

Talaj- és növény minta arzéntartalmának meghatározására irányuló minta-előkészítési módszerek összehasonlító vizsgálata

¹Várallyay Szilvia–²Szilva Diána–¹Soós Áron–¹Kovács Béla

Debreceni Egyetem

¹Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Élelmiszertudományi Intézet, Debrecen

²Természettudományi Kar, Kémia Intézet, Debrecen

varallyay.szilvia@agr.unideb.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

Az arzénal szennyezett terület, valamint az ilyen jellegű szennyezéssel bíró kútvízzel történő öntözés a világ több részére kiterjedő globális problémát jelent. Magyarország területén e tekintetben elsősorban az Alföld területe érintett. Az arzénal szennyezett kútvízzel történő öntözés, illetve az szennyezett talajon történő növénytermesztés hatására az arzén bekerülhet a táplálékláncba, mely potenciális élelmiszerbiztonsági problémát jelent. Ennek elkerülése érdekében kiemelkedő jelentőségű a talajok, illetve a szennyezett talajon termő növények arzéntartalmának folyamatos monitorozása. Az induktív csatolású plazma tömegspektrométer (ICP-MS) potenciálisan kínál viszonylag gyors, egyszerű módszert a különböző ásványi alkotók mennyiségi vizsgálatára mind talaj, mind növényi minta esetén. Az elem analitikai célú módszer mérést általában előkészítő műveletek előzik meg, melyek megkezdése előtt kiemelt figyelmet kell fordítani a vizsgálni kívánt elemre, elemekre vonatkozó optimális minta-előkészítési módszer megválasztására, hiszen a nem megfelelő módszer használata esetén megváltozhat a vizsgálandó minta elemösszetétele. Ennek köszönhetően a mérési eredmény pontossága kifogásolható. Az előzőekben leírtakból adódóan kutatómunkánk a különböző minta-előkészítési módokat összehasonlítva, növényi- és talajminták arzéntartalmának meghatározásához optimális minta-előkészítési módszer megállapítására irányult. A munkánk során vizsgált minta-előkészítési módszerek a hamvasztás, a nyílt rendszerben atmoszférikus nyomáson, valamint zárt térben mikrohullámú energiaközléssel végzett nedves roncsolás volt.

Kulcsszavak: növény, talaj, arzén, minta-előkészítés, ICP-MS

SUMMARY

Arsenic contamination of the fields and groundwater is a global problem. Alföld is the most affected area in Hungary. Irrigation with arsenic contaminated water, and crop production on the contaminated soil can cause a food safety problem, because arsenic is easy taken up by the cell of the plant roots. To prevent this, very important to monitoring the arsenic content of soils and plants. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) is a fast, easy method to determined the concentration of minerals in the case of plant and soil samples. The analytical methods can give reliable, results if the analytical process, including the sample preparation method, is the best. The objective of this study was to compare 3 type of sample preparation method which was dry ashing, wet digestion in open system, and microwave digestion. As a result of our experiement shows the microwave digestion is the appropriate method to determined the arsenic content of soil samples. In the case of plant samples we can use wet digestion in open system or microwave digestion as a samle preparation method.

Keywords: plants, soil, arsenic, sample preparation, ICP-MS

BEVEZETÉS

Az arzén egyike azon környezeti szennyező elemeknek, melyek a világ valamennyi részére kiterjedő globális problémát jelentenek (Nrashant et al. 2007). Magyarország területén e tekintetben elsősorban az Alföld területe érintett, ahol a felszín alatti vízkészlet egyik legjelentősebb problémáját az arzén jelenti. E területre nemcsak a vízkészlet, de a talaj emelkedett arzéntartalma is jellemző. Az arzénszennyezettségnek kitett alföldi területen termesztett haszonnövények számára, az előzőekben említettekből adódóan felvehetővé válik az arzén (Galambos 2006), amely ezáltal az élelmiszerláncba bekerülve egy kiemelkedő jelentőségű élelmiszerbiztonsági probléma kialakulásához vezethet. Ennek elkerülése érdekében a talajok, illetve a szennyezett talajon termő növények arzéntartalmának folyamatos monitorozása kiemelkedő jelentőségű.

Az induktív csatolású plazma tömegspektrométer (ICP-MS) potenciálisan kínál viszonylag gyors, egyszerű módszert a különböző ásványi alkotók mennyiségi vizsgálatára mind talaj, mind növényi minta esetén. A különböző analitikai módszerek csak akkor adnak meg-

bízható, reprodukálható eredményeket, ha az analitikai folyamatok, mégpedig a mintavétel, a minta-előkészítés, az analitikai jel generálása, valamint a detektálás és adatfeldolgozás egyenként és összességükben a lehető legjobban működnek. Ezeknek a helyes vagy helytelen kivitelezése eldöntheti az egész elemzés sorsát (Záray 2006). A növényi- és talajminták ásványi alkotóinak vizsgálata nem végezhető el közvetlenül a minták eredeti formájában. Előkészítő műveletekkel megfelelő állapotba kell hozni ahhoz, hogy különböző analitikai eljárásokkal meghatározható legyen. Éppen ezért kiemelkedő jelentőségű a konkrét feladathoz kapcsolódó minta-előkészítési módszer meghatározása.

Az elem analitikai vizsgálatok során a minta-előkészítés az esetek túlnyomó többségében azt jelenti, hogy a szerves anyag teljes mennyiségét eltávolítjuk a mintából, a visszamaradó szervesetlen vegyületeket pedig vízben vagy savban oldható formára hozzuk. Az ásványi anyagok adott mintában található mennyiségének meghatározásához rendszerint szükség van a szerves molekulák elroncsolására, az ún. mineralizálásra, mely többféle módon történhet (Master és Sturgeon 2003). Az egyes ásványi alkotók mennyiségének meghatáro-

zása során lehetséges minta-előkészítési módszer a hamvasztás, nedves roncsolás nyílt rendszerben atmoszférikus nyomáson, valamint a nedves roncsolás zárt térben (teflon bombában), mikrohullámú energiaközléssel.

Hamvasztás során a minta szerves anyag tartalma oxigén jelenlétében 450–550 °C-on elégetésre kerül, mely során a szerves vegyületek széntartalma széndioxiddá, hidrogéntartalma pedig vízzé ég el. A visszamaradó szervesetlen hamu – mely főként oxidok, szulfátok, szilikátok, illetve foszfátok formájában tartalmazza az ásványi anyagokat – vízben vagy savban feloldásra kerül. A „nedvesítésre” segédanyagként első sorban salétromsav, illetve kénsav használata terjedt el (Galbács et al. 2008). A módszer előnye, hogy a hőfok beállításán túl a minta előkészítése nem kíván állandó felügyeletet. További előny az egyidejű, nagyszámú (20–25 db) minta előkészítése a minta tömegétől és a porcelán téglék méretétől függően, illetve, hogy a szerves anyag teljes mennyisége eltávozik a mintából (Net1). Hátránya, hogy az illékony elemek jelentős része vagy teljes mennyisége eltávozik a mintákból. A hamvasztás ezen elemekre vonatkozóan jelentős negatív hibával jár (Borszéki 2006).

A roncsolási eljárások egyik leggyakoribb módja a nyílt rendszerben atmoszférikus nyomáson történő nedves roncsolás, mely során a mintát oxidáló hatású savakkal vagy savelegekkel együtt főzik. Jellemző hőmérséklet: 120–220 °C. A nedves roncsolás során a hamvasztáshoz hasonlóan a szerves anyagok az erős oxidáló savak hatására széndioxiddá és vízzé alakulnak át (Mester és Sturgeon 2003). A módszer előnye, hogy az elektromos blokkroncsoló készülék beszerzési ára alacsonyabb, mint a hamvasztó kemence vagy a mikrohullámú roncsoló berendezése (Net1). Hátránya, hogy a minta-előkészítés állandó, folyamatos figyelmet igényel. A maró hatású savgőzök miatt számos munkavédelmi előírás betartása szükséges. A roncsoláshoz használt vegyszerek maguk is szennyezettek lehetnek bizonyos nyomelemekkel. Ezeket nagyobb mennyiségben a mintához adagolva jelentősen elszennyezhetik a mintát. Az eredetinel akár nagyságrenddel nagyobb koncentrációban kerülhetnek bizonyos elemek a mintához, mely miatt a nedves roncsolásnál pozitív hiba keletkezhet. Nyitott rendszerben történő roncsolás végrehajtásakor részben elveszhetnek az illékony elemek, mely negatív hibát okoz (Kira és Maihara 2007).

A minták roncsolásának zárt edényzetben, emelt nyomáson (maximum 130 bar) és hőmérsékleten (300 °C), savelegekkel való végrehajtására hatékony megoldás a mikrohullámú berendezések használata. A mikrohullámú feltároló berendezések valójában fejlett biztonsági megoldással rendelkező többpozíciós, nagynyomású, automatikus reaktorok, melyekben a hőközlés mikrohullámú tér segítségével történik (Mester és Sturgeon 2003). Ezen módszer előnye, hogy a minta-előkészítési eljárás nem kíván állandó felügyeletet. A zárt rendszer esetén a mérgező gázok, gőzök szabadba távozásával csak esetlegesen (a szelep „lefújásakor”) kell számolni. Ez ma a legmodernebbnek számító minta-előkészítés, időtartama mindössze 20–25 perc. Ötvözi az eddig leírt minta-előkészítési eljárások előnyeit. Hátránya, hogy a mikrohullámú roncsoló készülék beszerzési ára jóval magasabb, mint a korábban említett eljárásoknál alkalmazott készülékeké (Net1).

ANYAG ÉS MÓDSZER

Kutatómunkánk célja az előzőekben leírtakból adódóan a különböző minta-előkészítési eljárásokat összehasonlítva, arzéntartalom méréséhez az optimális minta-előkészítési módszer meghatározása volt abban az esetben, ha az analizálandó minta talaj, illetve növény.

Munkánk során a különböző minta-előkészítési eljárásokat, illetve az elemanalitikai vizsgálatokat a Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar Élelmiszertudományi Intézetében végeztük el.

Talaj- és növényminták

Talajminták

A munkánk során vizsgált minta-előkészítési módszerek a hamvasztás, a nyílt rendszerben atmoszférikus nyomáson, valamint zárt térben mikrohullámú energiaközléssel végzett nedves roncsolás volt. A Pallagi Kísérleti Telepről származó talaj homokos talajok közé, a Látóképi Kísérleti Telepről származó talaj a mészlepedékes csernozjom típusú talajok közé tartozik. Az egyes talajtípusok esetén három féle mintát állítottunk elő: kontroll, As(III)-mal, illetve As(V)-tel szennyezett minta, melyek arzén tartalmát laboratóriumi körülmények között 10 mg/kg koncentrációval növeltük. A talajmintákat 65 °C-on tömegállandóságig szárítottuk Memmert típusú szárítószekrényben, majd a homogenizálást követően három féle minta-előkészítési módszernek vetettük alá.

Növényminták

A növényminták arzéntartalmának meghatározására irányuló mintaelőkészítési eljárások összehasonlításához, szintén laboratóriumi körülmények között állítottuk elő a mintákat. Étkezési célra szánt barna babot egy éjszakán át 5 mg/kg As(III), illetve 5 mg/kg As(V) tartalmú oldatban áztattuk, a kontroll kezelés esetén desztillált vizet használtunk. A megduzzadt babszemeket szárítószekrényben 65 °C-on tömegállandóságig szárítottuk, majd homogenizáltuk. Ezt követően három féle mintaelőkészítési módszernek vetettük alá.

Alkalmazott minta-előkészítési módszerek

Hamvasztás

A talajminták vizsgálata során a hamvasztás első lépéseként tiszta, száraz porcelán izzítótégelyekbe 2 g mintát mértünk be. Ezt követően a mintákat Controller B170 (Nabertherm) típusú hamvasztó kemencébe helyezve, 2 óra felfűtést követően 6 órán keresztül 450 °C-on hamvasztottuk. A hamvasztási maradékot 10 ml 25 v/v%-os HNO₃ feloldottuk majd steril centrifugacsőbe töltve desztillált vízzel 25 ml-re egészítettük ki. Növényi minták esetén az előkészítési eljárás megegyezik a talajminták esetén ismertettekkel, azzal a kivétellel, hogy a mintákból 1 g került bemérésre.

Nedves roncsolás nyílt rendszerben atmoszférikus nyomáson

A 25×420 mm-es, 50 ml-re és 100 ml-re kalibrált, hőálló roncsoló csövekbe 1 g talajmintát mértünk be. A bemért mintákhoz 5 ml cc. HNO₃-at (65 m/m %, Scharlau

Chemie) adtunk majd egy éjszakát állni hagytuk. Másnap a roncsoló csöveket LABOR MIN OE-718/A típusú elektromos blokkroncsoló készülék fűtőegységébe helyezve 30 percig zajlott az előroncsolás 60 °C-on. Ezt követően a főroncsolást 270 percig 120 °C-on végeztük 5 ml 30%-os H₂O₂-ot adva a mintákhoz. A le-roncsolt mintákat szobahőmérsékletre történő visszahűlést követően 50 ml-re egészítettük ki desztillált vízzel, majd Filtrak 388 típusú szűrőpapír segítségével szűrtük. A növényi minták esetén 0,1 g kellően homogénizált mintát mértünk be a roncsoló csövekbe, majd 1 ml HNO₃-ot adtunk a mintákhoz, másnap az előroncsolás 60 °C-on 30 percig tartott. A minták szobahőmérsékletre való lehűlését követően 0,3 ml H₂O₂-ot adtunk a mintákhoz és 120 °C-on 90 percig tovább roncsoltuk. A kapott mintaoldatokat 10 ml-re egészítettük ki desztillált vízzel.

Nedves roncsolás zárt térben (teflon bombában), mikrohullámú energiaközléssel

A talajminták mikrohullámú roncsolását Milestone Start D típusú mikrohullámú roncsoló készülékkel végeztük. A talajmintákból 0,5–0,5 g-ot mértünk be a teflon bombákba, melyhez 0,5 ml cc. HNO₃-ot (65 m/m %, Scharlau Chemie) és 2 ml H₂O₂-ot adtunk. A mintákat 10 perc felfűtést követően 10 percen keresztül 180 °C-on roncsoltuk. A roncsoldatokat centrifugacsőbe töltve 40 ml-re töltöttük desztillált vízzel. A növényi minták előkészítése során 0,5 g mintát mértünk be a teflon bombákba és 8 ml 65%-os HNO₃-ot adtunk hozzá. A roncsolási program során a készülék 10 perc felfűtést követően 10 percen keresztül 180 °C-on zajlott a roncsolás. A mintákat lehűlést követően 25 ml-re egészítettük ki desztillált vízzel.

Elemanalitikai vizsgálatok

Az elemanalitikai meghatározásokhoz Thermo Scientific X-Series 2 Quadrupole típusú induktív csatolású plazma-tömegspektrométert (ICP-MS) alkalmaztunk.

Statisztikai módszer

Az eredmények statisztikai kiértékelésére SPSS 22 statisztikai programot alkalmaztunk. A paraméterek és az egyes tényezők közötti összefüggés statisztikai vizsgálatához egytényezős varianciaanalízist és Duncan-

tesztet használtunk. 5%-os P-érték alatt tekintettük az eltéréseket szignifikánsnak.

EREDMÉNYEK

Minta-előkészítési módszerek összehasonlítása talajminta esetén

A talajminták esetén a különböző minta-előkészítési módszerek során mért arzén-koncentrációkat az 1. táblázat szemlélteti.

A vizsgálati eredmények alapján elmondható, hogy a hamvasztást követően mért arzéntartalom mind a kontroll, mind kezelt minták esetén szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a nyitott rendszerű roncsolás és a mikrohullámú roncsolás esetén mért értékek. Ebből adódóan a hamvasztás talajminták arzéntartalmának meghatározása céljából nem alkalmas, mint minta-előkészítési módszer.

Az atmoszférikus nyomáson nyitott rendszerben történő roncsolást és a mikrohullámú roncsolást összehasonlítva, a két módszer között szignifikáns eltérést tapasztaltunk. A nyitott rendszerű roncsolást követően végzett elemtartami vizsgálatok során kapott értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak, mint a mikrohullámú roncsolás során kapottak.

A kontroll minták vizsgálata esetén ettől eltérést tapasztaltunk. Ebben az esetben a nyitott rendszerű roncsolás és a mikrohullámú roncsolás során mért értékek között nem volt szignifikáns különbség tapasztalható.

Kontroll esetében mivel az sokkal kisebb koncentrációban tartalmazott arzént, nagyobb relatív szórású (RSD%) értékeket kaptunk, emiatt nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget nyitott rendszerű és mikrohullámú roncsolás között. Az arzén koncentráció emelkedésével már szignifikáns különbség volt tapasztalható az említett két minta-előkészítési módszer között. A mikrohullámú roncsolás esetén kapott értékek szignifikánsan nagyobbak voltak, mint a nyitott rendszerű roncsolás esetén kapottak, így talajminta arzéntartalmának meghatározása céljából minta-előkészítési módszerként a mikrohullámú roncsolás alkalmazható.

Minta-előkészítési módszerek összehasonlítása növényminta esetén

A növényminták esetén a minta-előkészítési módszerek során mért arzéntartalmat a 2. táblázat szemlélteti.

1. táblázat

A kezelt, valamint a kontroll látóképi és pallagi talajminták arzéntartalma különböző minta-előkészítési módszerek esetén (n=3±s.e.)

Minta-előkészítési módszer(1)	Az egyes talajminták esetén alkalmazott arzénkezelések(2)					
	Pallagi talaj(3)			Látóképi talaj(4)		
	0 mg/kg	10 mg/kg As(III)	10 mg/kg As(V)	0 mg/kg	10 mg/kg As(III)	10 mg/kg As(V)
Hamvasztás(5)	1,16±0,05 ^a	2,68±0,30 ^a	2,73±0,30 ^a	1,55±0,12 ^a	3,33±0,20 ^a	3,49±0,11 ^a
Nyílt rendszerű roncsolás(6)	4,09±0,69 ^b	11,03±1,02 ^b	12,23±0,87 ^b	9,10±0,48 ^b	14,2±0,44 ^b	14,33±0,93 ^b
Mikrohullámú roncsolás(7)	4,19±0,19 ^b	12,43±0,25 ^c	13,77±0,38 ^c	9,65±0,39 ^b	17,57±0,47 ^c	19,43±0,38 ^c

Megjegyzés: az azonos oszlopban azonos betűvel jelölt kezelések között nincs szignifikáns különbség (P≤ 0,05)

Table 1: Arsenic concentration of soils in the case of different arsenic treatment (n=3±s.e.)

Sample preparation method(1), Arsenic treatments in the case of different soil samples (2), Soil from Pallag (3) Soil from Látókép(4), Dry ashing(5), Wet digestion in open system(6), Microwave digestion(7), Note: means followed by the same letter within columns were not significantly different according to Duncan's multiple range test (P≤ 0.05)

Kezeletlen, 5 mg/kg As(III)-mal, valamint 5 mg/kg As(V)-tel kezelt babminta arzéntartalma különböző minta-előkészítési módszerek esetén (n=3±s.e.)

Alkalmazott arzénkezelés(1)	Vizsgált minta-előkészítési módszerek esetén mért arzéntartalom (mg/kg)(2)		
	Mikrohullámú roncsolás(3)	Nyílt rendszerű roncsolás(4)	Hamvasztás(5)
0 mg/kg (kontroll)(6)	< LOD*	< LOD*	< LOD*
5 mg/kg As(III)	6,70±0,70 ^a	6,49±0,73 ^a	5,04±0,13 ^b
5 mg/kg As(V)	2,69±0,11 ^a	2,49±0,15 ^a	1,94±0,19 ^b

Megjegyzés: *LOD – kimutatási határ. Az azonos sorban azonos betűvel jelölt kezelések között nincs szignifikáns különbség (P≤0,05).

Table 2: Arsenic concentration of bean samples which was treated with 0.5 mg kg⁻¹ As(III) and As(V) in the case of different sample preparation method (n=3±s.e.)

Arsenic treatments (mg kg⁻¹)(1), Arsenic concentration in the case of different sample preparation method(2), Microwave digestion(3) Wet digestion in open system(4), Dry ashing(5), Control(6), Note: *LOD – Limit Of Detection. Means followed by the same letter within lines were not significantly different according to Duncan's multiple range test (P≤0.05).

A vizsgálati eredmények alapján elmondható, hogy a kontroll babminta mindhárom vizsgált minta-előkészítési módszer esetén nem tartalmazott a kimutatási határt meghaladó koncentrációban arzént. Megállapítható továbbá, hogy az As(III)-mal és As(V)-tel kezelt minták esetén vizsgált minta-előkészítési módszereket követően végzett elemanalitikai vizsgálatok során kapott koncentráció értékek az As(III) és As(V) egymáshoz viszonyított visszamérhetőségét tekintve nem összehasonlíthatók, hiszen az e tekintetben tapasztalt eltérések adódhatnak a babszem eltérő As(V), illetve As(III) felvételéből. Ennek vizsgálata azonban nem volt célja a kutatásnak. A kísérleti eredmények alapján elmondható, hogy a hamvasztás esetén mért arzénkoncentráció szignifikánsan kisebb volt, mint a mikrohullámú roncsolás és a nyílt rendszerben atmoszférikus nyomáson végzett roncsolás esetén mért értékek. A mikrohullámú és nyílt rendszerű roncsolást követően mért értékek között szignifikáns különbség nem volt tapasztalható, így e két módszer alkalmas növényi minták arzéntartalmának meghatározása során minta-előkészítési módszerként való alkalmazásra.

Az elemanalitikai vizsgálatok megválasztása során, a megfelelő előkészítési műveletek meghatározásán túl figyelmet kell fordítani a vizsgálandó minták számára, hiszen kis mintaszám (kb. 10) esetén érdemes a mikrohullámú roncsolást alkalmazni, gyors valamint kevés vegyszert igényel. Nagyobb számú minta esetén a nyílt rendszerben, atmoszférikus nyomáson végzett minta-előkészítési módszer alkalmazása által gyorsítható az arzéntartalom meghatározás menete, ebben az esetben egyidejűleg 50 minta roncsolása végezhető.

KÖVETKEZTETÉSEK

A kísérleti eredmények alapján megállapítható, hogy hamvasztás mint minta-előkészítési módszer nem alkalmas talaj- és növényminta arzéntartalmának meghatározásakor. Összességében elmondható, hogy talajminta arzéntartalmának meghatározására irányuló elemanalitikai vizsgálatokhoz minta-előkészítési módszerként mikrohullámú roncsolás, növényminta esetén pedig atmoszférikus nyomáson történő nyílt rendszerű roncsolás és mikrohullámú roncsolás is alkalmas.

IRODALOM

- Borszéki J. (2006): Minta-előkészítés elemanalitikai vizsgálatokhoz. [In: Zárny Gy. (szerk.) Az elemanalitika korszerű módszerei.] Akadémiai Kiadó. Budapest. 113–136.
- Galambos I. (2006): Kútvizek huminsav- és arzénmentesítése. Doktori (PhD) értekezés. Corvinus Egyetem Élelmiszertudományi Kar Élelmiszeripari Műveletek és Gépek Tanszék. Budapest. 18–21.
- Galbács G.–Galbács Z.–Sipos P. (2008): Műszeres analitikai kémiai gyakorlatok. JATEPress. Szeged. 202.
- Kira, C. S.–Maihara, V. A. (2007): Determination of major and minor elements in dairy products through inductively coupled plasma optical emission spectrometry after wet partial digestion and neutron activation analysis. Food Chemistry. 100: 390–395.
- Master, Z.–Sturgeon, R. (2003): Sample preparation for trace element analysis. Elsevier. Amsterdam. 1339.
- Net1: Posta József: Atomabszorpciós spektrometria – Digitális Tankönyvtár. <http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tkt/atomabszorpcios/adatok.html>. letöltve: 2015. 09. 18.
- Nrshant, S.–Deepak, K.–Anand, P. S. (2007): Arsenic in the environment: Effects on human health and possible prevention. Journal of Environmental Biology. 28: 259–365.
- Zárny Gy. (2006): Az induktív csatolású atomemissziós spektrometria. [In: Zárny Gy. (szerk.) Az elemanalitika korszerű módszerei.] Akadémiai Kiadó. Budapest. 225–283.