



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107702972 B

(45) 授权公告日 2021.06.11

(21) 申请号 201710799895.3

G01N 21/31 (2006.01)

(22) 申请日 2017.09.07

G01N 27/62 (2021.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 107702972 A

(43) 申请公布日 2018.02.16

(73) 专利权人 暨南大学

地址 510632 广东省广州市天河区黄埔大道西601号

(72) 发明人 江天久 高东辉 唐勇

(74) 专利代理机构 广州市华学知识产权代理有限公司 44245

代理人 苏运贞 陈燕嫻

(51) Int. Cl.

G01N 1/40 (2006.01)

G01N 1/44 (2006.01)

G01N 33/531 (2006.01)

G01N 33/558 (2006.01)

(56) 对比文件

刘斌. 重金属镉、铅免疫学检测中样品处理的研究.《中国优秀硕士学位论文全文数据库 医药卫生科技辑》.2010,

刘斌. 重金属镉、铅免疫学检测中样品处理的研究.《中国优秀硕士学位论文全文数据库 医药卫生科技辑》.2010,

丁园 等. 化学改良剂对红壤中铜、镉吸附行为的影响.《江西农业大学学报》.2010,第32卷(第4期),

李支薇. 用于碳水化合物类农产品重金属 ELISA检测的样品前处理研究.《中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程科技I辑》.2012,第10-19、22-33页.

审查员 张馨丹

权利要求书1页 说明书12页

(54) 发明名称

二氧化钛在酶联免疫法检测土壤中重金属离子的前处理中的应用

(57) 摘要

本发明公开二氧化钛在酶联免疫法检测土壤中重金属离子的前处理中的应用。本发明利用二氧化钛对土壤浸提液中的重金属离子进行吸附、解吸附,富集得到的重金属离子可通过免疫学方法进行检测。本发明首次应用二氧化钛对稀酸浸提土壤液中的重金属离子进行吸附和解吸附操作,从而能应用胶体金试纸检测二级以下的土壤中的重金属离子;其中用氨水调节pH值,避免了高酸度与调节pH后的高盐度对胶体金免疫层析试纸条的影响,保证检测的准确性。相较国标法长达十几个小时的样品前处理及测定过程,本发明结合胶体金试纸可在2h内完成对土壤样品中重金属离子的测定,大大缩短了检测时间,而且无需大型仪器与专业实验人员,操作过程简单。

1. 一种适用于酶联免疫法检测土壤中重金属离子的二氧化钛前处理方法,其特征包括如下步骤:利用二氧化钛对土壤浸提液中的重金属离子进行吸附、解吸附操作,进行富集:

- (1) 用稀酸浸提土壤,接着去除不溶性物质,得到溶液I;
- (2) 用氨水调节溶液I的pH值,得到溶液II;
- (3) 在溶液II中加入二氧化钛进行吸附,用于吸附溶液II中的重金属离子;
- (4) 固液分离,在固体中加入解吸附剂进行解吸附,得到溶液III;

所述的重金属离子为镉离子、铅离子和铜离子中的至少一种;

步骤(1)中所述的用稀酸浸提土壤的具体操作如下:每 0.2000 ± 0.0005 g土壤配比4mL稀酸溶液,振荡30s,浸提;其中:

1) 当所述的重金属离子为镉离子时,稀酸溶液为2~4M盐酸和2~4M硫酸按体积比1:3得到的稀酸溶液,浸提的条件为:于40~60℃下反应20min;

2) 当所述的重金属离子为铅离子时,稀酸溶液为4M盐酸和4M硝酸按体积比1:1得到的稀酸溶液,浸提的条件为:于60~80℃下反应50~60min;

3) 当所述的重金属离子为铜离子时,稀酸溶液为4M盐酸和4M硫酸按体积比1:3得到的稀酸溶液,浸提的条件为:于80℃下反应60min;

步骤(1)中所述的土壤为土壤环境质量标准二级以下的土壤;

步骤(2)中所述的pH值为8~9;

步骤(3)中所述的吸附的方式为振荡吸附;

步骤(4)中所述的解吸附剂为EDTA二钠;

步骤(4)中所述的解吸附的方式为振荡解吸附。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:

步骤(2)中所述的氨水是浓度为22~25%的氨水;

步骤(3)中所述的二氧化钛为平均粒径是5-10 nm的二氧化钛。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:

所述的EDTA二钠的浓度为0.01~0.2M。

4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:

步骤(1)中所述的溶液I的体积为每 0.2000 ± 0.0005 g土壤用稀酸溶液浸提后,用水定容至10mL;

步骤(3)中所述的二氧化钛的用量为每50mL溶液II配比50mg二氧化钛。

5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:

所述的振荡吸附的条件为振荡5~10min,静置20min;

所述的振荡解吸附的条件为振荡至少10min。

二氧化钛在酶联免疫法检测土壤中重金属离子的前处理中的应用

技术领域

[0001] 本发明属于重金属检测领域,特别涉及二氧化钛在酶联免疫法检测土壤中重金属离子的前处理中的应用。

背景技术

[0002] 土壤是人类赖以生存的物质条件,是人类宝贵的自然资源。近年来,随着我国城镇化、工业化进程的加快,加之化肥、农药的大量生产与使用,我国土壤污染愈发严重,尤其是重金属污染。这对环境生态和人们生命安全构成潜在的威胁。

[0003] 对土壤进行修复的前提是了解土壤重金属污染的状况。传统的重金属检测方法大都具有准确度高、灵敏度高、选择性好等优点,但也存在很多缺点:如大多方法都需要大型仪器,价格昂贵,分析成本高,部分样品需要进行复杂的前处理过程,分析时间长等,无法进行重金属的连续监测及现场测定。近年来,随着重金属污染问题日益突出,传统的重金属检测方法已经难以满足人们的要求,简便、快速、高效并适于现场操作的重金属检测方法成为人们研究的热点。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于克服现有技术的缺点与不足,提供二氧化钛在酶联免疫法检测土壤中重金属离子的前处理中的应用。

[0005] 本发明的目的通过下述技术方案实现:二氧化钛在酶联免疫法检测土壤中重金属离子的前处理中的应用,是利用二氧化钛对土壤浸提液中的重金属离子进行吸附、解吸附操作,达到富集的目的,再通过免疫学方法进行检测。

[0006] 所述的土壤浸提液指的是用稀酸溶液浸提土壤得到的溶液。

[0007] 所述的二氧化钛在酶联免疫法检测土壤中重金属离子的前处理中的应用,优选包含如下步骤:

[0008] (1) 用稀酸浸提土壤,接着去除不溶性物质,得到溶液I;

[0009] (2) 用氨水调节溶液I的pH值,得到溶液II;

[0010] (3) 在溶液II中加入二氧化钛进行吸附,用于吸附溶液II中的重金属离子;

[0011] (4) 固液分离,在固体中加入解吸附剂进行解吸附,得到溶液III。

[0012] 所述的重金属离子优选为镉离子、铅离子和铜离子中的至少一种。

[0013] 步骤(1)中所述的土壤优选为能过100目筛的土壤。

[0014] 步骤(1)中所述的土壤为土壤环境质量标准二级以下的土壤。

[0015] 步骤(1)中所述的稀酸指的是浓度小于6mol/L的酸溶液;优选浓度为0.5~4mol/L的酸溶液;更优选为2~4mol/L的酸溶液。

[0016] 所述的稀酸为盐酸溶液、硫酸溶液和硝酸溶液中的至少一种;优选为盐酸溶液、硫酸溶液和硝酸溶液中的两种溶液形成的混合酸溶液;更优选为硫酸溶液或硝酸溶液中的一

种和盐酸溶液形成的混合酸溶液。

[0017] 步骤(1)中所述的用稀酸浸提土壤的具体操作优选如下:每 0.2000 ± 0.0005 g土壤配比4mL稀酸溶液,振荡30s,浸提;其中:

[0018] 1)当所述的重金属离子为镉离子时,稀酸溶液为2~4M盐酸和2~4M硫酸按体积比1:3得到的稀酸溶液,浸提的条件为:于40~60℃下反应20min;

[0019] 2)当所述的重金属离子为铅离子时,稀酸溶液为4M盐酸和4M硝酸按体积比1:1得到的稀酸溶液,浸提的条件为:于60~80℃下反应50~60min;

[0020] 3)当所述的重金属离子为铜离子时,稀酸溶液为4M盐酸和4M硫酸按体积比1:3得到的稀酸溶液,浸提的条件为:于80℃下反应60min。

[0021] 步骤(1)中所述的去除不溶性物质的方式优选为离心。

[0022] 所述的离心的条件优选为于8000rpm离心10~20min。

[0023] 步骤(1)中所述的溶液I的体积优选为每 0.2000 ± 0.0005 g土壤用稀酸溶液浸提后,用水定容至10mL。

[0024] 步骤(2)中所述的氨水为浓氨水,即浓度为22~25%的氨水。

[0025] 步骤(2)中所述的pH值优选为8~9;更优选为8.5。

[0026] 步骤(3)中所述的二氧化钛为平均粒径是5-10nm的二氧化钛。

[0027] 步骤(3)中所述的二氧化钛的用量优选为每50mL溶液II配比50mg二氧化钛。

[0028] 步骤(3)中所述的吸附的方式为振荡吸附。

[0029] 所述的振荡吸附的条件优选为振荡5~10min,静置20min。

[0030] 步骤(4)中所述的固液分离的方式优选为离心。

[0031] 所述的离心的条件优选为于4000rpm离心8min。

[0032] 步骤(4)中所述的解吸附剂优选为EDTA二钠。

[0033] 所述的EDTA二钠的浓度优选为0.01~0.2M;更优选为0.1~0.2M。

[0034] 步骤(4)中所述的解吸附的方式优选为振荡解吸附。

[0035] 所述的振荡解吸附的条件优选为振荡至少10min;优选为10~15min。

[0036] 所述的溶液III中的重金属离子能直接通过胶体金试纸条进行检测。

[0037] 本发明相对于现有技术具有如下的优点及效果:

[0038] (1)本发明首次应用二氧化钛对稀酸浸提土壤中的重金属离子溶液进行吸附和解吸附操作,从而能应用胶体金试纸检测二级以下的土壤中的重金属离子。

[0039] (2)本发明用二氧化钛对调节pH后的稀酸浸提液中的重金属离子进行富集,用EDTA·2Na溶液对重金属离子(如镉离子)进行洗脱,有效避免了高酸度与调节pH后的高盐度对胶体金免疫层析试纸条的影响。

[0040] (3)相较国标法长达十几个小时的样品前处理及测定过程,本发明结合胶体金试纸可在2h内完成对土壤样品中重金属离子(如镉离子)的测定,大大缩短了检测时间,而且无需大型仪器与专业实验人员,操作过程简单,是一种高效、快速、简便的重金属检测方法。此外,针对土壤样品中的镉离子,该方法不仅适于免疫胶体金试纸条的检测,还可以通过不断改进,作为一种独立的样品前处理技术,用于其它快速方法的检测。

[0041] (4)本发明从稀酸提取土壤的条件开始优化,以及优化二氧化钛的吸附和解吸附的条件,从而得到的含有土壤重金属离子的液体结合胶体金试纸进行检测,准确度可与ICP

媲美。

具体实施方式

[0042] 下面结合实施例对本发明作进一步详细的描述,但本发明的实施方式不限于此。

[0043] 实施例1

[0044] 1、土壤样品的采集与制备

[0045] 2015年6月,在暨南大学生科院附近进行土壤采样。土壤采样方法和程序参考《土壤环境监测技术规范》(HJ/T 166-2004)中的原则和方法进行。采样部位均为0-20cm的表层土壤,利用蛇形采样法进行,将10个取样点的土壤混合为一个土壤样品,除去土样中的石子和动植物残体,利用四分法取1kg左右土壤于聚四氟乙烯密封袋中。将土壤样品于90℃的鼓风干燥箱中烘干,利用四分法取0.25kg左右的土壤,用玛瑙棒碾碎,过2mm尼龙筛,混匀,继续研磨,过0.154mm(100目)检验筛,于阴凉干燥处保存备用。

[0046] 2、标准土壤和现场采集土壤样品理化性质的测定

[0047] 本文所使用的标准土壤Gss-7来自国家标准物质中心,现场样品采自暨南大学生科院附近地表,分别对两者的pH、有机质含量、阳离子交换量以及镉、铅、铜等离子全量等基本参数进行测定,具体参数由广州分析测试中心测定。

[0048] 标准土壤与现场采样土壤的基本参数见表1。从表中可知:两者的pH整体在7以下,且标准土壤的pH、有机质含量低于现场采样土壤,阳离子交换量高于现场采样土壤;现场采样土壤中的镉离子含量超过了我国《土壤环境质量标准》(GB 15618-1995)中的一级标准 $0.20\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,铅离子含量低于《土壤环境质量标准》中的一级标准 $35\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,而铜离子含量超过了《土壤环境质量标准》中的二级标准 $100\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

[0049] 表1土壤的基本参数表

[0050]	土壤样品	pH	有机质 含量(%)	阳离子交换量 ($\text{cmol}(+)/\text{kg}$)	镉含量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	铅含量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	铜含量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
	标准土壤	5.67	0.58	16.6	0.08 ± 0.02	14 ± 3	97 ± 6
	采样土壤	6.98	1.14	9.5	0.31	12.15	112

[0051] 3、浸提土壤样品

[0052] (1) 试验过程

[0053] 1) 稀酸浓度对土壤中重金属提取率的影响

[0054] 分别称取 $0.2000 \pm 0.0005\text{g}$ 标准土壤或现场土壤于50mL离心管中,依次加入0.5、1、2、3、4M的硝酸溶液、盐酸溶液、硫酸溶液或是混合酸溶液4mL,振荡30s,常温下反应20min,然后于8000rpm转速下离心10min,取上清液,用超纯水定容至10mL,每组设三个平行和一组空白对照。用石墨炉原子吸收仪检测其中镉、铅离子的含量,用ICP(原子发射光谱分析)检测其中铜离子的含量,利用公式①计算提取率:

[0055] 提取率 = $\frac{\text{稀酸浸提重金属含量}}{\text{国标法重金属含量}} \times 100\%$ ①。

[0056] 2) 反应时间对稀酸浸提土壤中重金属的影响

[0057] 称取 $0.2000 \pm 0.0005\text{g}$ 标准土壤或现场土壤于50mL离心管中,加入稀酸溶液4mL,振荡30s,分别在常温下反应10、20、30、40、50、60min,然后于8000rpm转速下离心10min,取

上清液,用二次水定容至10mL,每组设三个平行和一组空白对照。用石墨炉原子吸收仪检测其中镉、铅离子的含量,用ICP检测其中铜离子的含量,利用公式①计算提取率。

[0058] 3) 反应温度对稀酸浸提土壤中重金属的影响

[0059] 称取 0.2000 ± 0.0005 g标准土壤或现场土壤于50mL离心管中,加入稀酸溶液4mL,振荡30s,分别于20、40、60、80℃下反应20min,然后于8000rpm转速下离心10min,取上清液,用二次水定容至10mL,每组设三个平行和一组空白对照。用石墨炉原子吸收仪检测其中镉、铅离子的含量,用ICP检测其中铜离子的含量,利用公式①计算提取率。

[0060] 4) 最佳浸提条件下提取率的验证

[0061] 利用最佳的稀酸浸提条件,按步骤1)对土壤样品进行处理,每组设6个平行,得出最佳浸提条件下的提取率。

[0062] (2) 试验结果

[0063] 1) 稀酸浓度对土壤中重金属提取率的影响:

[0064] ①标准土壤中,不管是使用一种酸提取,还是用混合酸提取,镉、铅、铜离子的提取率随稀酸浓度的升高而升高,增加趋势随浓度增加而逐渐减小;或是超过一定浓度时,提取率稍有下降,如,对镉的提取,3M硝酸和4M硝酸的提取率略低于2M硝酸,但提取率还是在90%。

[0065] 同浓度下,三种稀酸对镉离子的提取率的大小顺序为稀硝酸>稀硫酸>稀盐酸,2M的硝酸溶液对镉离子的提取率高达92%,远高于2M的盐酸(58%)和硫酸溶液(70%);同浓度下,三种稀酸对铅离子提取率的大小顺序为稀盐酸>稀硝酸>稀硫酸,4M的盐酸溶液对铅离子的提取率高达60%,高于4M的硝酸(57%)和硫酸(8%);三种稀酸对铜离子的提取率都不高,4M的硝酸、盐酸、硫酸的提取率分别为9%、11%、9%。

[0066] 3M的盐酸、硝酸按浓度比1:1混合的稀酸溶液对镉离子的提取率明显高于其他组,达60%;4M的盐酸、硝酸按浓度比1:1混合的稀酸溶液对铅离子的提取率高达60%,显著高于同浓度下的其他两组混合稀酸;铜离子的提取率依然很低,最高仅为10%。盐酸、硫酸混合稀酸对镉离子的提取率都比较高,2M的盐酸、硫酸按浓度比1:3混合的稀酸溶液的提取率最高,达97%;3M的盐酸、硫酸按浓度比3:1混合的稀酸溶液对铅离子的提取率最高,达30%;铜离子的提取率依然很低,仅11%。硫酸、硝酸混合稀酸的对镉离子的提取率随酸浓度的变化不大,0.5M的硫酸、硝酸按浓度比1:1混合的稀酸溶液的提取率可达63%,4M的硫酸、硝酸按浓度比1:1混合的稀酸溶液的提取率最高,达71%;硫酸、硝酸混合稀酸的对铅离子的提取率不如其他组稀酸的高,且当浓度大于2M以后随浓度增加呈下降趋势,2M的硫酸、硝酸按浓度比1:3混合的稀酸溶液的提取率最高,接近20%;重金属铜离子的提取率依然不高,在10%左右。

[0067] 上述结果进行总结,如表2所示:

[0068] 表2标准土壤中提取率较高的两组稀酸溶液

[0069]	镉		铅		铜	
	稀酸溶液	提取率 (%)	稀酸溶液	提取率 (%)	稀酸溶液	提取率 (%)
	2M 硝酸	91.64	4M 盐酸	60.19	4M 盐硫 1:3	11.33
	2M 盐硫 1:3	97.27	4M 盐硝 1:1	60.43	4M 盐酸	11.47

[0070] 表中盐硫表示盐酸和硫酸,盐硝表示盐酸和硝酸,下同

[0071] ②现场采样土壤中,不管是使用一种酸提取,还是用混合酸提取,镉、铅、铜离子的提取率随稀酸浓度的升高而升高,增加趋势随浓度增加而逐渐减小;或是超过一定浓度时,提取率稍有下降。

[0072] 4M的硝酸、盐酸、硫酸对镉离子的提取率分别为67%、48%、69%,4M的硝酸、盐酸、硫酸对铅离子的提取率分别为45%、33%、12%,4M的硝酸、盐酸、硫酸对铜离子的提取率分别为7.3%、10.95%、10.43%。

[0073] 4M盐酸、4M硝酸按体积比3:1混合的稀酸溶液对镉离子的提取率最高,显著高于同浓度下的另外两组混合稀酸,接近60%;4M盐酸、4M硝酸按体积比1:1混合的稀酸溶液对铅离子的提取率最高,显著高于同浓度下的另外两组混合稀酸,达50%;4M盐酸、4M硝酸按体积比1:1得到的混合稀酸对铜离子的提取率都不高,均低于8%,三者没有显著性差异。4M盐酸、4M硫酸按体积比1:3混合的稀酸溶液对镉离子的提取率显著高于同浓度下的其他稀酸溶液,达95%,相对而言,盐酸、硫酸按不同体积比例混合的稀酸溶液对铅、铜的提取率都不高,均低于20%。3M硫酸、3M硝酸按体积比3:1混合的稀酸溶液对镉的提取率显著高于同浓度下其他混合稀酸,达68%;相对而言,重金属铅、铜的提取率都不高,均在20%以下。

[0074] 上述结果进行总结,如表3所示:

[0075] 表3采样土壤中提取率较高的两组稀酸溶液

[0076]	镉		铅		铜	
	稀酸溶液	提取率 (%)	稀酸溶液	提取率 (%)	稀酸溶液	提取率 (%)
	4M 盐硫 1:1	87.76	4M 硝酸	45.65	4M 盐硫 1:3	12.38
	4M 盐硫 1:3	95.65	4M 盐硝 1:1	50.29	4M 盐硫 1:1	12.47

[0077] 2) 反应时间对稀酸浸提土壤中重金属的影响

[0078] 采用结果1)中的表2和表3的提取率较高的酸溶液在常温(20℃)下反应分别进行浸提,结果如下:

[0079] ①标准土壤中,随反应时间延长,三种重金属离子的提取率逐渐升高。就镉离子而言,20min后,2M的盐酸、硫酸按浓度比1:3混合的稀酸溶液对镉离子的提取率未有显著提高;30min后,2M的硝酸溶液对镉离子的提取率未有显著提高,分别选择20、30min为两者的最佳反应时间。针对铅离子而言,4M的盐酸溶液对铅离子的提取率在40min后基本不发生改变,达65%,4M盐酸、硝酸按浓度比1:1混合的稀酸溶液对铅离子的提取率随反应时间延长一直增加,60min时达70%,分别选择40、60min为两者最佳的反应时间。针对铜离子而言,4M盐酸、硝酸按浓度比1:3混合的稀酸溶液对铜离子的提取率随反应时间的增加而逐渐变大,但变化趋势很小,反应时间为60min时提取率仅为15.2%;4M的盐酸溶液对铜离子的提取率随反应时间增加而变大,变化趋势也很小,反应时间为60min时提取率仅为14.1%。

[0080] ②采样土壤中,随反应时间的延长,三种重金属镉、铅、铜的提取率逐渐升高,但增长幅度逐渐变小。就镉离子而言,20min时4M盐酸、硫酸按浓度比1:3混合的稀酸溶液对镉的提取率最高,且随反应时间延长不再发生显著性变化;40min时4M盐酸、硫酸按浓度比1:1混合的稀酸溶液对镉的提取率最高,且随反应时间延长不再发生显著性变化,分别选择20、40min为两者的最佳浸提时间。针对铅离子而言,60min时4M的硝酸溶液对铅离子的提取率最高,达61%,50min时4M盐酸、硝酸按浓度比1:1混合的稀酸溶液对铅离子的提取率可达61%,而且随时间延长不再显著增大,分别选择60min、50min为两者的最佳浸提时间。针对

铜离子而言,其提取率随反应时间的延长增加幅度不明显,60min时4M盐酸、硫酸按浓度比1:3、1:1混合的稀酸溶液对铜的提取率均低于20%。

[0081] 3) 反应温度对稀酸浸提土壤中重金属的影响

[0082] 采用结果1)中的表2和表3的提取率较高的酸溶液分别进行浸提20min,结果如下:

[0083] ①标准土壤中,随着反应温度的升高,重金属镉、铅、铜的提取率逐渐升高。60℃时,2M硝酸与2M盐酸、2M硫酸按体积比1:3混合的稀酸溶液对镉离子的提取率较高,将近100%,不再随反应温度的增加发生显著变化,选择60℃为稀酸浸提镉离子的最佳温度;铅离子提取率随温度的变化幅度不大,80℃时,4M盐酸与4M盐酸、4M硝酸按体积比1:1混合的稀酸溶液对铅的提取率最高,分别为67%与72%,选择80℃为稀酸浸提铅离子的最佳温度;铜离子的提取率随温度升高而迅速增加,80℃时,4M盐酸、4M硫酸按体积比1:3混合的稀酸溶液与4M盐酸对铜离子的提取率最高,分别为46%与41%,选择80℃为稀酸浸提铜离子的最佳温度。

[0084] ②采样土壤中,随反应温度的升高,重金属的提取率逐渐升高。就镉离子而言,4M盐酸、4M硫酸按体积比1:3混合的稀酸溶液对镉的提取率在40℃后就不再发生显著变化;60℃后4M盐酸、硫酸按浓度比1:1混合的稀酸溶液对镉的提取率未发生显著变化,分别选择40℃、60℃为两者的最佳浸提温度。针对铅离子而言,4M硝酸与4M盐酸、4M硝酸按体积比1:1混合的稀酸溶液对铅的提取率随温度的增加一直增加,选择80℃为两者的最佳浸提温度。针对铜离子而言,其提取率随反应温度的增加趋势很明显,选择80℃为4M盐酸、4M硫酸按体积比1:3、1:1混合的稀酸溶液的最佳浸提温度。

[0085] 4) 最佳浸提条件下提取率的验证,结果如表4所示:

[0086] ①对于标准土壤:

[0087] 1mL 2M盐酸和3mL 2M硫酸混合得到的稀酸溶液,振荡30s,于60℃下浸提土壤20min,重金属镉的提取率都在95%以上,RSD<4%,重现性良好,可以代替国标法。

[0088] 2mL 4M盐酸和2mL 4M硝酸混合得到的稀酸溶液,振荡30s,于80℃下浸提土壤60min,重金属铅的提取率都在70%以上,RSD<4%,重现性良好,可以代替国标法。

[0089] 1mL 4M盐酸和3mL 4M硫酸混合得到的稀酸溶液,振荡30s,于80℃下浸提土壤60min,重金属铜的提取率较低,在50%左右,RSD<5%,重现性良好。

[0090] ②对于采样土壤:

[0091] 1mL 4M盐酸和3mL 4M硫酸混合得到的稀酸溶液,振荡30s,于40℃下反应20min,重金属镉的提取率都在95%以上,RSD<4%,重现性良好,可以代替国标法。

[0092] 2mL 4M盐酸和2mL 4M硝酸混合得到的稀酸溶液,振荡30s,于60℃下反应50min,重金属铅的提取率都在70%以上,RSD<4%,重现性良好,可以代替国标法。

[0093] 1mL 4M盐酸和3mL 4M硫酸混合得到的稀酸溶液,振荡30s,于80℃下反应60min,重金属铜的提取率较低,在50%左右,RSD<5%,重现性良好。

[0094] 表4最佳浸提条件下的土壤样品重金属提取率

样品	元素	最佳条件					
		稀酸溶液	最佳浓度 (mol/L)	最佳时间 (min)	最佳温度 (°C)	提取率 (%)	RSD (%)
[0095] 标准土壤	Cd	盐酸+硫酸 (1:3)	2	20	60	98.86	2.38
	Pb	盐酸+硝酸 (1:1)	4	60	80	75.42	3.55
	Cu	盐酸+硫酸 (1:3)	4	60	80	51.14	3.21
现场采样土壤	Cd	盐酸+硫酸 (1:3)	4	20	40	97.68	3.24
	Pb	盐酸+硝酸 (1:1)	4	50	80	74.53	3.14
	Cu	盐酸+硫酸 (1:3)	4	60	80	43.48	4.27

[0096] 4、稀酸浸提的加标回收实验

[0097] (1) 土壤样品的微波消解条件如表5所示,具体步骤如下:

[0098] 1) 称取 0.2000 ± 0.0005 g的土壤样品三份于样品杯中,在通风橱中分别加入2mL HNO_3 、2mL HF、1mL HCl,轻轻摇匀,保证样品全部浸泡在酸液中,并做空白对照。

[0099] 2) 将六联体微波消解罐安装好,放入微波消解仪中,按表5设定升压程序并启动。

[0100] 3) 消解结束后,取出六联体消解罐于通风橱中自然冷却,然后于150°C条件下进行赶酸,当溶液剩余黄豆粒大小(约1mL)时停止赶酸。自然冷却后,将酸液转移至25mL的容量瓶中,超纯水定容至25mL,用石墨炉原子吸收仪检测其中镉、铅离子的含量,用ICP检测其中铜离子的含量。

[0101] 表5土壤样品的微波消解方法

步骤	P (MPa)	T (min)	W (w)
1	0.3	3	400
2	0.8	3	600
3	1.3	3	600
4	1.8	20	600

[0103] (2) 选择最佳的稀酸浸提条件,对样品进行加标回收实验,验证稀酸浸提法的可行性,公式如下:

[0104] 加标回收率 = $\frac{\text{加标后} - \text{加标前}}{\text{加标量}} \times 100\%$ ②

[0105] 采用加标回收的方式验证稀酸浸提法的可行性。由表6可知,国标法处理标准土壤Gss-7中重金属镉、铅、铜的加标回收率为97-104%,稀酸浸提法的加标回收率为92%-102%;国标法处理采样土壤中重金属镉、铅、铜的加标回收率为95-99%,稀酸浸提法的加标回收率为92%-98%。整体看来,稀酸浸提法的回收率略低于国标法,但都在90%以上,尤其是重金属镉的回收率,和国标法相当,结果可靠,但国标法使用的浓酸溶液对空白值影响较大而且需要借助大型仪器完成操作,相比而言稀酸浸提法简单易行、操作简便,可以代替国标法。

[0106] 表6稀酸浸提法与国标法的加标回收率

样品	重金属	稀酸浸提法				微波消解法			
		加标前 ($\mu\text{g/g}$)	加标量 ($\mu\text{g/g}$)	加标后 ($\mu\text{g/g}$)	回收率 (%)	加标前 ($\mu\text{g/g}$)	加标量 ($\mu\text{g/g}$)	加标后 ($\mu\text{g/g}$)	回收率 (%)
[0107] 标准土壤	Cd	0.09	0.08	0.18	102	0.09	0.08	0.17	102
	Pb	9.40	8.45	17.18	92	12.46	11.25	23.33	97
	Cu	51.32	46.20	94.75	94	100.63	90	194.22	104
采样土壤	Cd	0.30	0.28	0.58	98	0.31	0.28	0.58	98
	Pb	9.06	8.2	16.65	93	12.15	11	22.83	97
	Cu	49.15	44.25	90.35	93	112.86	100	208.39	96

[0108] 实施例2二氧化钛对重金属离子的吸附与洗脱

[0109] 1、二氧化钛的预处理

[0110] 二氧化钛(锐钛,亲水亲油型,5-10nm,纯度99.8%,广州化学试剂厂)在使用前用5M的硝酸浸泡30min,然后于4000rpm下离心10min,去掉上清,用二次水进行洗涤,直至将上清液洗至中性,对沉淀物进行抽滤,然后于100℃下烘干,研磨过筛后于避光干燥处保存备用。

[0111] 2、纳米 TiO_2 对重金属离子的吸附与洗脱

[0112] 1) 试验步骤

[0113] (A) pH对纳米 TiO_2 吸附率的影响

[0114] 在50mL的具塞比色管中加入2mL $1\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的镉离子标准溶液,然后加入40mL稀酸浸提模拟液(即取4M的盐酸100mL、4M的硫酸300mL,用超纯水定容至1L),充分混匀后用浓氨水(25%)和稀盐酸(2M)调节至所需酸度(pH分别为1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.5、5.5、6.5、7.5、8.5、9.5、10.5,每个pH设3个平行和一个空白),超纯水定容至50mL,加入50mg纳米 TiO_2 ,振荡10min,静置20min后于4000rpm下离心8min,移取上清液(A),沉积物用二次水充分洗涤后,加入1mL洗脱剂(0.1M $\text{EDTA} \cdot 2\text{Na}$ 溶液),振荡15min,静置20min后于4000rpm下离心8min,移取上清液(B),用ICP-AES测定(A)与(B)中镉离子的含量,分别按公式③和公式④计算吸附率和/或回收率。重金属铅、铜分别参照此方法进行。

$$[0115] \quad \text{吸附率} = \frac{\text{吸附前重金属含量} - \text{吸附后重金属含量}}{\text{吸附前重金属含量}} \times 100\% \text{ ③}$$

$$[0116] \quad \text{回收率} = \frac{\text{洗脱后重金属含量}}{\text{吸附前重金属含量}} \times 100\% \text{ ④}$$

[0117] (B) 加入纳米 TiO_2 后的振荡时间对纳米 TiO_2 吸附率的影响

[0118] 试验方法基本同步骤(A),区别仅在于:分别调节铅离子、镉离子、铜离子溶液的pH为8.5,分别振荡1、5、10、15、20min,每组设3个平行。

[0119] (C) 吸附剂质量对纳米 TiO_2 吸附率的影响

[0120] 试验方法基本同步骤(A),区别仅在于:分别调节铅离子、镉离子、铜离子溶液的pH为8.5,分别加入10、25、50、75、100mg的纳米 TiO_2 ,每组设3个平行和一个空白。

[0121] (D) 洗脱剂浓度的选择

[0122] 试验方法基本同步骤(A),区别仅在于:分别调节铅离子、镉离子、铜离子溶液的pH为8.5,分别加入1mL浓度分别为0.0001、0.001、0.01、0.1、0.2M的 $\text{EDTA} \cdot 2\text{Na}$ 溶液,每组设3个平行和一个空白。

[0123] (E) 加入洗脱剂后的振荡时间对洗脱效果的影响

[0124] 试验方法基本同步步骤(A),区别仅在于:分别调节铅离子、镉离子、铜离子溶液的pH为8.5,加入1mL浓度为0.1M的EDTA·2Na溶液,分别振荡1、5、10、15、20min,每组设3个平行和一个空白。

[0125] (F) 洗脱剂体积对镉离子洗脱效率的影响

[0126] 试验方法基本同步步骤(A),区别仅在于:调节镉离子溶液的pH为8.5,固定洗脱剂浓度为0.1M,分别加入0.5、0.75、1、1.5、2mL的EDTA·2Na溶液于吸附后的纳米TiO₂沉淀中,振荡15min,静置20min后离心,每组设3个平行和一个空白。用ICP-AES测定(A)和(B)中镉离子的含量,计算不同体积下EDTA·2Na对镉离子的回收率。

[0127] (G) 纳米TiO₂对镉离子静态吸附容量的测定

[0128] 试验方法基本同步步骤(A),区别仅在于:调节镉离子溶液的pH为8.5。

[0129] 2) 试验结果

[0130] (A) pH对纳米TiO₂吸附率的影响

[0131] 试验结果表明,纳米TiO₂对重金属镉、铅、铜等的吸附率随pH值的增加而增大,当pH分别为4.0、7.5、8.5时,铅、铜、镉等重金属离子基本上可以被纳米TiO₂完全吸附(即接近100%),为保证三种重金属离子可以被同时最大吸附,选择最佳的吸附pH为8.5。

[0132] (B) 振荡时间对纳米TiO₂吸附率的影响

[0133] 试验结果表明,当振荡时间增加到5min时纳米TiO₂对重金属离子的吸附率已经达到90%以上,10min后不再发生显著变化,基本达到完全吸附,选择10min为吸附时的最佳振荡时间。

[0134] (C) 吸附剂质量对纳米TiO₂吸附率的影响

[0135] 试验结果表明,当样品液体积为50mL、纳米TiO₂的质量为50mg时,三者的吸附率最高,选择50mg为TiO₂吸附的最佳质量。

[0136] (D) 洗脱剂浓度的选择

[0137] 试验结果(表7)表明,EDTA·2Na浓度越高,重金属离子的洗脱效果越好,0.1M的EDTA·2Na对三者的洗脱率可达97%以上,0.2M的EDTA·2Na对三者的洗脱率与0.1M时没有显著性差别,选择0.1M为EDTA·2Na的最佳洗脱浓度。

[0138] 表7不同EDTA·2Na浓度下重金属的回收率(%)

[0139]	EDTA·2Na(M)	镉	铅	铜
	0.0001	53.45	57.70	54.62
	0.001	76.84	74.35	72.87
	0.01	90.18	92.47	89.36
	0.1	97.84	98.45	98.78
	0.2	98.28	97.33	98.26

[0140] (E) 振荡时间对洗脱效果的影响

[0141] 试验结果表明,随振荡时间的增加,重金属回收率逐渐增加,当振荡时间增加到10min时重金属回收率已经达到90%以上,15min以后纳米TiO₂对三者的回收率未有显著提高,选择15min为EDTA·2Na洗脱时的最佳振荡时间。

[0142] (F) 洗脱剂体积对镉离子洗脱效率的影响

[0143] 试验结果表明,随着体积的增大,EDTA·2Na对镉离子的回收率逐渐增大,当体积为1mL时,回收率最大,基本上可以完全回收,选择1mL为EDTA·2Na洗脱时的最佳体积。纳米TiO₂对50mL的稀酸浸提模拟液中的镉离子进行吸附,最后可由1mL0.1M的EDTA·2Na溶液定

量洗脱,可见纳米 TiO_2 对镉离子的富集倍数高达50倍。

[0144] (G) 纳米 TiO_2 对镉离子静态吸附容量的测定

[0145] 静态吸附容量是衡量吸附剂好坏的一个重要因素,在确定的最佳条件下对镉离子进行吸附,通过原子吸收光谱测得镉离子的静态吸附容量为 $7.9\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

[0146] 实施例3稀酸浸提—胶体金免疫层析试纸条的验证

[0147] 1、胶体金免疫层析试纸条检测限的确定

[0148] 1) 试验方法:以 $0.1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 $\text{EDTA} \cdot 2\text{Na}$ 溶液为溶剂,将 $1\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的镉离子标准溶液稀释到150、300、600、900、1200 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 等浓度:取80 μL 用镉离子胶体金免疫层析试纸条(深圳三方圆生物科技有限公司)检测,3-5min内立即读值,观察结果并拍照,每个浓度重复5次,考察镉离子胶体金免疫层析试纸条的检测限。

[0149] 2) 试验结果:本文定义胶体金免疫层析试纸条的定量下限:肉眼能明显区别检测线(T)比控制线(C)颜色浅,此时的浓度为试纸条的定量下限。实验结果表明,随镉离子浓度的增加,T线的颜色逐渐变浅,150 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时T线颜色明显比C线颜色浅,600 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时T线完全消失,确定胶体金试纸条的定量下限为150 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

[0150] 2、盐度对胶体金免疫层析试纸条的影响

[0151] 1) 试验方法:按步骤1中的方法配制600 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的镉离子试样溶液,加入氯化钠固体,配制成下列盐度的试样溶液:5、10、20、30、40、50、60、70‰,用胶体金免疫层析试纸条进行检测,3-5min读值,观察结果并拍照,每个浓度重复5次,对比不同盐度下试纸条显色的变化,考察盐度对镉离子胶体金免疫层析试纸条的影响情况。

[0152] 2) 试验结果:600 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 镉离子浓度下不同盐度对胶体金试纸条的影响如下:当盐度在0-50‰之间时试纸条的T线没有明显的变化;当盐度高于50‰时,T线颜色发生变化,肉眼可明显分辨出颜色的不同,此时按照之前方法进行判读则容易造成假阴性,所以检测液的盐度应控制在50‰以内。

[0153] 3、镉离子胶体金免疫层析试纸条的特异性

[0154] 1) 试验方法:按步骤1中的方法分别配制50、150、300、600、1200 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 镉、铬、铜、汞、铁、铅、锌、镁、锰、钙等试样溶液,用胶体金层析试纸条进行检测,3-5min读值,观察结果并拍照,每个浓度重复5次。

[0155] 2) 试验结果:用镉离子胶体金试纸条检测不同的重金属离子,3-5min读值,观察结果并对比。表8的结果显示,试纸条检测非镉离子各个浓度下的结果都为阴性,无假阳性、假阴性,说明镉离子胶体金试纸条的特异性良好。

[0156] 表8不同金属离子对胶体金试纸条的影响

[0157]

金属离子	金属离子浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)					
	0	50	150	300	600	1200
Cd(II)	-	-	+	+	++	++
Cu(II)	-	-	-	-	-	-
Hg(II)	-	-	-	-	-	-
Fe(II)	-	-	-	-	-	-
Pb(II)	-	-	-	-	-	-
Zn(II)	-	-	-	-	-	-
Mn(II)	-	-	-	-	-	-
Mg(II)	-	-	-	-	-	-
Ga(II)	-	-	-	-	-	-
Cr(II)	-	-	-	-	-	-

[0158] 注：“-”阴性，“+”弱阳性，“++”阳性

[0159] 4、镉离子胶体金免疫层析试纸条与ICP检测的符合率实验

[0160] 1) 试验方法: 分别称取 $0.2000 \pm 0.0005\text{g}$ 的标准土壤和实际采集的土壤样品于50mL离心管中, 加入1mL浓度为4M的盐酸和3mL浓度为4M的硫酸, 振荡30s, 常温下反应20min后于8000rpm下离心10min, 取上清液, 然后用超纯水定容至10mL, 4°C 保存备用。按照前述方法制备得到的稀酸浸提液, 用氨水调节pH至8.5 (A), 分别取5、10、25、50mL的样品液于50mL离心管中, 加入50mg纳米 TiO_2 , 振荡10min, 静置20min后于4000rpm下离心8min, 加入1mL 0.1M的EDTA·2Na溶液, 振荡15min, 静置20min后于4000rpm下离心8min, 取上清液 (B), 分别用胶体金试纸条和ICP对B液进行检测, 比较两种方法的符合率。

[0161] 2) 试验结果 (表9):

[0162] 使用胶体金试纸条检测土壤中的结果与ICP检测结果符合度良好, 假阳性与假阴性率为0。胶体金试纸条对样品中镉离子的定量下限达 $150\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 纳米 TiO_2 对镉离子的最高富集倍数为50倍, 所以胶体金试纸条对实际样品中镉离子的检测限可达 $3\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 可满足我国《无公害食品水产品中有毒有害物质限量》中最低限量和《土壤环境质量标准》中一级土壤标准的检测要求。

[0163] 表9两种检测方法的符合率对比

[0164]

样品	富集前浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	富集倍数	胶体金检测	ICP 检测 ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
标准土壤	8.25	5	-	40
		10	-	81
		25	+	198
		50	++	405
现场土壤	11.16	5	-	54
		10	-	108
		25	+	261
		50	++	538

[0165] 注：“-”阴性，“+”弱阳性，“++”阳性

[0166] 对比例1

[0167] 1) 试验方法: 分别称取 $0.2000 \pm 0.0005\text{g}$ 的标准土壤和实际采集的土壤样品于50mL离心管中, 加入1mL浓度为4M的盐酸和3mL浓度为4M的硫酸, 振荡30s, 常温下反应20min后于8000rpm下离心10min, 取上清液, 然后用超纯水定容至10mL, 4°C 保存备用。按照前述方

法制备得到的稀酸浸提液,用强碱溶液(5M氢氧化钠溶液、5M氢氧化钾溶液)调节pH至9.5(A),分别取5、10、25、50mL的样品液于50mL离心管中,加入50mg纳米 TiO_2 ,振荡10min,静置20min后于4000rpm下离心8min,加入1mL0.3M的EDTA·2Na溶液,振荡15min,静置20min后于4000rpm下离心8min,取上清液(B),分别用胶体金试纸条和ICP对B液进行检测,比较两种方法的符合率。

[0168] 2) 试验结果:

[0169] 使用胶体金试纸条检测,检测不出。ICP能有效检出,结果和实施例3相同。可见,在用50mg纳米 TiO_2 进行富集时,用强碱调节pH值会干扰到最后胶体金试纸条的检测,而不影响ICP的检测结果。

[0170] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制,其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。