

## Cathodic Stripping Voltammetry法에 의한 植物體 中 極微量 셀렌의 分析

문동철 · 홍성화 · 박만기\* · 김중기\* · 이광우\*\*  
忠北大學校 藥學大學 · \*서울大學校 藥學大學 · \*\*韓國標準研究所

(Received April 28, 1985)

### Determination of Traces of Selenium in Plant Materials by Cathodic Stripping Voltammetry

Dong Cheul Moon, Seung Hwa Hong, Man Ki Park,\*  
Joong Ki Kim\*\* and Kwang Woo Lee\*\*

Chung Buk National University, Cheong Ju, 310, Korea, \*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, 151, Korea and \*\*Korea Standard Research Institute, Daejeon, 300, Korea

**Abstract**—Cathodic stripping voltammetric determination of traces of selenium in plant samples was studied. Stripping peak of selenium(*IV*) from Cu-Se intermetallic deposit in acidic media containing copper(II) ion is specific, highly sensitive and well defined, is successfully used for the quantitative determination of selenium down to the level of 1ng/ml. Sample is burnt in a calorimeter bomb under the oxygen pressure of 40atm. and the selenium is absorbed in 0.1M NaOH. After the solution is filtrated, concentrated and acidified with HCl, then passed through a column of cation exchange resin in the H<sup>+</sup> form (Dowex 50X-8). The column eluate is analyzed for selenium by differential pulse cathodic stripping voltammetric method. Analytical results of selenium for NBS SMR is well agreement with the certified values. Results are given for a series of plant materials.

微量元素 셀렌은 人間에 있어서 過剩時 皮膚損傷, 胃腸障害, 貧血등을, 缺乏時는 成長障礙등을 유발함이 보고되었으며, 이미 必須微量元素임이 確立되었다.<sup>1-2)</sup> Rotruck등에 의하면 셀렌은 生體內에서 glutathion peroxidase와 關與하여 赤血細胞의 酸化的 分解를 防止한다.<sup>3)</sup> 生物體 또는 植物體中 微量 내지 極微量 함유되어 있는 셀렌 分析의 正確性은 生理活性과 毒作用을 나타내는 量이 僅少한 差異밖에 없다는 점에서 더욱 중요하다. 셀렌의 기존 분석법으로 中性子 放射化 分析法은 感度가 높고 正確度가 比較的 우수하지만 特殊裝置 및 技術이 필요하고 放射化學의 分離없이는 상당한 時間이 要求된다.<sup>4)</sup> 原子吸光度法은 수소화물의 鏡像적 發生에 共存元素들의 영향이 매우 심하다. 螢光分析法은 試料의 分解產物中 일부 未分解有機物들이 螢光反應에 妨害 영향이 심하며 試藥 자체의 鏡像變化가 심하다.<sup>5)</sup>

水銀電極등에서의 Stripping Voltammetry法을 利用한 分析法이 다수 發表된 바 있다.<sup>6-7)</sup> 그러나 셀렌 分析 時 測定溶液內의 極微量포함된 有機不純物에 依해서도 電極反應이 크게 影響을 받으므로 正確度에 문제점이 많다. 따라서 著者들은 Cu-Se金屬間化合物의 形成을 利用하여 Cathodic Stripping Voltammetry(CSV)法에 있어서의 分析條件을 檢討하였다. 한편, 試料分析에서 매트릭스組成이 매우 복잡한 試料의 分解法으로서는 산소 bombe를 利用한 燃燒法을 檢討하고 前處理조작 분리등을 검토하여 양호한 結果를 얻었다.

實 驗 方 法

**試藥 및 標準溶液**—本 實驗에 使用한 모든 試藥은 分析用試藥(Baker's anal. reagents)을 더 이상 精製하지 않고 그대로 사용하였다. 셀렌(W) 保存溶液은 Selenium dioxide를 알카리 溶液에 녹이고 염산으로 中和, pH 3~4되게 하여 폴리에틸렌 용기에 保存하고 필요시마다 희석하여 사용하였다(1,000 $\mu$ g/ml). 脫 이온수는 charcoal컬럼 및 mixed bed型 이온교환컬럼과 0.2 $\mu$ m membrane여과기를 통한 脫이온수(Nanopure water purifier, Orion Research Co. resistivity, 18M $\Omega$ /cm)를 사용하였다. 한편 본 실험에서 사용한 모든 용기는 6M질산에서 24시간 침적시킨후 脫이온수로 充分히 헹구고 사용하였다.

**機器 및 裝置**—Stripping voltammetry의 實驗은 PAR(EG & G Princeton Applied Research Co.) Model 384 polarographic analyzer를 이용하였다. 이때 作業 電極은 PAR model 303 SMDE이며 參照電極은 Ag-AgCl (KCl 포화)이고 對電極은 白金線을 사용하였다. 용액의 攪拌은 PAR model 305 synchronous stirrer를 사용하였고 voltammogram은 PAR model RE-0082 digital plotter로 얻었다. 한편 試料의 燃燒에는 熱量計用 산소분배 Parr model 102 A5를 사용하였다.

**標準物質(Standard Reference Materials; SRM) 및 試料**—National Bureau of Standard

**Table I**—Certified and informational elemental concentrations in NBS biological and botanical standard reference materials, ppm unless indicated.

Element	SRM 1577 (bovine liver)	SRM 1568 (rice flour)	SRM 1571 (orchard leaves)
N(%)	10.6	—	2.76
Ca(%)	0.0123	0.014	2.09
K(%)	0.97	0.112	1.47
Mg	605	—	6,200
P	—	—	2,100
Fe	270	8.7	300
Mn	10.3	20.1	91
Na	2,430	6.0	82
Pb	0.34	—	45
B	—	—	33
Zn	130	19.4	25
As	0.055	0.41	11
Cu	193	2.2	12
Rb	130	7	12
Ni	—	0.16	1.3
Hg	0.016	0.006	0.155
Cd	0.27	0.029	0.11
Se	1.10 $\pm$ 0.1*	0.4 $\pm$ 0.1*	0.08 $\pm$ 0.01*

\* Standard deviations given here only for Se.

(NBS)의 biological & botanical SRM Bovine Liver, Rice Flour, Orchard Leaves를 分析標準物質로 사용하였으며 標準物質의 組成은 Table I에서와 같다. 한편 分析試料는 모두 冷凍乾燥시켜 粉末化한 市販品을 그대로 사용하였다.

**컬럼操作 및 溶離曲線 測定**—강산성 이온교환수지(Dowex 50X-8, H<sup>+</sup> form, 300~400 mesh)를 컬럼(30cm $\times$ 1cm(O.D.))에 흡착제

**Table II**—Typical instrumental settings for the determination of selenium(W).

Parameters	Conditions
working electrode	HMDE(medium)
purging time	240s
deposition potential	-0.5V
potential scan rate	2mv/s
potential scan direction	cathodic
deposition time(stirring)	120s
deposition time(equilibrate)	30s
solution stirring rate	700rpm
pulse height	50mv
blank subtraction	No
calculation method	standard addition
final potential	-0.9V

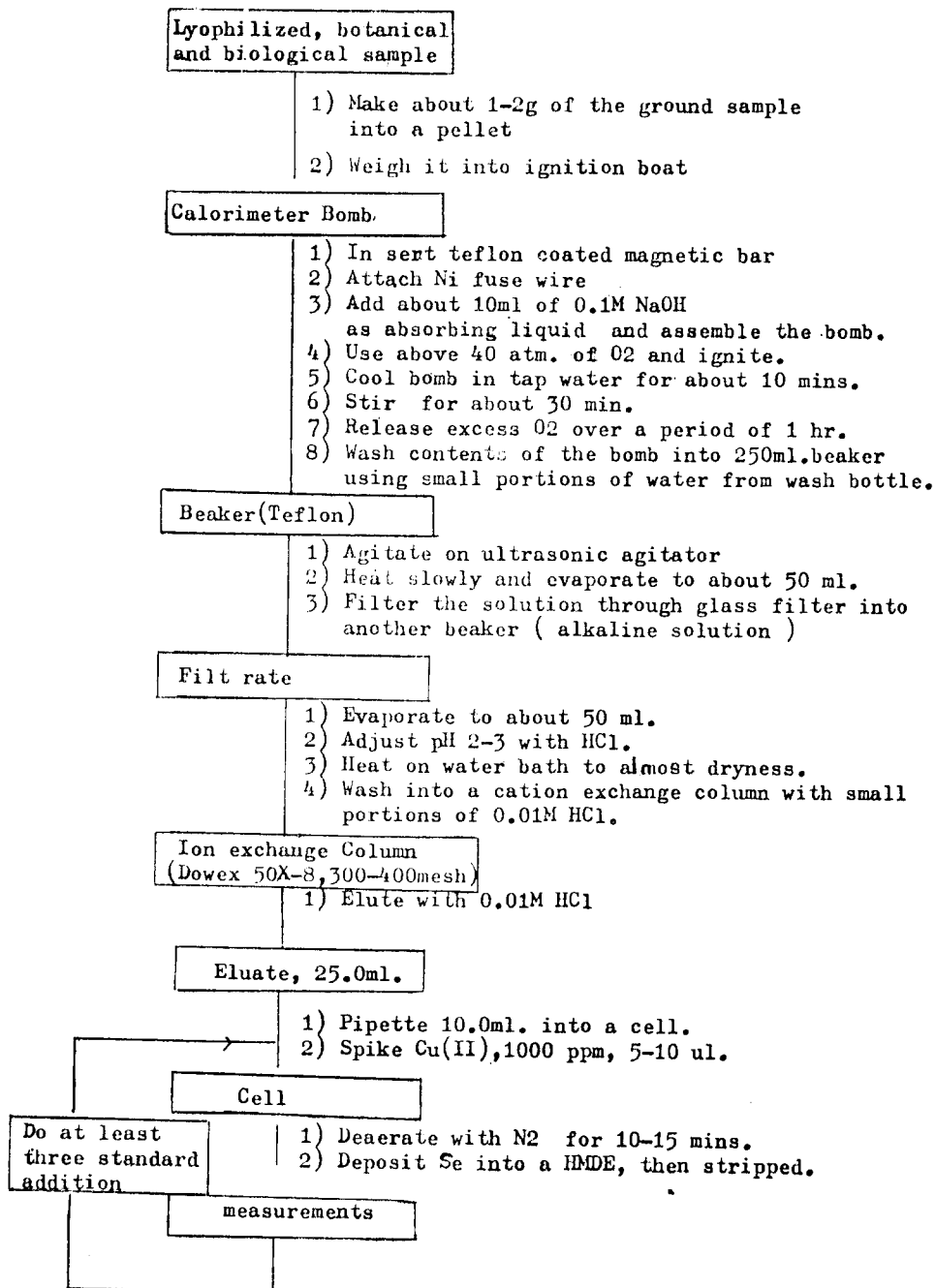


Fig. 1—Flow diagram for the determination of selenium in organic matrices.

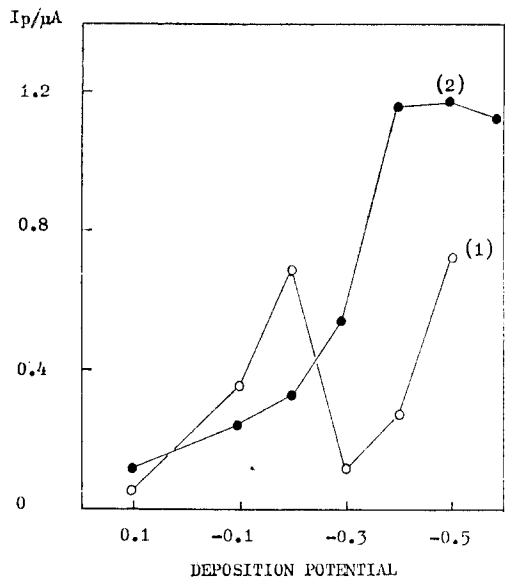
부피 3되게 채우고 0.01M 염산으로 평형이 이루어질 때까지 혼린 후 사용하였다.

**標準操作**—生物體 또는 植物體같은 有機體 試料의 灰化 및 分解法인 산소분배에서의 燃燒(산소압력: 40기압), 이온교환컬럼에 의한 셀렌 分離등을 포함한 前處理過程 및 CSV法에 의한 分析의 흐름도는 Fig. 1에서와 같으며 기기는 Table II와 같은 條件에서 分析하였다.

**實驗結果 및 考察**

염산 및 과염소산등의 산성 持持電解質에서 CSV法에 의한 셀렌(IV) 분석은 溶液內 極微量으로 存在하는 여러 不純物이온들이 共電着되거나 金屬間化合物形成으로 인해 셀렌의 환원피이크가 여러개로 갈라져 나오거나 피이크 電位의 移動이 심하므로 正確度 있는 分析結果를 얻을 수 없다.<sup>8)</sup> 따라서 비소, 아연 및 셀렌등과 金屬間化合物 形成이 용이한<sup>9)</sup> 구리(II)이온을 과량 添加하여 셀렌을 金屬間化合物로 電着시킨후 Cu(Hg)Se의 셀렌(-2)로의 환원피이크를 利用하여 셀렌(IV)의 分析條件들을 검토하였다.

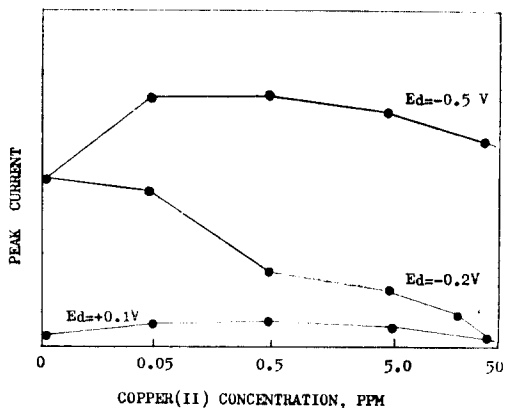
**電着電位의 影響 檢討**—셀렌(IV) 90ng/ml에 구리(II) 550ng/ml되게 添加한 후 전착전위를 0.1V에서 -0.5V까지 변화시키면서 Se<sup>-2</sup>로의 환원피이크전류를 측정 한 결과는 Fig. 2에서와 같다. 구리(II)를 첨가하지 않은 경우에 비하여 Cu(Hg)Se의 電着效率는 전착전위 -0.4V보다 음성전위에서 최대감도를 가지며 따라서 이하 실험에서 전착전위를 -0.5V로 정하였다.



**Fig. 2**—Dependence of selenium peak currents on deposition potential in the presence of copper ion.

- (1) peak potential: -0.65V (vs. Ag-Ag-Cl), Se(IV): 50ppb.
- (2) peak potential: -0.76V (vs. Ag-Ag-Cl), Se(IV) 50ppb+Cu(II) 550ppb, supporting electrolyte: 0.1M HCl.

**구리(II)濃度の 影響**—Fig. 3은 電着電位 0.1, -0.2, -0.5V일때 셀렌(IV) 50ng/ml에 구리(II)를 1, 10, 100 및 1,000배 첨가시켰을 때 피이크電流의 變化를 나타낸다. 電着電位 -0.5V이고 구리(II)와 셀렌(IV)의 比가 10~1,000사이일 때 감도가 가장 우수하며 피이크전류도 거의 일정하였다. 따라서 測定時



**Fig. 3**—Effects of copper(II) concentration on the stripping currents of selenium(IV). Se(IV): 50ppb, supporting electrolyte: 0.1M HCl,

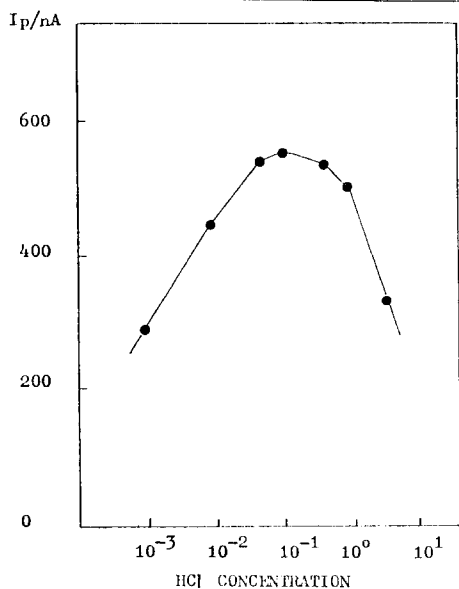


Fig. 4—Effects of HCl concentration on peak currents.

Se(IV): 20ppb, Cu(II): 2.5ppm, deposition potential:  $-0.5V$ .

용액중 구리 (II)를 1~10ppm되게 첨가하였다.

鹽酸濃度の影響— $10^{-3}$ ,  $10^{-2}$ ,  $5 \times 10^{-2}$ ,  $10^{-1}$ ,  $5 \times 10^{-1}$ , 1M 및 2M의 염산을 각각 持持電解質로 사용하여 셀렌 20ng/ml일 때 피크 전류의 변화를 조사하면 Fig. 4와 같다. 최종 측정 용액중 염산 농도가  $10^{-2} \sim 10^{-1}M$ 일 때 감도가 우수하며 標準物添加法에 의한 分析結果에 영향을 미치지 않았다.  $5 \times 10^{-1}M$  이상에서는 재현성이 좋지 않았다. 따라서 最終測定溶液中 염산농도가  $10^{-2} \sim 10^{-1}M$ 이 되도록 하였다.

檢量 및 檢出限界—Fig. 5는 구리 (II) 20  $\mu g/ml$ 에서 셀렌 (IV) 20ng/ml~200ng/ml일 때의 검량선을 나타낸다. 일정과량의 구리(II)共存時 셀렌농도 20ppb이하의 범위에서도 피크 전류는 셀렌(IV) 농도에 비례하였다. 한편, 檢出限界는 電着時間, 電着時의 溶液回轉速度, 電解質의 濃度 및 測定溶液의 組成바탕 전류값등에 좌우되지만 본 研究에서의 測

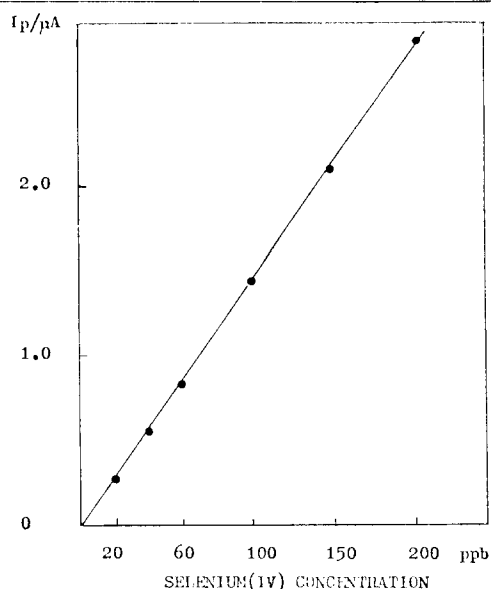


Fig. 5—Calibration curves for selenium(IV).

Cu(II): 20ppm, deposition potential:  $-0.5V$ , deposition time: 60s, equilibration: 30s, potential scan rate: 4mv/s, supporting electrolyte: 0.1M HCl.

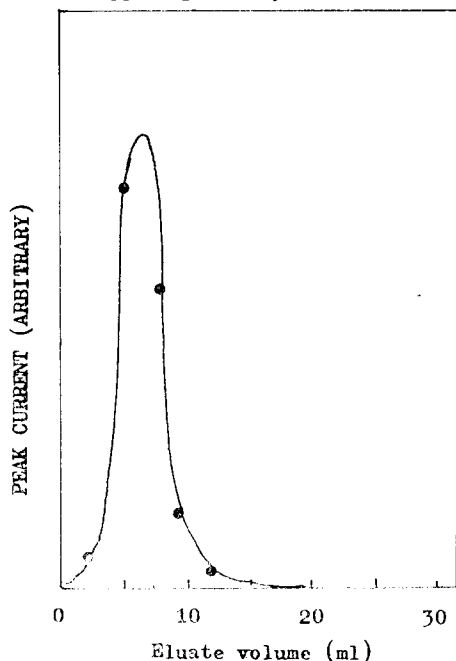


Fig. 6—Elution of selenium(IV) by cation exchange column.

exchanger: Dowex 50X-8, 300~400mesh, H-form column, bed volume: 3ml, Eluent: 0.1M HCl.

定條件에서 셀렌피이크로서 측정될수 있는 크기를 갖고 피이크전위도 정확한 것을 기준으로 했을 때 0.1ng/ml였다.

시료 분해산물로부터 셀렌의 分離—양이온 교환컬럼에 의한 셀렌 (IV)의 溶離曲線은 Fig. 6과 같다. 溶離液 10ml에서 94% 20ml에서 98% 溶離되었다. 한편, 셀렌 (IV) 2.5 $\mu$ g 및 양이온들인 Cu(II), Pb(II), Fe(III), Zn(II), Cd(II)을 각각 20 $\mu$ g 혼합한 용액을 분컬럼에 통과시킨 후 용리액 25ml로 Se(IV)의 회수율을 구한 결과 양이온들은 완전 흡착제거되었고 Selenite이온은 컬럼에 흡착되지 않고 전부 용리되었다. 그러나 Cu(II)가 100배以上的의 경우 완전분리가 되지않고, Fe(III)이 많이 포함된 試料의 경우 용출속도가 느린 결과로 나타났다. 따라서 흡착제 부피가 더 커야 되겠으나 전처리과정에서 어느정도 제거되고 특히 식물체 시료등의 경우 분 컬럼의 교환능으로도 충분하였다.

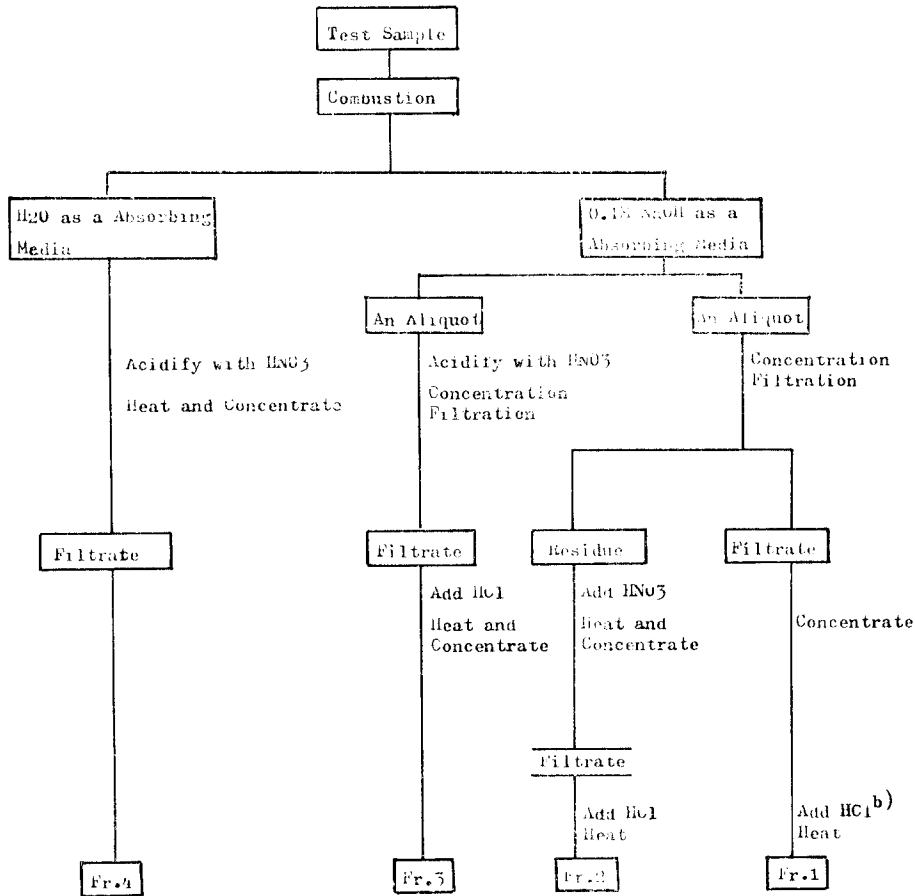


Fig. 7—Schematic diagram for testing proper pretreatment after combustion.

a) Bovine liver 2g was used as a test sample. b) Reduction of Se(VI) to Se(IV) was carried out by heating the solution (1~4M HCl) on water bath.

試料의 分解 및 前處理操作 檢討—시료의 인소 및 전처리 과정에 따른 회수율을 검토하기 위해 bovine liver 각각 2g에 대해서 Fig. 7에서와 같은 순서로 시험했을 때 Table III에서 보는 바와 같이 전처리과정 중 알카리성에서의 여과조작을 거친 Fr. 4에서 선회은 거의 100%에 가까운 회수율을 나타내었다. 한편, 물, 0.1M 염산 및 0.1M NaOH를 吸收劑로 하여 산소분배(30기압)에서의 인소시  $Se^{75}$ 의 회수율은 모두 100%로 보고된 바 있지만<sup>10)</sup> 본 실험에서 산성에서 여과하는 경우 상당량의 Selenite이온이 공존  $Fe(III)$ 이온과 함께 컬럼 분리과정에서 간류되므로 Fr. 3 및 Fr. 4에서

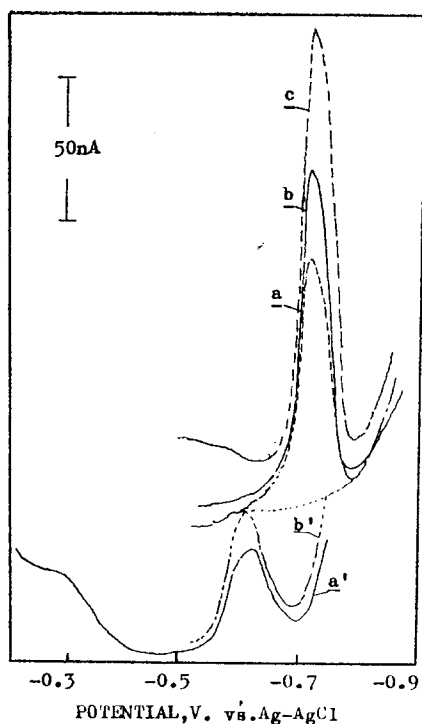


Fig. 8—Stripping voltammograms for the determination of selenium in ginseng.

(a) and (a'): sample, (b) and (b'): +50 ng  $Se(IV)$ /ml, (c): +100ng  $Se(IV)$ /ml, (a)(b)(c): deposition at  $-0.5V$ ,  $Cu(II)$ : 2ppm, (a')(b'): deposition at  $-0.2V$ .

Table III—Effect of pretreatment on the recovery of selenium in bovine liver.

Fraction Number	Amount of Se found, $\mu g/g$	Recovery, %
1.	$1.09^a \pm 0.14^c$	$99 \pm 12.7$
2.	$0.02^b$	1.8
3.	$0.55^b$	50
4.	$0.53^b$	48

a) mean of six determination, b) mean of duplicate determination, c) standard deviation.

Table IV—Results of cathodic stripping voltammetric determination of Se in NBS biological and botanical standard reference materials.

	SRM 1577 (bovine liver)	SRM 1568 (rice flour)	SRM 1571 (orchard leaves)
Certified	$(1.1 \pm 0.1)$	$(0.4 \pm 0.1)$	$(0.08 \pm 0.01)$
	1.15	0.30	0.082
	1.08	0.35	0.068
	0.99	0.37	0.070
	0.89	0.38	0.076
	1.26	0.42	0.058
	1.21	0.42	0.100
Mean, ppm	1.09	0.37	0.075
S.D., ppm	0.14	0.05	0.014
C.V., %	13.8	13.5	18.6

Table V—Analytical results of Se in a series of plant materials.

Sample	Amounts of Se found, $\mu g/g$
Rice	$1.54^{a) \pm 0.24^b)}$
Zinger	$0.76 \pm 0.10$
Garlic	$0.10 \pm 0.002$
Job'tears	$1.66 \pm 0.25$
Tobacco	$1.34 \pm 0.11$
Wheat	$0.60 \pm 0.08$
Pollen	$0.01 \pm 0.002$
Ginseng	$0.28 \pm 0.04$

a) mean of triplicate determination, b) standard deviation.

의 회수율이 나빴다.<sup>11)</sup>

標準試料 및 試料中 셀렌의 分析—본 분석법에 의해 매트릭스 組成이 다른 3종의 標準試料에 對한 Se(IV)의 分析結果는 Table IV와 같다. 분석결과 正確度 및 精밀성이 만족할만 하였다. 한편 몇가지 식물체 시료에 對한 分析結果를 Table V에 나타내었고 참고로 인삼중 Se(IV)分析의 voltammogram은 Fig. 8과 같다.

## 結 論

수은전극에서 CSV法을 이용한 셀렌분석에서 셀렌의 stripping 피이크는 피이크전위  $-0.7V$  (Vs. Ag-AgCl) 부근에서 나타나고 피이크전류는 셀렌의 적은 농도범위에서도 비례하였다. 본 법에 의한 셀렌(IV)의 검출한계는  $0.1ng/ml$ 이었다. 본 분석법은 식물체중 미량 내지 극미량분석에 이용가능하리라 사료된다.

## 文 獻

1. K. Schwarz, *Clinical Chemistry and Chemical Toxicology of Metals*, edited by S.S. Brown, Elsevier, North-Holland, Amsterdam, (1977).
2. S.L. Halpern, Current concept on trace minerals, *The Medicinal Clinics of North America*, 54(6), 1509 (1970).
3. R.A. Zingaro and W.C. Cooper, *Selenium*, Van Nostrand Reinhold, New York, 594 (1974).
4. S.T. Whang, K.J. Lee and K.W. Lee, Analysis of metallic elements in plants and ore samples by neutron activation analysis, KSRI-MO-27 (1984).
5. P.R. Haddad and L.E. Smythe, A critical evaluation of fluorometric methods for determination of selenium in plant materials with 2,3-diaminonaphthalene, *Talanta*, 21, 1859 (1974).
6. W. Holak, Determination of arsenic and selenium in foods by electroanalytical techniques, *J of A. O.A.C.* 59, 650 (1976).
7. G. Jarzabek and Z. Kublik, Determination of traces of selenium(IV) by cathodic stripping voltammetry at hanging mercury drop electrode, *Anal. Chim. Acta.* 143, 121 (1982).
8. D.C. Moon, *Studies on the Trace Analysis of Germanium and Selenium by Stripping Voltammetry*, Ph. D. Thesis of Seoul National University, (1985).
9. J. Wang, P.A.M. Farias and D.B. Luo, Improved resolution in stripping analysis using the formation of intermetallic compounds, *Anal. Chem.* 56, 2379 (1984).
10. W.B. Dye, E. Bretthauer, H.J. Seim and C. Blincoe, Fluorometric determination of selenium in plants and animals with 3,3'-diaminobenzidine, *Anal. Chem.* 35, 1187 (1963).
11. M. Yamamoto and H. Sakai, Separation of selenite, sulfate and iron by cation-exchange resin, *Anal. Chem. Acta.* 32, 370 (1965).