

УДК 543 253

Н.А. Атомашко, Т.С. Иволина, И.Е. Стась, Б.П. Шипунов

Инверсионно-вольтамперометрическое определение селена в биологических объектах

Селен – незаменимый элемент в рационе питания животных и человека. Недостаточное его содержание в организме и продуктах питания приводит к селенодефицитным заболеваниям. В то же время некоторые заболевания могут возникать и при избытке селена в продуктах питания. Необходимое содержание различных форм селена в животных тканях приведено в таблице 1 [1].

В настоящее время широко рекламируются медицинские препараты на основе селена без учета индивидуальных особенностей организма по отношению к этому элементу. Данные препараты можно применять только людям с недостаточным содержанием селена. Поэтому прежде, чем применять селеносодержащие препараты, необходимо установить уровень содержания данного микроэлемента в организме человека.

Для количественного определения селена существует достаточно много методов. Часто применяют гравиметрический и титриметрический методы анализа [2]. Однако они недостаточно чувствительны при анализе биологических объектов, характеризующихся низким содержанием селена. Из высокочувствительных методов применяют флуориметрический анализ, с помощью которого можно определять до $1 \cdot 10^{-7}\%$ [2]. Существенными недостатками данного метода являются: строгое соблюдение оптимальных условий, устранение влияния других элементов [1].

Для определения микроколичеств селена часто используют метод инверсионной вольтамперометрии (ИВ). Этот метод обладает высокой чувствительностью, легкостью автоматизации аналитических определений, низкими пределами обнаружения. С помощью данного метода можно определять до $5 \cdot 10^{-8}$ моль/л селена в растительных и животных объектах, в полупроводниковых материалах, в различных типах вод [3–5].

Таблица 1

Содержание селена
в объектах окружающей среды

| Объект | Содержание Se |
|---|----------------|
| Организм условного человека (мужчина массой 70 кг) | 3–14 мг |
| Ткани биологические: | |
| кровь | 0,021–3,2 мг/л |
| молоко | 13–18 мкг/л |
| слюна | 0,7–2,8 мкг/л |

Задача данной работы заключалась в выборе способа пробоподготовки биологических объектов (в частности – волос), исключающего потери селена, и условий его инверсионно-вольтамперометрического определения, позволяющих уменьшить нижнюю границу определяемых содержаний до $n \cdot 10^{-9}$ М с целью сокращения количества образца, используемого для анализа. На основании проведения аналитического определения содержания селена в волосах онкологических больных Алтайского края предполагалось выявить связь между заболеваемостью и содержанием селена в организме.

Экспериментальная часть. Правильность аналитического определения существенно зависит от способа минерализации объекта. В работе были опробованы три способа пробоподготовки.

I. 0,05 г образца помещали в колбу, добавляли 25 мл концентрированной HNO_3 и оставляли на два часа. Затем к смеси добавляли по 5 мл концентрированной HClO_4 и H_2SO_4 и постепенно нагревали на плитке до тех пор, пока объем не уменьшался до 15 мл. Смесь охлаждали 1 мин, прибавляли 3 мл концентрированной HNO_3 и снова нагревали до появления белых паров HClO_4 и уменьшения объема до 5 мл. Затем раствор охлаждали, добавляли к смеси 5 мл 10 М HCl , чтобы перевести Se (VI) в Se (IV), нагревали смесь до 95°C в течение 5 мин и охлаждали. Содержимое колбы переносили в мерную колбу на 50 мл и доводили до метки фоновым электролитом [6].

II. Минерализация образцов проводилась в реакторе для минерализации проб РМП–25. Образец массой 0,05 г помещали во фторопластовый сосуд, добавляли 3 мл смеси концентрированной HCl и HNO_3 в отношении 2:3. Сосуд закрывали фторопластовой крышкой и помещали в цилиндр реактора. Герметично закрытый реактор устанавливали в нагретый до 150°C сушильный шкаф и оставляли на 1,5 часа. После полного остывания реактора содержимое сосуда переносили в фарфоровую чашечку и выпаривали на водяной бане до мокрых солей. Затем добавляли 5 мл 0,1 М раствора HCl и оставляли до растворения солей. Полученный раствор переносили в мерную колбу на 50 мл и доводили до метки 0,1 М раствором HCl [7, 8].

III. Минерализация образцов проводилась в двухконтейнерном реакторе [7, 8]. Отличие данно-

Таблица 2
Результаты проверки правильности
методики определения селена

| № | Введено Se, моль/л | Найдено Se (n = 3, $\bar{b} = 0,95$) | | |
|---|-----------------------|--|------|---------------------------------|
| | | C, моль/л | Sr | C ± $\epsilon(b)$ |
| 1 | $1,0 \cdot 10^{-9}$ | $0,87 \cdot 10^{-9}$ $0,90 \cdot 10^{-9}$ $0,84 \cdot 10^{-9}$ | 0,03 | $(0,87 \pm 0,08) \cdot 10^{-9}$ |
| 2 | $1,0 \cdot 10^{-8}$ | $0,88 \cdot 10^{-8}$ $0,89 \cdot 10^{-8}$ $0,83 \cdot 10^{-8}$ | 0,05 | $(0,87 \pm 0,11) \cdot 10^{-8}$ |
| 3 | $1,0 \cdot 10^{-7}$ | $1,2 \cdot 10^{-7}$ $1,2 \cdot 10^{-7}$ $0,99 \cdot 10^{-7}$ | 0,05 | $(1,1 \pm 0,11) \cdot 10^{-7}$ |

го способа от предыдущего заключалось в том, что анализируемую пробу волос разлагали в парах кислот. Для этого пробу помещали во фторопластовый стаканчик малого объема, который устанавливали во фторопластовый сосуд большего объема со смесью кислот. Этот способ не требовал выпаривания минерализата.

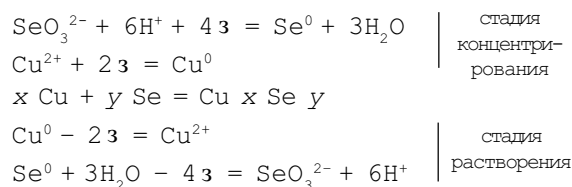
Определение селена проводили на полярографе ПУ-1, в качестве регистрирующего устройства использовали самописец ENDIM 622.01. Индикаторным электродом служил импрегнированный графитовый электрод $S = 0,28 \text{ см}^2$, вспомогательным – хлорсеребряный. В качестве фонового электролита использовали растворы HCl различной концентрации. Стандартный раствор Se (IV) с концентрацией 0,1 моль/л готовили из селенита Na растворением его навески в фоновом электролите. Точную концентрацию Se (IV) устанавливали иодометрически. Стандартные растворы с меньшей концентрацией получали путем последовательного разбавления фоновым электролитом исходного раствора.

Электроосаждение Se на электрод проводили в присутствии ионов Cu (II), которые увеличивают электроактивность осадков селена [9] при потенциале $-0,7 \text{ В}$. Время электролиза выбирали в зависимости от концентрации определяемого элемента. Вольтамперограмму растворения образовавшегося на поверхности осадка интерметаллического соединения Cu с Se регистрировали при линейной развертке потенциала от $-0,7$ до 1 В со скоростью 60 мВ/с . Перемешивание анализируемого раствора и удаление из него кислорода осуществляли путем барботажа газообразным азотом.

Обсуждение результатов. В качестве способа пробоподготовки был выбран способ II. Первый способ разложения образца очень продолжителен и трудоемок, требует большого количества реактивов, которые могут содержать примеси Se и тем самым искажать результаты аналитического определения. Кроме того возможны и потери при

неоднократном выпаривании пробы. Избежать потерь Se и значительно сократить время подготовки образца к анализу позволяют II и III способы. Однако при вскрытии пробы в парах кислот не удается полностью разложить органическую часть пробы, что делает невозможным последующий анализ.

Известно [10], что селен с медью образует интерметаллические соединения Cu_2Se и Cu_6Se , а т. к. сам Se на твердых электродах не восстанавливается, то в качестве аналитического сигнала использовали ток электрорастворения соединения Se с Cu (II). Для того, чтобы медь в растворе существовала именно в форме Cu^{2+} , поддерживали кислую среду. При электролизе на индикаторном электроде протекают следующие реакции:



На вольтамперограмме наблюдалось два пика. Первый пик ($E_p = -0,1 \text{ В}$) обусловлен растворением меди из интерметаллида, а второй ($E_p = 0,35 \text{ В}$) – растворением элементарного селена [11]. Величина анодных пиков меди и селена сильно зависит от концентрации фонового электролита. На рисунке 1 приведены анодные вольтамперограммы восстановления интерметаллида при использовании в качестве фона 0,1 М (а), 0,5 М (б) и 1 М растворов HCl (в). При увеличении концентрации HCl оба пика уменьшаются, возрастает ширина полупика, что ухудшает метрологические характеристики аналитического определения.

Изучена зависимость величины тока анодного пика селена от потенциала электролиза. Смещение потенциала в сторону более отрицательных значений приводит к практически линейному уве-

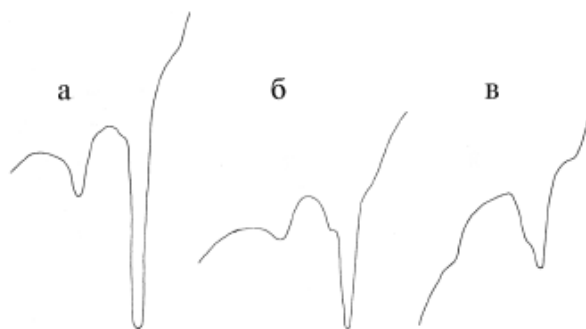


Рис. 1. Вольтамперограммы селена ($C = 3 \cdot 10^{-8}$ моль/л) в присутствии ионов Cu (II) ($C = 5 \cdot 10^{-6}$ моль/л). $E = -0,7 \text{ В}$, $t = 1 \text{ мин}$. Концентрация HCl: а) 0,1 М, б) 0,5 М, в) 1 М

Таблица 3
Содержание селена в волосах
жителей Алтайского края

| № пробы | Содержание Se, мкг/г | № пробы | Содержание Se, мкг/г |
|---------|-------------------------|---------|-------------------------|
| *1 | 3,4 | 14 | 3,9 |
| *2 | 1,2 | 15 | 2,9 |
| *3 | 3,7 | 16 | 2,5 |
| *4 | 2,3 | 17 | 1,3 |
| *5 | 4,5 | 18 | 5,5 |
| *6 | 3,1 | 19 | 1,1 |
| *7 | 7,5 | 20 | 1,5 |
| *8 | 2,5 | 21 | 1,7 |
| *9 | 11,5 | 22 | 5,4 |
| *10 | 4,3 | 23 | 3,0 |
| *11 | 0,89 | 24 | 1,2 |
| *12 | 3,3 | 25 | 0,66 |
| *13 | 8,9 | | |

личению аналитического сигнала. Максимальное значение тока пика Se достигается при $E_z = -0,85$ В и не изменяется при дальнейшем сдвиге потенциала в сторону отрицательных значений (рис. 2). Поэтому потенциал электролиза следует выбирать равным $(-0,9) - (-1,0)$ В. Однако воспроизводимость аналитического сигнала сильно зависит от выбранного потенциала. Минимальная дисперсия тока пика Se наблюдалась при потенциале $-0,7$ В, поэтому именно этот потенциал был выбран для проведения электролиза.

Изучено влияние концентрации ионов меди на величину аналитического сигнала Se. При увеличении концентрации меди в растворе ток анодного пика селена линейно возрастает до достижения в растворе $C_{Cu} = 8 \cdot 10^{-6}$ М независимо от концентрации Se в растворе. Дальнейшее увеличение содержания Cu (II) в растворе на аналитический сигнал Se не влияет.

Величина аналитического сигнала Se и его воспроизводимость зависят от скорости растворения интерметаллида. При увеличении скорости изменения потенциала W от 10 до 100 мВ/с ток пика Se возрастал, однако лучше всего воспроизводился при $W = 50-60$ мВ/с. Поэтому при проведении анализа использовались именно эти скорости изменения потенциала.

Градуировочный график линеен в области концентраций селена от $2 \cdot 10^{-5}$ до $1 \cdot 10^{-9}$. Коэффициент корреляции для градуировочного графика в интервале концентраций $2 \cdot 10^{-6} - 2 \cdot 10^{-5}$ М составляет 0,993; в интервале концентраций $2 \cdot 10^{-9} - 6 \cdot 10^{-8}$ М – $r = 0,943$. Нижняя граница определяемых содержаний составила $1 \cdot 10^{-9}$ моль/л. Правильность методики проверена методом «введено-найдено» (табл. 2). Удовлетворительная сходимость результатов свидетельствует о возможности использования предлагаемой методики.

Ход анализа. В электрохимическую ячейку,

предварительно проверенную на чистоту (на вольтамперограмме фонового электролита отсутствуют пики Cu и Se), помещают 5 мл пробы, минерализованной по способу II, индикаторный и вспомогательный электроды и в течение 5–10 мин пропускают через раствор газообразный азот для удаления кислорода. Затем устанавливают потенциал электролиза $-0,7$ В и проводят электролиз в течение 1–3 мин (в зависимости от концентрации Se в пробе) при перемешивании раствора азотом. За 5 с до окончания электроконцентрирования подачу азота прекращают и по истечении времени электролиза регистрируют вольтамперограмму при скорости развертки потенциала 60 мВ/с.

Затем в ячейку добавляют раствор $CuCl_2$ в количестве, при котором достигается максимальная величина пика селена. Измерения повторяют 3–5 раз до получения воспроизводимых результатов. Содержание Se в пробе определяют методом добавок. Время пробоподготовки – 3–3,5 часа, время проведения анализа – 25–30 мин.

В качестве объекта исследования были выбраны волосы, т. к. содержание селена в волосах человека пропорционально содержанию его в организме, а взятие проб наименее травматично. Было исследовано около 40 проб волос онкологических больных. Параллельно проводилось определение содержания Se в волосах здоровых людей. Пробы волос были предоставлены краевым онкологическим центром. Результаты представлены в таблице 3 (* отмечено содержание селена в волосах здоровых людей).

Согласно полученным результатам, содержание селена в исследованных образцах колеблется в широких пределах – от 0,66 до 11,5 мкг/г, причем не выявлено явных различий между больными и здоровыми людьми. Таким образом, не про-

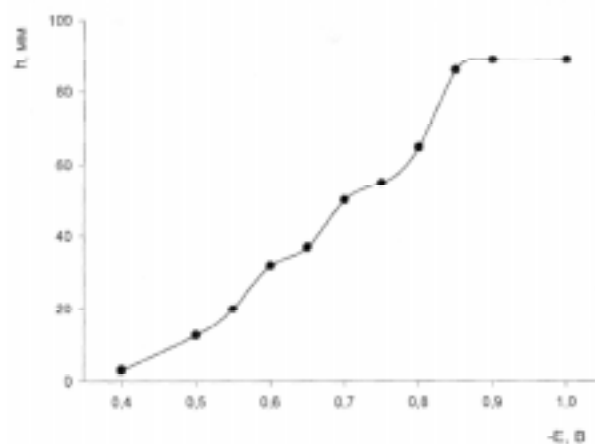


Рис. 2. Зависимость высоты пика Se от потенциала электролиза. Фон – 0,1 М HCl, $C_{Se} = 1 \cdot 10^{-8}$ моль/л, $C_{Cu} = 2,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л.

слеживается связь между онкологическими заболеваниями и содержанием селена в волосах больных, что свидетельствует о том, что либо волосы не являются подходящим объектом для определения содержания селена в организме, либо, что наи-

более вероятно, нельзя связывать данные заболевания с нарушением содержания только одного микроэлемента. Кроме того, сравнение результатов, полученных нами, с результатами таблицы 1 свидетельствует об отсутствии селенодефицита у жителей Алтайского края.

Литература

1. Избаш О.А., Карпов Ю.А., Плетнева Т.В. и др. Определение селена при биомониторинге //Заводская лаборатория, 1992. №9.
2. Назаренко А.Н., Ермаков А.Н. Аналитическая химия селена и теллура. М., 1971.
3. Брайнина Х.З., Нейман Е.Я., Слепушкин В.В. Инверсионные электроаналитические методы. М., 1988.
4. Scholz F., Henrion G., Trapp C., Müller L. Invers-voltametrische selenbestimmung mit einer langsam tropfenden quacksieberelektrode //Wasserwirt. Wassertechn., 1986. Т. 36. №8.
5. Joshi A.P. Determination of Se (IV) and Te (IV) at sub ppb level by differential pulse cathodic stripping voltammetry //J. Heyrovsky Centennial Congr. Polarogr. Organ. Jointly 4est Met. Int. Soc. Electrochem., Prague. Aug. 20-25, 1990.
6. Wei Guang Lan, Ming Keong Wong, Yoke Min Son. Microwave digestion of fosh tissue for selenium determination by differential pulse polarography //Talanta, 1994. Т. 41. №1.
7. Кузьмин Н.М., Кубракова И.В. Микроволновая пробоподготовка //Журн. аналит. химии, 1996. Т. 51. Вып. 1.
8. Кузьмин Н.М. Пробоподготовка при анализе объектов окружающей среды //Журн. аналит. химии, 1996. Т. 51. Вып. 2.
9. Крапивкина Т.А., Ройзенблат Е.М., Каламбет Г.А., и др. Особенности инверсионно-вольтамперметрического определения селена на твердых электродах //Журн. аналит. химии, 1977. Т. 32. Вып. 2.
10. Крапивкина Т.А., Ройзенблат Е.М., Каламбет Г.А. Определение селена методом инверсионной вольтамперметрии на графитовом электроде //Заводская лаборатория, 1975. №3.
11. Нейман Е.Я., Пономаренко Г.Б. Некоторые особенности определения мышьяка, селена и теллура методом инверсионной вольтамперметрии на графитовых электродах //Журн. аналит. химии, 1975. Т. 30. Вып. 6.