

荧光扫描法测定发中微量硒含量

成都军区总医院(成都 610083) 陈重华 于波涛 刘明蓉

硒是人体必须的微量元素,存在于人体红细胞中^[1],过多或过少都会引起疾病,甚至可导致死亡。大量研究已证明^[2]:血硒和发硒的对数值呈显著的直线关系,发硒可用来评定人体硒的营养水平。以测定发硒代替血硒,具有其一定的优越性。微量硒的测定方法有荧光法、比色法、气相色谱法、原子吸收分光光度法等^[3],但荧光薄层扫描法测定发中微量硒的含量尚未见报道,现报道如下:

原 理

硒(IV)在酸性条件下与 2,3—二氨基萘(DAN)生成具较强荧光的 4,5—苯并硒脑,用环己烷萃取,其荧光强度与硒(IV)成正比^[4],用荧光薄层扫描法测定荧光强度,便可测得发硒含量。

实 验

1. 主要仪器与试剂

日本岛津 CS—910 双波长薄层色谱扫描仪。

浓氨水、浓盐酸、浓硝酸、高氯酸(70.0~72.0%)、浓硫酸、环己烷、乙醇、盐酸羟胺、乙二胺四乙酸二钠、DAN,均为分析纯。

微晶纤维素:国内压片用,过 160 目筛,0.1% DAN 溶液:准确称取 DAN 100 mg,加 0.1 N 盐酸 100 ml,使完全溶解,用环己烷萃取 3~4 次至环己烷无杂色止,将水溶液存于棕色瓶中,覆以约 1 cm 的环己烷层,存于冰箱中备用(配制时宜在暗室中操作)。

展开剂:乙醇—浓氨水(7:3)

混合消化液(甲液):硝酸:高氯酸:浓硫

酸 = 10:3:5

混合消化液(乙液):硝酸:高氯酸:浓硫酸 = 10:3:2

硒标准液(100 ug/ml):取硒粉(分析纯)0.0250 g 于混合消化液(甲)中,微热使溶解,继续加热至无棕色烟雾,冷却后在 250 ml 容量瓶中定容。

薄层板制备:用微晶纤维素 4 g 与蒸馏水 12 ml 制成 15×20 cm² 的层析板,厚度约 0.25 cm,活化后置于干燥器中备用。

样品:取发根处 5 cm 长头发 2 g,市售海欧洗发膏(5%)浸泡 10 min,依次用自来水、去离子水、蒸馏水逐级清洗 3 次,乙醇清洗 1 次。于 60℃ 烘干,剪成 3 mm 碎度,即成。

2. 方法与结果

2.1 消化处理:准确称取样品约 0.2500 g 数份并编号,分别加入 3 ml 混合消化液(乙液),静置 20 min,水浴中加热,若溶液颜色较深,补加适量硝酸至溶液清亮无色,继续加热至无棕色烟雾,待溶液剩约 0.5~1 ml 时,冷却,定容成 2 ml。精密量取硒标准液 2 ml (1 ug/ml)照同法进行消化处理,得硒消化标准液。

2.2 标准曲线:取硒消化标准液 1.5 ml,加 0.2 M EDTA—2 Na 溶液 0.5 ml,用 0.01 N 盐酸调 pH 至 1~1.5,加 1% 盐酸羟胺液 5 ml,放置 5 分钟,加 0.1% DAN 0.4 ml,暗处 70℃ 水浴中加热 5 分钟,取出,避光冷却,准确加入经重蒸馏的环己烷 0.5 ml,充分混匀后得环己烷层即为硒的荧光液(3ng

(ul)。分别取 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ul 于薄层板点样, 用展开剂层析 15 分钟后, 取出凉干, R_f 值 0.9。以激发光波长 365 nm; 发射光波长 600 nm; 扫描速度 40 mm/min; 灵敏度 $\times 2$ 档, 纸速 20 mm/min 为检测条件, 以含量 \times 对扫描测定的积分面积 y 进行回归, 方程为: $y = 0.155x - 0.165 (r = 0.9997 \quad n = 7)$

2.3 回收率试验: 为考察人发中其它金属离子对硒(IV)测定的影响, 按表 1 所列浓度配制成人发及标准硒的消化液, 并以同样、同量人发消化液对硒(IV)相比较, 按标准曲线方法处理后测定积分面积, 代入回归方程, 求得相应纳克数, 并计算回收率, 结果见表 1。

表 1 发中硒的回收率

样品	加入量(ng)	回收量(ng)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	15	15.55	103.6		
2	15	14.89	99.3		
3	15	15.36	102.4		
4	15	15.76	105.1		
5	15	14.60	97.3	100.53%	3.4%
6	15	14.47	96.5		
7	15	14.53	96.9		
8	15	15.46	103.1		

2.4 结果

精密量取 1.00 ml 人发消化液, 照实验

方法 2 项下操作, 点样量 2 ul, 据标准曲线求得样品含量。结果见表 2。

表 2 发中硒的含量

样品	含硒量(PPM)	样品	含硒量(PPM)	样品	含硒量(PPM)
1	0.054	8	0.175	15	0.418
2	0.072	9	0.251	16	0.421
3	0.077	10	0.261	17	0.427
4	0.079	11	0.274	18	0.473
9	0.093	12	0.292	19	0.535
6	0.130	13	0.359	20	0.551
7	0.159	14	0.392	平均值:	0.275

3. 讨论

3.1 经实验, 空白对照点样量至 10 ul 都未见荧光斑点, 荧光扫描测定积分面积几乎为零, 所以测定时不作空白对照。

3.2 DAN 溶液很不稳定, 经常使用一般需每月配制^[4]。取用时也要在暗室中进行。

3.3 加入 EDTA——2 Na 可排除

Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Bi^{3+} 、 Pd^{2+} 等其它金属离子的干扰。

3.4 点样、层析、凉干在八小时内测定荧光, 否则荧光强度新逐渐减弱而影响测定结果。

3.5 本法最低检出量为 2 ng, 线性范围为 1 ng~21 ng, 回收率平均值为 100.53%, 相对标准差 RSD 为 3.4%。

3.6 该法取样方便,对人体健康无影响,灵敏度高,结果准确,精密,可作为微量硒含量测定的一种手段。

参 考 文 献

[1] Luo Guoan, Zhou Jiangyan. Journal of

china Pharmaceutical university, 1990, 21:53

[2] 周宗灿,肖秀兰.国外医学参考资料(卫生学分册), 1978,(6):328

[3] 侯少范,王五一.分析化学,1980,8(2):183

[4] 陈君石.卫生研究,1976,1:78

11种自制中药口服液中10种金属元素含量测定

空军成都医院(成都 610061) 戴德银 韩 梅 陈德新 谢丽娜 王秀霞

成都科技大学分析测试中心(成都 610061) 张筑凤 朱小帆

本文用原子吸收分光光度计测定了本院自制11种中药口服液中10种无机元素Mn、Fe、K、Zn、Cu、Mg、Cd、Ni、Hg的含量,并用文献中的铁盐检查法、火焰原子吸收光谱法、等离子发射光谱法、原子吸收氢化物法、石墨炉法进行验证。现报告如下

1 实验方法

1.1 试剂:本实验所用10种元素标准液全系成都科技大学分析测试中心提供,亚沸蒸馏水配制。

1.2 受试药品为军队内部批准制剂(空军颁发普通制剂生产许可证),具体品种如表1所示。

1.3 仪器及测试条件

WFX-ID型原子吸收分光光度计(北京第二光学仪器厂),测试时条件是:狭缝0.1,能量70±10,读数方式为峰高档,工作选择为吸光档,标尺放大为1,阻尼为1,灯电流2mA。

2. 测定结果如表1所示。

表1 11种自制中药口服液中10种金属元素含量测定(ppm μ g/10ml)

药品名称	Mn	Fe	Al	K	Zn	Cu	Mg	Cd	Ni	Hg
庚食口服液	10	6.6	<10	185.2	5.89	<0.02	113.27	0.156	20	<1.96
庚尼口服液	13.3	13.3	<10	104.3	10.86	<0.02	46.94	0.104	<5	<1.3
胃炎口服液	23.3	23.3	<10	816.96	14.52	<0.02	322.45	0.104	<5	<1.3
止咳平喘口服液	<3.3	16.7	<10	46.96	2.91	<0.02	87.76	0.104	<10	<1.3
抗脑血栓口服液	6.6	13.3	<10	21.96	1.19	<0.02	27.14	0.104	<15	<1.3
急扁糖浆	/	<3.3	<10	89.6	0.95	<0.02	57.76	0.313	<5	<1.3
复方百部止咳糖浆	<10	13.7	<10	43.5	0.73	<0.02	72.35	0.208	20.0	<1.3
五味子糖浆	10	16.7	<10	196.5	13.43	<0.02	105.51	0.26	<10.0	<1.3
中药结肠净化液	13.3	13.3	<10	207.97	17.88	<0.02	110.92	0.104	25.0	<1.3
花斑竹合剂	10	31.6	<10	729.6	17.88	<0.02	99.08	0.104	25.0	<1.3
消炎含嗽液	10	10	<10	473.5	7.87	<0.02	85.71	0.313	15	<1.3