

## 气相色谱法分析生物样品中的微量硒

徐福正 李 从 金秀兰

(中国科学院环境化学研究所)

由于微量元素与人体健康有密切联系,因此人体化学逐渐引起人们的兴趣。

继 1961 年 Schwarz 提出蛋白质不良症与动物体内缺硒有关后,硒被证明为人体必需的微量元素,受到人们的关注。1981 年我国公布克山病、地方性大骨节病系缺硒所致。深入研究表明,微量元素过多或缺少都会导致疾病。因此研究体内微量元素适宜的临界含量十分重要。

血硒是体内摄入硒量的反映,是暂时的直接指标;尿硒表示体内的排硒量;发硒则代表身体在一段时期的积蓄情况。人们往往以这三种样本进行人体微量元素分析的研究。

分析生物样品中的硒常用中子活化、氢化物原子吸收、阳极溶出、荧光比色法等,其中硒与邻苯二胺类衍生的硒二唑化合物比较特效,用电子捕获的气相色谱进行分析,近年来报道较多<sup>[1]</sup>。C. F. Poole 曾用该法分析血、尿、发中的硒<sup>[2]</sup>,样品经硝酸-硫酸镁低温湿法消解 2 至 3h, 后于马弗炉 500℃ 干法灼烧,再以浓盐酸还原测定硒,方法耗时费事。我们采用钼酸钠催化,硫酸和高氯酸消解血、尿、发生物样品,仅需约 30 分钟即可消解完毕,既省时又可直接在高至 5N 的酸性消化液中直接萃取测定微量硒,方法灵敏、选择性好、简便、适于常规分析。

### 一、实 验

#### 1. 仪器及色谱条件

GC-6AM 型气相色谱仪(日本岛津制作

所),带  $^{63}\text{Ni}$  电子捕获检测器分析硒。色谱柱为  $1\text{m} \times 3\text{mm}$  装填 10% SE-52/Shimalite W (60—80 目)的玻璃柱;柱温 215℃;检测室和汽化室温度 230℃;高纯氮气流速 78ml/min。

#### 2. 试剂

硒标准溶液: 溶解 140.5mg 二氧化硒于 100ml 水中配成 1 mg 硒/ml 的贮备液,工作溶液用水逐级稀释。

4-硝基邻苯二胺(NPDA)盐酸溶液, 1%, 1g NPDA<sup>[3]</sup>溶于 100ml 1 mol 盐酸中,用提纯甲苯萃取洗涤两次,冰箱保存。

钼酸钠溶液 5%

无硒硫酸 400 ml 9 mol 硫酸加 30 ml 40% 氢溴酸,加热蒸发至冒浓烟。

混合酸(3+4) 无硒硫酸+高氯酸。

7 mol 盐酸 用提纯甲苯洗涤除去干扰物。

甲苯 用浓硫酸和氢氧化钠洗涤后水洗至中性,以无水氯化钙干燥后蒸馏,收集 110—111℃ 馏份备用。

人血样,尿样。

动物血 由澳大利亚医学畜牧研究所提供。

头发样 洗涤剂洗去碎发上的油脂,水浸泡后超声清洗 10 min, 滤干后以 95% 乙醇超声清洗 10 min 后于红外灯下烘干备用。

#### 3. 测定步骤

(1) 标准曲线 在分液漏斗中放 0—0.2  $\mu\text{g}$  硒标准溶液,加 0.5ml 冒过烟的混酸, 0.5 ml 钼酸钠;加水至 20ml,混匀后加 1ml NPDA

溶液,置 80℃ 烘箱加热 15min,冷却后以 1ml 甲苯萃取 2min 继用 2ml 7mol 盐酸洗涤甲苯层半 min,取 2 $\mu$ l 甲苯提取液注入色谱仪,由测得峰高对硒量作标准曲线如图 1。

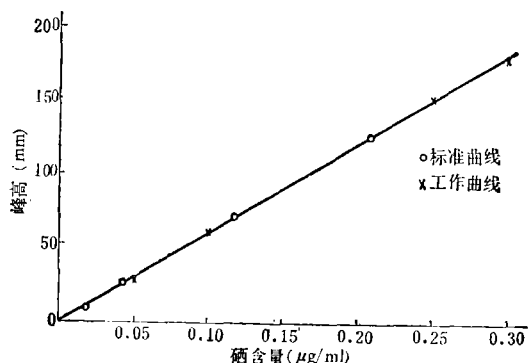


图 1 血硒标样工作曲线和硒溶液标准曲线

(2) 样品的消解与测定 在三角烧瓶中放 0.05 至 0.5 ml 液体样品或 0.1 至 1 g 固体样品,加 4 至 5ml 混合酸,0.5—2ml 钼酸钠,瓶口架一小漏斗,在低温电炉上加热至溶液变清转绿后再高温加热至高氯酸烟冒完。将

表 1 样品与标准参考物硒的分析结果

| 样品名称                          | 测定值(ppm)                                       | 标准值或参考值 (ppm)        |
|-------------------------------|------------------------------------------------|----------------------|
| 桃叶 82-301                     | 0.032                                          | 0.04                 |
| 牛肝 NBS 1577<br>1577a          | 1.21<br>0.65                                   | 1.1±0.1<br>0.71±0.07 |
| 人血 A<br>B                     | 0.235*(3)<br>0.150*(2)                         |                      |
| 动物血 A<br>RM-4<br>RM-6<br>冰冻干燥 | 0.009*(7)<br>0.033*(6)<br>0.018*(7)<br>1.15(2) |                      |
| 1<br>人发 2<br>3                | 0.11(5)<br>0.14(4)<br>0.085(3)                 |                      |
| 人尿 1<br>2                     | 0.035*(4)<br>0.021*(2)                         |                      |
| 青稞酒(西藏)                       | 0.74*(3)                                       |                      |

注: 括号内数字为分析的样品数, \* 为  $\mu$ g/ml

此消解液加水至 20 ml, 如标准曲线步骤操作, 由测得样品峰高查标准曲线得含硒量。

## 二、结果与讨论

### 1. 用本法分析了人血、动物血、冰冻干燥

表 2 本方法测硒的重现性

| 样 品      | 测定次数 | 含硒量 ( $\mu$ g/ml) | 相对标准偏差(%) |
|----------|------|-------------------|-----------|
| RM-3     | 8    | 1.206±0.048       | 4.0       |
| 动物血 RM-4 | 6    | 0.033±0.004       | 12        |
| RM-5     | 7    | 0.216±0.012       | 5.5       |
| RM-6     | 7    | 0.018±0.0015      | 8.3       |
| RM-E     | 6    | 0.617±0.02        | 3.2       |
| 人 尿      | 4    | 0.035±0.004       | 11.4      |
| 1        | 5    | 0.11±0.009(ppm)   | 8.2       |
| 人发 2     | 4    | 0.131±0.07(ppm)   | 5.4       |
| 3        | 4    | 0.144±0.011(ppm)  | 7.6       |

表 3 样品加入硒的回收率

| 样品名称          | 测得硒 ( $\mu$ g)                   | 加入硒( $\mu$ g) | 回收率(%)     |
|---------------|----------------------------------|---------------|------------|
| 人 血           | 0.047<br>0.068<br>0.067          | 0.02<br>0.02  | 105<br>100 |
| 动物血           | 0.0065<br>0.0082<br>0.0278       | 0.02          | 102        |
| 人发 1          | 0.044<br>0.039<br>0.084          | 0.04          | 105        |
| 人发 2          | 0.061<br>0.062<br>0.070<br>0.105 | 0.04          | 103        |
| 人尿 1          | 0.0076<br>0.0163                 | 0.01          | 87         |
| 人尿 2          | 0.0043<br>0.004<br>0.015         | 0.01          | 108        |
| NBS 牛肝 1577 a | 0.065<br>0.084                   | 0.02          | 95         |

血、尿、发等生物样品及酒中的微量硒，并用标准参考物 NBS 牛肝 1577a 和 1577，桃叶 82-301 进行校核，测定值与标准值符合，结果列入表 1。

2. 对样品进行多次重复测定，结果表明方法重现性好。试样加入标准硒溶液经消解处理后测定，硒基本上回收无损失，结果如表 2，表 3。

3. 节省时间是本法的优点之一。由于生物样品中硒含量极低，硒又容易挥发，操作时间长硒容易沾污、损失。本实验在钼酸钠催化下，用混合酸进行消解，约需 0.5 h 就可将有机物完全分解，由图 2 可看出，消解效果良好，无干扰的杂质峰，比 Poole<sup>[2]</sup> 用于湿法结合的消解法节省 2h，且无须进行硒的还原处理，只须用水稀释便可测定，步骤简便适于例行分析。

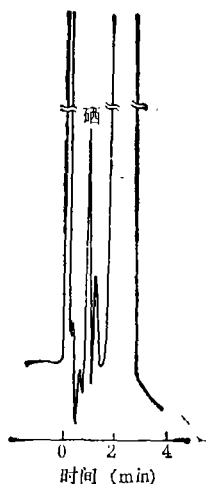


图 2 生物样品血硒的色谱分析图

4. 硒极易挥发，尤其卤化物高温加热时更易丢失，消解过程的温度、速度、酸介质及其浓度均会影响测定结果的准确性。一般用硝酸和盐酸消解，硒的损失比较严重，在高氯酸、硫酸存在下消解温度控制在 210℃ 以下无硒损失。但消解速率太快，随碳化产生大量还原性物质使硒部分丢失，因此不经消解的硒标准曲线比较恒定，不存在硒的损失，仅以标准曲线定量样品中的硒含量，往往因消解过程硒损失造成的结果偏低不易觉察。本工作以标准参考物血硒样品消解后作工作曲线和标准硒溶液的标准曲线完全一致，如图 1 所示，并同时校核样品测定结果，数据准确可靠，结果如表 4 所示。并与其它方法一致。

表 4 标准曲线和工作曲线测定  
血硒样品结果比较

| 样品名称  | 工作曲线测得硒<br>( $\mu\text{mol/l}$ ) |      | 标准曲线测得硒<br>( $\mu\text{mol/l}$ ) |      |
|-------|----------------------------------|------|----------------------------------|------|
|       | 本法                               | 荧光法* | 本法                               | 荧光法* |
| 动物血 4 | 0.41                             | 0.41 | 0.39                             | 0.43 |
| 动物血 5 | 2.70                             | 2.56 | 2.84                             | 2.61 |
| 动物血 6 | 0.22                             | 0.25 | 0.23                             | 0.24 |

\* 荧光法数据系地理所提供

### 参 考 文 献

- [1] Kyoji Toei and Yasuaki Shimaishi, *Talanta*, **12**, 967(1981).
- [2] C. F. Poole et al., *J. Chromatogr.*, **136**, 73 (1977).
- [3] 王顺荣等, *分析化学*, **8**(3), 236(1980).

## • 环境信息 •

### 快速监测汽车排放物

利用丹佛大学(科罗拉多州)唐纳·斯蒂德曼开发的燃料效率汽车试验 (FEAT) 装置，能在三秒钟内分析汽车排放物。FEAT 使用一种红外光谱仪测定一氧化碳和二氧化碳，并确定它们之间的比例。由于这种装置能测定在街道上行驶的车辆排放物，因而有可能跟踪那些排出大量一氧化碳的车辆。这

种装置的一个目标是那些为改善汽车性能而拆掉污染控制设备并在年度排放测试之前重新将其装上的汽车所有者。丹佛市冬天的烟雾主要是由汽车排放引起的。

丁卯摘译自 *ES&T*, **21**(1), 6(1987)。