

### 生物样品中氚分析方法

Analytical method for tritium in biological samples

2021 - 06 - 04 发布

2021 - 07 - 03 实施

---



## 目 次

前言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 方法原理.....	1
5 仪器与设备.....	1
6 试剂与材料.....	2
7 样品采集与保存.....	2
8 分析步骤.....	2
8.1 组织自由水氙的提取.....	2
8.2 有机结合氙的提取.....	2
8.3 蒸馏.....	3
8.4 制备试样.....	3
8.5 测量.....	3
9 分析结果计算.....	4
9.1 计数效率.....	4
9.2 生物样品中组织自由水氙活度浓度.....	4
9.3 生物样品中有机结合氙活度浓度.....	4
9.4 探测下限（LLD）.....	5
10 精密度和准确度.....	5
11 质量保证与质量控制.....	5
11.1 仪器设备.....	5
11.2 样品分析.....	5
12 不确定度.....	6
12.1 不确定度分量的评定.....	6
12.2 合成标准不确定度的评定.....	7
12.3 扩展不确定度的计算.....	7
附录 A（规范性） 氧化燃烧装置示意图.....	8
附录 B（规范性） 生物样品采集预处理.....	9
附录 C（资料性） 精密度和准确度.....	10
C.1 精密度.....	10
C.2 准确度.....	10
参考文献.....	11



## 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。

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。

本文件由广西壮族自治区生态环境厅提出、宣贯并归口。

本文件主要起草单位：广西壮族自治区辐射环境监督管理站。

本文件主要起草人：黄伊林、彭崇、陈宝才、韦湫阳、林明媚、何贤文、冯亮亮、岑旭、毛位新。



# 生物样品中氚分析方法

## 1 范围

本文件规定了环境生物样品中氚的分析方法。  
本文件适用于广西行政区内环境生物样品中氚的测定。

## 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。

- HJ 61—2021 辐射环境监测技术规范
- HJ 168—2020 环境监测分析方法标准制订技术导则
- HJ 1126—2020 水中氚的分析方法

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**液体闪烁谱仪** liquid scintillation spectrometer

通过对辐射能量传递至液态闪烁体所产生的荧光进行计数，检测和测量被分析样品中电离辐射强度的仪器，简称液闪谱仪。

### 3.2

**组织自由水氚** tissue free water tritium

生物组织所含水中的氚。

### 3.3

**有机结合氚** organically bound tritium

生物体内结合在有机分子中的氚。

## 4 方法原理

生物中氚是以组织自由水氚（TFWT）和有机结合氚（OBT）形式存在。本文件规定组织自由水氚通过真空冷冻干燥方式收集，有机结合氚经氧化燃烧后冷凝收集。收集的组织自由水氚和有机结合氚水样，加入高锰酸钾，经常压蒸馏纯化后，馏出液与闪烁液按一定比例混合得到待测试样，采用低本底液闪谱仪测得样品中氚的计数率，经本底、效率校正后，得出样品中氚的活度浓度。

## 5 仪器与设备

- 5.1 分析天平，感量 0.1 mg，量程大于 100 g。
- 5.2 蒸馏瓶，50 mL、500 mL。

- 5.3 蛇形冷凝管。
- 5.4 磨口塞玻璃瓶，100 mL、1 000 mL。
- 5.5 真空冷冻干燥机，冷阱温度 $\leq -70$  °C，真空度 $\leq 10$  Pa。
- 5.6 元素分析仪，测量样品中氢元素质量分数，不确定度 $\leq 3\%$ 。
- 5.7 氧化燃烧装置，工作温度 $\geq 750$  °C，装置示意图见附录 A。
- 5.8 低本底液闪谱仪，氡本底计数率 $\leq 2$  cpm，计数效率 $\geq 15\%$ 。
- 5.9 液闪谱仪计数瓶，20 mL。
- 5.10 电导率仪，测量范围 $0\sim 2\times 10^5$   $\mu\text{s}/\text{cm}$ ，误差 $\leq 1\%$ 。
- 5.11 一般实验室常用的仪器和设备。

## 6 试剂与材料

- 6.1 分析时应使用符合国家标准或专业标准的分析试剂和蒸馏水或同等纯度的水。试剂本底不超过仪器本底计数的统计误差。
- 6.2 高锰酸钾 ( $\text{KMnO}_4$ )，分析纯。
- 6.3 本底水，氡计数率尽量低的水，宜采用与外界交换较少的深层地下水。
- 6.4 闪烁液，光谱纯。
- 6.5 氡标准溶液，采用有证标准物质，不确定度 $\leq 3\%$ 。

## 7 样品采集与保存

- 7.1 按照 HJ 61—2021 中的相关规定采集生物样品。
- 7.2 采集到的生物样品应尽快分析。样品须保存时，植物样品应密封后在  $2$  °C $\sim 4$  °C 下冷藏保存，动物样品应密封后在  $-20$  °C $\sim -15$  °C 下冷冻保存，保存时间不宜超过 2 个月。
- 7.3 环境生物样品采集预处理方法见附录 B。

## 8 分析步骤

### 8.1 组织自由水氡的提取

- 8.1.1 生物样品切碎（剪碎），取约 1 kg，装入真空冷冻干燥机（5.5）的冻干舱，启动冷阱，待温度降到 $-70$  °C 以下后启动真空泵，采用冷冻干燥方法提取样品中组织自由水，时间不宜少于 48 h。冷冻干燥操作结束后，将真空冷冻干燥机（5.5）冷阱中融化的水样装入磨口塞玻璃瓶，获得组织自由水氡的水样，待用。
- 8.1.2 另取 5 g $\sim 15$  g 已切碎（剪碎）的鲜样装入坩埚内，放入烘箱，在  $105$  °C 下烘 1.0 h，取出后将坩埚盖好，放入干燥器内 0.5 h，称重，重复干燥至前后两次质量差不超过 2 mg，即为恒重。计算鲜样与达到恒重后干样的质量差，质量差与鲜样质量的比值就是样品含水率（R）。

### 8.2 有机结合氡的提取

- 8.2.1 取按步骤 8.1.1 冷冻干燥后的干样约 100 g，按照步骤 8.1.2 烘干至恒重，将样品研磨至粉末状作为生物干样。
- 8.2.2 准确称取 50.0 mg 生物干样，使用元素分析仪（5.6）测定氢元素在生物干样中的质量分数（ $\eta$ ）。
- 8.2.3 称取生物干样 30 g $\sim 40$  g 置于氧化燃烧装置（5.7）的样品舟中，将样品舟放入氧化燃烧装置（5.7）的氧化燃烧区。



8.2.4 按照附录 A 示意图连接氧化燃烧装置(5.7),检查气密性。氧、氮混合气按 1:2 比例以 200mL/min 的流速通入炉腔,赶净空气。

8.2.5 高温催化区通入氧气,流量控制在 100 mL/min。开启冷阱、氧化燃烧装置。高温催化区温度升至 750 °C 后,以 1 °C/min 的升温速率将氧化燃烧区温度升至 350 °C,保持 30 min;然后将氧化燃烧区以 2 °C/min~4 °C/min 的速率升温至 700 °C,保持 2 h。

8.2.6 氧化燃烧处理结束后,将收集瓶取下,收集瓶中水样转入磨口塞玻璃瓶保存,获得有机结合氚的水样,待用。

### 8.3 蒸馏

8.3.1 取组织自由水氚的水样(8.1.1) 100 mL~300 mL,注入 500 mL 蒸馏瓶中,每 100 mL 水样加入 0.1 g 高锰酸钾(6.2),加入几粒沸石防止爆沸,装好蛇形冷凝管开始常压蒸馏。蒸馏时,将初始的 10 mL 馏出液弃去,然后将馏出液收集至磨口塞玻璃瓶中密封保存,待用。生物样品提取的组织自由水不足 100 mL 时,应收集全部的馏出液。

8.3.2 取有机结合氚的水样(8.2.6) 20 mL~30 mL,注入 50 mL 蒸馏瓶中,每 10 mL 水样加入 0.01 g 高锰酸钾(6.2),加入几粒沸石防止爆沸,装好蛇形冷凝管开始常压蒸馏,将馏出液全部收集至磨口塞玻璃瓶中密封保存,待用。

8.3.3 馏出液 pH 值应为 6~8,电导率  $<10 \mu\text{s}/\text{cm}$ 。若不满足,应再次蒸馏,直至满足条件。

### 8.4 制备试样

#### 8.4.1 水样与闪烁液配比确定

按照 HJ 1126—2020 中 8.3.1 规定的要求执行。

#### 8.4.2 制备本底试样

将本底水(6.3)按 8.3.1 步骤蒸馏,获取馏出液。按 8.4.1 确定的配比,取定量馏出液于液闪谱仪计数瓶(5.9)中,加入定量闪烁液,加盖密封用手摇匀,待测。

#### 8.4.3 制备待测试样

按 8.4.1 确定的配比,分别取定量的生物样品组织自由水馏出液(8.3.1)或有机结合水馏出液(8.3.2),分别置于液闪谱仪计数瓶(5.9)中,加入定量闪烁液,加盖密封用手摇匀,待测。

#### 8.4.4 制备标准试样

用本底水(6.3)将氚标准溶液(6.5)稀释至与样品同一活度浓度水平,制成氚标准使用液。按照 8.4.1 的配比,取定量的氚标准使用液(8.4.4.1)与闪烁液放入液闪谱仪计数瓶(5.9)中,加盖密封用手摇匀,待测。

### 8.5 测量

把制备好的本底试样(8.4.2),待测试样(8.4.3)和标准试样(8.4.4),一起放入低本底液闪谱仪(5.8)测量室内。试样避光 10h~12h 后,开始测量。具体操作按照 HJ 1126—2020 中 8.5 规定的要求执行。

## 9 分析结果计算

### 9.1 计数效率

计数效率按式（1）计算。

$$E = \frac{N_c - N_b}{60 \times m \times C_s} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- $E$ ——计数效率，%；
- $N_c$ ——标准试样计数率， $\text{min}^{-1}$ ；
- $N_b$ ——本底试样计数率， $\text{min}^{-1}$ ；
- $C_s$ ——标准试样活度浓度， $\text{Bq/g}$ ；
- $m$ ——标准试样重量， $\text{g}$ ；
- 60——换算系数， $\text{min}^{-1}/\text{Bq}$ 。

### 9.2 生物样品中组织自由水氡活度浓度

生物样品中组织自由水氡活度浓度按式（2）计算。

$$C_1 = \frac{N_{c1} - N_{b1}}{0.06 \times E \times M_1} \times R \dots\dots\dots (2)$$

式中：

- $C_1$ ——生物样品中组织自由水氡活度浓度， $\text{Bq/kg} \cdot \text{鲜}$ ；
- $N_{c1}$ ——组织自由水试样计数率， $\text{min}^{-1}$ ；
- $N_{b1}$ ——组织自由水本底试样计数率， $\text{min}^{-1}$ ；
- 0.06——换算系数， $0.001 \text{ kg/g} \times 60 \text{ min}^{-1}/\text{Bq}$ ；
- $E$ ——计数效率，%；
- $M_1$ ——组织自由水测量用水量， $\text{g}$ ；
- $R$ ——样品含水率。

### 9.3 生物样品中有机结合氡活度浓度

生物样品中有机结合氡活度浓度按式（3）计算。

$$C_2 = \frac{N_{c2} - N_{b2}}{0.06 \times E \times M_2 \times 11.1\%} \times \eta \times (1 - R) \dots\dots\dots (3)$$

式中：

- $C_2$ ——生物样品中有机结合氡活度浓度， $\text{Bq/kg} \cdot \text{鲜}$ ；
- $N_{c2}$ ——有机结合水试样计数率， $\text{min}^{-1}$ ；
- $N_{b2}$ ——有机结合水本底试样计数率， $\text{min}^{-1}$ ；
- 0.06——换算系数， $0.001 \text{ kg/g} \times 60 \text{ min}^{-1}/\text{Bq}$ ；
- $E$ ——计数效率，%；
- $M_2$ ——测量用有机结合水样量， $\text{g}$ ；
- 11.1%——水分子中氢元素的质量分数；
- $\eta$ ——生物干样中氢元素的质量分数；

$R$ ——样品含水率。

#### 9.4 探测下限 (LLD)

9.4.1 组织自由水氚探测下限按式 (4) 计算。

$$LLD_{TFWT} = \frac{4.65 \times \sqrt{N_b}}{0.06 \times M_1 \times E \times \sqrt{t}} \times R \dots\dots\dots (4)$$

式中:

$LLD_{TFWT}$ ——组织自由水氚探测下限, Bq/kg·鲜;

$N_b$ ——本底试样计数率,  $\text{min}^{-1}$ ;

0.06——换算系数,  $0.001 \text{ kg/g} \times 60 \text{ min}^{-1}/\text{Bq}$ ;

$M_1$ ——测量用组织自由水样量, g;

$E$ ——计数效率, %;

$t$ ——样品总测量时间, min;

$R$ ——样品含水率。

9.4.2 有机结合氚探测下限按式 (5) 计算。

$$LLD_{OBT} = \frac{4.65 \times \sqrt{N_b}}{0.06 \times M_2 \times E \times 11.1\% \times \sqrt{t}} \times \eta \times (1 - R) \dots\dots\dots (5)$$

式中:

$LLD_{OBT}$ ——有机结合氚探测下限, Bq/kg·鲜;

$N_b$ ——本底试样计数率,  $\text{min}^{-1}$ ;

$M_2$ ——测量用有机结合水样量, g;

11.1%——水分子中氢元素的质量分数;

$t$ ——样品总测量时间, min;

$\eta$ ——生物干样中氢元素的质量分数;

0.06——换算系数,  $0.001 \text{ kg/g} \times 60 \text{ min}^{-1}/\text{Bq}$ ;

$R$ ——样品含水率。

9.4.3 使用式 (4) 和式 (5) 开展探测下限计算的前提为: 待测试样和本底试样测量时间相等, 采用泊松分布标准差, 统计置信水平取 95%。

## 10 精密度和准确度

按照HJ 168—2020中7.16规定的要求执行, 测定示例见附录C。

## 11 质量保证与质量控制

### 11.1 仪器设备

仪器设备的检定或校准按照HJ 61—2021中9.3.2规定的要求执行, 液闪谱仪的性能检验按照HJ 61—2021中9.6.3规定的要求执行。

### 11.2 样品分析

按照HJ 61—2021中9.6.4规定的要求执行。

12 不确定度

12.1 不确定度分量的评定

12.1.1 液闪谱仪对样品测量的不确定度按式（6）确定。

$$u_1 = \frac{\sqrt{\frac{N_c}{t_c} + \frac{N_b}{t_b}}}{N_c - N_b} \dots\dots\dots (6)$$

式中：

$u_1$ ——液闪谱仪对样品测量的不确定度；

$N_c$ ——样品测量计数率， $\text{min}^{-1}$ ；

$N_b$ ——本底计数率， $\text{min}^{-1}$ ；

$t_c$ ——样品测量时间， $\text{min}$ ；

$t_b$ ——本底测量时间， $\text{min}$ 。

12.1.2 液闪谱仪在刻度时的不确定度按式（7）确定。

$$u_2 = \sqrt{u_{21}^2 + u_{22}^2 + u_{23}^2} \dots\dots\dots (7)$$

式中：

$u_2$ ——液闪谱仪在刻度时的不确定度；

$u_{21}$ ——标准源净计数率测量的不确定度；

$u_{22}$ ——分析天平称量标准样品的不确定度；

$u_{23}$ ——标准源的不确定度。

12.1.3 标准源净计数率测量的不确定度按式（8）确定。

$$u_{21} = \frac{\sqrt{\frac{N_s}{t_s} + \frac{N_b}{t_b}}}{N_s - N_b} \dots\dots\dots (8)$$

式中：

$u_{21}$ ——标准源净计数率测量的不确定度；

$N_s$ ——标准溶液样品测量计数率， $\text{min}^{-1}$ ；

$N_b$ ——本底计数率， $\text{min}^{-1}$ ；

$t_s$ ——标准溶液样品测量时间， $\text{min}$ ；

$t_b$ ——本底测量时间， $\text{min}$ 。

12.1.4 分析天平称量标准样品的不确定度按式（9）确定。

$$u_{22} = \delta m / (k \times m) \dots\dots\dots (9)$$

式中：

$u_{22}$ ——分析天平称量标准样品的不确定度；

$\delta m$ ——0.000 2 g；

$k$ ——置信度95%时， $k=2$ ；

$m$ ——称量样品的重量，g。

12.1.5 标准源的不确定度  $u_{23}$  由证书给出。

12.1.6 分析天平称量分析样品的不确定度  $u_3$ ，计算方法同  $u_{22}$ 。

12.1.7 含水率的不确定度为恒重前后称量不确定度的合成，按式（10）确定。

$$u_4 = \sqrt{u_{41}^2 + u_{42}^2} \dots\dots\dots (10)$$

式中：

$u_4$ ——含水率的不确定度；

$u_{41}$ ——恒重前称量不确定度；

$u_{42}$ ——恒重后称量不确定度。

$u_{41}$ 和 $u_{42}$ 计算方法同 $u_{22}$ 。

12.1.8 生物干样中氢元素含量的不确定度  $u_5$ 取元素分析仪校准证书给出的值。

## 12.2 合成标准不确定度的评定

12.2.1 测量生物组织自由水氮的不确定度  $u_{TFWT}$ 按式（11）确定。

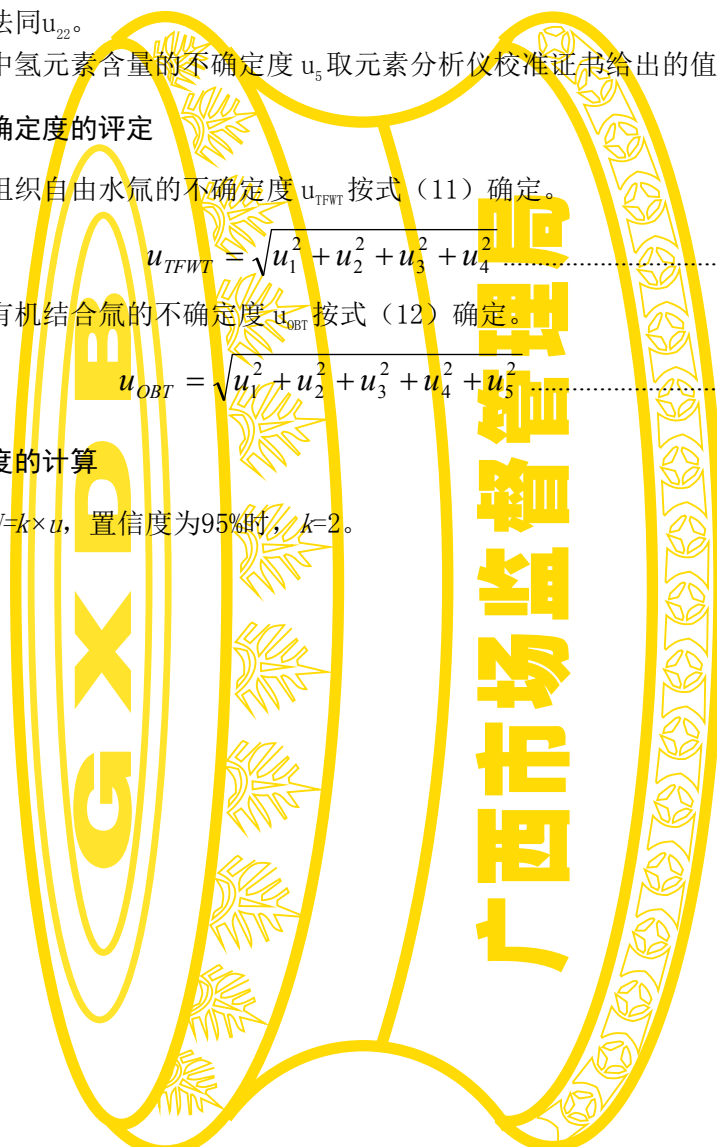
$$u_{TFWT} = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2 + u_4^2} \dots\dots\dots (11)$$

12.2.2 测量生物有机结合氮的不确定度  $u_{OBT}$ 按式（12）确定。

$$u_{OBT} = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2 + u_4^2 + u_5^2} \dots\dots\dots (12)$$

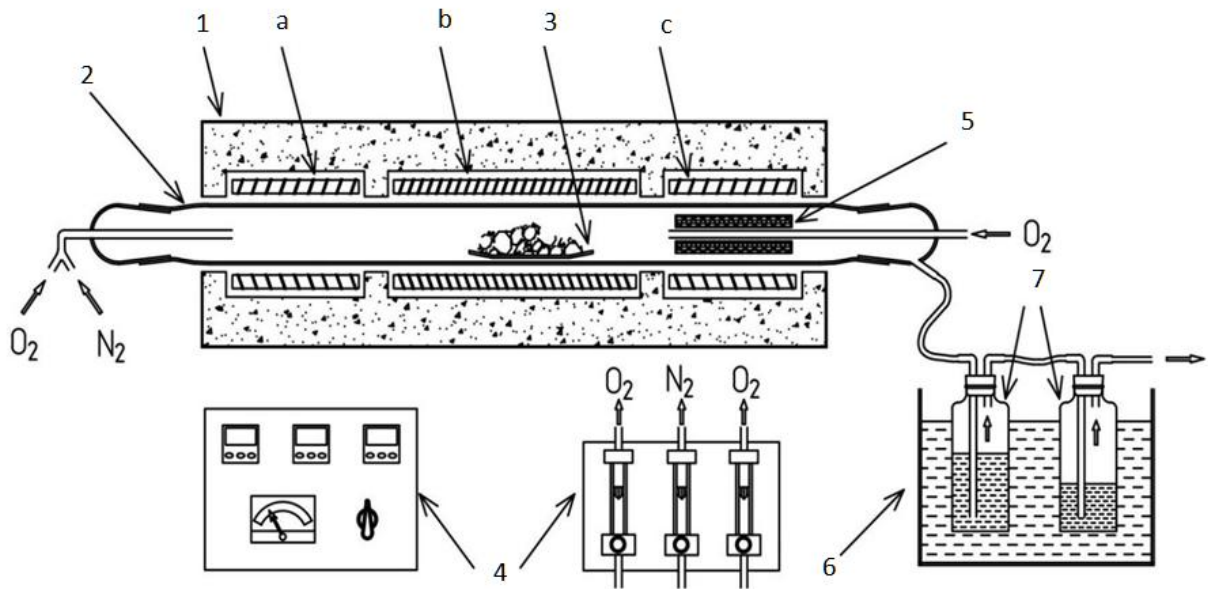
## 12.3 扩展不确定度的计算

扩展不确定度  $U=k \times u$ ，置信度为95%时， $k=2$ 。



附录 A  
(规范性)  
氧化燃烧装置示意图

氧化燃烧装置示意图见图A.1。



标引序号说明：1—氧化燃烧炉；2—石英燃烧管；3—样品舟；4—温度和气体流量控制开关；5—催化剂；  
6—冷阱；7—水汽收集瓶；a—保护区；b—氧化燃烧区；c—高温催化区。

图 A.1 氧化燃烧装置

附 录 B  
(规范性)  
生物样品采集预处理

常见的生物样品采集预处理见表 B.1。

表 B.1 生物样品采集预处理

样品种类	采样方法	样品预处理
谷类	选择当地种植品种稳定、种植面积较大的谷类，在收获季节选取生长均匀的部位现场采集。可用镰刀手动割取或用收割机收取。	脱粒，去除砂石、茎秆、杂草等杂物，称鲜重放入聚乙烯封口袋密封，保存。
蔬菜类	选择当地喜食且长年种植的蔬菜。对非结球性叶菜（菠菜、油菜等），在菜园中央距垄一定距离（如 1 m）范围内，选取生长均匀无虫害蔬菜，一次性采足；对结球性叶菜（白菜、卷心菜等）、大型果菜、根菜以及芋薯类，可在菜园中央分散选择 10 个部位，选择大小均匀的个体采集。	除去泥沙及不可食用的根、叶、腐烂部分，适当风干，称鲜重放入聚乙烯封口袋密封，保存。
家禽、畜	选择当地饲养的健康禽、畜（鸡、鸭、鹅、猪、牛、羊等）；禽类随机选取若干个体，畜类选取无骨可食肉品为样品。	宰杀后去毛皮，骨肉分离，取可食用部分。样品称鲜重后放入聚乙烯封口袋密封，保存。
水生生物	直接捕捞，也可从渔业公司或渔民处购买确知其捕捞区域的水生生物。	在样品新鲜时用净水洗净，控水。鱼类去除鳞片 and 内脏，骨肉分离取鱼肉；贝类去壳取肉。样品称鲜重后放入聚乙烯封口袋密封，保存。
乔木或灌木	选择同类样品树 5~10 棵，用镰刀或修枝剪等工具将枝叶剪下，采集鲜叶。	去除树枝和枯叶，称鲜重后放入聚乙烯封口袋密封，保存。
果实类	在果园中选择 5~10 棵果树采摘足量的样品，也可从果农处购买已采下的新鲜果实。	表皮较厚的果实应去皮取果肉。果实称鲜重后放入聚乙烯封口袋密封，保存。

附录 C  
(资料性)  
精密度和准确度

C.1 精密度

C.1.1 组织自由水氚精密度

多家实验室对组织自由水氚活度浓度为99.64 Bq/kg·鲜的茶叶和1.18 Bq/kg·鲜的羊肉样品进行了测定:

- 实验室内相对标准偏差分别为: 0.75%~3.66%, 4.91%~25.23%;
- 实验室间相对标准偏差分别为: 11.67%, 7.52%;
- 重复性限分别为: 6.89 Bq/kg·鲜, 0.42 Bq/kg·鲜;
- 再现性限分别为: 30.53 Bq/kg·鲜, 0.64 Bq/kg·鲜。

C.1.2 有机结合氚精密度

多家实验室对有机结合氚活度浓度为8.80 Bq/kg·鲜的茶叶和0.71 Bq/kg·鲜的羊肉样品进行了测定:

- 实验室内相对标准偏差分别为: 1.23%~15.89%, 6.19%~28.93%;
- 实验室间相对标准偏差分别为: 20.19%, 64.72%;
- 重复性限分别为: 2.31 Bq/kg·鲜, 0.44 Bq/kg·鲜;
- 再现性限分别为: 5.20 Bq/kg·鲜, 1.27 Bq/kg·鲜。

C.2 准确度

C.2.1 组织自由水氚准确度

多家实验室对组织自由水氚活度浓度为99.64 Bq/kg·鲜的茶叶样品进行加标分析测定:

- 加标回收率为: 92.29%~104.18%;
- 加标回收率最终值为: 97.43%±6.11%。

C.2.2 有机结合氚准确度

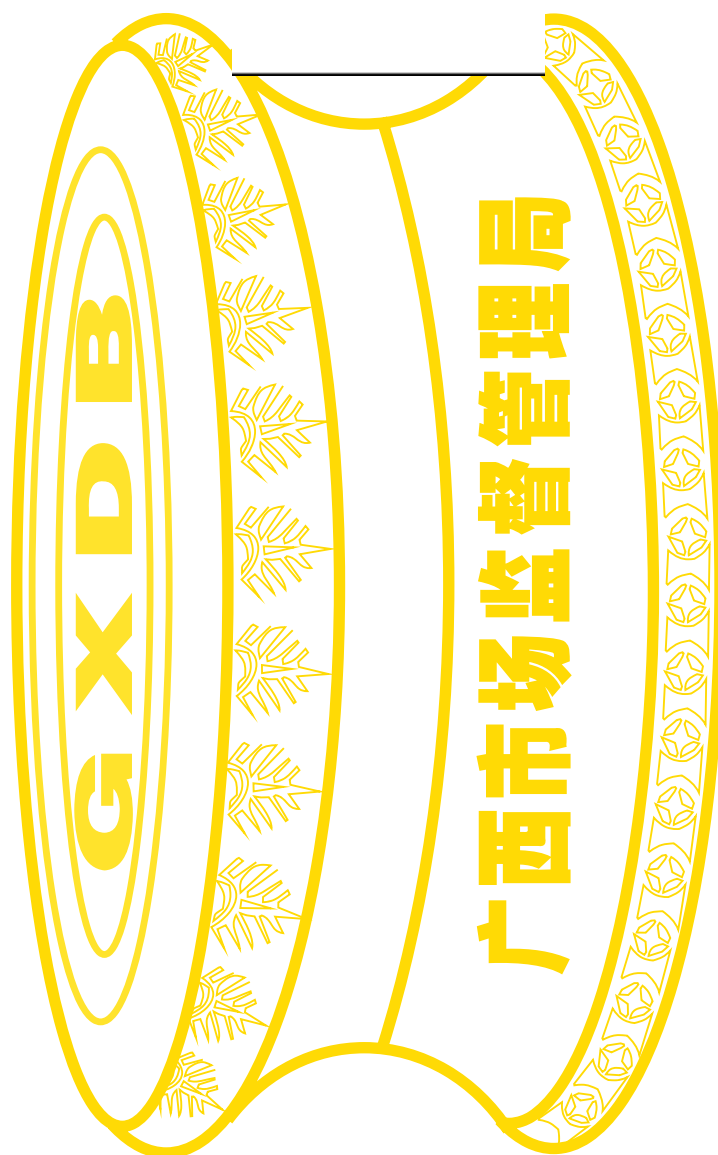
对有机结合氚活度浓度为247 Bq/kg·鲜和23.5 Bq/kg·鲜的标准样品进行测定:

- 相对误差分别为: 1.62%~5.67%, 0.43%~6.38%;
- 相对误差最终值分别为: 3.81%±3.74%, 2.72%±5.06%。



### 参 考 文 献

- [1] GB 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定
- [2] GB/T 10259 液体闪烁计数器
- [3] GB 14883.2 食品安全国家标准 食品中放射性物质氢-3的测定
- [4] GB/T 19143 岩石有机质中碳、氢、氧元素分析方法



中华人民共和国广西地方标准

生物样品中氟分析方法

**DB45/T 2319—2021**

广西壮族自治区市场监督管理局统一印制

**版权专有 侵权必究**