

有机硒的定性定量分析研究进展

陈翠婷^{1,2*}, 鲁璐^{1,2}, 刘琪^{1,2}

¹哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心, ²国家教育部抗肿瘤天然药物工程研究中心; 哈尔滨 150076

摘要: 本文综述了有机硒的定性定量分析方法, 包括了紫外分光光度法、荧光法、原子吸收法、色谱法、联用技术等, 以期望为硒的测定提供有效的方法学依据, 进而促进相关研究的深入发展。

关键词: 有机硒; 定性定量; 测定方法

中图分类号: R93

文献标识码: A

Progress on the Qualitative and Quantitative Analysis of Organic Selenium

CHEN Cui-ting^{1,2*}, LU Lu^{1,2}, LIU Qi^{1,2}

¹Center of Research on Life Science and Environmental Science, Harbin University of Commerce,

²Engineering Research Center of Natural Anticancer Drugs, Ministry of Education, Harbin University of Commerce; Harbin 150076, China

Abstract: Qualitative and quantitative analytical methods of organic selenium are reviewed in this paper, including ultraviolet spectrophotometry, fluorometry, atomic absorption spectrophotometry, chromatography, multiple techniques analysis and so on. This article could provide an effective methodology basis for the determination of selenium; furthermore contribute to further development of related research.

Key words: organic selenium; qualitative and quantitative; determination

自然界中的硒的存在方式有两种, 有机硒和无机硒。无机硒一般指从金属矿藏中获得的亚硒酸钠或硒酸钠。有机硒是硒离子通过生物转化或化学合成的方式, 以共价键形式与有机物质如蛋白质、核酸、多糖等相结合而形成的络合物。目前, 有机硒化合物主要包括游离态硒氨基酸、硒蛋白、硒核酸、硒多糖等。其中硒在蛋白质中主要以氨基酸共价结合形式存在, 硒也可进入大肠杆菌 t-RNA 中, 形成硒核酸, 硒多糖则包括天然存在硒多糖与化学合成硒多糖。

有机硒相对于无机硒来说, 安全性更高, 对人体更有益。有些不法商贩在食物中添加无机硒, 鱼目混珠, 存在极大的安全隐患。因此采用有效的检测方法, 对有机硒进行定性定量的分析研究, 具有一定的研究价值和现实意义。目前有机硒的检测手段主要是通过混酸将有机硒进行离子化后, 进行相应检测。本文通过传统分析、现代分析、新型分析方法对有机硒的检测进行综述, 以期望对有机硒含量测定

提供方法学依据^[1,2]。

1 传统分析方法

1.1 紫外分光光度法

邻苯二胺-紫外分光光度法, 3, 3'-二氨基联苯胺紫外分光光度法为紫外分光光度分析法中较常用的方法, 其原理为: 邻苯二胺, 3, 3'-二氨基联苯胺与 Se^{4+} 在 pH1.5 ~ 2.5 之间的酸性介质中形成黄色络合物, 并在甲苯溶剂中萃取, 以甲苯为参照, 在紫外中有最大吸收。此类方法操作简单, 毒性相对较小, 仪器易购得且价格适中, 现在仍被广泛使用。张月等^[3], 熊彪等^[4] 分别用两种方法对蛹虫草菌丝体、薇菜中的硒含量进行了检测, 并绘制出标准曲线。两种方法的显色剂均为二元络合显色剂, 因实验中所使用的部分试剂有挥发毒性, 不同的显色剂对实验测定的精密度影响较大, 且实验需要有机溶剂萃取后进行测定, 此种方法仍具有一定的局限性。

1.2 分子荧光光谱法

2, 3-二氨基萘 (DAN) 荧光法是检测硒的国家标准方法之一, 其原理为: 将动植物与其富硒产品中的六价硒混酸消化氧化为四价硒与 DAN 反应生成强荧光性络合物, 有机溶剂萃取后测定荧光物质的荧

光强度。DAN 荧光法的用量相对较少,测定样品有较好的灵敏度和精确度,适合微量痕量硒的测定。钟鸣等^[5]人在进行蛹虫草菌丝体内硒含量检测时,通过三种方法邻苯二胺紫外分光光度法,3,3-二氨基联苯胺分光光度法,DAN 荧光法分别测定,可以看出,DAN 荧光法更适合微量硒的测定。因为荧光法所用试剂 2,3-二氨基萘有剧毒且需要进口,试剂昂贵,仍需要有机溶剂萃取,此种方法在应用时也需要注意。

1.3 原子荧光光谱法

早在 20 世纪 60 年代就采用原子荧光光谱法作为硒检测的一种技术,是国家标准规定的硒检测方法之一。与分子荧光法相比具有线性范围宽,介质酸度跨度大,共存离子干扰小,灵敏度高等优点,是一种优良的痕量分析技术。经过多年的研究和发展,原子荧光法测定硒的技术已十分成熟,不仅采用氢化物原子荧光光度法,也有双道原子荧光光度法等新技术的加入。王世成等^[6]人进行了鸭蛋中有机硒的测定,在优化条件下应用了氢化物发生-原子荧光法,检测出鸭蛋中硒的总含量和无机硒的含量,通过二者之差测定出有机硒的含量,建立了测定鸭蛋中有机硒的检测方法。在使用此种方法时也要注意荧光淬灭等干扰因素对测量重现性的影响。

点,是一种优良的痕量分析技术。经过多年的研究和发展,原子荧光法测定硒的技术已十分成熟,不仅采用氢化物原子荧光光度法,也有双道原子荧光光度法等新技术的加入。王世成等^[6]人进行了鸭蛋中有机硒的测定,在优化条件下应用了氢化物发生-原子荧光法,检测出鸭蛋中硒的总含量和无机硒的含量,通过二者之差测定出有机硒的含量,建立了测定鸭蛋中有机硒的检测方法。在使用此种方法时也要注意荧光淬灭等干扰因素对测量重现性的影响。

2 现代分析方法

2.1 原子吸收光谱法

原子吸收光谱法是目前运用最广泛的检测硒的方法,包括氢化物原子吸收光谱法和石墨炉原子吸收光谱法。原子吸收光谱法灵敏度高,样品预处理简单、用量少,重现性好。高淑云等^[7]在测定返魂草硒多糖里硒元素的含量时,使用了石墨炉原子吸收法,将返魂草硒多糖用浓硝酸进行硝化,硝化后油浴排酸,用石墨炉原子分光光度计在工作条件下进行吸光度值的测定,为粗硒多糖中硒含量的测定提供了有效方法。此种方法时由于氢化物原子吸收法紫外区背景吸收较强,或石墨炉法灰化温度不够,在进行吸光度检测时会产生基体干扰,使用时要注意。

2.2 催化动力学分光光度法

催化动力学分光光度法其原理为硒对氧化剂氧化或还原剂还原有色染料或指示剂的褪色反应具有催化作用,且褪色程度与硒量在一定范围内呈线性关系,根据其吸光度值测定其硒的含量。催化动力

学分析法是目前测定硒的最灵敏的方法之一,许卉等^[8]利用六价硒能催化溴化钾氧化甲基紫的反应,反应过程中甲基紫褪色,其褪色程度与六价硒浓度成线性关系,实验表明,六价硒浓度在 0 ~ 8 $\mu\text{g/L}$ 范围内与吸光度值呈良好的线性关系,利用此法将海洋生物中的有机硒转化为六价硒,对其痕量硒进行了有效的测定。此类方法易受 Fe^{3+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 等离子的干扰,反应条件不易控制,因此广泛使用此类方法仍然较少。

2.3 电化学分析法

电化学分析法包括电位滴定法、溶出伏安法、极谱法、离子选择电极法等,其中溶出伏安法和极谱法是最常用的分析方法。溶出伏安法即在酸性溶液中, Se^{4+} 在悬汞电极上发生富集,将附有 Se 的悬汞电极取出,将 Se 溶出进行测定。电化学分析法与其他方法相比,仪器设备简单,操作简便同时灵敏度高,是一种很好的测定硒含量的方法。朱洪梅等^[9]采用极谱法对富硒黑豆中的有机硒进行含量测定,将有机硒用高氯酸硝化后,与过量的 Na_2SO_3 生成 SeSO_3^{2+} ,通过产生的吸附催化波,根据其峰高进行定量,并测定出其硒含量为 15.44 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 。

2.4 色谱法

用于硒定性定量分析的色谱法主要有气相色谱法、高效液相色谱法、离子色谱法、薄层色谱法。气象色谱检测的主要是有机硒化合物,在萃取和色谱两次分离后,消除共萃取物的干扰,使用电子捕获检测器或氢火焰离子检测器进行检测,常用 4-硝基邻苯二胺在酸性介质中选择性的与硒反应,或者 1,2-二氨基-3,5-二溴代苯的盐酸盐。高效液相色谱法是在乙腈和甲醇流动相下,用固相萃取微柱富集,并用紫外检测器进行检测。离子色谱法是分析无机阴离子的首选方法,在分析有机硒时,可将有机硒通过物理或化学方法硝化为无机阴离子,进而采用离子色谱法进行硒含量的检测。张存兰^[10]则通过微波硝化的方法,将头发中的硒转化为 SeO_4^{2-} 的形式,利用离子色谱法进行头发中硒含量的检测。在测定硒含量时,相对于其他方法,色谱法具有较高的灵敏度和选择性。

3 新型分析方法

3.1 活化分析法

活化分析包括 X 射线荧光分析和中子激活分析法,用反应堆或同位素中子源产生的中子作为轰

击粒子的活化分析方法。硒能产生长寿命的核素 Se-75(半衰期为 120 d),在中子反应堆中辐照若干小时冷却后,可用 γ -多道光谱仪测出硒的含量。活化分析适合痕量微量元素的分析,能同时测定几种微量元素,其精确度高、准确性好已经得到广泛认可。刘树文^[11]等将动物饲料中的硒经过混酸硝化后,用还原剂还原形成沉淀,制成薄膜后用 X 射线荧光分析法进行检测,其最低检出限为 0.2 μg 。但由于其设备价格昂贵,技术要求高,目前仍没得到广泛使用。

3.2 联用技术

简单来讲,联用技术及将两种检测方法联合一起使用,将其优势相结合,如高灵敏度的检测技术与高选择性的分离技术,达到检测限更低,精密度更高的检测效果,使其与单一技术相对比,更好的改善硒形态分析灵敏度与准确度。将流动注射技术与催化动力学光度法、氢化物发生原子吸收光谱法等联用,可以大大降低反应温度,缩短反应时间^[12]。电感耦合等离子体与质谱法、原子发射光谱法联用,在对有机硒的定性定量检测时,具有检出限低、线性范围宽等优势^[13]。色谱法与其他检测方法的联用,如液相色谱-原子荧光光谱联用,液相色谱-电感耦合等离子体-质谱法联用,气相色谱-石墨炉原子吸收光谱联用等,将具有很好重现性的色谱技术应用到硒含量检测中,达到更准确全面的检测效果。联用技术再硒检测中的应用能够完善和改进各种硒检测方法中的不足,将会在今后的研究中有更广阔的发展空间。

4 小结与展望

本篇论文从三个方面介绍了有机硒的定性定量检测方法,目前较为常用的仍是原子荧光光谱法和原子吸收光谱法,而活化分析法由于其设备昂贵等因素,现已很少使用,联用技术与色谱技术在检测有机硒含量方面有很广阔的发展前景。有机硒在治疗克山病,心血管疾病,癌症等方面的重要作用已经得到证实,硒的保健作用也逐渐受到人们的重视。人体对硒的需求有一定限度,过多的硒摄入会引起中毒现象,如脱发、指甲变形、偏瘫等。有机硒中硒元素的含量甚微,采用有效的检测方法,获得检出限低、灵敏度高的有机硒定性定量检测方法,已经成为有机硒研究领域重要的组成部分。随着科学技术的

不断进步,仪器的精密度和准确性都会进一步提高,为有机硒含量的检测提供更好的技术支持。

参考文献

- 1 Celine Tniry, *et al.* Selenium bioaccessibility and bioavailability in se-enriched food supplements. *Biol Trace Element Res*, 2013, 04: 152-160.
- 2 Petra Cuderman, Vekoslava Stibilj. Stability of Se species in plant extracts rich in phenolic substances. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2010, 2: 1433-1439.
- 3 Zhang Y, *et al.* Ultraviolet Spectrophotometry Determine selenium content in cordyceps militaris mycelium. *Studies of Trace Elements and Health*, 2010, 03: 21-23.
- 4 Xiong B(熊彪), *et al.* 3,3'-Diamino benzidine colorimetric determination of trace selenium in qsmunda. *Food Res Dev*(食品研究与开发), 2003, 1: 84-86.
- 5 Zhong M(钟鸣), *et al.* The compares on three kinds like DAN fluorescence of measuring mycelial selenium. *Chin J Spec Lab*(光谱实验室), 2011, 2: 866-869.
- 6 Wang SC, *et al.* Determination of Inorganic and Organic Selenium in Duck eggs by Hydride Generation-Atomic Fluorescence Spectrometry. *Food Science*, 2013, 4: 183-185.
- 7 Gao SY(高淑云), Ma YD(马亚东). Determination of Selenium Polysaccharide Cannabifolius and Selenium Content. *Lishizhen Med Mat Med Res*(时珍国医国药), 2009, 11: 2763-2764.
- 8 Xu B(许卉), He P(贺萍). Determination of trace selenium marine organisms catalytic fading spectrophotometry. *Chin J Anal Chem*(分析化学), 2003, 10: 1244-1246.
- 9 Zhu HM, *et al.* Studies on determining selenium content using polarograph and technology of enriching selenium in bland bean. *Chin Agric Sci Bull*, 2010, 7: 68-71.
- 10 Zhang CL(张存兰). Experimental study of selenium content in hair Ion chromatography. *Stu Tra Ele Hea*(微量元素与健康研究), 2008, 01: 46-47, 51.
- 11 Liu SW(刘树文), Yan F(严方). Determination of selenium in biological samples of X-ray fluorescence analysis. *Chin J Anal Chem*(分析化学), 1998, 02: 239.
- 12 Deng SL(邓世林), *et al.* Determination of selenium in eggs flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry. *Spe Spe Any*(光谱学与光谱分析), 2010, 3: 809-811.
- 13 Gao F(高飞), *et al.* Determination of Selenium in Health Food by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Chi Jou Pub Hea Eng*(中国卫生工程学), 2009, 3: 172-173.