓度,逐步加入0.05mL浓度为0.2mol/L的BrCl溶液直至溶液呈微黄色,放入冰箱12h待测,该溶液记为S3;

[0025] 吸取适量S1溶液,用H₂O稀释到适宜浓度,放入冰箱待测,该溶液记为S4;

[0026] 随后利用原子气相色谱法测量S2溶液甲基汞浓度,记为C1;利用冷原子荧光法测量S3溶液总汞浓度,记为C2;利用原子气相色谱法测量S4溶液甲基汞浓度,记为C3;

[0027] 回收率以C3/C1表示,纯度以C3/C2表示,保证样品回收率和纯度高于90%才用于甲基汞同位素分析,以确保检测过程生物样品甲基汞完全被提取,且没有无机汞的引入。

[0028] 04:汞同位素检测

[0029] 向回收率和纯度高于90%的S1溶液中逐步添加0.05mL的浓度为0.2mol/L的BrCl溶液,直至溶液呈微黄色,放入冰箱12h待测,样品测试前,利用浓度为20%v/v反王水稀释到适宜浓度,并利用NH₂OHCl溶液还原过量BrCl,以备多接收电感耦合等离子质谱仪(MC-ICPMS)分析甲基汞同位素特征。

[0030] 进一步的,所述NaBr的纯度为99.5%。

[0031] 更进一步的,其特征在于,所述无水CuSO₄的纯度和NH₂OHCl的纯度均高于99%。

[0032] 在前述方案的基础上还需说明的是,所述Na₂S₂O₃的纯度为98%。

[0033] 在前述方案的基础上还需进一步说明的是,所述反王水为HNO₃:HCl按照3:1的比例配置而成。

[0034] 本发明的有益效果是:

[0035] 1、该检测生物样品甲基汞同位素的方法,直接准确地测量了生物样品甲基汞含

量；

[0036] 2、该方法整个实验过程甲基汞充分提取，且没有外源汞的输入，保证了本方法提取的甲基汞同位素比值与实际样品一致；

[0037] 3、该方法采用离线前处理的方法，增加了生物样品甲基汞同位素分析精度，提高了甲基汞同位素测量过程的可操作性。

具体实施方式

[0038] 下面对本发明的实施例作进一步说明。

[0039] 实施例：

[0040] 一种高灵敏度检测生物样品甲基汞同位素的方法

[0041] D1：检测前准备

[0042] 检测耗材及设备：甲苯、硫酸、硝酸、盐酸、溴化钠、无水硫酸铜、硫代硫酸钠、溴酸钾、溴化钾、200mL硼硅玻璃瓶、1000mL硼硅玻璃瓶、15mL聚丙烯离心管、50mL聚丙烯离心管、水平振荡器、马弗炉、离心机、涡旋机、高速离心机和冰箱；

[0043] 将检测所需玻璃器皿浸泡在浓度为20% HNO_3 溶液中24h以上，完成后用去离子水冲洗三次以上，然后在500℃条件下利用马弗炉烘烤干净；

[0044] 试剂配制：

[0045] NaBr溶液：利用390mL的 H_2O 溶解155gNaBr，然后加入110mL H_2SO_4 ，配制浓度为30%的w/wNaBr溶液，其中所使用的NaBr的纯度为99.5%；

[0046] CuSO_4 溶液：称25g的无水 CuSO_4 到1000mL的 H_2O 中，配制成浓度为2.5%的w/w CuSO_4 溶液，所使用的无水 CuSO_4 的纯度高于99%；

[0047] $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液：称800mg的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 到1000mL H_2O 中，配制成浓度为0.005mol/L的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液，其中，所使用的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 的纯度为98%；

[0048] BrCl溶液：准确称取0.76g KBrO_3 和0.54gKBr到玻璃瓶中，在马弗炉中250℃烧制12h，冷却后加入10mL的 H_2O 和40mL的HCl，配制成0.2mol/L的BrCl；

[0049] $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 溶液：称取25g的 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 溶于1000mL的 H_2O 于玻璃瓶中，配制成0.36mol/L的 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 溶液，所使用的 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 的纯度高于99%。

[0050] D2：样品总汞含量测试：

[0051] 利用DMA80测汞仪直接测量生物样品总汞含量。

[0052] D3：样品处理过程

[0053] 准确称量0.1~1g生物样品到50mL离心管中，加入5mL的30%w/w酸性NaBr溶液和10mL的2.5%w/w CuSO_4 溶液，称量整个离心管质量，记为 m_1 ；

[0054] 加入10mL的甲苯溶液到上述离心管中，称量整个离心管质量，记为 m_2 ；

[0055] 利用水平振荡器，将上述溶液以420rpm的速度震荡1.5h，然后利用离心机在3000rpm下离心15min至甲苯相透明；

[0056] 从50mL离心管回收甲苯相到15mL的离心管中，并准确称量回收甲苯相质量，记为 m_3 ；

[0057] 向15mL的离心管加入4mL的浓度为0.005mol/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液，先涡旋3min，再震荡30min；

[0058] 利用离心机4000rpm离心15mL离心管30min,尽可能回收硫代硫酸钠相到新离心管中,并存于冰箱待测,该溶液记为S1;

[0059] 准确称量0.1~1g生物样品到50mL离心管中,在离心管中加入5mL浓度为25%的 HNO_3 ,在70-75°C的温度下消解12h,消解完成后,用60°C超纯水定容待测,该溶液记为S2。

[0060] D4:回收率和纯度检测

[0061] 吸取适量S1溶液,用10% HNO_3 稀释到适宜浓度,逐步加入0.05mL浓度为0.2mol/L的 BrCl 溶液直至溶液呈微黄色,放入冰箱12h待测,该溶液记为S3;

[0062] 吸取适量S1溶液,用 H_2O 稀释到适宜浓度,放入冰箱待测,该溶液记为S4;

[0063] 随后利用原子气相色谱法测量S2溶液甲基汞浓度,记为C1;利用冷原子荧光法测量S3溶液总汞浓度,记为C2;利用原子气相色谱法测量S4溶液甲基汞浓度,记为C3;

[0064] 回收率以 $C3/C1$ 表示,纯度以 $C3/C2$ 表示,保证样品回收率和纯度高于90%才用于甲基汞同位素分析,以确保检测过程生物样品甲基汞完全被提取,且没有无机汞的引入。

[0065] D5:汞同位素检测

[0066] 向回收率和纯度高于90%的S1溶液中逐步添加0.05mL的浓度为0.2mol/L的 BrCl 溶液,直至溶液呈微黄色,放入冰箱12h待测,样品测试前,利用浓度为20%v/v反王水稀释到适宜浓度,并利用 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 溶液还原过量 BrCl ,以备多接收电感耦合等离子质谱仪(MC-ICPMS)分析甲基汞同位素特征,反王水为 $\text{HNO}_3:\text{HCl}$ 按照3:1的比例配置而成。

[0067] 具体地,D2样品总汞含量测试过程是为了估计本方法所需称样量,采用标准曲线、系统空白、标准物质和随机样品平行测试进行质量控制,样品总汞的检出限为0.05ng/g;经过D1处理后,在D4回收率和纯度检测过程中采用标准曲线、系统空白、方法空白、加标回收、标准物质和随机样品平行测试进行质量控制,样品甲基汞的检出限为0.06ng/g。

[0068] 以上所述实施例仅表达了本发明的具体实施方式,其描述较为具体和详细,但不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。