

adott gázolajok minőségének ellenőrzése laboratóriumunk egyik fő feladatát képezi, ugyanis a tartálykocsikból lefejtett olaj minősége nem minden esetben egyezik meg a gyártó által kiadott bizonyítványban szereplő értékekkel, vonatkoztatva ezt a kéntartalomra is.

Ezért is volt nagy jelentősége egy pontos és megbízható eredményeket szolgáltató készülék üzembe állításának, mivel az esetleges minőségi reklamációnknak megalapozottnak és alátámasztottnak kell lennie.

Jelenleg már több mint 500 minőségi átvételes gázolajminta kéntartalmának értékeit tárolja a MiniPal-1 készülékünk.

A beszállítók által a gázolajra kiadott minőségi bizonyítványban szereplő kéntartalmak – a reklamált kéntartalmúaktól eltekintve – az általunk mért kéntartalom értékekkel maximum  $\pm 15$  ppm intervallumon belül egyeztek. Szemléltetésül a tavalyi év végén mért eredményekből mutatok be párat a 2. táblázatban.

2. táblázat

Saját mérés kéntartalom, ppm	Gyártói labor kéntartalom, ppm
291	282
185	177
292	280
263	265
301	298
357 *	324
372 *	324
251	254
273	267
319	308
305	302
274	276

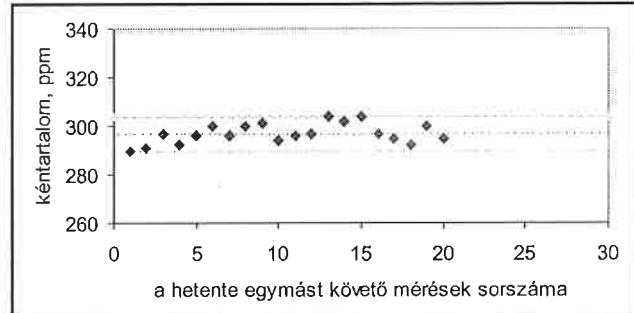
\* minőségileg reklamált gázolajok

A minőségileg kifogásolt gázolajokból pótmintát véve, és azt a beszállító laboratóriumával, illetve más, független, akkreditált laboratóriummal összemérve hasonlóan jó egyezést kaptunk, újfent bebizonyítva ezzel mérésünk megbízhatóságát.

**Méréseink megbízhatóságának ellenőrzése**

Méréseink megbízhatóságát folyamatosan ellenőrizzük, hetente egyszer mérjük az egyik referencia gázolaj kéntartalmát, havonta egyszer pedig legalább az egyik etalont vizsgáljuk.

A referencia gázolaj esetében az egyes mérési eredmények,  $S = 290$  és  $304$  ppm között, azaz  $14$  ppm széles intervallumon belül helyezkednek el (1. ábra). A  $20$  különböző alkalommal mért értékek átlaga és szórása:  $S = 297 \pm 4$  ppm.



1. ábra. A referencia gázolaj hetenkénti elemzésének eredményei

Az üzembe helyezés után egy évvel, tavaly októberben a teljes standard sorozatot újra mértük, a kapott eredmények az eredetileg fölvetett kalibrációs egyenes értékeivel jól korreláltak.

**Összefoglalva:** a több mint egy éve folyamatosan végzett méréseink eredményei alapján megállapítható, hogy a MiniPal-1 EDXRF spektrométer pontossága és megbízhatósága megfelel az akkreditálási követelményeknek. Az összehasonlító és körvizsgálat igazolta, hogy a gázolaj EDXRF és WDXRF készülékkel végzett kénelemzése a  $100 - 500$  ppm tartományban egyenértékűek. Az eredmények szignifikánsan nem különböznek egymástól.

## HPLC-UV-HG-AFS módszer szeleno-aminosavak és szerveszelen szelén specieszek meghatározására

Stefánka Zsolt – Dernovics Mihály – Ipolyi Ildikó – Mátyás András – Abrankó László – Fodor Péter\*

### Bevezetés

Az elmúlt néhány évtized kutatási tapasztalatainak tanulsága, s ma már általánosan elfogadott tény, hogy az egyes elemek környezeti szerepe, hatása az élővilágra korántsem egyértelmű, ha csupán az adott elem összkoncentrációja alapján vonunk le következtetéseket. A biológiai hatás szempontjából kulcsfontosságú lehet, hogy az adott elem milyen vegyületformában van jelen, mert ez nagymértékben befolyásolja az elem abszorpciójának, eloszlásának, átalakulásának és kiürülésének körülményeit.

Az egyik legbehatóbban vizsgált nyomelem a szelén, amely többek közt az emlősök és az ember számára is nagy jelentőséggel bír, de csak egy igen szűk tartományon belül kedvező hatású [1, 2]. Tudományosan alátámasztott tény, hogy az emberi és állati szervezetbe szeleno-aminosav formájában bekerülő szelén jóval könnyebben szívódik fel, mint amikor szerveszelenként jut be [3], és ez, ismervé az igen szűk

tolerancia-intervallumot, nagyon fontos tényező lehet, pl. a gyógytáplálási célokra használt, szelénrel dúsított vagy nagy természetes szeléntartalmú élelmiszerek szempontjából.

Ezért van szükség olyan analitikai módszerekre, amelyek képesek információt szolgáltatni arról, hogy az adott elem milyen oxidációs állapotban, milyen kötésben, milyen formában van jelen a meghatározandó mintákban. Az ilyen ún. speciációs analitikai analízisek elvégzésére általában kapcsolt rendszereket szokás használni, amelyek valamely elválasztás-technika és jellemzően egy spektrometriai detektálási technika egymáshoz illesztésével jön létre.

Speciációs analitikai célokra előszeretettel alkalmaznak induktív csatolású plazma tömegspektrometriát (ICP-MS), különböző elválasztási technikákkal kombinálva úgymint kapilláris elektroforézis (CE) [4, 5], gázkromatográfia (GC) [6, 7], ill. nagy hatékonyságú folyadék kromatográfia (HPLC) [8–11]. Ezek a módszerek – tekintve az ICP-MS nagy érzékenységét és a szolgáltatott jel több nagyságrenden keresztül tartó linearitását – ideálisak a mintákban általánosan ng/ml koncentráció-tartományban előforduló specieszek meghatározására. Azonban, sajnos az ICP-MS nagy bekerülési és szervizköltsége miatt, számos laboratóri-

\* A szerzők a Szent István Egyetem, Alkalmazott Kémia Tanszék munkatársai, Budapest, Villányi út 29–33., e-mail: stefanka@omega.bk.szie.hu

umnak nem adatik meg a lehetőség a fent említett technika alkalmazására. Ez esetben az alkalmazott detektálási módszer (AAS, AFS) rosszabb teljesítő képességének kiküszöbölésére a mintabevitel hatásfokának növelése az egyik alkalmazható eljárás [12].

Munkánk célja egy már korábban ismertített analitikai rendszer [16] továbbfejlesztésével olyan kapcsolt technika létrehozása, amely teljesíti a korszerű speciációs analitikai technikákkal szemben támasztott követelményeket, és alkalmas szeléntartalmú minták speciációs analizésére.

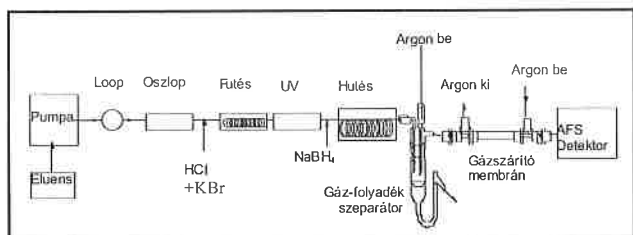
## Kísérleti rész

### Eszközök

Munkánkban egy kapcsolt HPLC-UV-HG-AFS rendszert építettünk fel, melynek részeit egymástól függetlenül optimaltunk. A rendszer a következő elemekből áll:

A szelénspecieszeket LiChroCART 125-4, ill. LiChroCART 250-4 oszlopon választjuk el. Az oszlop LiChrospher 100 RP-18 szilikagél állófázissal van töltve (Merck, Darmstadt, Németország). Az eluent a négy szívócsonkkal ellátott Merck pumpa (Hitachi, L-7100) áramoltatja, amely egy 100 µl térfogatú Rheodyne (Cotati, CA, USA) mintabeviteli egységgel összekapcsolva a mintát az oszlopra juttatja.

Az oszlopot követően a minta a termikus roncsolóba jut, ami egy szilikonolajjal töltött edény, melyben az olaj hőmérsékletét kontakthőmérővel szabályozott fűtőszál biztosítja. Az egyenletes hőeloszlásról a beépített keverő gondoskodik. A berendezés arra a célra szolgál, hogy a mintát adott hőmérsékletre melegítse, illetve azon tartsa meghatározott ideig, abból a célból, hogy az előzetesen adagolt sósav és káliumbromid a mintában lévő szelenátot szelenitű redukálja. Az eszköz további előnye, hogy a következő lépésben szereplő UV-roncsoló hatásfokát javítja.



1. ábra. A HPLC-UV-HG-AFS rendszer felépítése

A készülék következő része egy kisnyomású higanylámpa, amelyre 2 méter hosszúságú tefloncső van spirálisan feltekerve. Az UV besugárzással a szeleno-aminosavak roncsolása végezhető el, javítva a szerves szelén specíeszek hidridképzési hatásfokát.

A hidridfejlesztés savas közegben nátrium-borohidrid segítségével megy végbe. A nátrium-borohidridet, a sósavhoz hasonlóan, többcsatornás perisztaltikus pumpa (Rainin Instruments, Woburn, MO, USA) szállítja az UV-roncsolóból érkező mintához. A reakciópartnerek összekeverésére a poliéter-éter-ketonból (PEEK) készült, néhány ml térfogatú reaktor szolgál. A gázfejlődés pillanatszerű reakciója már a reaktorban, illetve a tefloncsőben megindul. Mivel a reakció exoterm folyamat, a mintaszállító cső egy 0 °C-os, jejes vizet tartalmazó hűtőn vezet keresztül, így a hidridképzés hatásfoka javul. A hűtés további előnye, hogy a vegyes halmazállapotú elegy gáz fázisából a víz jelentős része kondenzál. A hűtést a folyadék és gáz fázis szétválasztása követi, amit egy házi készítésű gáz-folyadék-szeparátor valósít meg. A gáz-folyadék szeparátorból a szelénhidridet argongázzal őrizzük ki.

A gáz-folyadék-szeparátor után egy Perma Pure gyártmányú hidridszáritót helyeztünk (Perma Pure Products, Farmingdale, NJ, USA). A száritó egy dupla falú „cső a csőben” szerkezet, melynek belső csőve vízáteresztő membrán. A külső köpenyben áramló száraz argon gáz és

a belső csőben áramló nedvesebb gáz között fennálló gradiens hatására a nedvességtartalom a membránon keresztül átdiffundál a köpenyben áramló száritó gázba. Mind a kihajtó gáz, mind a száritó gáz térfogatáramát Cole-Parmer rotaméterrel mértük (Niles II, USA).

A detektálást PSA 10.003 atom-fluoreszcens (AFS) detektorral oldottuk meg (PSA, Excalibur, Sevenoaks, Kent UK), amelyben emelt feszültségű szelénlámpát (Superlamp, Photron, Victoria, Ausztrália) helyeztünk el. A mérést a szelén jellemző rezonancia-hullámhosszán (196 nm), multi-reflektancia szűrővel végeztük a ±20 nm-es tartományban.

A detektor által kibocsátott jelet analóg-digitális konverteren keresztül számítógépen regisztráltuk. A kapott kromatogramokat Borwin szoftver (JMBS Developpements, Grenoble, Franciaország) segítségével értékeltük ki.

A HPLC-UV-HG-AFS rendszer sematikus felépítését az 1. ábra mutatja.

### Vegyszerek

Minden felhasznált vegyszer analitikai tisztaságú volt. A törzsoldatok készítéséhez szeleno-DL-metionint (SeMet) és szeleno-DL-cisztint (SeCys<sub>2</sub>) használtunk (Sigma Chemicals, St. Louis, MO, USA). A kiindulási oldatok, mindhárom szelénspecíesz esetén, 100 mg.l<sup>-1</sup> töménységűek voltak szelénre nézve. A szelenit (SeIv) esetén a törzsoldatot 1000 mg.l<sup>-1</sup> atomabszorpciós törzsoldatból (Merck, Darmstadt, Németország) készítettük, tízszeres hígítással, míg szelenát (SeVI) esetén szilárd nátrium-szelenát (Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>; Aldrich, Sheboygan, WI, USA) megfelelő mennyiségét mértük be analitikai mérlegen, majd ioncserélt vízben feloldottuk, így készítettünk 100 mg.l<sup>-1</sup> koncentrációjú oldatot.

A kromatográfiás elválasztáshoz szükséges eluens összetevői a következők voltak: ammónium-hidrogén-karbonát (Riedel-de Haen, Seelze, Németország), tömény hangyasav (Reanal, Budapest, Magyarország), HPLC tisztaságú metanol (Carlo Erba, Milánó, Olaszország), tetrabutil-ammónium-acetát (TBAA; Sigma).

A hidridfejlesztéshez a Merck cég által gyártott sósavat, káliumbromidot (Reanal), nátrium-borohidridet (Sigma) és nátrium-hidroxidot (Reanal), a minta-előkészítéshez kálium-dihidrogén-foszfátot (Reanal), dikálium-hidrogén-foszfátot (Reanal) és pronáz enzimet (4000 U/mg; Merck) használtunk.

### Minta-előkészítés

A brazil dió minta-előkészítéséhez egy, már korábban közölt módszer [17] speciálisan erre a mintafajta továbbfejlesztett változatát alkalmaztuk. Az elemzésre szánt diókat megtörtük, héjukat eltávolítottuk, majd lehámoztuk a fehér dióbelet fedő vékony barnás takaróteveget is. Ezt követően a kb. 70%-os zsírtartalmú dióbelesőket (kb. 10 g-ot) felaprítottuk, majd a kapott törmeléklet 1,5 mm-es szitán ráztuk át. Az áthulló frakciót (kb. 4 g) Soxhlet-extrahálóhüvelybe öntöttük, és – a zsíros fázist elválasztandó – 150 ml ciklohexánnal (Reanal) 15 átbukásig extraháltuk. A folyamat lezajlását követően a zsírtalanított dió szemcséit porcelántegelyben dörzsölve tovább aprítottuk, és 0,125 mm-es szitán átszítettük. Az így előkészített, 1,1 g tömegű minta már alkalmas az enzimés minta-előkészítésre.

Az előkészített diómintából – három párhuzamosan dolgozva – kimértünk mintegy 0,130 grammnyi mennyiséget, amelyet 15 mg, fehérjebontó pronáz enzimet tartalmazó, 3,6 ml 50 mM-os foszfátpufferben (pH = 7,4) oldottuk fel. Az elegyet 37 °C hőmérsékleten, 24 órán keresztül, 180 1/perc fordulatszámú rázógépen kevertettük. Ezt követően a mintákat 15 ml-es centrifugacsőbe töltöttük át, és 25 percig centrifugáltuk (4000 g, 10 °C; Hettich Micro 22R centrifuga, Hettich, Tuttingen, Németország). A centrifugálás után a felülúszót gyűjtőedénybe öntöttük le, és a centrifugálást még kétszer, 0,6-0,6 ml pufferral történő szuszpendálás után, megismételtük.

A három centrifugálási lépés után az azonos mintához tartozó

felülúszókat egyesítettük, 0,45 µm-es cellulóz-nitrát (Whatman; Anglia) fecskendőszűrőn átszűrjük és 5 ml-re egészítettük ki ioncserélt vízzel. A kapott oldatot a HPLC mérés megkezdéséig hűtőben tároltuk.

A centrifugálás után kapott üledéket, a cellulóz-nitrát szűrőpapírral együtt, 2 ml tömény HNO<sub>3</sub> és 2 ml 30%-os H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> elegyében, teflonbomba zárva kuktában, 100 °C-on roncsoltuk 20 percen keresztül. A roncsolás végeztével az elegyet 5 ml-es mérőlombikban ioncserélt vízzel jelle töltöttük. Az eredmények ellenőrzéséhez a három párhuzamos minta, illetve a maradékok összes szeléntartalmát induktív csatolású plazma-atomemissziós spektrométerrel (ICP-AES; Thermo Jarrel Ash ICAP-61, Franklin, MA, USA), mint független módszerrel megmértük.

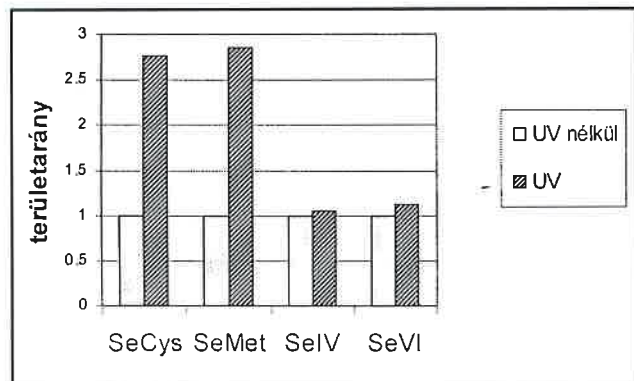
## Kísérleti eredmények és értékelésük

### Hidridképzés optimalizálása

A termikus és az UV-roncsoló, ill. a hidridfejlesztés megfelelő paramétereinek kiválasztását célszerű volt a kromatográfiai rész kiiktatásával végrehajtani.

A termikus roncsolóban a lehető legmagasabb hőmérsékletet célszerű alkalmazni, mivel a szelenát redukciója a hőmérséklet növekedésével egyenes arányban javul. Ez az érték 122 °C, ennél magasabb olajhőmérsékletnél a minta a csőben forrásnak indul, és kétfázisúvá válik; ebből adódóan az addig a kapillárisban dugószerűen haladó mintakomponensek összekeveredhetnek, és az így detektált jelek retencióis ideje valamint a csúcsmagysága használhatatlan paraméterre válik. Az olajfürdő hőmérsékletét ±2 °C pontosan, állandó értéken tartottuk.

Az UV-roncsolóban az UV sugárzás intenzitása állandó volt, szabályozni nem lehet. Az UV-roncsolásnak elsősorban a szerves szelenospecneszek mérésénél van jelentősége, ugyanis a szerves kötésben lévő szelenatomok az UV fény hatására leszakadnak, hidridképzésre alkalmassá válnak, így ezen komponensekre kapott jel nagy mértékben növekszik. Az UV-roncsoló hatását a 2. ábra mutatja. Az ábrán, az UV nélkül kapott jelterületeket egységnyiinek feltüntetve, jól látszik a szerves szelénspecneszek megnövekedett jelintenzitása.



2. ábra. Az UV-roncsoló hatása a szelénspecneszek jelintenzitására

A hidridképzéshez használt reagensek koncentrációinak és áramlási sebességeinek beállításait egy korábbi tanulmány alapján hajtottuk végre [18]. A rendszer működési paramétereit az 1. táblázat mutatja.

### Kromatográfiai paraméterek optimalizálása

Az eluens paramétereinek (ionerősség, pH, a szerves oldószer koncentrációja, az ionpár-képző mennyisége) visszatartásra gyakorolt hatását 125 mm hosszúságú LiChroCART 125-4 oszlopon vizsgáltuk, majd a megfigyelt tendenciákat figyelembe véve, LiChroCART 250-4 oszlopra dolgoztuk ki a végső elválasztási módszert, amely a nagyobb elméleti tányérszáma miatt, jobb elválasztást tesz lehetővé. Mindkét kolonna LiChrospher 100 RP-18 szilikagél álló fázissal volt töltve. Szelenátra a módszernek nagy a visszatartó ereje, lényegesen később

1. táblázat

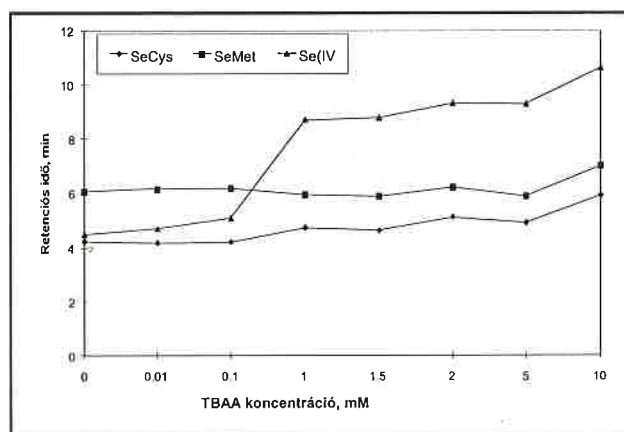
A HPLC-UV-HG-AFS rendszer működési paramétereit

HPLC	
Oszlop	LiChroCART 250-4, LiChrospher 100 RP-18 (5µm)
Eluens	30 mM ammónium-formiát 3 mM TBAA 1 V/V% metanol pH=3
A mintabevető hurok térfogata	100 µl
Az eluens áramlási sebessége	0,0-10,5 min, 0,75 ml min <sup>-1</sup> 10,6-30,0 min, 1,2 ml min <sup>-1</sup>
HG	
Na-borohidrid koncentráció	2 m/v %, 1 m/v%-os NaOH oldatban oldva
Sósav koncentráció	50 v/v%, 5 m/v%-os KBr-ban oldva
A termikus roncsoló hőmérséklete	122 °C
Kihajtó gázáram	300 ml min <sup>-1</sup>
Ellenáramú szárító gázáram	2500 ml min <sup>-1</sup>
AFS	
Elsődleges áramerősség	25 mA
Megemelt áramerősség	25 mA

mosódik le az oszlopról, ezért a megfelelő elválasztást a két szerves komponens és a szelenit határozza be. Ezért az elválasztás optimalizálását is ezekre a komponensekre végeztük el.

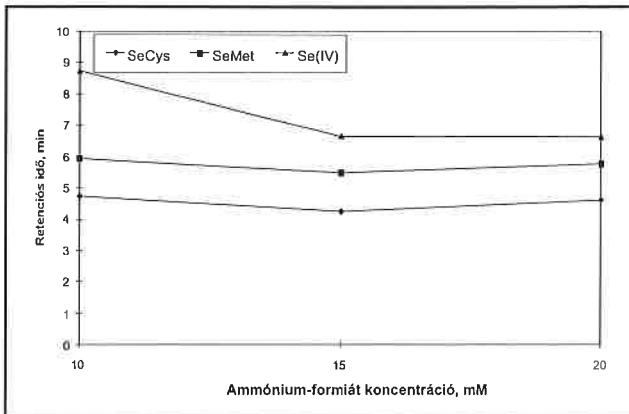
Vizsgálataink azt mutatták, hogy a szerves oldószer (metanol) koncentrációja nem befolyásolja a komponensek retencióját, így ezt a paramétert az TBAA ionpárképző jobb oldódásának elősegítése érdekében 1 V/V%-nak választottuk.

A 3. ábráról leolvasható, hogy a minimális TBAA koncentráció 1 mM, ennél kisebb koncentráció esetén a szelenitre nincs megfelelő visszatartása az oszlopnak, ezért a Se(IV) csúcsa a kromatogramon összemosisodik a szerves komponensek jeleivel és kiértékelhetetlen eredményt kapunk.



3. ábra. Az ionpárképző koncentrációjának retenció időre gyakorolt hatása 10 mM ammónium-formiát koncentráció mellett

Az ionerősség hatását a szelénspecneszek retenció idejére a 4. ábra mutatja. A hatás magyarázata az, hogy az eluensben lévő negatív töltésű ionok konkurenciát jelentenek a szelenit ion oszlopon való – egész pontosan az ionpárképzőhöz való – kötődésében. A nagyobb ammónium-formiát mennyiség következtében a Se(IV) által produkált jel közelebb kerül a szerves vegyületekéhez, ami a kromatogram kiértékelhetőségét rontja. Az említett ábráról továbbá az is leolvasható, hogy a

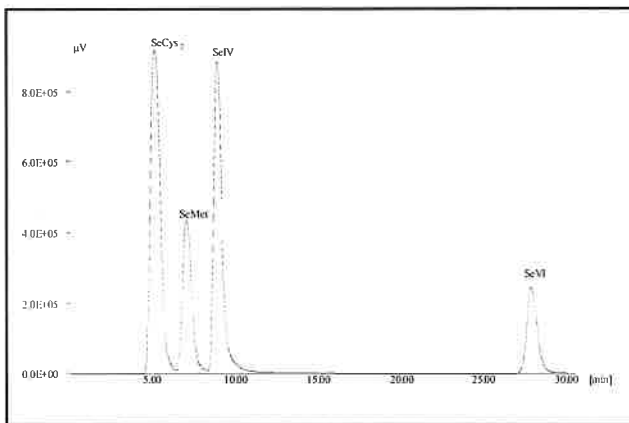


4. ábra. Az ammónium-formiát koncentrációjának retenciósi időt befolyásoló hatása 1 mM tetrabutil-ammónium-acetát alkalmazása mellett

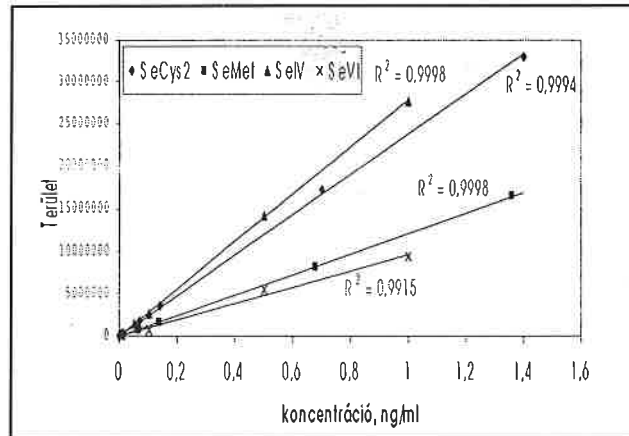
szerves komponensek retenciósi idejét az ammónium-formiát koncentráció érdemben nem befolyásolja, hiszen ezek visszatartásáért elsősorban az apoláros álló fázis és a szeleno-aminosavak apoláros oldallánca között ható Van der Waals-féle kötés a felelős.

A pH túl nagy mértékben nem hatott a retenciósi időre, de a kromatogramokon megfigyelhető volt a jelek stabilizálódása. Ennek oka, hogy a kis pH hatására a szelenoaminosavak aminocsoportja protonálódott, a karboxilcsoportjuk disszociációja gátolt volt, ezért a molekulák jellemzően csak egyféle alakban fordultak elő, s azonos módon viselkedtek. A szelenit ionra is hatással volt a kis pH, mégpedig úgy, hogy a szelenit a nagy hidrogénion koncentráció jelenlétében csak az egyik proton leadására volt képes és a  $\text{SeO}_3^{2-}$  ion nem alakulhatott ki nagyobb mennyiségben. Ez a retenciósi idő szórásértékének csökkenésében nyilvánult meg.

A fent leírt hatásokat figyelembe véve, a 250 mm hosszúságú oszlopra dolgoztuk ki az elválasztást, melynek paramétereit az 1. táblázat tartalmazza. Az elválasztás során izokratikus körülmények között sikerült elválasztani a négy szelénspeciest, mindössze az eluens áramlási sebességét növeltük meg a szelenit elúciója után, az analízis idejét csökkentendő. Az izokratikus elválasztásnak a gradiens elúcióval szemben megvan az előnye, hogy nem szükséges a komponensek elválasztása után a gyengébb eluenssel mosni az oszlopot a kiindulási feltételek visszaállításához, így az analízis ideje jelentősen csökkenthető. Az optimált paraméterekkel nyert kromatogram az 5. ábrán látható.



5. ábra. Szelén-módosulatok elválasztása véve LiChroCART 250-4 oszlopon. Koncentrációk szelénre nézve ( $\mu\text{g/ml}$ )  $\text{SeCys}_2$ :1,4 –  $\text{SeMet}$ :1,36 –  $\text{Se(IV)}$ :1 –  $\text{Se(VI)}$ :1



6. ábra. Szelén-specieszek elemzőgörbéi

## A módszer analitikai teljesítőképességének vizsgálata

A rendszer linearitását a 6. ábra mutatja. A linearitás vizsgálata során 0,0014–1,4  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  koncentrációtartományban dolgoztunk. A rendszer válaszjele speciestől függetlenül 3 nagyságrenden keresztül lineáris összefüggést mutatott a vizsgált speciest koncentrációjával.

A kimutatási határnak tekintettük a 6. ábrán látható analitikai elemzőgörbék háttérszórásának megfelelő értéket. Az így megállapított kimutatási határokat – összesítve egy korábban kifejlesztett speciációs HPLC-HHPN-AFS ill. HPLC-HG-AFS rendszerrel – a 2. táblázat tartalmazza. A táblázatból egyértelműen látszik, hogy a módszerfejlesztés meghozta a kívánt hatást, a rendszer kimutatási határa mindig egy speciest esetében legalább két nagyságrendet javult.

2. táblázat

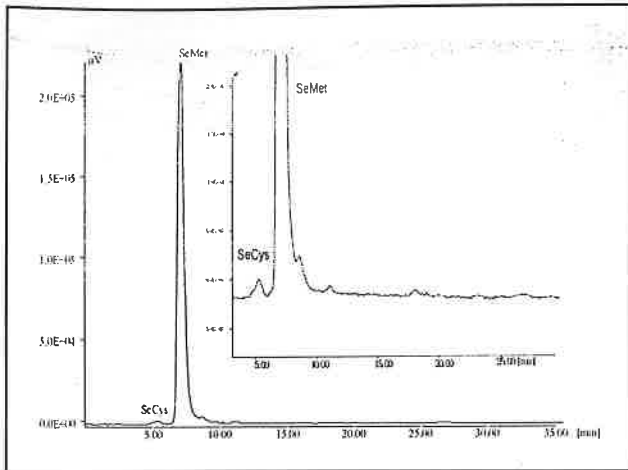
A HPLC-UV-HG-AFS rendszer kimutatási határa összehasonlítva két korábban kifejlesztett rendszerrel, és a módszer ismételhetősége

komponens	Kimutatási határ, ng/ml			Ismételhetőség, % HPLC-UV-HG-AFS
	HPLC-HHPN-AFS <sup>19</sup>	HPLC-HG-AFS <sup>16</sup>	HPLC-UV-HG-AFS	
SeCys <sub>2</sub>	180	18	0,20	3
SeMet	200	70	0,58	3,9
SeIV	130	16	0,13	2,8
SeVI	600	–	0,40	3,4

Az ismételhetőség megállapításához olyan standard oldatot használtunk, amely a kimutatási határ tízszeresének megfelelő koncentrációban tartalmazta az egyes specieszeket. Az ismételhetőséget tíz párhuzamos mérésből számítottuk, az eredményeket szintén a 2. táblázat tartalmazza. A táblázatból kitűnik, hogy a rendszer képes teljesíteni az ilyen metodikáktól elvárható megbízhatósági kritériumot. Mind a négy speciest esetében a bizonytalansági érték 4 % alatt maradt.

## Brazil dió speciációs analízise

Munkánk célja olyan kapcsolt technika létrehozása, amely teljesíti a korszerű speciációs analitikai technikákkal szemben támasztott követelményeket, és alkalmas szeléntartalmú minták speciációs analízisére. Ezért a rendszer optimalizálása és analitikai teljesítőképességének meghatározása után egy szeléntartalmú élelmiszer minta elemzését végeztük el. Az elemzéshez a brazil diót (*Bertholletia excelsa*) választottuk, amelyik nagy szeléntartalmú talajról származó növény, az Amazonas medencéjében szétszórtan terem. A szelénspeciációval foglalkozó szakemberek érdeklődése nemrégiben fordult e felé a növény felé, ugyanis a dió fehérjéire a nagy metionintartalom jellemző, így várható volt a talajban előforduló és a növény számára felvehető szelén/kén arány által szabályozott SeMet/Met arány eltolódása a szeléntartalmú aminosav irányába. Ez felveti a dió szelénhiány esetén kiegészítő táplálékként történő alkalmazást is.



7. ábra. A brazil dió kromatogramja

A már ismertett minta-előkészítés után a kifejlesztett módszerrel elemeztük a brazil dió mintáját; a kapott kromatogramot a 7. ábra mutatja. A várakozásoknak megfelelően a szeléntartalom legnagyobb részét a szeleno-metionin alkotja, mellette még azonosítható komponensként szeleno-cisztin található a mintában.

Mivel a vizsgált mintatípusra specíes-tartalomra hitelesített CRM nem áll rendelkezésre, a módszer ellenőrzésére az elemzést mind külső kalibrációval, mind standard addícióval elvégeztük, ill. az összes szeléntartalmat független módszerként ICP-AES technikával is meghatároztuk. Az eredményeket a 3. táblázat tartalmazza. Az elemzés azt mutatja, hogy mind a külső kalibráció, mind a standard addíció alkalmazásával az ICP-AES technikával megegyező eredményeket kapunk. Bár a speciációs mérések bizonytalansága nagyobb, ami eredhet az azonosítatlan komponensek eltérő mennyiségéből a párhuzamos mintákban. Ezt a bizonytalansági forrást a minta tökéletesebb homogenizálásával lehet

3. táblázat

A brazil dió minta elemzésének eredményei, három párhuzamos minta-előkészítéssel

Minta	Külső kalibráció szerint (mg/g)	Standard addíció szerint (mg/g)	ICP-AES (mg/g)
A	55,6	54,3	69,2
B	69,4	75,2	68,3
C	73,4	78,4	68,4
Átlag	66,1	69,3	68,6
Szórás	9,3	13,1	0,5
RSD%	14,1	18,8	0,7

kiküszöbölni; az erre irányuló kísérletek már folyamatban vannak. Az eltérés másik lehetséges magyarázata a speciációs minta-előkészítés bonyolultsága, amely során jóval több a hibalehetőség, mint az ICP-AES méréshez használt salétromsav, hidrogén-peroxid elegyében történő roncsolás során. A táblázatból kiténik az is, hogy az eredményeket nem befolyásolja a kalibráció módja, tehát a módszer nagyfokú zavartűrést mutat a minta mátrixával szemben.

Összefoglalás

Munkánkban egy olyan speciációs analitikai módszert fejlesztettünk ki, amely mind az elválasztás mind a detektálás paramétereiben megfelel a gyakorlati analitikai követelményeknek. A módszerrel

elvégezhető a biológia mintákban leggyakrabban előforduló két szeleno-aminosav, a szeleno-cisztin ill. a szeleno-metionin, és a két szerves szelénspecíes (szelenit, szelenát) analízise. Speciációs hitelesített anyagminta hiányában a módszert szeléntartalmú élelmiszerminta (brazil dió) standard addíciós elemzésével ill. független módszerrel ellenőriztük, és megállapítottuk, hogy az alkalmas gyakorlati analitikai feladatok megoldására.

Az OTKA F 32296 és T 37216 támogatásért köszönetet mondunk.

Abstract

Determination of seleno amino acids and inorganic selenium species with HPLC-UV-HG-AFS system

A hyphenated HPLC-UV-HG-AFS system capable to separate and detect two natural selenoamino-acids (SeMet and SeCys2) and two inorganic forms of selenium (Se IV and Se VI) was built for selenium speciation analysis. The application of UV in the decomposition of selenoamino-acids and the optimisation of the separation parameters helped to decrease the detection limits of the selenospecies to the sub-pb range. The measurement setup was successfully applied in the determination of selenium species of a selenium-enriched food sample.

Irodalom

- [1] A. Wendel (Hrsg.): Selenium in Biology and Medicine, Springer Verlag, Berlin, 1989
- [2] G. N. Schrauzer (Hrsg.): Selenium, Wiley, Chichester, 1990
- [3] K. Pyrzinska: Analyst., 121, 77-83, 1996
- [4] N.H. Bings, J.M. Costa-Fernández, A.M. Leach and G.M. Hieftje: J. Anal. At. Spectrom 15, 1063-1067, 2000
- [5] B. Michalke: J. Anal. At. Spectrom., 1297-1302, 1999
- [6] S. Pérez Méndez, M. Montes Bayón, E. Blanco González, A. Sanz-Medel: J. Anal. At. Spectrom., 14, 1333-1337, 1999
- [7] M. Heisterkamp, F. C. Adams, Fres: J. Anal. Chem. 370, 597-605, 2001
- [8] Ch. Thomas, N. Jakubowski, D. Stuewer, D. Klockow, H. Emons: J. Anal. At. Spectrom., 13, 1221-1226, 1998
- [9] J. M. Marchante-Gayón, Ch. Thomas, I. Feldmann, N. Jakubowski, J. Anal. At. Spectrom. 15, 1093-1102, 2000
- [10] W. Goessler, D. Kuehnelt, Cl. Schlagenhaufen, K. Kalcher, M. Abegaz, K. J. Irgolic: J. of Chrom. A 789: 233-245, 1997
- [11] B. Gammelgaard, O. Jons, L. Bendahl: J. Anal. At. Spectrom., 16, 339-344, 2001
- [12] H. Bin, J. Gui-bin, X. Xiao-bai, Fres: J. Anal. Chem., 368, 803-808, 2000
- [13] D. L. Tsalev, M. Sperling, B. Welz: Analyst, 1703-1710, 1998
- [14] M. A. Súnier, V. Devesa, I. Rivas, D. Vélez, R. Montoro: J. Anal. At. Spectrom., 1501-1507, 2000
- [15] Zs. Stefánka, I. Ipolyi, M. Dernovics, P. Fodor: Talanta, 55, 437-447, 2001
- [16] I. Ipolyi, Zs. Stefánka, P. Fodor: Anal. Chim. Acta 435, 367-375, 2001
- [17] M. Dernovics, Zs. Stefánka and P. Fodor: Anal & Bioanal Chem 372, 473-480, 2002
- [18] Ipolyi I. et al.: J. Autom. Method Manag., 23: 167-172, 2001.
- [19] Stefánka Zsolt: Módszerfejlesztés szeleno-aminosavak meghatározására, Diplomamunka, Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem, 1999