

# 荧光光度法测定饲料中微量硒的探讨

李晓亮 王伟 李湘

(山西农业大学测试中心, 太谷, 030801)

**摘要** 本文在前人研究的基础上对荧光法测定微量硒作了进一步的改进与简化, 结果表明, 操作简便易行。硒与 2,3-二氨基萘在酸性条件及适当的温度下, 形成络合物。用 EDTA 掩蔽干扰离子, 以环己烷萃取, 取其有机相直接在 HITACHI 650-10 LC 荧光检测器 555 nm 处(激发 374 nm)测荧光强度。避光保存时络合物至少稳定 24 h。相对标准差在 3%~5% 之间。

**关键词** 荧光光度法; 2,3-二氨基萘; 硒

**中图分类号** O644.17

硒是动物生长中必需的微量元素之一。近年来研究表明, 适量的硒具有抗癌的作用。家畜缺硒时能引起“白肌病”, 而动物体内过量地积累硒会引起慢性硒中毒。因此, 有必要对饲料中的微量硒进行测定。我们在文献(吴法宪等, 1988)的基础上作了进一步的研究, 不但简化了消化过程, 而且没有用高效液相色谱仪, 只是直接在荧光检测器上测定其荧光强度, 该法灵敏度高, 方法简便, 能够得到满意的结果。

## 1 实验部分

### 1.1 主要试剂

1.1.1 硒标准溶液 准确称取分析纯的二氧化硒 14.05 mg, 用少量 0.1 mol/L 盐酸溶解, 于 100 mL 容量瓶中, 以 0.1 mol/L 盐酸定容, 此溶液为硒 100 mg/L 的贮备液。测定时可取贮备液用 0.1 mol/L 盐酸稀释为 0.05 mg/L 的标准溶液。

1.1.2 环己烷 分析纯。

1.1.3 氨水-EDTA-溴甲酚紫混合液 准确称取 EDTA 1.448 g, 溴甲酚紫 0.002 g, 溶于 100 mL 氨水中, 加水 100 mL 混匀。

1.1.4 2,3-二氨基萘(DAN) 0.1% 溶液 称该试剂 0.05 g 于 60 mL 分液漏斗中, 加 0.1 mol/L 盐酸 50 mL, 振摇 30 min。然后加环己烷 10 mL, 振摇 10 min, 暗处静置 10 min。分层后, 将水相放入棕色磨口瓶中, 置于冰箱中 10 h 后应用。

### 1.2 仪器

HITACHI 650-10 LC 荧光检测器。

### 1.3 试验方法

1.3.1 样品处理 准确称风干试样 0.5 g 左右于 50 mL 三角瓶中, 加入硝酸 20 mL, 置砂浴上消化, 温度控制在 170 °C ~ 200 °C, 不时地轻摇动, 加热至试样溶解后加高氯酸 1 mL, 继续加热至试液 1 mL。加 6 mol/L 盐酸 0.2 mL, 低温处加热 5 min(勿摇动), 使硒还原至 4 价。

1993-04-10 收稿

加氨水-EDTA-溴甲酚紫混合液 2 mL,若已变为明显黄色即可,未变黄的试液再行低温加热。冷却后,以 0.1 mol/L 盐酸分次转移到 20 mL 刻度试管中,保持试液体积为 7 mL。同时作空白试验。

1.3.2 标准曲线的绘制 吸取硒 0.05 mg/l 的标准溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.2 mL 于 50 mL 三角瓶中,按样品处理过程进行。然后加入盐酸羟胺 30 mg,在暗室加 0.1% DAN 溶液 2 mL,摇匀,于沸水浴中加热 5 min 后,取下流水冷却,再置于冰水中冷却后,加环己烷 5 mL,振荡 5 min,于暗处放置 10 min,分层后小心地吸取有机相在荧光检测器上(其激发波长 374 nm,狭缝 10 nm;发射波长 555 nm,狭缝 6 nm)测其荧光强度,以空白调零。并绘制标准曲线。

1.3.3 样品分析 将上述样品消化液根据标准系列的操作步骤进行。以测得的荧光强度,从标准曲线上查得相应的硒含量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 DAN 用量对结果的影响

按试验方法对几份样品加入不同量的 DAN 进行了测定,结果发现,当加入 1~2 mL DAN 时,测得硒含量逐渐增大,加入 2 mL 以上时,其结果无明显变化。故选用 DAN 量不必超过 2 mL。

### 2.2 络合时间

Se-DAN 络合物的生成,需适当的温度与时间。可以在 50 ℃ 水浴中 30 min 或沸水浴中 5 min 结果一致(黄伟坤等,1989)。试验表明,加热时间过长会使结果偏低。

### 2.3 酸度对结果的影响

由图 1 可见,硒与 DAN 在酸性介质中反应,一般控制 pH 值在 1~1.5 间为宜。

### 2.4 萃取时间

萃取振荡结果表明,2~4 min 硒含量递增,振荡 5 min 时,其结果稳定,5~10 min 时无明显变化,所以选用了 5 min。

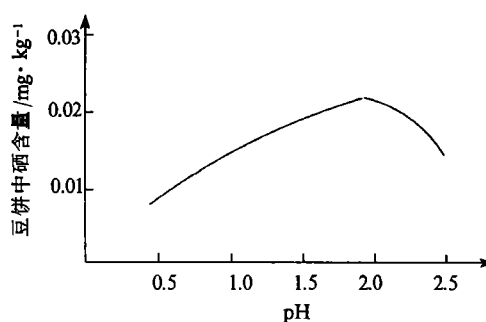


图 1 pH 值对结果的影响

## 3 样品分析结果与精密度

样品分析结果见表 1。试验过程与文献(吴法宪等,1988)相比尤为简便易行,表现在以下 3 方面。

(1) 样品消化不需用发烟硝酸,用分析纯硝酸即可。消化过程一次完成。

(2) 不需用高效液相色谱仪,直接用液相色谱仪所配备的荧光检测器测试,也能得到满意的结果。这样既减少了装柱分离等手续,又为借助于其他荧光分光光度计测定硒提供了参考价值。

(3) 从表 1 看出,对 5 种试样进行了 5 次平行试验,其相对标准偏差在 3%~5% 之间,比文献(吴法宪,1988)更加精密。

表 1 山西大同部分饲料中硒的测定结果

mg/kg

试样	测 得					$\bar{x}$	C. V/%
	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_4$	$x_5$		
豆 饼	0.015 6	0.014 6	0.016 3	0.014 9	0.016 1	0.015 5	4.76
麦 皮	0.012 4	0.013 8	0.013 3	0.012 8	0.013 6	0.013 2	4.37
玉 米	0.007 52	0.008 14	0.007 81	0.007 43	0.007 93	0.007 77	3.76
啤酒糟	0.012 0	0.012 9	0.011 8	0.012 4	0.013 1	0.012 4	4.51
骨 粉	0.020 7	0.021 2	0.020 9	0.019 6	0.021 5	0.020 8	3.49

## 参 考 文 献

- 吴法宪, 张喜才. 1988. 柱前螯合萃取——高效液相色谱法测定痕量硒. 分析化学, 16(4): 328 ~ 330
- 黄伟坤, 唐英章, 黄焕昌, 等. 1989. 食品检验与分析. 北京: 轻工业出版社, 240 ~ 243

## A STUDY ON USING THE SPECTROFLUOROMETRIC METHOD FOR DETERMINING TRACE SELENIUM IN FODDER

Li Xiaoliang Wang Wei Li Xiang

(Testing Central, Shanxi Agr. Univ. , Taigu, 030801)

## Abstract

The method of spectrofluorometric determination of trace Se was improved and simplified based on the earlier studies. Under conditions of appropriate acidity and temperature, the fluorescent Se-2,3-diaminonaphthalene complex was formed by chelation in the presence of EDTA and then separated from interfering fluorescent species by extraction with cyclohexane. The intensity of its fluorescent emission can be measured directly at 555 nm (excitation at 374 nm) by the HITACHI 650-10LC Fluorescence Spectrophotometer. The relative standard deviation was 3% ~ 5%.

**Key words** spectrofluorometric method; 2, 2-diaminonaphthalene (DAN); selenium