

**HZ-HJ-SZ-0048**

水质—硒的测定—2，3—二氨基萘荧光法

**1 范围**

**1.1 主题内容**

水样经混合酸液消解，再经盐酸还原。然后测定硒浓度，包括无机的六价和四价硒，以及低价硒(系指四价以下的无机和有机硒)。

**1.2 适用范围**

本方法适用于各种清洁水、生活污水及某些工业废水(见附录 A)。

水中一般常见的阴、阳离子不干扰硒的测定。铜、铁、钼等重金属离子及大量氧化物对测定硒有干扰，可用 EDTA 及盐酸羟胺消除。在本法测定条件下，硒含量为 0.05 μg 时，30 μg 砷、钴、铬；5 μg 镉；20 μg 镍；27 μg 铍；35 μg 铜；40 μg 锰；50 μg 铅、锌；100 μg 铁、钒等不干扰。

本法最低检出量为 0.005 μg 硒，取 20 mL，水样测定，硒的最低检出浓度为 0.25 μg/L。

**2 原理**

2，3—二氨基萘在 pH1.5~2.0 溶液中，选择性地与四价硒离子反应生成 4，5—苯并 硒脑(4，5—benzopiaselenol)绿色荧光物质，被环己烷萃取。所产生的荧光强度与四价硒含量成正比。水样经硝酸—高氯酸混合酸液消解，将四价以下的无机和有机硒氧化为四价硒，再经盐酸消解将六价硒还原为四价硒，然后测定总硒含量。

**3 试剂**

除另有说明外，分析中使用蒸馏水及去离子水及公认的分析纯试剂。

3.1 蒸馏水及去离子水，电阻率在 500000 Ω·cm(25℃)以上。

3.2 环己烷(C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>)，不得含荧光杂质。不纯时需重蒸馏，收集 80~81℃馏分，使用过的环己烷可重蒸后再用。

3.3 硝酸(HNO<sub>3</sub>)，密度(ρ<sub>20</sub>)为 1.4g/mL，优级纯。

3.4 高氯酸(HClO<sub>4</sub>)，密度(ρ<sub>20</sub>)为 1.68g/mL，优级纯。

3.5 硝酸—高氯酸混合酸液，1+1(V/V)。

3.6 盐酸(HCl)，密度(ρ<sub>20</sub>)为 1.18g/mL，优级纯。

3.7 盐酸溶液，1+4(V/V)。

3.6 盐酸溶液，约 0.1mol/L：将 8.4mL 盐酸(3.6)，用水(3.1)稀释至 1000mL。

3.9 氨水(NH<sub>3</sub>+H<sub>2</sub>O)，密度(ρ<sub>20</sub>)为 0.9g/mL，优级纯。

3.10 氨水溶液，1+1(V/V)。

3.11 甲酚红溶液，0.2g/L：将 20mg 甲酚红(C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>S)溶于少量水中加 1 滴氨水(3.9)，使完全溶解。加水(3.1)稀释至 100mL。

3.12 混合试剂：将 10g Na<sub>2</sub>—EDTA 溶于少量水中，加热溶解，冷却后加入 10g 盐酸羟胺(NH<sub>2</sub>OH·HCl)及 10mL 甲酚红溶液(3.11)，用水稀释至 200mL，贮于冰箱内，临用前将此液用水稀释 10 倍。

3.13 精密 pH 试纸，pH0.5~5.0。

3.14 2，3—二氨基萘溶液，1g/L (此溶液需在暗室中配制)：将 100mg 2，3—二氨基萘[C<sub>10</sub>H<sub>6</sub>(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]，简称 DAN]于 250mL 磨口锥形瓶(4.1)中，加入 0.1mol/L 盐酸(3.8)100mL，振摇至全部溶解后，加入 20mL 环己烷(3.2)继续振摇 5min，若 DAN 试剂不纯时，环己烷相有大量褐色悬浮物，弃去，水相再加环己烷反复萃取洗至环己烷相无色透明时，移入底部塞有玻璃棉(或脱脂棉)的分液漏斗(4.2)中，静置分层后将水相放回原锥形瓶内，再用环己烷(3.2)同上操作萃取 3 次。将此纯化的溶液贮于棕色瓶中，加一层约 1cm 厚的环己烷(3.2)以隔绝空气，

置冰箱内保存。用前再以环己烷(3.2)萃取一次。经常使用每月配制一次为宜，不经常使用可保存一年。

3.15 硒标准贮备溶液，100mg/L：准确称取 0.1000g 光谱纯元素硒(Se)溶于少量硝酸(3.3)中，加入 2mL 高氯酸(3.4)。在沸水浴上加热除去硝酸，稍冷后加入少量水和 8.4mL 盐酸(3.6)，继续加热 2min，然后转移至 1000mL 容量瓶，用水稀释至标线并混匀。本溶液在冰箱内可贮存一年。每毫升标准溶液含 100 $\mu$ g 硒。

3.16 硒标准溶液，5.00mg/L：取 5.00mL 硒标准贮备溶液(3.15)于 100mL 容量瓶内，用 0.1mol/L 盐酸溶液(3.8)稀释至标线并混匀，于冰箱内贮存。每毫升溶液含 5.00 $\mu$ g 硒。

3.17 硒标准使用溶液，5.00 $\mu$ g/L：取 1.00mL 硒标准溶液(3.16)置 100mL 容量瓶内，用 0.1mol/L 盐酸溶液(3.8)稀释至标线并混匀，于冰箱内贮存。每月配制。每毫升标准溶液含 0.050 $\mu$ g 硒。

#### 4 仪器

本法首次使用的玻璃器皿，均须以硝酸(1+1)浸泡 4h 以上，用自来水及水(3.1)洗净。本法用过的玻璃器皿，以自来水冲洗后，于 0.5% 洗衣粉溶液中浸泡 2h 以上，用自来水及水(3.1)洗净。

常用实验室设备和以下仪器。

4.1 具标准磨口塞锥形瓶，250mL 及 100mL。

4.2 分液漏斗，250mL 及 25mL。活塞上不得涂油。若不易转动时，可加一点水(3.1)润湿即可。

4.3 具塞比色管，5mL。

4.4 电热板。

4.5 水浴锅。

4.6 荧光分光光度计或荧光光度计。

#### 5 采样与样品

##### 5.1 采样

水样采集时必须使用经硝酸(1+1)浸泡 4h 以上，然后用大量自来水和水(3.1)冲洗干净的玻璃瓶或塑料瓶。

##### 5.2 样品

采样后不能立即进行测定时，一般天然水及饮用水可于室内阴凉处保存，工业废水最好及时分折或贮于冰箱内，勿加酸保存(注)。

注：天然水及饮用水中主要含有六价或四价硒，水样加与不加酸保存均影响不大；但工业废水成分复杂，含有各种价态硒，有的水样中硒以负二价的为主，若加酸保存时可生成硒化氢气体逸散，使总硒含量损失很大。

#### 6 操作步骤

##### 6.1 试样

将样品(5.2)摇匀后立即取 20mL 或适量，按步骤(6.2)进行测定。

##### 6.2 空白试验

用水(3.1)代替试样，加入试剂的量均与测定试样时所用的试剂量相同，按 6.4.1~6.4.3 测定步骤进行空白试验。

当测定试样中硒浓度接近检出限浓度时，必须控制空白试验的荧光强度应尽可能低，其平行管的荧光强度值之差不应超过平均值的 5%，否则应将 DAN 试剂(3.14)用之前用环己烷(3.2)多提纯几次，所用器皿均需重新洗净。

##### 6.3 校准曲线

取 8 个 100mL 锥形瓶(4.1)，分别加入硒标准溶液(3.17)0.0、0.1、0.3、0.5、0.7、1.0、1.5 及 2.0mL 加水(3.1)至与试样相同体积，然后按照测定步骤(6.4.1~6.4.3)进行操作。

分别以测定的各荧光强度减去空白试验(零浓度)的荧光强度后，与对应的硒含量绘制校准曲线。

## 6.4 测定

### 6.4.1 消解

将适量试样(6.1)，其含硒不超过 0.1g，放入锥形瓶(4.1)中，小心地加入 2.5mL 硝酸-高氯酸(3.5)，混匀后于电热板上加热至瓶内产生浓白烟，立即取下，稍冷后加入 2.5mL 盐酸溶液(3.7)，继续加热至再产生浓白烟，立即取下放冷。

注：样品以硝酸-高氯酸消解不完全时杂质荧光高，若消解时间过长硒损失很大。所以消解快到终点时，需要注意观察浓厚白烟的变化，不要过多摇动瓶，当瓶内浓白烟分层滚动时，应立即取下。

### 6.4.2 荧光物质的形成及萃取

向消解的溶液中加入 10mL 混合试剂(3.12)，溶液呈桃红色，用氨水(3.10)调节至淡橙色(pH1.5~2.0)，放冷。

注：硒与 2, 3-二氨基萘必须在酸性格液中反应，pH 值以 1.5~2.0 为最佳，过低时溶液易乳化，太高时测定结果偏高。甲酚红指示剂有 pH2~3 及 7.2~8.8 两个变色范围，前者是由桃红色变为黄色，后者是由黄色变成桃红(微带蓝)色，要注意，不可混淆，必要时可用精密试纸 pH0.5~5.0(3.13)检查，确保溶液的 pH 值为 1.5~2.0。

以下步骤需在暗室内黄色灯光下操作：将 2.0mL DAN 溶液(3.14)加入上述各瓶中，混匀，置沸水浴中加热 5min(自放入水浴锅中算起)，取出以冷水冷却后准确加入环己烷(3.2)4.0mL 萃取 2min，然后将全部溶液移入 25mL 分液漏斗(4.2)中，待分层后放掉水相。将环己烷相由分液漏斗上口倾入具塞比色管(4.3)中，盖严待测。

### 6.4.3 荧光测定

用荧光分光光度计，激发光波长为 376nm，发射光波长为 520nm；或用荧光光度计，选择适宜滤片<sup>[1]</sup>，测定荧光强度。以测定试样的荧光强度减去空白试验(6.2)的荧光强度，从校准曲线上查得硒量。

注：<sup>[1]</sup>不同型号的荧光光度计，所具有的滤片不同，需根据使用的仪器，进行选择适宜的滤片。例如用国产 930 型荧光光度计可选择激发光滤片为 330nm，荧光滤片为 510nm(截止型)和 530nm(带通型)组合滤片。

## 7 结果计算

硒含量  $c$  (g/L)按下式计算：

$$c = m/V \times 1000$$

式中： $m$ ——从校准曲线上查得样中硒含量，g；

$V$ ——测定用试样体积，mL。

结果以两位小数表示。

## 8 精密度和准确度

六个实验室测定含硒 9.04g/L 的统一样品，含其他元素浓度(g/L)为：铝(84.8)，砷(22.4)，铍(23.7)，镉(7.4)，铬(5.8)，钴(34.4)，铜(7.2)，铁(17.1)，汞(0.56)，锰(10.3)，镍(13.7)，铅(34.4)，钒(104.8)，锌(80.0)。

### 8.1 重复性

各实验室的室内相对标准偏差分别为 0.6%，1.3%，1.4%，1.9%，2.6% 和 3.7%。

### 8.2 再现性

实验室间相对标准偏差为 5.2%。

### 8.3 准确度

相对误差为+4.5%。

## 9 参考文献

GB11902-89。

附录 A  
本方法一般说明  
(参考件)

A1 消解时所用的混合酸液中高氯酸试剂浓度一定要用约为 72% 的, 因为高氯酸在有水存在的情况下使用是安全的, 但无水存在时高氯酸易爆炸, 因此在使用过程中要特别小心, 不得蒸干, 蒸干除使硒损失外, 还会引起爆炸。

A2 测定总硒时需加盐酸将六价硒还原至四价硒, 盐酸用量 0.1~3.0mL 均能将 500ng 的六价硒还原至四价硒。本法采用盐酸溶液(1+4)2.5mL。

A3 混合试剂中的 2Na—EDTA 盐是为消除水样中铜、铁、铝等重金属离子的干扰, 盐酸羟胺可消除硝酸等氧化物的干扰。在含 50ng 硒的标准溶液中分别加入其他元素( $\mu\text{g}$ )为: 砷(3~30), 铬(1~30), 镉(1~5), 钴(5~30), 铜(1~35), 铁(10~100), 铅(5~50), 锰(2~40), 镍(2~20), 钒(15~100), 锌(1~50), 铵(3.4~27.5), 汞(0.1~1.0)时各加 10mL 混合试剂测定硒的回收率为 89.4~98.1%, 均值为 97.1%。

A4 用本法测定过皮革厂, 炼油厂, 翻胎厂, 煤气厂, 硫酸厂, 造纸厂, 白银化工厂, 玻璃厂, 特种玻璃厂等工业废水。含硒量为 15.4~875ppb, 加标硒量 50~150ppb, 回收率为 96.2~105.2%。另外测定大连化工厂废水, 含硒量为 22.5ppb, 加标硒量 50ppb, 回收率为 48%。可能含有大量还原性物质, 干扰测定, 有待进一步研究探讨。