

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2013.02.011

曾超 陆建平 谭芳维 等. 氢化物发生-原子荧光光谱法测定桉树叶、皮、躯干、根中硒含量[J]. 广西植物 2013 33(2): 195 - 198

Zeng C, Lu JP, Tan FW *et al.* Determination of selenium contents in the leaf, bark, trunk and root of *Eucalyptus* by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry [J]. *Guihaia* 2013 33(2): 195 - 198

氢化物发生-原子荧光光谱法测定桉树叶、皮、躯干、根中硒含量

曾超¹, 陆建平^{2*}, 谭芳维², 钱建平², 唐燕葵³

(1. 广西中医药大学第一附属医院, 南宁 530023; 2. 广西大学化学化工学院, 南宁 530004; 3. 广西大学环境学院, 南宁 530004)

摘要: 以铁氰化钾为掩蔽剂, 1.5% KBH_4 为还原剂, 10% 的盐酸为载流液, 微波消解处理样品, 氢化物发生-原子荧光法(HG-AFS) 分别测定桉树叶、皮、躯干和根中硒元素含量。加标回收验证了结果的准确性。考察了仪器测定硒的检出限。并对铁氰化钾、聚环氧琥珀酸(PESA)、酒石酸、柠檬酸、乙二胺五种掩蔽剂对 11 种常见干扰元素的掩蔽效果进行了探究, 为优良掩蔽剂的选择提供了参考性资料。

关键词: 桉树; 氢化物发生-原子荧光光谱法; 硒

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2013)02-0195-04

Determination of selenium contents in the leaf, bark, trunk and root of *Eucalyptus* by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry

ZENG Chao¹, LU Jian-Ping^{2*}, TAN Fang-Wei²,

QIAN Jian-Ping², TANG Yan-Kui³

(1. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine Nanning, 530023, China; 2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, China; 3. College of Environmental Science, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: The trace selenium contents in the leaf, bark, trunk and root of eucalyptus were determined respectively by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry (HG-AFS) with potassium ferricyanide as masking agent, 1.5% KBH_4 as reducing agent, 10% hydrochloric acid as fluid carrier after the samples were digested with microwave. The results were verified with spiked standards and detection limit. Potassium ferricyanide, poly epoxy succinic acid (PESA), tartaric acid, citric acid and ethylenediamine were investigated for their masking effects on 11 kinds of common interference elements, which would provide some reference information for the selection of an appropriate masking agent in selenium determination.

Key words: *Eucalyptus*; hydride generation-atomic fluorescence spectrometry; selenium

桉树是世界上种类最多, 生长最快, 经济效益最显著的树种之一(陈月圆等, 2010), 已成为中国南

方重要的人工树种。广西是生产桉树的重要林业基地, 其木材生产量居全国第一位。桉树主要用在造

* 收稿日期: 2012-11-10 修回日期: 2013-01-19

基金项目: 国家自然科学基金(51168001)

作者简介: 曾超(1971-), 女, 广西柳州人, 主管中药师, 从事中药研究。(E-mail) liujie882144@sina.com。

通讯作者: 陆建平, 博士, 教授, 主要从事光谱分析研究。(E-mail) ljianpi@hotmail.com。

纸、香料、建筑等行业(宋永芳等,1992)。同时它也具有较高的食用和药用价值(冯文健等,2010),它含有较多人体所必需的微量元素。其中硒就是一种重要的微量元素(石贵玉等,2005),具有防癌作用(罗连光等,2010),且能与重金属汞、镉、砷、铅等形成配合物并排出体外,从而达到降低毒性作用(Arthur,2003)。同时硒对植物的生长也起着关键性作用,它可以刺激植物生长发育、提高作物产量与品质(胡晓荣等,2004)。但过量的硒能引起中毒,使人引发脱发、脱指甲和偏瘫等病症。因此,对动植物中硒的测定研究越来越受到重视。

目前常见微量硒的测定方法有原子荧光光谱法、原子吸收法(王光等,1995)、高效液相色谱荧光检测法(高愈希等,2001)、ICP-MS(王莹等,2009)等。但由于硒极易挥发,用原子吸收法存在基体损失及基体干扰等问题,ICP-MS设备昂贵且谱线繁多。而原子荧光光谱法测硒的技术已经十分成熟,它具有操作简单、基体干扰小、分析结果稳定和灵敏度高等优点。但目前还没见对桉树各部分的含硒报道。本文对桉树各主要部分中硒的含量进行测定,在硒的原子荧光测定中,常用的掩蔽剂是铁氰化钾,而本实验对酒石酸、柠檬酸、PESA、乙二胺等掩蔽剂在测定硒时对样品中其他元素的掩蔽效果进行了探究。为优良掩蔽剂的选择及有效地开发、利用桉树和生产广西特色的桉树产品提供参考性资料。

1 材料与方法

1.1 实验仪器和试剂

AFS-2202E 双道原子荧光光度计(北京科创海光仪器有限公司),XT-9900 型智能微波消解仪(上海新拓微波溶样测试技术有限公司),XT-9800 型多用预处理加热仪(上海新拓微波溶样测试技术有限公司)。原子荧光工作参数见表 1。

表 1 原子荧光工作参数

Table 1 Instrumental parameters of HG-AFS

仪器参数	条件
负高压: 300 V	载气流量: 400 mL/min
灯电流: 80 mA	屏蔽气流量: 1 000 mL/min
辅助电流: 40 mA	读数时间: 10.0 s
原子化器高度: 8 mm	延迟时间: 1.0 s
测定方式: 标准曲线法	读取方式: 峰面积

硒标准储备液 1 mg/mL(国家标准物质中心),

硒标准工作溶液:由硒标准储备液逐级稀释而成。
1.5% 钾(KBH₄)溶液:称取 1.5 g 硼氢化钾溶于 100 mL 0.5% 氢氧化钾溶液中。其余药品及试剂均为分析纯,水为二次蒸馏水。

1.2 样品处理

分别截取一定量的桉树叶、根、皮和躯干,用去离子水洗净,烘干。粉碎后,准确称取 3.00 g 样品于消解罐中,先加入 6 mL 浓硝酸,放置 15 min,再加入 1 mL 30% H₂O₂,盖好盖子,置于微波消解仪,按表 2 的参数进行消解,消解结束后,进行赶酸处理,再把消解液移入 50 mL 容量瓶中,分别加入 10.0 mL(1+1)盐酸、5 mL 10% 铁氰化钾溶液,定容,摇匀,同标准系列测定硒含量,同时做样品空白。

表 2 微波消解程序

Table 2 Sample digestion program of microwave

步骤 Step	目标压强 Pressure (MP)	持续时间 Time (s)	试剂 Reagent
1	0.4	60	HNO ₃ + H ₂ O ₂
2	0.6	120	
3	0.8	240	

1.3 测定方法

取 5 mL 待测溶液,加 2 mL 1.0% 铁氰化钾溶液,再用 10% 的盐酸定容至 10 mL。按照设定好的仪器条件,先测定浓度为 10.0、30.0、50.0、70.0、100.0 μg/L 的硒标准系列(得出标准曲线)后,再测定样品空白,每种样品做三个平行样,每个样品测定三次后取平均值。记录数据。

1.4 掩蔽剂的掩蔽实验

将 10.0 μg/L 的硒标准溶液加入若干支比色皿中,分别加入 Cu²⁺、Fe³⁺、Cd²⁺、Cr³⁺、Pb²⁺、Hg²⁺ 等常见的干扰元素,再加入铁氰化钾、酒石酸、柠檬酸、PESA、乙二胺等掩蔽剂,以铁氰化钾为参照,测定它们的荧光值。每份溶液至少测定 3 次,取平均值,记录数据。

2 结果与分析

2.1 酸度的选择

由于不同价态的硒氢化反应进度不同,而介质酸度又影响了硒的价态,故选择合适的酸度尤为重要。固定水相中硒含量,加入不同浓度的盐酸,按实验方法进行原子荧光测定。结果如图 1 所示。实验表明,当盐酸浓度为 10% 时测定结果最佳。由此

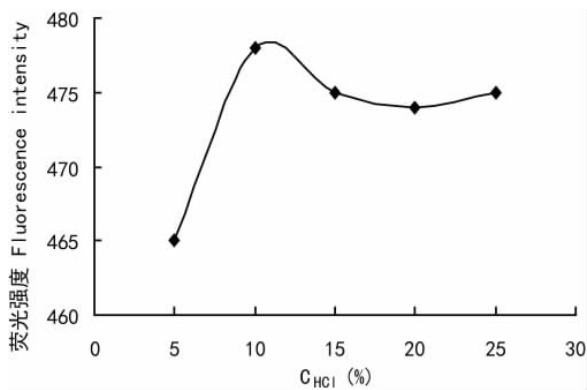


图 1 介质酸度对硒荧光强度的影响
Fig. 1 Effects of acidity on the selenium fluorescence intensity

选择介质酸为 10% 的盐酸。

2.2 还原剂用量的选择

按照实验方法,对不同浓度的 KBH_4 对测定的影响进行了探究。结果如图 2 所示。结果表明,1.5% 的 KBH_4 为最佳的还原剂浓度。

2.3 五种掩蔽剂对干扰离子的掩蔽效果

本方法在硒浓度为 $10 \mu\text{g/L}$ 的条件下,对样品

中可能含有的离子进行了干扰实验。将加入干扰离子的前后测定值进行对比,以 $\pm 5\%$ 的误差判断为有干扰。结果表明,10 mg/L 的 K^+ 、 Cl^- 、 Zn^{2+} 、 Br^- 、 Ag^+ 不干扰实验,但 10 mg/L Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cd^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Pb^{2+} 、 Hg^{2+} 对测定存在干扰。

为消除干扰离子对实验造成的影响,特对常用的掩蔽剂铁氰化钾(1.0%)、乙二胺(0.5%)、柠檬酸

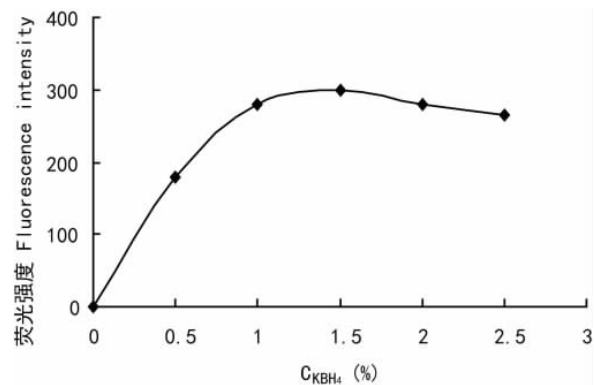


图 2 硼氢化钾浓度对硒荧光强度的影响
Fig. 2 Influences of potassium borohydride concentration on selenium fluorescence intensity

表 3 共存离子干扰及掩蔽后的相对信号强度
Table 3 Effects of masking agents on interfering ions ($n=3$)

掩蔽剂 Masking agent	Cd^{2+} (mg/L)		Cu^{2+} (mg/L)		Pb^{2+} (mg/L)		Fe^{3+} (mg/L)		Hg^{2+} (mg/L)	
	2	10	2	10	2	10	2	10	2	10
不加掩蔽剂(对照)	100.0	73.1	82.4	30.5	108.4	54.7	70.3	60.9	98.7	40.5
1.0% 铁氰化钾	204.7	195.3	150.6	135.8	221.5	181.6	124.9	114.5	176.7	156.2
0.5% 酒石酸	195.2	187.4	170.8	124.9	202.1	167.5	154.6	142.5	140.8	125.6
0.5% PESA	194.2	190.3	184.5	162.4	180.2	146.8	104.8	93.5	109.4	57.3
0.5% 柠檬酸	141.5	128.4	102.8	60.4	152.8	109.5	118.4	90.3	102.8	50.1
0.5% 乙二胺	130.1	111.5	88.1	32.6	162.5	100.8	75.9	61.7	99.2	42.8

(0.5%)、酒石酸(0.5%)、PESA(0.5%) 对干扰离子的掩蔽效果进行探索。结果如表 3 所示。

结果说明这五种掩蔽剂对干扰离子均有一定的掩蔽效果,但 PESA 和柠檬酸对镉的掩蔽效果较差。而乙二胺本身的存在会降低荧光强度,除铁、铜外,它对离子的掩蔽效果均不理想。

2.4 检出限与工作曲线

在上述最佳实验条件下,对 1 份样品空白连续测定 11 次,由 $DL = 3\sigma/S$ (其中 DL 为检出限, σ 为空白标准偏差, S 为校准曲线斜率) 计算出硒的检出限为 $0.29 \mu\text{g/L}$ 。按实验方法,分别对不同系列浓度的硒标准试液进行测定,以荧光强度对硒含量绘

制曲线,如图 3 所示。实验表明,在 $0 \sim 200 \mu\text{g/L}$ 的范围内线性关系良好。

2.5 样品分析

分别对桉树皮、叶、躯干和根做硒测定并做加标回收实验。结果如表 4 所示。

表 4 桉树样品测定实验结果
Table 4 Results of *Eucalyptus* sample analysis ($n=3$)

样品 Sample	元素 Element	测定值 Found ($\mu\text{g/g}$)	加标值 Added ($\mu\text{g/g}$)	测定总量 Total found ($\mu\text{g/g}$)	回收率 Recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%)
桉树皮	Se	0.75	0.80	1.49	92.50	0.71
桉树叶	Se	0.93	0.80	1.72	98.18	1.20

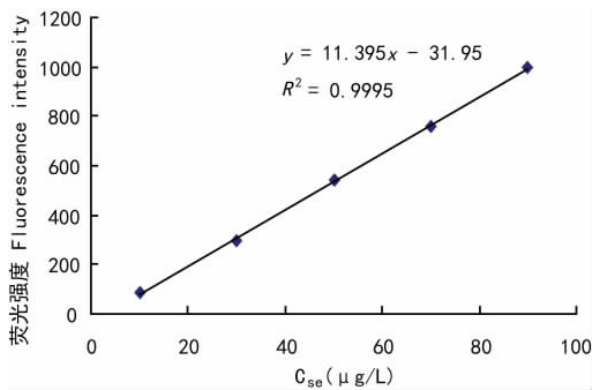


图3 硒标准曲线

Fig. 3 Selenium standard curve

桉树躯干	Se	1.21	1.00	2.13	92.16	1.43
桉树根	Se	1.17	1.00	2.14	97.14	0.92

3 结论

本实验测定了桉树各部位的硒含量,加标回收率在92%~99%之间。结果表明,桉树中硒主要集中在躯干和树根部分,少量存在于树皮和树叶中。在探究掩蔽剂的实验中,得出铁氰化钾、聚环氧琥珀酸和酒石酸有较好的掩蔽效果,乙二胺的效果最差。

参考文献:

- Arthur JR, McKenzie R, Checkett GJ. 2003. Selenium in the immune system [J]. *J Nut* **133**(5): 1457-1459
- Chen YY(陈月圆), Lu FL(卢凤来), Li DP(李典鹏). 2010. Analysis of volatile constituents of different types of *Eucalyptus* leaf by GC-MS(不同品种桉树挥发性成分的GC-MS分析) [J]. *Guihaia*(广西植物) **30**(6): 895-898
- Feng WJ(冯文健), Chen SX(陈少雄). 2001. The food and medicinal value of *Eucalyptus*(桉树的食物和药用价值) [J]. *Eucalypt Sci & Technol*(桉树科技) **3**(2): 11-13
- Gao YX(高愈希), Wang ZJ(王子健), Leng CH(冷春华). 2001. Determination of trace selenium in environmental waters after microwave digestion and fluorometric determination with 2,3-diamino-naphthalene(利用微波消解和高效液相色谱荧光检测法测定环境中痕量硒) [J]. *Chin J Analy Chem*(分析化学研究报告) **29**(6): 629-632
- Hu XR(胡晓荣), Wang LX(王丽鑫), Xu PY(徐培渝) et al. 2004. The toxic interaction of mercuric chloride and sodium selenite to rats(氯化汞和亚硒酸钠对大鼠的毒性相互作用) [J]. *Chem Res & Appl*(化学研究与应用) **16**(3): 317-319
- Luo LG(罗连光), Tian C(田昌), Liu CH(刘朝晖). 2010. Effects of Se-nutrients on yield and Se-content of super rice(富硒植物营养素对超级稻产量及稻米硒含量的影响初探) [J]. *Hunan Agric Sci*(湖南农业科学) **1**(5): 70-72

- Shi GY(石贵玉), Chen MM(陈明媚). 2005. Effects of Cr^{6+} and Se on the growth and physiology of rice seedling(铬、硒对水稻幼苗生长和生理的影响) [J]. *Guihaia*(广西植物) **25**(3): 281-284
- Song YF(宋永芳). 1998. Using and prospect of eucalyptus resources in our country(我国桉树资源的利用与展望) [J]. *For Chem Comm*(林业化工通讯) **13**(45): 163-169
- Wang G(王光), Sun J(孙健), Zhang P(张萍). 1995. Determination of trace selenium in foods BY atomic absorption spectrophotometry(原子吸收法测定食品中微量硒) [J]. *Chin J Spectr Lab*(光谱实验室) **12**(5): 64-69
- Wang Y(王莹), Tie M(铁梅), Kang PL(康平利) et al. 2009. Comparison of ICP-MS and two other analytical methods for determination of selenium content in cordyceps militaris(ICP-MS等三种测定蛹虫草硒含量方法的比较) [J]. *Spectrosc Spect Anal*(光谱学光谱分析) **29**(3): 815-818

(上接第180页 Continue from page 180)

- caused by *Pseudomonas solanacearum* [J]. *Ann Rev phytopathol* , **29**(1): 65-87
- Jones JDG, Dangl JL. 2006. The plant immune system [J]. *Nature* , **444**: 323-329
- Jung J, Won SY, Suh SC, et al. 2007. The barley ERF-type transcription factor HvRAF confers enhanced pathogen resistance and salt tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Planta* **225**: 575-588
- Kelman A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium [J]. *Phytopathology* **44**: 693-695
- Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ Method [J]. *Methods* **25**: 402-408
- Malamy J, Klessig DF. 1992. Salicylic acid and plant disease resistance [J]. *Plant J* **2**: 643-654
- Oh SK, Park JM, Joung YH, et al. 2005. A plant EPF-type zinc-finger protein, CaPIF1, involved in defence against pathogens [J]. *Mol Plant Pathol* **6**: 269-285
- Pieterse CMJ, Leon-reyes A, Van Derent S, et al. 2009. Networking by small-molecule hormones in plant immunity [J]. *Nat Chem Biol* **5**: 308-316