

Élelmiszerek szeléntartalmának meghatározása és szintfelmérése I. Szelénkoncentráció meghatározása hidridgenerátoros atomabszorpciós spektrometriával

Molnár Jeannette, James Dixon és James Dunsmuir

Glasgow University, Skót Mezőgazdasági Intézet, Ayr

Érkezett: 1994. augusztus 17.

Egészségügyi, táplálkozási és környezeti megfontolások rendkívül fontossá tették a különböző nyomelemek meghatározását, ezek között a szelénkoncentráció pontos mérését.

Erre a célra Magyarországon eddig az ICP (inductively coupled plasma, a továbbiakban: ICP), atomabszorpciós spektrometriás és fluorimetriás módszerek terjedtek el. Az ICP módszer jól használható viszonylag nagy szelénkoncentrációjú minták pontos mérésére, de biológiai mintákra és élelmiszervizsgálatra csak korlátozottan alkalmas, mivel érzékenysége nem kielégítő. Ezért külföldön a figyelem mindinkább a hidridképzéssel kombinált atomabszorpciós eljárás felé irányul. A hidridgenerátorral kombinált atomabszorpciós spektrometria pontos és érzékeny eljárás szelén kimutatására biológiai és élelmiszermintákban. A minta előkészítése többféleképpen lehetséges, attól függően, hogy mely savakkal történik a feltárás. Ismeretes csak salétromsavas feltárás [1] is, de ennek hatásfoka nem éri el a kívánt mértéket biológiai minta esetén, ahol a szelén szerves anyag, rendszerint protein alkotórésze. Ennek feltárásához olyan magas hőmérséklet lenne szükséges, amit a csupán salétromsavas feltárás nem biztosít, hiszen a salétromsav túl hamar elpárolog. Ezért próbálkoztak tömény salétromsav-perklórsavas keverékkel [2, 3], ami viszont túl robbanékony elegy. A veszély kiküszöbölése céljából tömény kénsav is része a keveréknek [4, 5]. A kénsav jelenléte igen fontos, hiszen a salétromsav elpárolgása után a perklórsav melegítése száraz állapotig szerves anyag jelenlétében igen veszélyes robbanáshoz vezethet. Így a - salétromsav-perklórsav-kénsav - hármas keverék biztosítja a szerves anyag teljes feltárását, ami előfeltétele a pontos koncentrációmérésnek.

A hidrid-technika hátránya viszont, hogy interelementáris interferenciák (elemek közötti kölcsönhatások) hibás koncentrációméréshez vezethetnek. A legtöbb interferenciát, szelén esetében az

arzénét, a feltárás végén hozzáadott emelt savkoncentráció (HCl koncentráció =6 M) csökkenti, ill. eliminálja.

A fluorimetriás [6], az ICP [7], a hidridgenerációs és az elektrotermikus atomabszorpciós módszereken kívül magyar irodalmi adatot [8] találtunk - a külföldön egyébként kevésbé elterjedt - atomabszorpciós-flow injection analysis (a továbbiakban: FIA technika) alkalmazására.

Az irodalmi áttekintés alapján élelmiszerek és bárányplaszma szeléntartalmának meghatározásához az intézetben bevezetett és a feladatra adaptált hidridgenerátoros atomabszorpciós spektrometriás eljárást, ezen belül a feltáráshoz tömény salétromsav-perklórsav-kénsav keveréket használtunk.

Műszerek, vegyszerek és vizsgálati minták

Műszerek és fontosabb eszközök:

Atomabszorpciós spektrométer, IL 251 típus

Hidridgenerátor, AVA 440-es típus, H₂ és Ar gázzal

Blokktermosztát hőmérsékletszabályozóval, Tecator típus

Vegyszerek: 1000 ppm szelén oldat, "BDH"

Nátrium-hidroxid, 10 %, "Analar"

NaBH₄ drázsé, "Spectrosol"

Sósav, 6 N, redisztilált

Salétromsav, koncentrált, redisztilált

Perklórsav, 60 %, "Analar"

Kénsav, koncentrált, "Analar"

Savmosott forrkő

Roncsoló elegy készítése: 260 ml ionmentes vízhez hozzáadtunk 750 ml salétromsavat, amihez 375 ml perklórsavat és 115 ml kénsavat öntöttünk.

0,3%-os Nátrium-bór-hidrid készítése 0.1 %-os nátrium-hidroxidban: 3ml 10%-os nátrium-hidroxidot pipettáztunk egy 150 ml ionmentes vizet tartalmazó mérőlombikba és ehhez hozzáadtunk 1 drázsé nátrium-bór-hidridet (0,9 g). Miután a drázsé feloldódott, vízzel 300 ml-re feltöltöttük.

Szelén standard oldatok készítése: 100 ppm töménységű Se-oldat készítésénél egy 20 ml 6 N HCl-t tartalmazó 100 ml-es mérőlombikba

10 ml 1000 ppm töménységű Se oldatot pipettáztunk, amit azután jelig feltöltöttünk. A 10, 1 és 0,1 ppm koncentrációjú oldat a higított törzsoldat hasonló továbbhígításával állítható elő. A 0,1 ppm Se-oldatot naponta kell elkészíteni, míg a nagyobb töménységű Se-oldatokat hetente tanácsos elkészíteni.

Vizsgálati minták: Aprított (darált) élelmiszerek és bárányplazma.

Vizsgálati módszer

A 0,001 g vagy 0,01 ml pontossággal bemért aprított élelmiszer- vagy biológiai mintához hozzáadtuk a megfelelő mennyiségű roncsoló elegyet. Ha 2,0 ml folyékony, ill. 0,5 g szilárd mintánál kisebb a mennyiség, akkor 10 ml roncsoló elegyet adagoltunk hozzá. Ha viszont a minta több mint 2,0 ml, ill. a száraz mintából 0,5 g-tól 2,0 g-ig terjedő mennyiséget mértünk be, akkor 20 ml roncsoló elegyre volt szükség.

A roncsoló eleggyel vegyített mintát a hozzáadott savmosott forrkővel nedvesítés céljából éjszakára állni hagytuk. Az éjszakai nedvesítést követő reggelen először 120 °C-on kezdtük a feltárást, amíg a habzás megszűnt. Ekkor 150 °C-ra emeltük a hőmérsékletet és azon 45 percig tartottuk. Ezután 200 °C-on 90 percig roncsoltuk a mintát, majd 250°C-on két és fél órán keresztül tartottuk és a roncsolást 275 °C-on fejeztük be, amíg a minta mennyisége hozzávetőlegesen 3 ml alá csökkent, illetve az elegy kifehéredett.

Az oldat lehűlése után 5 ml 6 N HCl-at adtunk hozzá, majd 120 °C-on még 30 percig melegítettük. Ez a lépés azért fontos, hogy a perklórsav következtében részlegesen 6⁺ állapotba került szelén visszaredukálódjon 4⁺ állapotba, mert a szelén-ion a nátrium-bór-hidrid számára csak így hozzáférhető. Ezután ionmentes vizes öblítéssel egy 50 ml-es edénybe vittük át az oldatot, amibe előzőleg 20 ml 6 N HCl-at mértünk.

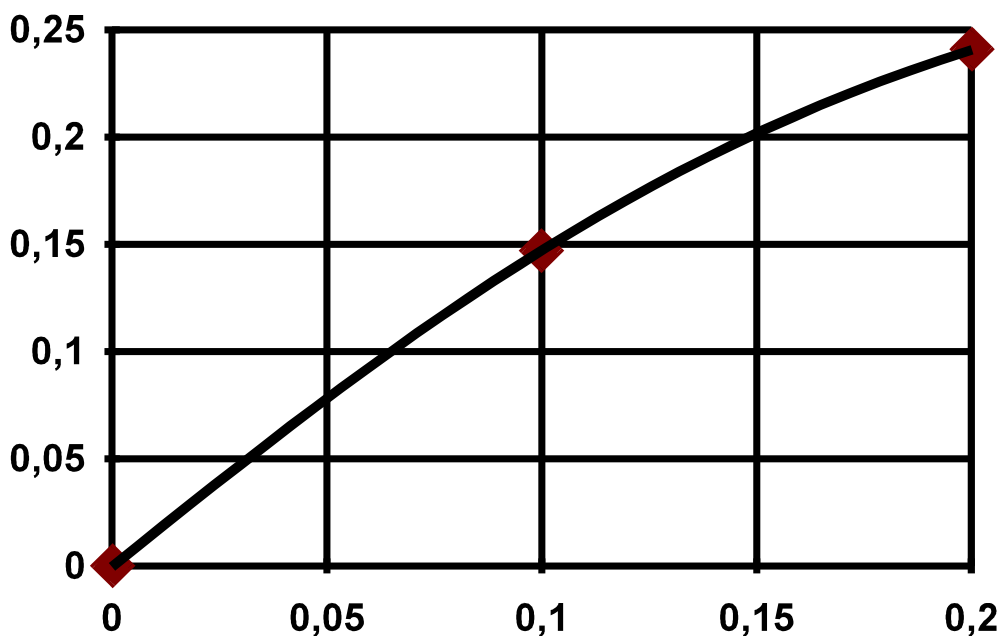
Kalibrációs görbe minden mérésorozathoz készült, amelyhez 0,1 ppm és 0,2 ppm töménységű standard szelénoldatot használtunk. A méréshez 30 ml mérőoldatot állítottunk össze az 1. táblázat szerint, amely a hidridgenerátor kímélése céljából 4 N-os savkoncentrációjú volt. A hidridgenerátor a mérőoldat 0,3 ml áramló mennyiségéhez adagolta a nátrium-bór-hidrid reagenst. A reakcióidő 30 s, amely után a spektrometriás mérésre a megfelelő lámpával 196 nm-en került sor.

1. táblázat: Az oldatok mérés előtti hígítása

| Oldat térfogat (ml) | 6 N-os HCl térfogat (ml) | Ionmentes víz (ml) |
|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|
| 1 | 19,5 | 9,5 |
| 2 | 19,0 | 9,0 |
| 3 | 18,5 | 8,5 |
| 4 | 18,0 | 8,0 |
| 5 | 17,5 | 7,5 |
| 10 | 15,0 | 5,0 |
| 15 | 12,5 | 2,5 |

A kalibráció megfelelőségét a következő adatok jellemzik:

| Szelén-koncentráció (ppm) | Abszorpció |
|--------------------------------------|---|
| 0,0 | 0,0 |
| 0,1 | Átlagérték: 0,147 (legalább 10 mérés esetén, amelynél $SD \leq 0,004$ legyen). |
| 0,2 | Átlagérték: 0,241 (legalább 6 mérés esetén, amelynél $SD \leq 0,009$ legyen). |



1.ábra: Kalibrációs görbe

Ebben a tartományban a kalibrációs görbe (1. ábra) enyhén ívelt. Vakpróbát is kellett készíteni, melynek eredményét az értékelésnél vettük korrekcióba. A mintaoldatok spektrometriás mérését a kalibrációs méréssel megegyező módon végeztük el.

Eredmények, következtetések

A módszer pontosságának megállapításához egy standard humán vérminta (Seronorm Trace Elements Serum, Batch No. 010017) és egy teljes őrlésű gabonaliszt (Community Bureau wholemeal flour, BCR No. 189) referenciaminta szeléntartalmát mértük (2. táblázat).

2. táblázat: Standard minták mért szeléntartalma

| Standard minta | Referenciaérték | Mért érték |
|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Humán vérminta | $94,5 \pm 2 \mu\text{g/l}$ | $95,0 \pm 2 \mu\text{g/l}$ |
| Teljes őrlésű gabonaliszt | $140 \pm 5 \mu\text{g/g}$ | $132 \pm 10 \mu\text{g/g}$ |

A módszer érzékenységére vonatkozóan $0,005 \mu\text{g/g}$ -os koncentráció bizonyult detekciós határértéknek. A reprodukálhatóságot 22 tojás-kontrollminta többszörösen ismételt mérése alapján határoztuk meg. Az átlag $0,844 \text{ mg/kg}$ volt és szórásként $\pm 0,053 \text{ mg/kg}$ értéket számoltunk.

A kidolgozott és validált módszerrel meghatároztuk néhány vérminta, ill. nagyszámú élelmiszerminta szelénkoncentrációját. A minták szeléntartalmát, a minta homogenitásától és a kapott eredményektől függően 2-6-szoros ismétléssel mértük. Az ismételt mérések szélsőértékeinek eltérése egyetlen minta esetében sem haladta meg az átlagérték 10 %-át. Az eredményeket kivonatossan a 3. táblázat tartalmazza, míg a szintfelmérés részletes eredményeit a közleménysorozat második része ismerteti.

3. táblázat: Néhány reprezentatív minta szeléntartalma

| Minta megnevezése | Szeléntartalom |
|------------------------------|----------------------------|
| Sajtos és paradicsomos pizza | 21-23 $\mu\text{g/kg}$ |
| Burgerking Whopper | 61-69 $\mu\text{g/kg}$ |
| Burgerking Sült krumpli | 14,5-15,5 $\mu\text{g/kg}$ |
| Sertésmáj | 115-125 $\mu\text{g/kg}$ |
| McDonalds McChicken Sandwich | 95-109 $\mu\text{g/kg}$ |
| McDonalds Cheeseburger | 112-122 $\mu\text{g/kg}$ |
| Rántott gombafejek | 275-281 $\mu\text{g/kg}$ |
| Túrós-spenótos tortellini | 320-330 $\mu\text{g/kg}$ |
| Lazac dobozban | 310-324 $\mu\text{g/kg}$ |
| Bárányplasma (szelénhiányos) | 31-31 $\mu\text{g/l}$ |
| Bárányplasma (szelénpótoló) | 194-198 $\mu\text{g/l}$ |

Az alkalmazott hidridgenerátoros módszer előnyei a következőkben foglalhatók össze. Amennyiben az atomabszorpciós berendezés rendelkezésre áll, akkor a szelénkoncentráció mérése e módszerrel alapvetően

egyszerű. A módszer megbízható, hiszen igen jó visszanyerési százalékot mutat (>98 %, 2. táblázat), amely lényegesen jobb mint a H. Végh [6] által bevezetett fluorimetriás módszer esetében. Érzékenységét ugyan felülmúlja pl. az atomabszorpciós FIA-technika [8], de így is 5-ször érzékenyebb mint a H. Végh által leírt fluorimetriás módszer és még nagyobb a különbség az ICP-metodikákhoz képest. Mivel kb. 40 minta egyidejű roncsolása és feltárása lehetséges, nagyszámú minta esetén gyorsabb, mint a Siska és mtsai által bevezetett FIA-metodika, ugyanakkor annál sokszorta olcsóbb. A mintanagyság (0,5-2 g) változtatása is lehetséges; nagyobb mintamennyiség bemérése esetén megnő az érzékenység. A módszer hátránya az egyedi vizsgálat időigényessége (legalább két nap), amit viszont ellensúlyoz a kedvező sorozatvizsgálat lehetősége, a megbízhatóság, a takarékos kivitelezhetőség, a nagyfokú érzékenység és a viszonylagos egyszerűség.

Irodalom

1. Kotz, L., Kaiser, G., Tschöpel, P. és Tölg, G.: Decomposition of biological materials for the determination of extremely low contents of trace elements in limited amounts of nitric acid under pressure in a teflon tube. *Z. Anal. Chem.* **260** (1972) 207-209.
2. Clinton, O. E.: Determination of selenium in blood and plant material by hydride-generation and atomic spectroscopy. *Analyst* **102** (1977) 187-192.
3. Brown, A. A., Ottaway, J. M. és Fell, G. S.: Determination of selenium in biological material: Comparison of three atomic spectrometric methods. *Anal. Proc.* **19** (1982) 321-324.
4. Welz, B. és Verlindeu, M.: IUPAC Interlaboratory Trial - Selenium Determination in Human Body Fluids Using Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. *Acta Pharmacol - Toxicol - Copenh.* **59** (1986) Suppl. 7, 577-580.
5. Hershey, J. Wilson, és T. S. Oostdyk: Determination of Arsenic and Selenium in Environmental and Agricultural Samples by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **71** (1988) 1090-1093.
6. H. Végh E.: Gabonafélék szeléntartalmának meghatározása. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, **34** (1988) 1, 23-31.
7. Kardos, J., K. Zimmer, E. Coni, S. Caroli és A. Stacchini: Determination of selenium in foods by inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry and hydride generation. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, **25** (1989) 505-509.
8. Siska R., J. Borszéki, W. Wegscheider és G. Knapp: Szelén meghatározása élelmiszermintákban AAS-FIA technikával. Előadás az Élelmiszer Minőségellenőrzés X. Tudományos Konferenciáján, 1993. október 15., Budapest

Szelénkoncentráció meghatározása hidridgenerációs atomabszorpciós spektrometriával

Molnár J., Dixon, J. és Dunsmuir, J.

Szerzők élelmiszerek és biológiai minták szeléntartalmának meghatározására perklórsavas-salétromsavas-kénsavas feltárást és hidridgenerátoros mérési módszert alkalmaztak. Az így kialakított eljárással sikerült kiküszöbölni az interelementáris interferenciákat is. A módszert, melynek kivitelezése egyszerű, takarékos és megbízható, néhány statisztikai értékkel jellemzik és több élelmiszer-, illetve biológiai minta vizsgálati eredményéről is számot adnak.

Determination of selenium concentration by hydride generation atomic absorption spectrometry

Molnár J., Dixon, J. and Dunsmuir, J.

A method for the determination of the selenium content of foodstuffs and biological samples was applied based on a perchloric-nitric-sulphuric acid digestion mixture and hydride generation atomic absorption spectrometry. Interelement interferences could be eliminated using this technique. The method - which is easy to perform, economical and reliable - is described by a few statistical parameters and selenium concentrations of various food and biological samples are reported.

Bestimmung der Selenkonzentration mit Hydridgeneration-Atomabsorptions-Spektrometrie

Molnár J., Dixon, J. und Dunsmuir, J.

Autoren beschreiben eine Methode zur Bestimmung der Selenkonzentration von Lebensmitteln und biologischen Proben mit Hilfe von Hydridgeneration-Atomabsorptionsspektrometrie, die als Aufschlußgemisch ein Perchlorsäure, Salpetersäure und Schwefelsäure enthaltendes Gemisch verwendet. Mit dieser Methode konnten auch interelementare Interferenzen eliminiert werden. Die Methode, die leicht zu handhaben ist sowie als sparsam und zuverlässig bezeichnet werden kann, wird mit einigen statistischen Parametern charakterisiert, und es werden über Untersuchungsergebnisse von mehreren Lebensmittel- und biologischen Proben berichtet.