

STANOVENIE A ŠPECIÁCIA SELÉNU V BIOLOGICKOM MATERIÁLI A VO VZORKÁCH ŽIVOTNÉHO PROSTREDIA TECHNIKAMI METODY AAS

INGRID FARKAŠOVSKÁ a MÁRIA ŽEMBERYOVÁ

Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Mlynská dolina CH-2, 842 15 Bratislava, Slovenská republika

Došlo dňa 17.II.1999

Kľúčové slová: AAS, selén, špeciácia

Obsah

1. Úvod
2. Stanovenie selénu technikou elektrotermickej atomizácie
3. Stanovenie selénu technikou dávkovania suspenzie
4. Stanovenie selénu technikou generovania hydridov
5. Stanovenie selénu technikou generovania hydridov s atomizáciou v grafitovej kyvete

1. Úvod

V roku 1972 bolo dokázané, že selén je základnou zložkou enzýmu glutation peroxidázy (GSH-Px), ktorý sa vyskytuje v cytoplazme a mitochondriách¹. GSH-Px zabraňuje oxidácii hemoglobínu a hemolyze červených krviniek peroxidom vodíka tým, že riadi jeho redukciu na vodu. Selén tiež katalyzuje reakcie intermediálnych metabolizmov a zaisťuje krvný metabolizmus v pečeni. Je súčasťou imunitného systému, reaguje s ťažkými kovmi (Hg, Cd, As, Pb), pričom vznikajú nerozpustné selenidy týchto kovov, čím zabraňuje otrave organizmu.

Selén sa môže vyskytovať vo forme anorganických aj organických zlúčenín. V anorganických zlúčeninách sa vyskytuje v oxidačných stupňoch -II, 0, +IV a +VI, pričom prevládajúce oxidačné stupne sú +IV a +VI. V organických zlúčeninách je prevládajúcim oxidačným stupňom -II. Môže ísť o metylované formy alebo aminokyseliny, v ktorých selén nahrádza síru (selenocystein, selenocystín, selenometionín a selenometylselenometionín).

Zemská kôra obsahuje priemerne 0,05-0,09 mg.kg⁻¹ selénu². Vyskytuje sa väčšinou spolu so sírou a v ložiskách niektorých sulfidov kovov^{3,4}. Obsah Se v prírodných vodách⁵ sa pohybuje medzi 0,1-400 mg.l⁻¹, v pôdach⁶ medzi 0,06-1,8 ng.g⁻¹. Obsah Se v atmosfére závisí od lokality, v ktorej je meraný. V mestách a na vidieku^{7,8} je to 0,27-8,3 ng.m⁻³, pri mori^{9,10} 0,016-0,43 ng.m⁻³. Akumulácia Se závisí od environmentálnej matrice⁴, klimatických faktorov a pH. Množstvo selénu uvoľneného do atmosféry bolo v roku 1983 odhadnuté na 6320 ton¹¹. Hlavné zdroje sú spaľovanie uhlia, výroba Cu, Ni^{11,12} a Zn¹².

V priemysle sa selén a jeho zlúčeniny používajú pri výrobe polovodičov, skla, plastov, farbív, gúmy a keramiky. V poľnohospodárstve možno niektoré zlúčeniny selénu využiť ako insekticidy a fungicidy. Mnohé zlúčeniny selénu majú svoje využitie aj v medicíne ako účinné zložky prostriedkov pre odstraňovanie lupín. Rádioaktívne značený selén v selenometioníne má svoje obmedzené použitie pri diagnostike rôznych druhov zhubných nádorov³.

Už pred rokom 1957 sa zistilo, že na živý organizmus má negatívny vplyv nielen nadbytok selénu⁴, ale aj jeho nedostatok¹³. Nedostatok selénu narušuje antioxidantný systém buniek, čo môže viesť k dysfunkcii mozgu, srdcovo-cievneho systému, pečene, svalov. Je tiež preukázaná vyššia úmrtnosť na hypertenziu, ischemické choroby a choroby artérií. Zníženie aktivity GSH-Px nedostatkom selénu má za následok zníženie imunity a vznik mnohých ochorení, ako sú cystická fibróza, skleróza multiplex a podobne. Robinson a Thomson¹⁴ zoradili choroby súvisiace s nízkym obsahom selénu do prehladnej tabuľky, v ktorej spomínajú (okrem už uvedených) hemolytickú anémiu, neplodnosť, rakovinu a mnohé ďalšie. Úspešná liečba podávaním preparátov obsahujúcich selén poukazuje na to, že selén je vo výžive potrebný. Veľkú odozvu vyvolalo tiež zistenie, že selén pôsobí ako inhibitor rôznych druhov zhubných nádorov. Prípady spojené s nadbytkom selénu sa vyskytujú predovšetkým u pracovníkov vystavených vdychovaniu selénových dymov^{15, 16}. Symptómy, ktoré sa prejavili pri otrave selénom boli: podráždená sliznica, tráviace problémy a črevné poruchy, nespavosť, zvýšená teplota tela, bolesť hlavy, nevoľnosť a zvracanie, závraty, malátnosť a mnohé ďalšie.

Niektoré práce poukazujú na to, že selén vo vysokých dávkach pôsobí nielen toxicky, ale vykazuje aj mutagénne a teratogénne účinky².

Pre stanovenie Se metódou AAS je možné použiť^{17,18}: plameňovú techniku (FAAS), techniku elektrotermickej atomizácie (ETAAS) a techniku generovania hydridov (HGA-AS). Pri dávkovaní suspenzie tuhej vzorky do grafitovej kyvety hovoríme o tzv. slurry technike (SL-ETAAS). Techniku generovania hydridov s atomizáciou hydridov v grafitovej kyvete (HG-ETAAS) možno uviesť ako osobitné spojenie.

Stanovenie selénu FAAS je sprevádzané mnohými problémami a detekčné limity uvedenej metódy sú vysoké. Obsahy selénu ležia častokrát hlboko pod medzou stanoviteľnosti bežnej plameňovej techniky. Hlavná pozornosť je preto venovaná predovšetkým technike elektrotermickej atomizácie a technike generovanie hydridov, ktoré patria k najpoužívanejším technikám atómovej absorpčnej spektrometrie pre stanovenie selénu v biologickom materiáli a vo vzorkách životného prostredia.

2. Stanovenie selénu technikou elektrotermickej atomizácie

V roku 1975 Ediger¹⁹ vyvinul postup úpravy matrice vzorky, ktorý nazval „modifikácia matrice“. Analyt, v tomto prípade selén, ktorý je pôvodne prchavejší ako matrica, v ktorej sa nachádza, je chemicky a tým aj teplotne stabilizovaný a zadržovaný v atomizátore v priebehu pyrolýzy, pri ktorej dochádza k odstráneniu rušivej matrice.

Pre termickú stabilizáciu selénu bolo opísaných mnoho chemických modifikátorov. K najpoužívanejším modifikátorom v posledných rokoch patrí Pd. Dusičnan paládny použitý vo svojej práci pre stanovenie Se, ale aj As, Sb a Sn Tsalev a kol.²¹ Vplyv paládia, ktorý bol použitý ako modifikátor pri stanovení selénu v ľudskom sére, na povrch grafitovej kvety študovali Nishimura a Tominaga²¹. Porovnanie vplyvu Pd ako chemického modifikátora pre stabilizáciu Se v krvnej plazme a vo vode bolo opísané v práci Gammerlgaard a Jonsa.²² Použitie Pd spolu s redukčnými činidlami bolo použité pre stanovenie Se v krvi^{23,24} a v krvnom sére alebo plazme^{25,25}. Vplyvy interferujúcich prvkov (Na, K, Mg a Ca) a Pd ako chemického modifikátora na aktivačnú energiu Se pri elektrotermickej atomizácii hodnotili Mazzucotelli a Grotti²⁶. Koloidné paládie navrhli a použili vo svojich prácach Volynsky a Krivan^{27,28}.

Rozličné množstvá Ni a Pd testovali pri stanovení selénu ETAAS v krvi a moči Radziuk a Thomassen²⁹. S týmito, ale aj s mnohými ďalšími modifikátormi sa možno stretnúť v práci Johannessena a kol.³⁰ Laborda a kol.³¹ študovali vplyv $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ a $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ na hlavné zlúčeniny selénu v moči - a to seleničitan a trimetylseleniový ión. Pre špeciáciu Se v moči využili v ďalšej práci³² spojenie HPLC (vysokoúčinná kvapalinová chromatografia) a ETAAS.

V mnohých prácach bolo opísané použitie zmesných modifikátorov. Napríklad zmes $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 + \text{NH}_4\text{NO}_3$ pre stanovenie Se v morskej vode opísali Liang a kol.³³ Uvedený modifikátor vedie ku kvantitatívnej stabilizácii selénu do 1300 °C. Poukázali tiež na to, že modifikátor redukuje interferencie spôsobené ostatnými zložkami prítomnými v morskej vode. Zmes $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ použili vo svojej práci Welz a kol.³⁴ Rovnakú zmes spolu s kyselinou askorbovou použili Chakrabarti a kol.³⁵ pri analýze vzduchových častíc zachytených na poréznom elektrografite, ktorý bol následne vložený do modifikovanej HGA-500. $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ využili pri stanovení Se v sére Néve a Molle³⁶. Pri rovnakom stanovení použili Morisi a kol.³⁷, Daher a Vanlente³⁸ zmes $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 + \text{AgNO}_3 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Pre stanovenie Se v moči použili Drake a Hain³⁹ $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{Ba}(\text{NO}_3)_2$. Robles a Aller⁴⁰ použili pri rovnakom stanovení zmes $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 + \text{Sr}(\text{NO}_3)_2$. Uvedli, že vo vodných štandardoch bolo možné použiť teplotu termického rozkladu 1400 t a v zriedenom moči 900 °C. Zmesi dusičnanov Cu/Ni, Pd/Mg, Pt/Mg, Pt/Ni a Pt/Cu použili vo svojej štúdiu Liu a kol.⁴¹ pre potlačenie interferencií spôsobených K, P, Ca, Mg, Mn, Zn a Fe. Najlepšie výsledky boli dosiahnuté pri použití zmesného modifikátora obsahujúceho Pt a Ni. Stanovenie Se v moči v nadbytku PO_4^{3-} opísal Leblanc⁴². Pre stanovenie použil rozklad so zmesou $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$. Ako modifikátor matrice bol použitý $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

Minoia a kol.⁴³ sa zaoberali stanovením mnohých stopových prvkov (medzi nimi aj Se) nachádzajúcich sa v referenčných materiáloch telových tekutín a tkanív. Rozdiskutovali vplyv jednotlivých krokov úpravy biologického materiálu a vplyv rôznych použitých modifikátorov. V práci Tsaleva a kol.⁴⁴ bola študovaná termická stabilita niektorých prchavých prvkov (medzi nimi aj Se) v rozložených biologických materiáloch, rozpustených vlasoch a v zriedenom moči za použitia zmesných modifikátorov obsahujúcich paládium a volfrám. Bulska a Pyrzynska⁴⁵ porovnali nikel, meď a paládium ako chemické modifikátory pre stanovenie selénu, ktorý bol

vo vzorke prítomný v rôznych oxidačných stupňoch. Iridium ako chemický modifikátor pre stanovenie Cd, Pb a Se v rozloženej krvi použili vo svojej práci Rademeyer a kol.⁴⁶ Volynsky a Krivan⁴⁷ zisťovali vplyv Pd, Pt, Rh, Ru a Ir na stabilizáciu Se. Vplyv vápnika na atomizáciu Se bol študovaný v práci Allera⁴⁸. Ako modifikátor matrice bolo použité Pd samostatne, ale aj v kombinácii s Hg a Cd. Pre stanovenie As (III), As (V), Bi (III), Sb (III), Sb (V), Se (IV), Se (VI), Sn (IV) a Te (IV) ako aj pre niektoré alkylované druhy As a Sn testovali Tsalev a kol.⁴⁹ platformy upravené zmesou Ir/W a Ir/Zr.

Pri stanovení Se vo vodách je v mnohých prípadoch potrebné použiť pred stanovením prekoncentračné techniky, pretože obsah Se vo vode je veľmi nízky. Metódy, ktoré možno použiť, využívajú extrakciu tuhou fázou (SPE), kvapalinovú extrakciu (LC), chromatografické kolóny, komplexáciu a spoluzrážanie. Extrakciu tuhou fázou za použitia ditiokarbamátovej polyuretánovej peny použili vo svojej práci Arpadjan a kol.⁵⁰ na prekoncentráciu stopových množstiev As, Bi, Hg, Sb, Se a Sn z vodných vzoriek pred ich stanovením ETAAS. Meranie bolo robené po rozpustení sorbovaných analytov v izobutylmetylketóne. Meng a kol.⁵¹ použili extrakciu dietylditiokarbamátom (DDC), ktorý bol rozpustený v chloroforme. Organickú fázu odparili a odparok rozpustili pred stanovením ETAAS v kyseline dusičnej. Kubota a kol.⁵² použili pre rozklad organickej matrice v porodných vodách rozklad s KMnO_4 . Po vytvorení komplexu Se s Bizmutiolom II bol komplex zadržaný na aktivovanom uhlí. Po membránovej filtrácii bolo aktivované uhlie s komplexom dispergované do vody a PdCl_2 bol pridaný ako modifikátor. Selektívne stanovenie Se (IV) a Se (VI) v odpadových vodách ETAAS bolo opísané Kashiwagim a kol.⁵³ Metóda bola založená na redukčnom zrážaní Se (IV) s kyselinou askorbovou alebo SnCl_2 a Se (VI) so síranom hydrazínia na telúrovom kolektore.

Hlavná pozornosť pri stanovení Se je venovaná biologickým materiálom a rôznym častiam potravinového reťazca. Porovnanie použitia otvorených a uzavretých nádob pre mikrovlnný rozklad obilných vzoriek pre stanovenie Pb, Cd, Cu a Se technikou ETAAS bolo opísané v práci Gawalka a kol.⁵⁴ Pri mikrovlnnom rozklade v uzavretých nádobách použili HNO_3 a pri otvorených zmes $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$. Dva rozkladné postupy pre stanovenie Se v biologických vzorkách porovnali tiež Ducros a kol.⁵⁵ Mikrovlnný rozklad použili pre stanovenie stopových prvkov (As, Hg, Zn, Pb a Se) v moči Horng a Lin.⁵⁶ Mikrovlnný rozklad použili pre stanovenie Se v rybích tkanivách ETAAS tiež Arruda a kol.⁵⁷ Stanovenie Se a Hg v ľudských obličkách a ich vzájomný vzťah bol zisťovaný v práci Drascha a kol.⁵⁸ Stanovenie Se v ľudskom mozgu ETAAS opísali Ejima a kol.⁵⁹ Homogenizácia v kombinácii s čiastkovým enzymatickým rozkladom bola použitá pre uvoľnenie selénu z biologických matric v práci Tana a Marshalla⁶⁰.

Saeed a kol.⁶¹ stanovili Se bez deštrukcie organickej matrice. Krvné sérum dávkovali priamo do grafitovej kvety a použili nikel ako modifikátor matrice. Metóda nebola vhodná pre stanovenie selénu v celej krvi, pretože dochádzalo k spektrálnym interferenciám, ktoré boli spôsobené veľkým množstvom prítomného železa. Priame stanovenie Se v sére opísali tiež Van Dael a kol.⁶² Gardiner a kol.⁶³ zriedili vzorky krvného séra a krvnej plazmy 1 : 2 v/v zmesou $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2\text{-Triton X-100}$.

Biologická matrica predstavuje komplexnú maticu, z ktorej je potrebné Se častokrát izolovať. K najpoužívanejším

separačným metódam v tejto oblasti patrí kvapalinová extrakcia, ale možno tiež využiť kolónovú chromatografiu s rôznymi typmi náplní. Néve a Hancock⁶⁴ použili pre izoláciu selénu z krvnej plazmy a erytrocytov jednoduchú extrakčnú techniku. Po rozklade Se (IV) zreagoval s 4-chlóro-1,2-diaminobenzénom, ktorý bol rozpustený v toluéne. Extrakciu pri stanovení selénu využil tiež Ishizaki⁶⁵, ktorý pre vytvorenie chelátu použil ditizón a komplex extrahoval do tetrachlórmetánu. Kvapalinovú extrakciu urýchlenú ultrazvukom pre separáciu selénu z biologických vzoriek bohatých na fosfor pred ETAAS stanovením opísali Mierzwa a kol.⁶⁶ Pre porovnanie použili rozklad so zmesou $\text{HNO}_3\text{-HCl-H}_2\text{O}_2$. V práci Li a kol.⁶⁷ bola pre separáciu selénu z morských biologických vzoriek použitá extrakcia s etanolom a s CH_3COCH_3 . Extrakt bol zmiešaný s $\text{PdCl}_2(\text{fenylicN})_2$ - čo bol chemický modifikátor pre stanovenie selénu.

Rozlíšenie jednotlivých foriem selénu je veľmi dôležité, pretože Se (IV) je toxickejší ako Se (VI) a Se (-II)⁶⁸. Kvapalinovú chromatografiu pre separáciu seleničitanu a selenometionínu v spojení s ETAAS opísali Laborda a kol.⁶⁹

Harrison a kol.⁷⁰ zisťovali rozdelenie Se v krvnom sére, pričom pre špeciáciu použili afinitnú chromatografiu. ETAAS použili pre stanovenie Se v separovaných frakciách. Rozdelenie bolo 53 % v selenoproteíne P, 39 % v glutation peroxidáze a 9 % v albumíne. Pre špeciáciu selénu opísali Marchantegayon a kol.⁷¹ off-line spojenie HPLC a ETAAS a on-line spojenie HPLC a HGAAS. Na modifikovanej kolóne didodecyldimetylamónium bromidom (DDAB) boli reverzno-fázovým mechanizmom separované: seleničitan, selénan, selenocystín, selenometionín a selenoetionín. Pre stanovenie seleničitanu, selénanu, selenocystínu a selenometionínu bolo v práci Gilona a kol.⁷² využité spojenie HPLC-ETAAS. Pre HPLC separáciu použili iónovovýmenné kolóny.

Prehľadný článok o použití ETAAS pri špeciácii Cr, Pb, Sn, Cu, As, Al, Cd, Zn, Fe, Ni a Se vo vodách, biologickom materiáli, v pôde a sedimentoch bol opísaný Dasom a Chakrabortym⁷³.

3. Stanovenie selénu technikou dávkovania suspenzie

Väčšina publikácií venovaných stanoveniu selénu ETAAS využíva stanovenie po rozklade tuhých vzoriek. Aj napriek tomu, že možno hovoriť o pokrokoch v použití suspenzií v ETAAS^{74,75}, je opísaných iba pár štúdií, ktoré sa venujú stanoveniu selénu v „slurry“ vzorkách.

Ebdon a Parry⁷⁶ stanovovali Se vo vzorkách uhlia, Bradshaw a Slavin⁷⁷ analyzovali úletové popolčeky, Wagley a kol.⁷⁸ mlieko a Bendicho a Sancho⁷⁹ múku. Stanovenie anorganického selénu v prírodných vodách po prekoncentracii na iónovo výmennej kolóne opísali Kubota a Okutami⁸⁰, pričom do kvety dávkovali suspenziu. Januzzi a kol.⁸¹ použili slurry techniku pre stanovenie Se vo vzorkách rýb. Pre porovnanie použili mikrovlnný rozklad. Systém využívajúci bublinky argónu pre homogenizáciu slurry vzoriek bol opísaný Garcíom a kol.⁸² Cieľom opísanej práce bolo vyvinúť slurry postup pre rýchle stanovenie selénu v morských produktoch. Pre porovnanie bola použitá technika generovania hydridov. Dávkovanie tuhej biologickej vzorky do grafitového atomizátora po-

užili vo svojej práci Minami a kol.⁸³ Roztok Pd obsahujúci $3 \text{ mol.l}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ alebo $0,1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ HNO}_3$ bol použitý ako modifikátor matrice. Tiež bol použitý rozklad v muflovej peci pri $600 \text{ }^\circ\text{C}$. Pre stanovenie Pb, Tl a Se v slurry vzorkách použili Chen a Jackson zmesný modifikátor⁸⁴ $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Cabrera a kol.⁸⁵ opísali slurry stanovenie Cd, Cu, Fe, Pb a Se v ovoci. K čerstvému ovociu pridalí Triton X-100 a 10 g zirkónu a zmes bola trepaná až do vytvorenia suspenzie. Presnosť a správnosť bola overená mikrovlnným rozkladom. García a kol.⁸⁶ opísali slurry stanovenie Se v pôdach a sedimentoch. Suspenzia vzorky bola vytvorená v zmesi 40 % m/v HF obsahujúcej 1 % m/v $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$, a tak injektovaná do grafitového atomizátora.

4. Stanovenie selénu technikou generovania hydridov

HGAAS sa vyznačuje pomerne vysokou citlivosťou a jednoduchou inštrumentáciou⁸⁷. Je založená na tvorbe kovalentného hydridu, ktorý je z roztoku analyzovanej vzorky vedený do atomizátora⁸⁸. Z mnohých techník je pre generovanie prchavých hydridov najpoužívanejšia redukcia s NaBH_4 , ako o tom svedčia prehľadné články Nakaharu⁸⁹, Campbella⁹⁰, Yana a Nia⁹¹. Hydrid vzniká v zmesi okysleného roztoku analytu s alkalickým roztokom NaBH_4 . Pre túto reakciu je však potrebné, aby bol selén v roztoku v iónovej forme ako seleničitan^{92,93}. Pre zredukovanie Se (VI) na Se (IV) sa odporúča^{94,95} 4–6 M-HCl.

Štúdium tvorby hydridov Sb, As a Se bolo opísané v práci Narsita a kol.⁹⁶ Problémom v uvedenom systéme ostávajú interferencie kovov skupin VIII.B a I.B^{97,98} periodického systému a vzájomné interferencie hydridotvorných prvkov^{99,100}. Detailná štúdia interferujúcich procesov pri stanovení As, Sb a Se bola opísaná v práci Walcerza a kol.¹⁰¹ Štúdium vplyvu kademnatých a zinočnatých solí na stanovenie As, Sb, Bi, Se, Sn, Te a Hg bolo opísané v práci Alexandrova a kol.¹⁰²

Rozkladné postupy pre stanovenie Se HGAAS v krvi, sére a moči opisujú Tiran a kol.¹⁰³ Rozklad krvného séra so zmesou $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ použili tiež Hao a kol.¹⁰⁴ Navarro a kol.¹⁰⁵ pre stanovenie celkového obsahu Se v moči použili dva rozkladné postupy. Vzorku rozložili v termostatovanom bloku so zmesou $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ a v mikrovlnnej peci so zmesou HNO_3 + malé množstvo V_2O_5 . Porovnanie dvoch rozkladných postupov pre jazerné sedimenty so zmesou $\text{HCl-HNO}_3\text{-HF}$ opísali Elwaera Belzile¹⁰⁶. Pre stanovenie As a Se v pôde opísali Zhu a kol.¹⁰⁷ alkalický rozklad s NaOBr . HGAAS použili pre stanovenie celkového obsahu Se, Se (IV) a Se (VI) v pôdach, odpadových kaloch a piesku Diaz a kol.¹⁰⁸

Často používaná špeciácia selénu je založená na stanovení Se (IV) a Se (VI). Stanovenie Se (IV) a Se (VI) v pitnej vode, vode používanej na zavlažovanie a v odpadovej vode HGAAS opísali Diaz a kol.¹⁰⁹ Fotoredukciu selénanu na seleničitan použili vo svojej práci Rubio a kol.¹¹⁰ Stanovenie selénanu a seleničitanu bolo spojením kvapalinovej chromatografie s HGAAS. Stanovenie celkového selénu, organicky viazaného selénu, Se (IV) a Se (VI) v ľudských vlasoch HGAAS bolo opísané Dongom a kol.¹¹¹ Celkový selén bol stanovený po rozklade s HNO_3 a HClO_4 . Dve veľmi citlivé metódy pre špeciáciu Se vo vode a jazerných sedimentoch opísali Xu

a kol.¹¹² Prvou bola HGAAS so zachytením a nakoncentrováním hydridu vymrazením. Pri druhej využili tvorbu komplexu seleničitanu s 2,3-diaminonafthalénom s následnou separáciou komplexu HPLC a fluorimerickou detekciou. HPLC-HGAAS využili vo svojej práci Lafuente a kol.¹¹³ pre separáciu a stanovenie zlúčenín selénu prítomných v moči. Celkový anorganický selén, selenometionín a selenoetionín boli separované reverzno-fázovým mechanizmom.

Selektívne stanovenie Se (IV) vo vode po jeho zachytení na aniónovo-výmennej kolóne FI-HGAAS (prietoková injekčná HGAAS) bolo opísané v práci Carreru a Tysona¹¹⁴. FI-HGAAS pre stanovenie Se (IV) a Se (VI) v džúsoch a termálnych vodách s on-line mikrovlnnou redukciou Se (VI) na Se (IV) opísali Burguera a kol.⁵ Redukčné roztoky boli: 4 mol.l⁻¹ HCl pre Se (IV) a 12 mol.l⁻¹ HCl pre Se (VI), FI-HGAAS s on-line mikrovlnným rozkladom v zmesi HBr-KBrO₃ pre stanovenie celkového selénu vo vode opísali Lafuente a kol.¹¹⁶ FI-HGAAS použili pre stanovenie Se v krvnom sére a plazme McLaughlin a kol.¹¹⁷ Pre stanovenie ultrastopových množstiev Se (IV) použili Nielsen a kol.¹¹⁸ FI-HGAAS spojenú s on-line prekoncentráciou. Päť mikrovlnných rozkladov pre stanovenie As a Se v riečnych sedimentoch bolo použitých v práci Zhoua a kol.¹¹⁹ Použili päť rôznych zmesí kyselín HNO₃-H₂SO₄, HNO₃-HClO₄, HNO₃-HCl, HNO₃-HCl-HF a HNO₃-H₂SO₄-HClO₄. Všetky uvedené zmesi boli vhodné pre rozklady sedimentov pred ich stanovením FI-HGAAS, Deblas a kol.¹²⁰ použili FI-HGAAS pri stanovení celkového Se v pôdach a rastlinách. Použili dva rozkladné postupy bez strát analytu.

5. Stanovenie selénu technikou generovania hydridov s atomizáciou v grafitovej kyvete

Grafitové atomizátory sú používané pre atomizáciu hydridov takmer od uvedenia hydridových techník¹²¹. Existujú tri možnosti ich použitia: *in situ* zachytenie hydridov, ktoré využíva grafitovú kyvetu pre zber hydridu aj pre jeho atomizáciu, on-line atomizácia a atomizácia z absorpčných roztokov obsahujúcich zachytené hydridy. *In situ* zber a nakoncentrovanie hydridu zlepšuje detekčné limity oproti priamemu zavedeniu hydridu do atomizátora.

Podmienky pre simultánne stanovenie Se a As technikou HGAAS s *in situ* zachytením hydridov a ich atomizáciou v grafitovej kyvete pokrytej zirkónom opísali Gabros a kol.¹²² Ni a kol.¹²³ opísali citlivé stanovenie Se a Te v biologických vzorkách generovaním hydridov s následným zachytením a atomizáciou v grafitovom atomizátore, ktorý bol pokrytý striebrom. Zhang a kol.¹²⁴ opísali stanovenie nízkych obsahov anorganického selénu v prítomnosti nadbytku organicky viazaného. *In situ* zachytenie a nakoncentrovanie hydridov selénu a telúru v grafitovej kyvete bolo opísané v práci Liaoa a Hauga¹²⁵. Ako modifikátory testovali karbidotvorné prvky (Zr, Nb, Ta a W) a vzácne kovy (Ir, Ir/Mg a Pd/Ir). Účinnosť tvorby hydridov selénu, arzénu a antimonu, *in situ* zachytenia uvedených hydridov v grafitovej kyvete a použitie paládia ako chemického modifikátora bolo opísané v práci Dočekala a kol.¹²⁶

Detekčné limity dosiahnuté pri stanovení selénu technikami metódy AAS sú uvedené v tabulke I.

Tabulka I

Detekčné limity dosiahnuté pri stanovení selénu technikami metódy AAS

Matrica	Technika	Detekčný limit	Literatúra
Ovocné džúsy	ETAAS	28 pg ^a	41
Krvné sérum	ETAAS	6,5 μg.l ⁻¹	62
Krvné sérum	ETAAS	6 μg.l ⁻¹	63
Krv	ETAAS	14 μg.l ⁻¹	128
Vlasy	ETAAS	0,02 μg.g ⁻¹	129
Nechty	ETAAS	0,03 μg.g ⁻¹	129
Voda	SPE-ETAAS	0,08 μg.l ⁻¹	50
Krvné sérum	LC-ETAAS	0,8 μg.l ⁻¹	70
Morské produkty	SL-ETAAS	0,2 μg.g ⁻¹	82
Ovocie	SL-ETAAS	10 μg.g ⁻¹	85
Pôda, sedimenty	SL-ETAAS	0,1 μg.g ⁻¹	86
Vlasy	HGAAS	0,3 μg.l ⁻¹	111
Krv	HGAAS	8 μg.l ⁻¹	128
Pôda, rastliny	FI-HGAAS	1 μg.l ⁻¹	118
Kaly	FI-HGAAS	0,17 μg.l ⁻¹	127
Moč	HPLC-HGAAS	6,8 μg.l ⁻¹	113
Voda	HG-ETAAS	17 ng.l ⁻¹	122
Sliny	HG-ETAAS	36 pg ^a	124
Moč	HG-ETAAS	20 ng.l ⁻¹	130

^a Charakteristická hmotnosť; skratky viď text

/. Farkašová je riešiteľkou projektu č. UK/3834/98: „Štúdium atomizácie pre stanovenie selénu v biologickom materiáli metódou AAS s elektrotermickou atomizáciou“, v rámci ktorého bol vypracovaný aj tento prehľadný článok.

LITERATÚRA

1. Rotruck J. T., Pope A. H., Ganther H. E., Swanson A. B., Hafeman D. G., Hoekstra W. G.: *Science* 179, 588 (1973).
2. Fishbein L., v knihe: *Metals and Their Compounds in the Environment* (Merian E., ed.). VCH, Weinheim 1991.
3. Levander O. A.: *Fed. Proc.* 44, 2579 (1985).
4. Wilber C. G.: *Clin. Toxicol.* 17, 171 (1980).
5. Fishbein L.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 17, 113 (1984).
6. Ure A. M., Berrow M. L., v knihe: *Environmental Chemistry* (Bowen H. J. M., ed.). The Royal Society of Chemistry, London 1982.
7. Crecelius E. A., Lepel E. A., Laul J. C., Rancitelli L. A., McKeever R. L.: *Environ. Sci. Technol.* 14, 422 (1980).
8. Kobayashi R., Hashimoto Y.: *J. Jpn. Soc. Air Pollut.* 17, 96 (1982).
9. Mosher B. W., Duce R. A.: *J. Geophys. Res.* 88, 6761 (1983).
10. Buat-Ménard P., Chesselet R.: *Earth Planet Sci. Lett.* 42, 399 (1979).
11. Nriagu J. O., Pacyna J. M.: *Nature* 333, 134 (1988).
12. Wang D., Alftan G., Aro A., Soveri J.: *Appl. Geochem. (Environ. Geochem.)* 2, 87 (1993).
13. Schwarz K., Foltz C. M.: *J. Am. Chem. Soc.* 79, 3292 (1957).

14. Robinson M. F., Thomson C. D.: *Abstr. Rev.* 53, 3(1983).
15. Glover J., Levander O., Parížek J., Vouk V.: *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier, Amsterdam 1979.
16. Olson O. E.: *J. Am. Coll. Toxicol.* 5, 45 (1980).
17. Verlinden M., Deelstra H., Adriaenssens E.: *Talanta* 28, 637(1981).
18. Dočekalová H.: *Kandidátská disertační práce*. Masarykova univerzita, Brno 1988.
19. Ediger R. D.: *At. Abs. Newslett.* 14, 127 (1975).
20. Tsalev D. L., Tserovski E. I., Raitcheva A. G., Barzev A. I., Georgieva R. G., Zaprianov Z. K.: *Spectrosc. Lett.* 26, 331 (1993).
21. Nishimura J., Tominaga T., Katsura T., Matsumoto K.: *Anal. Chem.* 59, 1647 (1987).
22. Gammerlgaard B., Jons O.: *J. Anal. At. Spectrom.* 12, 465 (1997).
23. Voth-Beach L. M., Shrader D. E.: *Spectroscopy* 1, 49 (1986).
24. Knowles M. B., Brodie K. G.: *J. Anal. At. Spectrom.* 3, 511 (1988).
25. Knowles M. B., Brodie K. G.: *J. Anal. At. Spectrom.* 4, 305 (1989).
26. Mazzucotelli A., Grotti M.: *Spectrochim. Acta* 50B, 1897 (1995).
27. Volynsky A. B., Krivan V.: *Spectrochim. Acta* 52B, 1293 (1997).
28. Volynsky A. B., Krivan V.: *J. Anal. At. Spectrom.* 12, 159(1996).
29. Radziuk B., Thomassen Y.: *J. Anal. At. Spectrom.* 7, 397 (1992).
30. Johannessen J. K., Gammelgaard B., Jons O., Hansen S. H.: *J. Anal. At. Spectrom.* 8, 999 (1993).
31. Laborda F., Vinuales J., Mir J. M., Castillo J. R.: *J. Anal. At. Spectrom.* 8, 737 (1993).
32. Laborda F., Chakraborti D., Mir J. M., Castillo J. R.: *J. Anal. At. Spectrom.* 8, 643 (1993).
33. Liang Y. Z., Li M., Rao Z.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 357, 112(1997).
34. Welz B., Schlemmer G., Mudakavi J. R.: *J. Anal. At. Spectrom.* 7, 1257 (1992).
35. Chakrabarti C. L., Marchand B., Vandernoot V., Walker J., Schroeder W. H.: *Spectrochim. Acta* 51B, 155 (1996).
36. Néve J., Molle L.: *Acta Pharmacol. Toxicol.* 59, 606(1986).
37. Morisi G., Patriarca M., Menotti A.: *Clin. Chem.* 34, 127 (1988).
38. Daher R., Vanlente F.: *Clin. Chem.* 40, 62 (1994).
39. Drake E. N., Hain T. D.: *Anal. Biochem.* 220, 336(1994).
40. Robles L. C., Aller A. J.: *Anal. Sci.* 12, 783 (1996).
41. Liu Y. M., Gong B. L., Li Z. H., Xu Y. L., Lin T. Z.: *Talanta* 43, 985 (1996).
42. Leblanc A.: *J. Anal. At. Spectrom.* 11, 1093 (1996).
43. Minoia C., Pietra R., Sabbioni E., Ronchi A., Gatti A., Cavalleri A., Manzo L.: *Sci. Total Environ.* 720, 63 (1992).
44. Tsalev D. L., Slaveykova V. I., Georgieva R. B.: *Anal. Lett.* 29, 73 (1996).
45. Bulska E., Pyrzynska K.: *Spectrochim. Acta* 52B, 1283 (1997).
46. Rademeyer C. J., Radziuk B., Romanova N., Thomassen Y., Tittarelli P.: *J. Anal. At. Spectrom.* 12, 81 (1997).
47. Volynsky B., Krivan V.: *J. Anal. At. Spectrom.* 12, 333 (1997).
48. Aller A. J.: *Anal. Sci.* 13, 183 (1997).
49. Tsalev D. M., D'Ulivo A., Lampugnani L.: *J. Anal. At. Spectrom.* 11, 979 (1996).
50. Arpadjan S., Vuchkova L., Kostadinova E.: *Analyst* 122, 243 (1997).
51. Meng L., Nanto V., Li S., Walls M., Makela A., Wang W., Laihonen P., Ketola M., Rainikainen M., Hamalainen M., Hasanen E., Manninen P., Wegelius U., Makela P., Li Z.: *Microchem. J.* 52, 223 (1995).
52. Kubota T., Suzuki K., Okutani T.: *Talanta* 42, 949(1995).
53. Kashiwagi Y., Kokufuta E., Kawashima T.: *Anal. Sci.* 13, 623 (1997).
54. Gawalko E. J., Nowicki T. W., Babb J., Tkachuk R., Wu S. L.: *J. AOAC Int.* 80, 379 (1997).
55. Ducros V., Ruffieux D., Belin N., Favier A.: *Analyst* 19, 1715 (1994).
56. Horng C. J., Lin S. R.: *Talanta* 45, 75 (1997).
57. Arruda M. A. Z., Gallego M., Valcarcel M.: *J. Anal. At. Spectrom.* 11, 169 (1996).
58. Drasch G., Wanghofer E., Roeder G., Strobach S.: *J. Trace Elem. Med. Biol.* 10, 251 (1996).
59. Ejima A., Watanabe C., Koyama H., Matsuno K., Satoh H.: *Biol. Trace Elem. Res.* 54, 9 (1996).
60. Tan Y. X., Marshall W. D.: *Analyst* 122, 13 (1997).
61. Saeed K., Thomassen Y., Langmyhr F. J.: *Anal. Chim. Acta* 110, 285 (1979).
62. Van Dael P., Van Cauwenbergh R., Robberecht H., Deelstra H., Calomme M.: *At. Spectrosc.* 16, 251 (1995).
63. Gardiner P. H. E., Littlejohn D., Halls D. J., Fell G. S.: *J. Trace Elem. Med. Biol.* 9, 74 (1995).
64. Néve J., Hanocq M.: *Anal. Chim. Acta* 93, 85 (1977).
65. Ishizaki M.: *Talanta* 25, 161 (1978).
66. Mierzwa J., Adeloju S. B., Dhinsa H. S.: *Anal. Sci.* 13, 189 (1997).
67. Li H., Nagasawa H., Matsumoto K.: *Anal. Sci.* 12, 215 (1996).
68. Perezcorona T., Madrid Y., Cámara C.: *Anal. Chim. Acta* 345, 249(1997).
69. Laborda F., Vicente M. V., Mir J. M., Castillo J. R.: *Fresenius J. Anal. Chem.* 357, 837 (1997).
70. Harrison I., Littlejohn D., Fell G. S.: *Analyst* 121, 189 (1996).
71. Marchantegayon J. M., Gonzaley J. M., Fernandez M. L., Blanco E., Sanzmedel A.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 355, 615 (1996).
72. Gilon N., Potingautier M., Astruc M.: *J. Chromatogr., A*, 750, 327 (1996).
73. Das A. K., Chakraborty R.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 357, 1 (1997).
74. Bendicho C, de Loos-Vollebregt P.: *J. Anal. At. Spectrom.* 6, 1257 (1991).
75. Miller-Ihli N. J.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 345, 482 (1993).
76. Ebdon L., Parry H. G. M.: *J. Anal. At. Spectrom.* 3, 131 (1988).
77. Bradshaw D., Slavin W.: *Spectrochim. Acta* 44B, 1245 (1989).
78. Wagley D., Schmiedel G., Mainka E., Ache H. J.: *At. Spectrosc.* 10, 106 (1989).
79. Bendicho C, Sancho A.: *At. Spectrosc.* 14, 187 (1993).
80. Kubota T., Okutami T.: *Anal. Chim. Acta* 351, 319 (1997).

81. Januzzi G. S. B., Krug F. J., Arruda M. A. Z.: *J. Anal. At. Spectrom.* 72, 375 (1997).
82. García I., Merlos M., Córdoba M.: *J. Anal. At. Spectrom.* 12, 777 (1997).
83. Minami H., Inoue Y., Sakata K., Atsuya I.: *Anal. Sci.* 13, 397 (1997).
84. Chen G. R., Jackson K. W.: *Spectrochim. Acta, Part B* 51, 1505 (1996).
85. Cabrera C., Lorenzo M. L., López M. C.: *J. AOAC Int.* 78, 1061 (1995).
86. García I., Merlos M., Córdoba M.: *J. At. Anal. Spectrom.* 11, 1003 (1996).
87. Piwonka J., Kaiser G., Tölg G.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 321, 225 (1985).
88. Dědina J., Fara M., Koliňová D., Korečková J., Musil J., Pliško E., Sychra V.: *Vybrané metody analytické spektrometrie*. Čs. spektroskopická společnost, Praha 1987.
89. Nakahara T.: *Prog. Anal. At. Spectrosc.* 6, 163 (1983).
90. Campbell A. D.: *Pure Appl. Chem.* 64, 227 (1992).
91. Yan X. P., Ni Z. M.: *Anal. Chim. Acta* 291, 89 (1994).
92. Bye R., Lund W.: *Fresenius Z. Anal. Chem.* 332, 242 (1988).
93. Sinemus H. W., Melcher M., Welz B.: *At. Spectrosc.* 2, 81 (1981).
94. Brodie K. G.: *Int. Lab.* 7, 65 (1977).
95. Cutter G. A.: *Anal. Chim. Acta* 98, 59 (1978).
96. Narsito X., Agterdenbos J., Santosa S. J.: *Anal. Chim. Acta* 237, 189 (1990).
97. Welz B., Melcher M.: *Analyst* 109, 569 (1984).
98. Welz B., Melcher M.: *Anal. Chim. Acta* 153, 297 (1983).
99. Verlinden M., Deelstra H.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 296, 253 (1979).
100. Dědina J.: *Anal. Chem.* 54, 2059 (1982).
101. Walcerz M., Bulska E., Hulanicki A.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 346, 622 (1993).
102. Alexandrov S., Gafur I., Mandjukov P., Nedeltchev O.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 347, 303 (1993).
103. Tiran B., Tiran A., Rossipal E., Lorenz O.: *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* 7, 211 (1993).
104. Hao D. Q., Xie G. H., Zhang Y. M., Tian G. J.: *Talanta* 43, 595 (1996).
105. Navarro M., Lopez H., Lopez M. C., Perez V.: *J. AOAC Int.* 79, 773 (1996).
106. Elwaer N., Belzile N.: *International J. Environ. Anal. Chem.* 61, 189 (1995).
107. Zhu B., Tabatabai M. A.: *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59, 1564 (1995).
108. Diaz-Alarcon J. P., Navarro-Alarcon M., de la Serrana H. L. G., Asensio-Drima C, López-Martínez M. C.: *J. Agric. Food Chem.* 44, 2423 (1996).
109. Diaz J. P., Navarro M., Lopez H., Lopez M. C.: *Sci. Total Environ.* 186, 231 (1996).
110. Rubio R., Padro A., Rauret G.: *Anal. Chim. Acta* 353, 91 (1997).
111. Dong X. N., Nakaguchi Y., Hiraki K.: *Anal. Sci.* 13, 195 (1997).
112. Xu R. R., Chen Y. W., Huang J., Belzile N.: *Can. J. Anal. Sci. Spectrosc.* 42, 56 (1997).
113. Lafuente J. M. G., Sanchez M. L. F., Sanzmedel A.: *J. Anal. At. Spectrom.* 11, 1163 (1996).
114. Carrero P. E., Tyson J. F.: *Analyst* 722, 915 (1997).
115. Burguera J. L., Carrero P., Burguera M., Rondon C., Brunetto M. R., Galignani M.: *Spectrochim. Acta* 577, 1837 (1996).
116. Lafuente J. M. G., Sanchez M. L. F., Marchantegayon J. M., Uria J. E. S., Sanzmedel A.: *Spectrochim. Acta, Part B* 57, 1849 (1996).
117. McLaughlin K., Dadgar D., Smyth M. R., McMaster D.: *Analyst* 775, 275 (1990).
118. Nielsen S., Sloth J. J., Hansen E. H.: *Analyst* 727, 31 (1996).
119. Zhou C. Y., Wong M. K., Koh L. L., Wee Y. C.: *Mikrochim. Acta* 727, 77 (1997).
120. Deblas O. J., Mateos R., Sanchez A. G.: *J. AOAC Int.* 79, 764 (1996).
121. Branch Ch. H., Hutchinson D.: *Analyst* 770, 163 (1985).
122. Gabros S., Walcerz M., Bulska E., Hulanicki A.: *Spectrochim. Acta, Part B* 50, 1669 (1995).
123. Ni Z. M., He B., Han H. B.: *J. Anal. At. Spectrom.* 8, 995 (1993).
124. Zhang D. Q., Sun H. W., Yang L. L.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 359, 492 (1997).
125. Liao Y. P., Haug H. O.: *Microchem. J.* 56, 247 (1997).
126. Dočekal B., Dědina J., Krivan V.: *Spectrochim. Acta, Part B* 52, 787 (1997).
127. Saraswati R., Vetter T. W., Watters R. L.: *Analyst* 720 (1995).
128. Mestek O., Suchánek M., Vodičková Z., Zemanová B., Zíma T.: *J. Anal. At. Spectrom.* 72, 85 (1997).
129. Harrison I., Littlejohn D., Fell G. S.: *J. Anal. At. Spectrom.* 70, 215 (1995).
130. Ni Z. M., He B., Han H. B.: *Can. J. Appl. Spectrosc.* 38, 11 (1993).

I. Farkašová and M. Žemberyová (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*): **Determination and Speciation by AAS Techniques of Selenium in Environmental and Biological Samples**

Two of the most frequently used techniques for the determination of selenium in environmental and biological samples are electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS) and hydride generation atomic absorption spectrometry (HGAAS). For the speciation of selenium a combination of separation techniques with atomic spectrometric techniques is used. The above combinations are described in the present article.