

# 中性红催化动力学光度法测定痕量硒(IV)

赖海涛<sup>①</sup> 陈素艳 邓清莲 张汉乾

(集美大学生物工程学院 福建省厦门市 361021)

**摘要** 利用硫酸介质中, 痕量硒(IV) 强烈催化氯酸钾氧化中性红褪色反应, 建立一种快速测定痕量硒(IV) 的催化动力学光度法。结果表明: 最大吸收波长为 530nm, 检出限为  $2.4 \times 10^{-9} \text{g/mL}$ , 摩尔吸光系数为  $2.71 \times 10^4 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ , 硒含量在 0.1—0.4  $\mu\text{g}/25\text{mL}$  范围内呈线性关系, 线性回归方程为  $\Delta A = 0.0045 + 0.4271 C_{\text{Se(IV)}} (\mu\text{g}/25\text{mL})$ , 相关系数  $r = 0.9996$ , 直接用于黑木耳、黄花菜和香菇中硒(IV) 的测定, 结果令人满意。

**关键词** 中性红, 痕量硒(IV), 催化动力学光度法。

中图分类号: O657.32

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2007)02-0056-05

## 1 引言

微量元素与人体健康休戚相关, 大量研究表明, 硒(Se) 作为一种人体必需微量元素, 在人体代谢、食品营养、医疗卫生、环境保护、水质分析等方面均具有重要的意义<sup>[1]</sup>。人体对微量硒的需求极严<sup>[2]</sup>, 在必需量和中毒量之间的差别又极小<sup>[3]</sup>, 并且无法在体内直接合成, 只能在饮食中吸取, 如鱼、海产品、谷类、肉类、坚果类、洋葱、大蒜、菇类、蛋等富含硒却易为人体吸收<sup>[4]</sup>。故对食品中硒含量的测定研究很有必要。

催化分光光度法因其操作简便、快速、灵敏度高, 选择性好等特点而广泛应用于食品中痕量硒的测定。本文研究了在酸性介质中, 利用痕量硒(IV) 强烈催化氯酸钾氧化中性红褪色反应而建立的催化动力学光度法对富含硒(IV) 食品黑木耳、黄花菜和香菇中的硒进行了测定, 结果令人满意。

## 2 实验部分

### 2.1 主要仪器与试剂

723PC 可见分光光度计(上海欣茂仪器有限公司); FA1004 电子天平(上海精科天平公司); 高速万能粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司); KQ-500DA 数控超生波清洗机(昆山市超声仪器有限公司); pH5-2C 型精密酸度计(上海雷磁仪器厂)。

硒标准溶液 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (国家标准物质研究所), 实验时配成 1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的工作液;  $1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$  中性红溶液; 1.0  $\text{mol/L}$  硫酸溶液; 0.3  $\text{mol/L}$  氯酸钾溶液; 所用试剂为分析纯。实验用水均为超纯水。

### 2.2 实验原理与方法

#### 2.2.1 实验原理

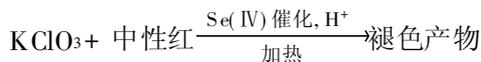
中性红被氯酸钾氧化而褪色, 在酸性介质中, 痕量硒(IV) 起催化作用, 能大大加快其褪色速度,

<sup>①</sup> 联系人, 电话: (0592) 2224295; 手机: (0) 13062431975; E-mail: lht030501@163.com

作者简介: 赖海涛(1965—), 男, 福建省永定县人, 副教授, 从事食品分析研究工作。

收稿日期: 2006-10-18; 接受日期: 2006-11-10

通过朗伯-比耳定律  $A = \epsilon bc$  ( $b$ : cm;  $c$ : mol/L;  $\epsilon$ : L/mol · cm), 绘制线性回归方程, 建立测定痕量硒(IV)的催化动力学光度法。



### 2.2.2 实验方法

分别移取  $1.0 \times 10^{-3}$  mol/L 中性红溶液 0.5 mL 于两支 25 mL 的比色管中, 其中一支加入 0.4 mL 的 Se(IV) 标准工作液, 然后各加入 1.8 mL 1.0 mol/L 的硫酸溶液, 2.0 mL 0.3 mol/L 氯酸钾溶液, 用去离子水定容至 25 mL, 盖紧塞子, 摇匀, 放入沸水浴中加热 10 min, 之后同时取出, 用冷流水冷却 6 min, 用 1 cm 比色皿, 以超纯水作参比, 在波长为 530 nm 处测定非催化反应溶液吸光度  $A_0$  和催化反应溶液吸光度  $A$ , 并计算  $\Delta A = A_0 - A$  值。

## 3 结果与讨论

### 3.1 吸收曲线

按实验方法, 配制催化与非催化两种反应溶液, 在不同波长下测量其吸光度, 见图 1。

结果表明, 两种反应体系的最大吸收波长均为  $\lambda_{\max} = 530$  nm, 硒的催化效果较好, 故实验均选用 530 nm 作反应波长。

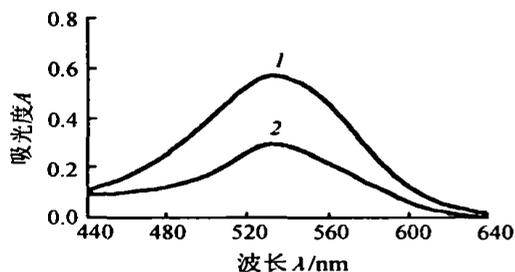


图 1 吸收曲线

1—未催化; 2—催化

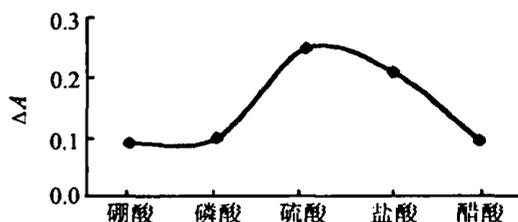


图 2 酸度的影响

### 3.2 介质酸的影响

#### 3.2.1 介质酸的选择

按实验方法, 依次用 1.0 mol/L 盐酸溶液, 1.0 mol/L 硫酸溶液, 1.0 mol/L 磷酸溶液, 1.0 mol/L 硼酸溶液, 1.0 mol/L 醋酸溶液配制反应体系, 分别测其吸光度, 结果见图 2, 故选用硫酸作最佳介质酸。

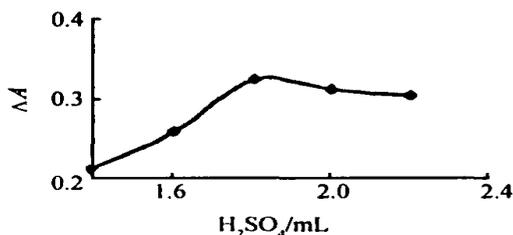


图 3 硫酸用量的影响

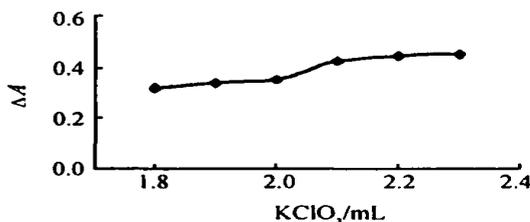


图 4 氯酸钾用量的影响

#### 3.2.2 硫酸用量的影响

按实验方法, 依次用 1.4、1.6、1.8、2.0、2.2 mL 硫酸配制反应体系, 分别测其吸光度, 结果见图 3, 故选取硫酸用量为 1.8 mL。

### 3.3 氯酸钾用量的影响

按实验方法,依次用 1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3mL 氯酸钾溶液配制反应体系,分别测其吸光度,见图 4。结果表明:随着氯酸钾用量的增加,  $\Delta A$  值也增大,但在实验过程中,当测定到 2.1mL 时,  $A$  值很小,考虑到吸光度不能太小及仪器误差尽量减小,故选用氯酸钾用量为 2.0mL。

### 3.4 反应温度的选择

按实验方法,将吸收池依次放置在室温、60、70、80、90、100℃ 水浴中,分别测其吸光度,见图 5,结果表明:体系在室温下几乎不反应,且低于 70℃ 时,反应缓慢;70℃—90℃ 时反应速度增长较快;90℃ 后明显加快。为了控制温度,本实验在 100℃ 沸水浴中进行。

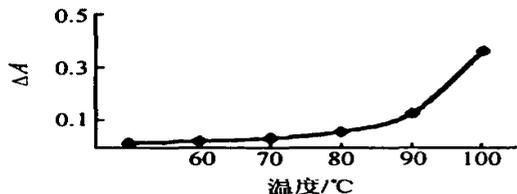


图 5 温度的影响

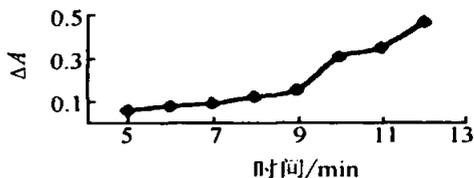


图 6 加热时间的影响

### 3.5 加热时间的影响

按实验方法,依次将吸收池在水浴中加热 5、6、7、8、9、10、11、12min,分别测其吸光度,见图 6。结果表明:加热时间在 9min 之前硒的催化反应效果不明显,9min 之后变大,10min 后趋缓,11min 后再次加快,但 11min 后的催化褪色明显,反应趋于完全。故选择加热时间为 10min,实验时对反应时间作严格控制。

### 3.6 体系稳定性

按实验方法,体系在 1.5h 内  $\Delta A$  变化如表 1,从表 1 中可以看出,  $\Delta A$  在 1.5h 内几乎没变化,说明体系在 1.5h 内较稳定。

表 1 体系的稳定性

时间(h)	0.0	0.5	1.0	1.5
$A_0$	0.543	0.544	0.553	0.553
$A$	0.246	0.227	0.228	0.230
$\Delta A$	0.297	0.317	0.325	0.323

### 3.7 校准曲线、精密度与检出限

#### 3.7.1 校准曲线

按实验方法,在吸收池中依次加入硒标准工作液 0.1、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35、0.40、0.425、0.45mL,分别测其吸光度,见图 7。结果表明,  $\text{Se}(\text{IV})$  在 0—0.4 $\mu\text{g}/25\text{mL}$  范围内成良好的线性关系,线性回归方程为  $\Delta A = 0.0045 + 0.4271C_{\text{Se}(\text{IV})} (\mu\text{g}/25\text{mL})$ ,相关系数  $r = 0.9996$ 。

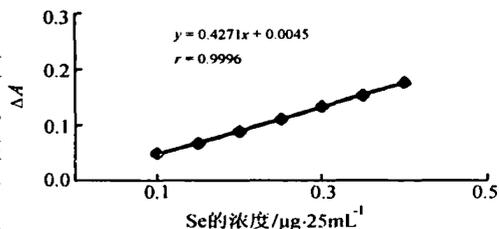


图 7 校准曲线

#### 3.7.2 精密度与检出限

表 2 按实验方法进行 12 次平行实验

平行	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
$A_0$	0.542	0.552	0.549	0.581	0.554	0.550	0.581	0.590	0.577	0.576	0.564	0.582
$A$	0.208	0.206	0.248	0.243	0.218	0.212	0.224	0.236	0.235	0.236	0.222	0.203
$\Delta A$	0.334	0.346	0.301	0.338	0.336	0.338	0.357	0.354	0.342	0.340	0.342	0.379

表 3 按实验方法进行 12 次平行空白实验

空白	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
$A_0$	0.550	0.548	0.537	0.538	0.541	0.553	0.543	0.534	0.530	0.557	0.532	0.545

按实验方法进行 12 次平行实验(表 2), 得相对标准偏差  $RSD = 5.26\%$ ; 进行 12 次平行空白实验(表 3)得标准偏差  $S_b = 8.55 \times 10^{-3}$ , 计算可得检出限  $C = 3S_b/K = 2.4 \times 10^{-9} \text{ g/mL}$ , 摩尔吸收系数  $\epsilon = 2.71 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ , 可知其稳定性较好, 灵敏度较高。

### 3.8 共存离子的影响

测定  $0.4 \mu\text{g}/25\text{mL}$  的  $\text{Se(IV)}$ , 当相对误差控制在  $\pm 5\%$  时, 5000 倍量的  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{K}^+$ ; 3000 倍量的  $\text{Mg}^{2+}$ ; 2000 倍量的  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ ; 1000 倍量的  $\text{Al}^{3+}$ ; 500 倍量的  $\text{Ag}^+$  以及 100 倍量的  $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{I}^-$  均不干扰体系的测定, 说明了该催化指示反应体系选择性较好。

### 3.9 样品测定

#### 3.9.1 实验材料

黑木耳(干品), 产自福建漳州; 黄花菜(干品), 产自福建古田, 香菇(干品), 产自福建漳州, 均购自集美菜市场。

#### 3.9.2 样品前处理

将黑木耳、香菇与黄花菜去根去杂质, 洗净切碎, 然后把 3 种样品放在  $\text{GZX-DH} \cdot 500\text{-BS-II}$  型电热恒温干燥箱内于  $70^\circ\text{C}$  下烘干(30h 左右), 再用高速万能粉碎机粉碎备用。

#### 3.9.3 样品消化

准确称取  $5.0\text{g}$  黑木耳、黄花菜、香菇于锥形瓶中, 另取同量样品一份, 加入  $1.0\text{mL}$  硒标准工作液(相当于  $1\mu\text{g}$  硒), 然后分别加混酸( $\text{HNO}_3 : \text{HClO}_4 = 4 + 1$ )  $40\text{mL}$  浸泡一个晚上, 之后进行低温消解至淡黄绿色清亮液体, 冷却后成无色, 将试样继续加热至湿盐状, 用超纯水稀释, 并用  $3.0\text{mol/L}$   $\text{NaOH}$  溶液调节酸度为 1.0 左右, 然后定容至  $100\text{mL}$  的容量瓶中。

#### 3.9.4 样品中痕量硒的测定

按实验方法, 分别取各种样品溶液  $10\text{mL}$  进行硒的测定。分别平行测定 3 次。测得的数据及其计算结果见表 4。

表 4 样品中硒( )的测定结果

样品		测定值 ( $\mu\text{g}/25\text{mL}$ )	相对标准偏差 (%)	加标量 ( $\mu\text{g}$ )	加标测定值 ( $\mu\text{g}/25\text{mL}$ )	回收率 (%)	硒(IV)含量 ( $\mu\text{g}/\text{g}$ )
黑木耳	平行三次	0.191	6.2	0.1	0.275	84.3	0.378
		0.177		0.1	0.277	100.7	
		0.200		0.1	0.289	89.0	
	平均值	0.189		0.281	91.3		
黄花菜	平行三次	0.137	6.4	0.1	0.235	98.3	0.294
		0.149		0.1	0.240	91.3	
		0.156		0.1	0.247	91.3	
	平均值	0.147		0.241	93.7		
香菇	平行三次	0.296	1.6	0.1	0.390	93.7	0.603
		0.306		0.1	0.397	91.3	
		0.303		0.1	0.406	103.0	
	平均值	0.302		0.398	96.0		

## 参考文献

- [1] 孔祥瑞. 必需微量元素的营养 生理及临床意义[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1982.
- [2] Milovanovid G A, Petronijevic R B, Cakar M M. Kinetic Determination of Trace Levels of Selenium(IV) and Total Selenium by Nile Blue A/Hydrogen Peroxide Method[J]. *Mikrochim. Acta*, 1998, **128**: 43—48.
- [3] Liu Q, Wang D J, Jiang X J. Effects of the Interactions between Selenium and Phosphorus on the Growth and Selenium Accumulation in Rice (*Oryza Sativa*) [J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2004, **26**: 325—330.
- [4] Cocho R A, Fraga M. Determination of Total Selenium and Selenium Distribution in the Milk Phases in Commercial Cow's Milk by HG-AAS[J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2005, (3): 1145—1151.

## Determination of Trace Se(IV) by Catalytic Kinetic Spectrophotometry with Neutral Red

LAI Hai-Tao CHEN Su-Yan DENG Qing-Lian ZHANG Han-Qian

(School of Biotechnology, Jimei University, Xiamen, Fujian 361021, P. R. China)

**Abstract** A new catalytic kinetic spectrophotometry method for the determination of trace Se(IV) was developed based on catalytic reaction of Selenium(IV) to the discolouring oxidation of neutral red by potassium chlorate in vitriol acid medium. The molar absorptivity is  $2.71 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  at 530nm. The detection limit is  $2.4 \times 10^{-9} \text{ g/mL}$  in the linear range of 0.1—0.4  $\mu\text{g}/25\text{mL}$ . The regressive equation is  $\Delta A = 0.0045 + 0.4271 C_{\text{Se(IV)}} (\mu\text{g}/25\text{mL})$  with a correlation coefficient value of 0.9996. The method was applied to the determination of Se(IV) in Jew's ear, lily flower and mushroom with satisfactory results.

**Key words** Neutral Red, Trace Selenium, Catalytic Kinetic Spectrophotometry.

### 这真是令人啼笑皆非!

在 20 世纪的科技成就中, 激光可算是重大发明创造之一。第一台激光器是 1960 年由美国物理学家梅曼 (见《邮票上的科学家——佼佼者之路》中之 M4) 研制出来的。然而《物理评论快报》却拒绝刊登梅曼的论文, 理由是: 这是微波激光物理学方面的文章, 对快速出版物不再有价值。这真是令人啼笑皆非!

接着, 梅曼将论文寄到了英国《自然》杂志, 这篇 300 字的简短文章立即被接受。发表后引起全世界轰动。后来, 梅曼被列入了美国发明家名人堂。

为了吸取历史教训, 本刊收到的论文, 即使其观点与审稿人有尖锐的意见冲突, 只要是言之有理, 也给予发表。因为“仁者见之谓之仁, 智者见之谓之智”(《周易·系辞上》), 不同人从不同角度看问题, 难免不同。本刊欢迎有退稿历史的作者, 向本刊投稿。

光谱实验室编辑部