



УДК 543.544.253

Применение ионного обмена для разделения различных форм селена в анализе водных экстрактов растений и БАД

Скворцова Л.Н., Заика Я.Г., Кармушакова Г.Н.

Томский государственный университет, Томск

Захарова Э.А.

Томский политехнический университет, Томск

Поступила в редакцию 20.11.2010 г.

Аннотация

Изучены процессы элюирования органической формы селена (селенометионин) из колонки с КУ-2-8, H^+ -форма раствором NH_4OH , неорганической формы селена (селенит-ион) из колонки с АВ-17-8, CH_3COO^- -форма растворами HCl , HNO_3 , $HClO_4$, $NaCl$ различной концентрации и выбраны эффективные элюенты. Разработанные методики ионообменного разделения органического и неорганического селена опробованы при анализе водных экстрактов растений и биологически активных добавок методами инверсионной вольтамперометрии и кинетическим.

Ключевые слова: селен, ионообменное разделение, экстракты растений, пищевые добавки.

Retention processes of the organic forms of selenium on ion-exchanger resins were investigated. Met-Se (Seleno Methionin) was extracted on cation-exchanger KU-2-8 (H^+ -form) and washed with NH_4OH solution. Inorganic form of selenium (selenite-ion) was extracted on anion-exchanger AV-17-8, (Acetate-form). It was showed that HCl , HNO_3 , $HClO_4$, $NaCl$ solutions in different concentration are effective eluents. Procedures of the ion-exchange separation of organic and inorganic selenium for the subsequent determination by physical chemistry methods were developed. Procedures were tested in the analysis of aqueous extracts of plants and biologically active additives by the methods of inversion voltammetry and kinetic methods.

Key words: selenium, ion-exchange, plant extractions, nutrition additives

Введение

Селен относится к биогенным элементам. В объектах био- и экомониторинга выявлено более 10 биологически активных Se-органических соединений [1]. Причем, в растениях преобладает селенометионин (SeMet), в живых организмах – селеноцистеин (SeCys). Низкое содержание этого элемента в природных объектах не позволяет обеспечить физиологически оптимальные для жизни человека нормы потребления 50–200 мкг/сутки [2]. В этой связи актуален поиск природного

материала, обогащенного органическими соединениями селена, для создания на их основе лекарственных средств и пищевых добавок. Токсичные свойства селена проявляются при весьма низких концентрациях, поэтому для контроля его содержания могут быть использованы только высокочувствительные методы анализа. Этому условию удовлетворяют комбинированные методы, в которых селективные методы разделения и концентрирования удачно сочетаются с современными инструментальными методами измерения.

Теоретическая часть

Ранее [3] нами была предложена методика ионообменного разделения и определения органических и неорганических форм селена в экстрактах растений методом инверсионной вольтамперометрии (ИВ). В основу разделения положено влияние рН раствора на эффективный заряд неорганических и некоторых органических (селенометионин, селеноцистеин) форм селена [4]. В кислой среде (рН 2–4) анионные формы Se (IV), Se (VI) отделяли от катионных органических форм элемента на анионите АВ-17-8, CH_3COO^- -форма, а органические формы селена отделяли от его неорганических форм – на катионите КУ-2-8, H^+ -форма. То есть для прямого определения отдельных форм элемента использовали две ионообменные колонки. С целью упрощения методики анализа следовало изучить возможность ионообменного разделения и прямого определения различных форм селена на одной колонке.

Определение селена методами ИВ, спектрофотометрии и многими другими требует его перевода в раствор после ионообменного поглощения. Десорбцию Se (IV) из анионитов различной природы проводили растворами HCl различной концентрации [1,5], 3 М NaCl [1], растворами HNO_3 [6]. В работе [7] для элюирования аминокислотных форм селена из фазы амфолита Chelex, Cu^{2+} -форма использовали 1,5 М раствор NH_4OH .

Экспериментальная часть

В качестве неорганической формы использовали селенит натрия, органической формы – селенометионин. Для элюирования Se (IV) из фазы анионообменника АВ-17-8, CH_3COO^- -форма исследовали растворы HCl (1–4 М), NaCl (3–4 М), HClO_4 (0,1–1 М), HNO_3 (0,5–1 М). Для десорбции аминокислотной формы селена из катионообменника КУ-2-8, H^+ -форма испытывали раствор NH_4OH (1,5–3 М). Интерес к раствору HClO_4 обусловлен тем, что он часто используется в качестве фонового электролита при определении Se (IV) методом ИВ.

Сорбцию селена осуществляли в динамических условиях. Необходимое значение рН (3–5) создавали раствором 6 М HCl. Для этого через колонку (3x0,5) см, заполненную анионитом АВ-17-8, CH_3COO^- -форма со скоростью 1 мл/мин пропускали 25 мл раствора Se (IV) с концентрацией элемента 0,06 мг/мл и рН 3–5. Аналогично на колонке с катионитом КУ-2-8 (H^+ -форма) сорбировали органическую форму селена, пропуская 25 мл раствора SeMet с концентрацией 0,125 мг/мл и рН=2. Колонки промывали небольшим объемом (5 мл) дистиллированной воды. Затем из колонки десорбировали соответствующую форму селена раствором элюента, пропуская его со скоростью 1 мл/мин. Элюат собирали порциями по (1–5) мл и определяли в каждой порции содержание селена на вольтамперометрическом

комплексе СТА-1 с использованием ртутно-графитового электрода в дифференциально-импульсном режиме при катодной развертке потенциала. При анализе элюата после КУ-2-8, H^+ -форма методом ИВ применяли методику [8] с окислением SeMet до Se (VI) с кислотной минерализацией пробы и восстановлением Se (VI) до электроактивного Se (IV). По результатам определения строили кривые элюирования.

Методику ионообменного разделения и последующего определения неорганического и органического селена с использованием одной колонки с КУ-2-8, H^+ -форма обрабатывали на модельном растворе, содержащем 0,381 мг Se (IV) и 0,980 мг SeMet. Для этого 10 мл модельной смеси с pH 2 пропускали через колонку с катионообменником, колонку промывали дистиллированной водой и анализировали объединенные фильтрат и промывную воду на содержание Se (IV). Затем из колонки вымывали SeMet раствором 3 М NH_4OH . В элюате после минерализации определяли количество Se (IV) методом ИВ. Через колонку с АВ-17-8, CH_3COO^- -форма пропускали 10 мл модельного раствора с pH 3–5. Фильтрат и промывную воду после минерализации анализировали на содержание селена (SeMet), Se (IV) элюировали из колонки 1 М HNO_3 и определяли методом ИВ. Результаты разделения исследуемых форм селена приведены в табл. 1.

При анализе водных экстрактов растений и БАД на содержание неорганических и органических форм селена использовали методику [3]: навеску (2,000 г) сухой гомогенизированной смеси травы или растертых в агатовой ступке таблеток БАД заливали 20 мл воды, вводили 6 М HCl до pH 2–4 и настаивали в течение 12–14 ч при комнатной температуре. Затем пробу центрифугировали в течение 10 мин со скоростью 3000 об/с. Из экстракта над осадком отбирали аликвотную часть (10 мл), создавали необходимое значение pH, добавляя HCl или $NaOH$, и проводили ионообменное разделение на одной из колонок по описанной выше методике. Другую аликвотную часть (5 мл) подвергали кислотной минерализации и анализу на общее содержание селена.

Определение селена в реальных объектах проводили методом катодной ИВ [3] и кинетическим методом по методике [9]. Кинетический метод основан на способности SeO_3^{2-} -иона ускорять реакцию восстановления NO_3^- комплексоном железа (II) при pH 1,5–4.

Обсуждение результатов

На рисунке (а) представлены кривые элюирования Se (IV) из анионообменника АВ-17-8, CH_3COO^- -форма. Практически не происходит десорбция Se (IV) растворами HCl и $NaCl$ различной концентрации. Согласно [10], при высокой концентрации Cl^- -ионов Se (IV) существует в форме отрицательно заряженных хлоридных комплексов $SeCl_n^{(4-n)}$ и, по-видимому, удерживается активными группами анионообменника.

Хорошая элюирующая способность растворов HNO_3 может быть обусловлена протонированием SeO_3^{2-} -иона до селенистой кислоты, легко вытесняемой NO_3^- -ионами. Причем увеличение концентрации HNO_3 от 0,5 М до 1,0 М существенно повышает эффективность процесса элюирования. Поскольку раствор 1,0 М HNO_3 удовлетворил практическим задачам, большие концентрации элюента не исследовали. Аналогичный вид имеют кривые элюирования SeMet растворами NH_4OH из катионообменника КУ-2-8, H^+ -форма (рис., б). Более эффективным

является раствор 3 М NH_4OH , позволяющий количественно десорбировать органический селен 10-ю мл раствора элюента.

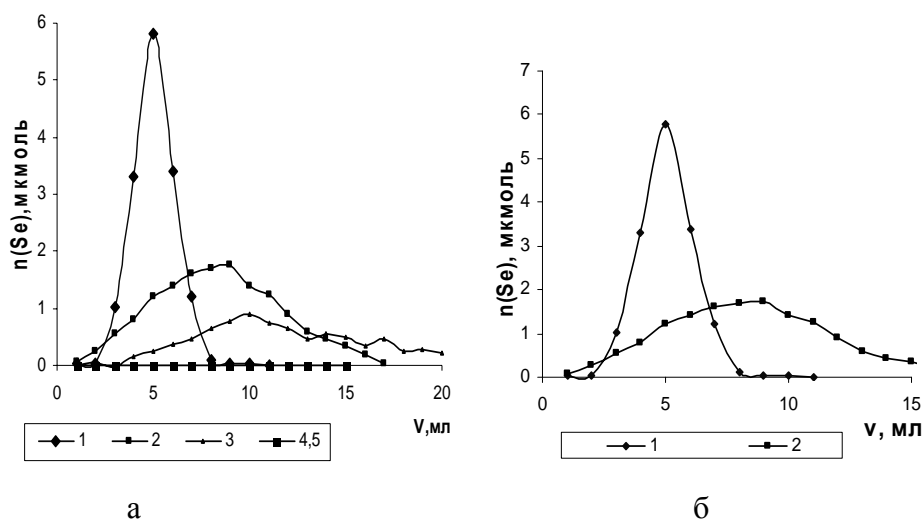


Рис. Кривые элюирования Se (IV) из анионита АВ-17-8, CH_3COO^- -форма (а) растворами: 1 – 1 М HNO_3 , 2 – 0,5 М HNO_3 , 3 – (3–4) М NaCl , 4 – (1–4) М HCl , 5 – (0,1–1) М HClO_4 ; SeMet из катионита КУ-2-8, H^+ -форма (б) раствором: 1 – 3 М NH_4OH , 2 – 1,5 М NH_4OH

Результаты ионообменного разделения неорганического и органического селена в модельном растворе на одной колонке и последующего определения одной формы элемента в фильтрате, а другой формы – после десорбции в элюате, представлены в табл. 1. Данные эксперимента в пределах погрешности согласуются с количеством введенной формы селена, что может быть свидетельством правильности методики разделения.

Таблица 1. Результаты ионообменного разделения неорганических и органических форм селена ($n=3$; $p=0,95$)

Форма селена	Введено, мг	КУ-2-8, H^+ -форма		АВ-17-8, CH_3COO^- -форма	
		найдено в фильтрате	в элюате (3 М NH_4OH)	найдено в фильтрате	в элюате (1 М HNO_3)
Se (IV)	0,381	$0,394 \pm 0,017$	не найдено	не найдено	$0,362 \pm 0,022$
SeMet	0,980	не найдено	$0,966 \pm 0,019$	$0,997 \pm 0,023$	не найдено

Разработанные в настоящей работе методики разделения неорганического и органического селена были опробованы в анализе водных экстрактов растений и БАД. Растения (овёс, зелёный лук, донник лекарственный) обогащали селеном, поливая почву раствором селенита натрия из расчета 4 мг/м^2 . Известно [11], что в растениях неорганические формы селена могут переходить в биологически активные органические соединения (аминокислотные, селенсодержащие белки и др.). Учитывая, что в водных экстрактах растений содержатся преимущественно органические формы селена, разделение проводили на колонке с анионообменником АВ-17-8, CH_3COO^- -форма (рН 3–5). Таким образом, в фильтрате после

соответствующей пробоподготовки определяли $Se_{орг}$, а $Se_{неорг}$ элюировали 1,0 М HNO_3 . Также в водной вытяжке определяли общее содержание селена.

Таблица 2. Результаты определения (мг/кг) различных форм селена в водных экстрактах растений методом ИВ (n=3; p=0,95)

Формы Se	Объект анализа		
	овёс	перья зелёного лука	донник лекарственный
$Se_{общ}$	$7,9 \pm 1,2$	20 ± 3	$1,9 \pm 0,4$
$Se_{орг}$	$5,3 \pm 0,8$	$15,8 \pm 2,3$	$1,4 \pm 0,4$
$Se_{неорг}$	$2,8 \pm 0,3$	$3,2 \pm 0,5$	$0,4 \pm 0,1$

Результаты определения (табл. 2) свидетельствуют о том, что большая часть (60–80%) общего селена в экстрактах исследуемых растений представлена органическими формами. Это согласуется с данными [12,13], полученными для других растений (кукуруза – 8,1, соя – 11,9, рис – 4,0 мг/кг) методами ВЭЖХ и МС. Сумма органического и неорганического селена в пределах погрешности совпадает с общим содержанием элемента.

Таблица 3. Результаты анализа БАД на содержание различных форм селена с использованием ионообменного разделения (n=3; p=0,95)

Объект анализа (БАД)	Форма селена (заявленная)	Содержание селена, мкг/табл. (заявл.)	Определено селена, мкг/табл.		
			после минерализ. ($Se_{общ}$)	после ионного обмена	
				кинетическим методом	методом ИВ
ТРИ-ВИ-ПЛЮС	Se-аминокислотн	40	44 ± 5	42 ± 3	39 ± 4
Селена-Вэл	Se-дрожжи	11	$9,5 \pm 1,9$	$10,1 \pm 1,6$	$9,8 \pm 1,8$

В табл. 3 представлены результаты анализа БАД на содержание различных органических форм селена после их выделения на колонке с КУ-2-8, H^+ -форма. Селен аминокислотный и селенсодержащие дрожжи элюировали 3 М NH_4OH и после кислотной минерализации элюата определяли Se (IV) кинетическим и ИВ методами. Пищевые добавки содержат органические формы селена, которые количественно поглощаются на колонке. Это позволяет отделять определяемую форму элемента от матрицы, часто мешающей определению микроэлемента. Показано, что содержание селена, определённое в водном экстракте после минерализации и после ионообменного выделения, близко к указанному производителем. Сопоставление результатов анализа БАД двумя независимыми методами указывает на отсутствие систематической погрешности и является доказательством правильности разработанных методик.

Заключение

Для прямого определения органического и неорганического селена после ионообменного разделения на одной колонке с КУ-2-8, H^+ -форма или АВ-17-8,

CH₃COO⁻-форма предложено проводить элюирование поглощенной формы элемента. Установлено, что количественная десорбция аминокислотных форм селена из колонки с КУ-2-8, H⁺-форма достигается 3 М NH₄OH, а неорганических форм селена – из колонки с АВ-17-8, CH₃COO⁻-форма раствором 1 М HNO₃. Методики ионообменного разделения разработаны на модельных растворах и опробованы при анализе водных экстрактов растений (овёс, перья зелёного лука, донник лекарственный), БАД («Селена-Вэл», «Три-Ви-Плюс»). Предел обнаружения селена составляет 5 мкг/л, S_R ≤ 0,25.

Выражаем благодарность научному сотруднику ООО «ТомьАналит» Антоновой С.Г. за анализ водных экстрактов растений (овёс, перья зелёного лука) методом катодной дифференциально-импульсной ИВ.

Список литературы

1. Lobinski R., Edmonds J.S., Suzuki K.T., Uden P.C. Species-selective determination of selenium compounds in biological materials // Pure Appl. Chem. -- 2000. - V. 72. - № 3. - P. 447- 461.
2. Тутельян В.А., Княжев В.А., Хотимченко С.А. и др. Селен в организме человека. Метаболизм. Антиоксидантные свойства, роль в канцерогенезе. -М.:Издательство РАМН, 2002. - 219 с.
3. Дерябина В.И., Скворцова Л.Н., Захарова Э.А., Слепченко Г.Б. Вольтамперометрический контроль содержания селена и его форм в растениях и пищевых добавках с использованием экстракции и ионного обмена // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. - 2006. - Т.72. -№11. - С. 7-10.
4. Gilon N., Potin-Gautier M. Capillary electrophoresis applied to the determination of some seleno compounds // J. of Chromatography A, 732. - 1996. - P. 369-376.
5. Мархол М. Ионообменники в аналитической химии. В двух частях. –Ч.2. - М.: Химия, 1989. - 280 с.
6. D' Ulivo A. Determination of selenium and tellurium in environmental samples //Analyst. - 1997. - V. 122. - P. 117-144.
7. Pyrzynska K. Solid-Phase extraction of trace amounts of selenomethionine // Analytical Letters. - 1998. - V. 31. - № 10. - P. 1777-1786.
8. Филичкина О.Г., Захарова Э.А., Слепченко Г.Б. Определение селена в пищевых продуктах методом катодной инверсионной вольтамперометрии на ртутно-графитовом электроде // Журн. аналит. химии. - 2004. - Т.59. - С. 541-546.
9. Ключковский С.П., Неймышева Л.П. Кинетический метод определения селена // Журн. аналит. химии. - 1974. - Т.29. - С. 929-932.
10. Назаренко И.И., Ермаков А.Н. Аналитическая химия селена и теллура. -М.: Наука, 1971. - 251 с.
11. Shah M., Kannamkumarath S.S., Wuilloud J.C.A. et al. Identification and characterization of selenium species in enriched green onion (allium fistulosum) by HPLC-ICP-MS and ESI-ITMS // J. Anal. At. Spectrom. - 2004.- V.9. - P. 381-386.
12. Montes-Bayon M., Yanes E.G., Ponce de Leon C. et al. Initial Studies of selenium speciation in brassica juncea by LC with ICPMS and ES-MS detection: an approach for phytoremediation studies. // Anal. Chem. - 2002.- V.74. - P.107-113.
13. Arpadjan S., Vuchkova L., Kostadinova E. Sorption of arsenic, bismuth, mercury, antimony selenium and tin on dithiocarbamate loaded polyurethane foam as a preconcentration method for their determination in water samples by simultaneous

inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and electrothermal atomic absorption spectrometry. // *Analyst.* - 1997. - V.122, - № 3. - P. 243 - 246.

Скворцова Лидия Николаевна – к.х.н., доцент кафедры аналитической химии Томского государственного университета, Томск, тел.: (3822) 42-87-52

Захарова Эльза Арминовна – ст.н.с., НИЛ Микропримесей Томского политехнического университета Томск, тел.: (3822) 563722

Зайка Яна Геннадьевна - аспирант кафедры аналитической химии Томского государственного университета, Томск, тел.: (3822) 242460

Кармушакова Гульмира Нурисламовна - студент кафедры аналитической химии Томского государственного университета, Томск

Skvortsova Lidia N. – Candidate of chemistry science, assistant professor of the chair of analytical chemistry of Tomsk State University, Tomsk, e- mail:dk@xf.tsu.ru

Zakharova Elza A. – senior researcher Laboratory of Microimpurities Tomsk Polytechnic University, Tomsk

Zajika Yana G. – graduate student of the chair of analytical chemistry of Tomsk State University, Tomsk

Karmushakova Gulnara N. - student of the chair of analytical chemistry of Tomsk State University, Tomsk