

JOANNA MASŁOWSKA, AGNIESZKA GAWŁOSKA

## OZNACZENIE SELENU W WODACH MINERALNYCH METODĄ ASA

## DETERMINATION OF SELENIUM IN MINERAL WATERS WITH ASA METHOD

Instytut Podstaw Chemii Żywności, Zespół Chemii Bionieorganicznej  
i Analitycznej  
Politechnika Łódzka  
90-924 Łódź, ul. Stefanowskiego 4/10  
Kierownik: prof. dr hab. J. Masłowska

*Metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (ASA) badano zawartość selenu w wodach mineralnych dostępnych obecnie na rynku krajowym. Wykazano, że zawartość selenu w badanych wodach jest bardzo niska i wynosi od 0,30 do 0,48 ppb. Przeprowadzono walidację stosowanej metody oznaczania selenu określając jej precyzję, dokładność oraz liniowość.*

## WSTĘP

Witaminy i sole mineralne, mimo że nie dostarczają organizmowi energii, są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania komórek i tkanek. Osiągnięcia w zakresie prac badawczych w ostatnich latach stworzyły racjonalne podstawy do zapobiegania błędom żywieniowym, które po dłuższym czasie mogłyby prowadzić do powstania poważnych zmian w organizmie. Powstałe zakłócenia bądź uszkodzenia stają się często nieodwracalne. Jednym z bardzo ważnych mikroelementów, którego niedobór był przez wiele lat niedoceniany jest selen [1, 4, 9, 10-15, 16, 20]. Jest on mikroelementem bardzo istotnym dla prawidłowego funkcjonowania organizmu, przy czym pomiędzy poziomem przy którym występuje efekt ochronny (250 – 800 µg/dzień), a poziomem toksycznym (1000 µg/dzień) jest bardzo wąska granica [19]. Wysokie jego dawki działają toksycznie na organizmy żywe, powodując między innymi zakłócenie metabolizmu metioniny [2, 4, 6, 26]. W niskich dawkach natomiast działa on bardzo korzystnie, gdyż między innymi stymuluje wzrost oraz neutralizuje działanie metali ciężkich, takich jak: rtęć, ołów, kadm i innych [20, 21]. Selen wywiera także działanie ochronne przed promieniowaniem jonizującym oraz neutralizuje działanie aflatoksyn [16, 23]. Niedobory selenu prowadzą do martwicy wątroby i trzustki, do zmniejszenia płodności oraz zwyrodnienia mięśnia sercowego [25]. Aby zapobiec schorzeniom na tle niedoboru selenu stosuje się witaminę E [19-21, 25]. Selen tworzy liczne połączenia chemiczne, w których występuje na różnych stopniach utlenienia (-2, +4, +6) [9-10]. Wchodzi w skład aminokwasów zastępując atom siarki. Selen w postaci związków organicznych jest lepiej przyswajalny przez ludzi i zwierzęta. największe znaczenie biologiczne selenu w organizmach wiąże się z jego występowaniem w centrum aktywnym wielu enzymów i białek. Selen jest

składnikiem peroksydazy glutationowej, która spełnia główną rolę ochronną przed utleniającym działaniem nadtlenu wodoru oraz nadtlenu organicznych na lipidy błon komórkowych. Selen jako składnik innych enzymów oksydacyjno-redukcyjnych i cytochromów bierze udział w procesach metabolicznych na poziomie komórkowym [1, 2, 9, 10]. Przenikając przez błony komórkowe selen reaguje z białkami oraz pobudza syntezę przeciwciał.

Celem niniejszej pracy było opracowanie optymalnych warunków oznaczania metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (ASA) śladowych ilości selenu w próbkach wód mineralnych dostępnych na rynku krajowym.

## MATERIAŁ I METODYKA

Badaniami doświadczalnymi objęto 24 próbki różnych wód mineralnych dostępnych na rynku krajowym. Badano wody gazowane i niegazowane takie, jak: Muszynianka, Galicjanka, Evita, Mazowszanka, Multi Vita, Kryniczanka, Krynica Zdrój, Sparking Water, Woda Sodowa Fructom, Nałęczowianka, Jurajska, Perła Krynicy, Cristal oraz inne.

### Aparatura

Śladowe ilości selenu w badanych wodach oznaczono metodą ASA stosując spektrofotometr absorpcji atomowej nowej generacji, firmy australijskiej GBC Avanta Ver 1.3.1. Odczytów absorbancji (A) badanych roztworów dokonanywano przy długości fali  $\lambda = 196$  nm i prądzie lampy z katodą wnątkową oraz lampą D2,  $i = 10$  mA. Wszystkie pomiary wykonano w dynamicznej atmosferze argonu. Próbki badane w ilości 5  $\mu$ l wprowadzano do rury pieca grafitowego za pomocą wykalibrowanych automatycznych pipet.

### Odczynniki i roztwory

Jako roztwór podstawowy (A) służył roztwór selenianu (IV) sodu  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  przygotowany ze stałego odczynnika cz.d.a., firmy Fluka. W celu jego przygotowania odważano 0,5476 g  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  z dokładnością  $\pm 0,0001$  g i rozpuszczano w wodzie destylowanej w kolbie miarowej o poj. 250  $\text{cm}^3$ ; 1  $\text{cm}^3$  roztworu podstawowego zawierał 1 mg selenu.

Roztwór B. W celu jego przygotowania odmierzano 10  $\text{cm}^3$  roztworu podstawowego (A) i rozcieńczono wodą destylowaną w kolbie miarowej o poj. 100  $\text{cm}^3$ ) 1  $\text{cm}^3$  roztworu B zawierał 100  $\mu$ g selenu.

Roztwór roboczy C zawierający 10  $\mu$ g selenu przygotowywano odmierzając 10  $\text{cm}^3$  roztworu B i rozcieńczając wodą destylowaną w kolbie miarowej o poj. 100  $\text{cm}^3$ .

### Przygotowanie krzywej kalibracyjnej

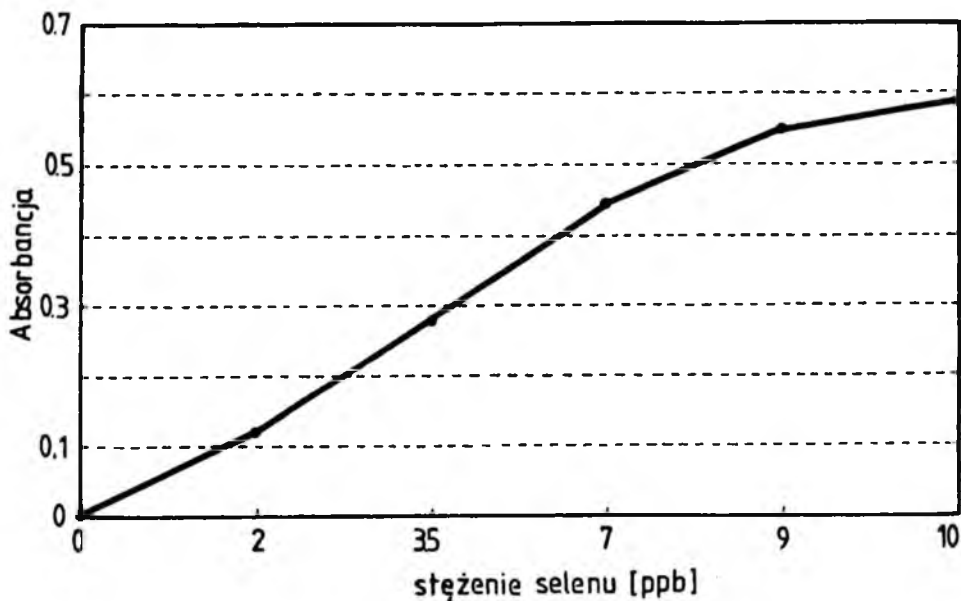
Do kolbek miarowych o poj. 10  $\text{cm}^3$  dodawano kolejno: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 lub 10  $\text{cm}^3$  roztworu roboczego C Se(IV). Zawartość kolbek uzupełniano do 10  $\text{cm}^3$  wodą redestylowaną o przewodnictwie równym 0,03  $\mu$ S. Objętość badanych próbek była stała i wynosiła 5  $\mu$ l. Słepą próbę stanowiła woda redestylowana o przewodnictwie równym 0,03  $\mu$ S. Sporządzając krzywą kalibracyjną na osi rzędnych odkładano zmierzoną absorbancję (A) roztworu, a na osi odciętych stężenie (c) Se(IV) w próbce wyrażone w ppb. W tabeli I zestawiono wyznaczone doświadczalnie wartości liczbowe absorbancji (A) roztworu oraz stężenia (c) selenu. Wartości liczbowe A stanowią średnią z co najmniej 6 pomiarów.

Tabela I. Średnia absorbanca i stężenie selenu w roztworach wzorcowych.  $\lambda = 196 \text{ nm}$ ,  $d = 1 \text{ cm}$ .  
 Mean value of absorbance and selenium concentration in standard solution.  
 $\lambda = 196 \text{ nm}$ ,  $d = 1 \text{ cm}$ .

Próbka badanego roztworu wzorcowego	Stężenie selenu(IV) w próbce [ppb]	Wartość wyznaczonej absorbancji roztworu A
Ślepa próba	0,0000	0,0000
Wzorzec 1	2,0000	0,1210
Wzorzec 2	7,0000	0,4466
Wzorzec 3	10,0000	0,5885

### WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Na ryc. 1 zamieszczono krzywą kalibracyjną w badanym zakresie stężeń selenu od 2 do 10 ppb. Przydatność tej metody została sprawdzona na różnych próbkach wód mineralnych. Średni odzysk selenu(IV) wynosił 98,9%.



Ryc. 1. Krzywa wzorcowa służąca do oznaczania selenu w wodach przedstawiająca zależność absorbancji w funkcji stężenia  $Se$   $A = f(cSe(IV))$ ,  $\lambda = 196 \text{ nm}$ ,  $d = 1 \text{ cm}$ .  
 Calibration curve by determination of selenium in mineral waters,  $\lambda = 196 \text{ nm}$ ,  $d = 1 \text{ cm}$ .

Precyzję stosowanej metody oznaczania selenu określono na podstawie uzyskanych wyników dla 24 próbek różnych wód mineralnych. Uzyskane wartości liczbowe parametrów charakteryzujących precyzję oznaczania selenu(IV) metodą ASA zestawiono

w tabeli II. Wskazują one, że względne odchylenie standardowe (Sv) mieści się w granicach od 5,23 do 19,20%. Wartość liczbową współczynnika zmienności (W) mieści się w granicach od 0,34 do 1,86. Opisane funkcją t-Studenta [5] przedziały ufności wartości średniej, przy liczbie swobody  $f = n - 1$  (gdzie n jest liczbą pomiarów) oraz przyjętym poziomie prawdopodobieństwa  $P = 95\%$  (4,303), wykazują zbieżność. Błędy przypadkowe metody zredukowane są do minimum.

Tabela II. Parametry charakteryzujące precyzję stosowanej metodą ASA oznaczania selenu(IV);  $\lambda = 196 \text{ nm}$ ;  $d = 1 \text{ cm}$ .  
Parameters characterising precision of the method of selenium(IV) determination;  $\lambda = 196 \text{ nm}$ ;  $d = 1 \text{ cm}$ .

Lp.	Próbka badanej wody	Zawartość selenu X [ppb]	Względne odchylenie standardowe Sv [%]	Odchylenie standardowe S	Współczynnik zmienności W [%]	Przedział ufności T x S
1	Muszynianka*	0,43	9,28	0,0024	0,55	0,010
2	Muszynianka	0,41	15,79	0,0038	0,92	0,016
3	Galicjanka*	0,34	16,87	0,0067	1,97	0,028
4	Galicjanka	0,34	19,20	0,0038	1,11	0,016
5	Nałęczowianka*	0,40	13,03	0,0031	0,77	0,013
6	Nałęczowianka	0,43	12,21	0,0045	1,04	0,019
7	Evita*	0,37	8,80	0,0017	0,45	0,007
8	Evita	0,37	7,62	0,0016	0,43	0,007
9	Mazowszanka*	0,36	9,56	0,0020	0,55	0,008
10	Mazowszanka	0,36	10,11	0,0018	0,50	0,007
11	Jurajska*	0,48	5,24	0,0032	0,66	0,014
12	Jurajska	0,43	10,59	0,0031	0,72	0,013
13	Multi Vita*	0,30	8,43	0,0056	1,86	0,024
14	Multi Vita	0,42	12,53	0,0065	1,54	0,028
15	Krynica*	0,41	9,18	0,0037	0,90	0,016
16	Krynica	0,40	15,23	0,0031	0,77	0,013
17	Krynica Zdrój*	0,38	13,06	0,0021	0,55	0,009
18	Krynica Zdrój	0,37	5,40	0,0019	0,51	0,008
19	Woda Fructom	0,45	5,60	0,0026	0,57	0,011
20	Sparking Water	0,40	7,52	0,0011	0,27	0,004
21	Perła Krynicy*	0,39	6,66	0,0020	0,51	0,008
22	Perła Krynicy	0,35	7,76	0,0017	0,48	0,007
23	Cristal*	0,44	5,55	0,0015	0,34	0,006
24	Cristal	0,43	5,85	0,0022	0,51	0,009

\* wody niegazowane

Badając odzysk analitu oceniono zgodność wyników uzyskanych stosowaną metodą z wartością przyjętą jako prawdziwą. Sporządzono 9 roztworów próbek zawierających Se(IV), przyjmując je jako próbki modelowe i dla każdej próbki wykonano po 6 niezależnych oznaczeń zawartości selenu. Modelowe próbki zawierały ok. 50; 65; 80; 95; 110; 125 i 140% wartości prawdziwej. Wielkości charakteryzujące dokładność opracowanej metody oznaczania selenu w próbkach wody zestawiono w tabeli III. Uzyskane wielkości wskazują, że odzysk selenu wynosi średnio 95%. Uzyskane wartości odzysków mieszczą się w granicach od 95,17 do 96,85%. W celu określenia liniowości omawianej metody, zbadano zależność pomiędzy absorbcją (A), a stężeniem analitu (c) w próbkach. Uzyskane wyniki przedstawiono graficznie na ryc. 1, wykreślając absorbcję (A) jako funkcję stężenia (c) selenu. Zamieszczona na ryc. 1 krzywa kalibracyjna wskazuje, że tylko do pewnej wartości stężenia (c) jest ona linią prostą, a powyżej tego stężenia (7 ppb) krzywa ta ulega załamaniu.

Tabela III. Wielkości charakteryzujące dokładność opracowanej metody oznaczania selenu w próbkach modelowych.

Parameters characterising accuracy of the method of selenium determination.

Próbki modelowe zawierające wartość prawdziwą [%]	Liczba powtórzeń oznaczeń N	Obliczona zawartość selenu [ppb]	Oznaczona średnia zawartość selenu [ppb]	Średni odzysk [%]	Współczynnik zmienności W [%]	Przedział ufności T x S
50	6	15	15,08	96,42	0,81	0,008
65	6	20	20,20	96,83	0,22	0,007
80	6	25	25,25	95,11	0,51	0,073
95	6	30	29,85	94,59	0,39	0,076
110	6	35	34,92	94,79	0,98	0,027
125	6	40	40,04	96,02	0,76	0,029
140	6	45	44,58	95,17	0,83	0,031

#### WNIOSKI

1. Walidacja opisanego postępowania analitycznego z uwzględnieniem precyzji i dokładności wyników wykazała, że metoda ASA nie jest obciążona błędami systematycznymi.

2. Zastosowana w pracy metoda ASA może być z powodzeniem wykorzystana do oznaczania śladowych zawartości selenu w wodach mineralnych.

3. Zawartość selenu w 24 badanych różnych próbkach wód mineralnych nie przekracza wartości dopuszczalnych (0,010 mg/l) polską normą.

4. Doświadczalnie wykazano, że oznaczona zawartość selenu w badanych naturalnych wodach mineralnych mieści się w zakresie od 0,30 do 0,48 (+0,01) ppb. Średnia zawartość wynosi 0,39 (+0,01) ppb.

5. Najbogatsza w selen okazała się woda mineralna, niegazowana „Jurajska” (0,48 ppb), a najuboższa „Multi Vita” (0,30 ppb).

J. Maślowska, A. Gawłowska

## DETERMINATION OF SELENIUM IN MINERAL WATERS WITH ASA METHOD

### Summary

The selenium was determined in therapeutic and table waters by means of ASA method. All the experiments were carried out in argon atmosphere. The element levels in the examined waters compared to Polish standards were relatively low and do not exceed the drinkable water standards. The determined content of selenium was in the range of 0,30 – 0,48 ppb. Evaluation of the method of selenium determination was carried out to define its preciseness, accuracy and linearity. Statistical analysis has shown that the coefficient of variation varies between 0,34 and 1,86 % recovery is from 95,17 to 96,83%. The method can be used for controlling of the waters in the food technology.

### PIŚMIENNICTWO

1. *Alfthan G., Aro A., Arvilommi H., Huttunen J.K.*: Selenium metabolism and platelet glutathione peroxidase activity in healthy Finnish men; effects of selenium yeast, selenium and selenate., *Am. J. Clin. Nutr.*, 1991, 53, 120–125.
2. *Bratter P., Negretti De Bratter V.E., Gawlik D., Oliver W., Alvarez M., Jaffe W.*: Selenium in human monitors related to the regional dietary intake levels in Venezuela, *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.*, 1993, 7, 111–112.
3. *Czerwiński J.*: Metody statystyczne w doświadczałnictwie chemicznym, PWN, Warszawa 1973.
4. *Dębski B., Finley D.A., Picciano M.F., Lonnerdal B., Milner J.*: Selenium content and glutathione peroxidase activity of milk from vegetarian and nonvegetarian women, *J. Nutr.*, 1989, 119, 215–220.
5. *Freund J.E.*: Podstawy nowoczesnej statystyki, PWE, Warszawa 1968.
6. *Korhola M., Vainio A., Edelman K.*: Selenium yeast, *Ann. Clin. Res.*, 1986, 18, 65–68.
7. *Kumpulainen J., Salmenpera L., Shmes M.A., Koivistoinen P., Perheentura J.*: Selenium status of exclusively breast-fed infants as influenced by maternal organic or inorganic selenium supplementation, *Am. J. Clin. Nutr.*, 1985, 42, 829–835.
8. *Mangels A.R., Moser-Veillon P.B., Patterson K.Y., Veillon C.*: Selenium utilization during human lactation by use of stable-isotope tracers, *Am. J. Clin. Nutr.*, 1990, 52, 621–627.
9. *Maślowska J., Duda J.*: Polarograficzna metoda oznaczania śladowych ilości selenu w wodach pitnych i napojach, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1985, 18, 11–16.
10. *Maślowska J.*: Toksyczne związki organiczne oraz pierwiastki chemiczne w środowisku naturalnym człowieka, *Zeszyty Naukowe P.Ł., Techn. i Chem. Spoż.*, 1990, 47.
11. *Maślowska J., Brzostowska A.*: Badanie zawartości selenu w roślinach z terenu m. Łodzi, *Roczn. PZH*, 1986, 37, 406–408.
12. *Maślowska J.*: Toksyczne związki organiczne oraz pierwiastki chemiczne w środowisku naturalnym człowieka, *Zeszyty Naukowe P.Ł., Techn. i Chem. Spoż.*, 1990, 47, 47.
13. *Maślowska J., Janiak J.*: Poziom molibdenu i selenu w drożdżach piekarskich, *Przegląd Piek. i Cukier.*, 1996, 5, 12–13.
14. *Maślowska J., Kotyńska E.*: Determination of trace amounts of selenium in cosmetic dyes by using extraction-spectrophotometric method with diphenylhydrazine, *Chem. Anal.*, 1980, 25, 203–207.
15. *Maślowska J.*: Woda mineralna w Piaskach z ujęć odwodnień KWB „Bełchatów”, *Węgiel Brunatny*, 1993, 67, 9–11.
16. *Neve J.*: Selenium at grossesse, *Rev. Fr. Gynecol. Obstet.*, 1990, 85, 29–33.

17. *Pinta M.*: Absorpcyjna spektrometria atomowa – zastosowanie w analizie chemicznej, PWN, Warszawa, 1977.
18. Polskie Normy PN – C 04624/01-1976; Rozporządzenie MZiOS z dn. 3.05.1990 r. w sprawie warunków jakim powinna odpowiadać woda do picia i na potrzeby gospodarcze oraz rozporządzenie z dn. 8.07.1997 r. w sprawie warunków sanitarnych przy produkcji w obrotie naturalnych wód mineralnych, mineralnych wód mieszanych, naturalnych wód źródłanych oraz wód stołowych.
19. *Rajca A.*: Selen a choroby nowotworowe, *Problemy*, 1992, 3, 25.
20. *Służewska L.*: Toksykologiczne i biologiczne właściwości selenu, *Roczn. PZH*, 1962, 13, 131.
21. *Sikorowska C.*: Selen w wodach wodociągowych w Polsce, *Roczn. PZH*, 1965, 16, 11.
22. *Smith A.M., Chan G.M., Moyer-Mileur L.J., Johnson C.E., Gardner B.R.*: Selenium status of preterm infants fed human milk, preterm formula, or selenium-supplemented preterm formula, *J. Pediatr.*, 1991, 119, 429–433.
23. *Umiński R.*: Selen w środowisku człowieka, *Roczn. PZH*, 1990, 41, 26.
24. *Williams W.J.*: Oznaczanie anionów, PWN, Warszawa, 1985.
25. *Woźniak J.*: Selen pierwiastek życia, *Wiadomości Zielarskie*, 1997, 10, 14.
26. *Zachara B.A., Wardak C., Didkowski W., Maciąg A., Marchaluk E.*: Changes in blood selenium and glutathione peroxidase activity in human pregnancy, *Gynecol. Obstet. Invest*, 1993, 35, 12–17.

Otrzymano: 1998.12.30