

Szelén-speciációs vizsgálatok talajmintákból ionkromatográffal összekapcsolt induktív csatolású plazma-tömegspektrométer (IC-ICP-MS) alkalmazásával

Széles Éva – Kovács Béla – Prokisch József – Győri Zoltán

Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum,
Mezőgazdaságtudományi Kar,
Élelmiszertudományi és Minőségbiztosítási Tanszék, Debrecen
szeleseva@freemail.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

Mára a szelén egyike lett a leginkább tanulmányozott mikroelemeknek, mivel számos élettani folyamatban bizonyította fontos szerepét. Közvetlen vagy közvetett módon, de a szelénhiány számos betegség (pl. különféle rákos- és szívbetegségek, stb.) kialakulásában vagy kórképének súlyosbodásában játszhat szerepet. Jelen munkánkban szabadföldi kísérletből származó talajmintákban vizsgáltuk a kijuttatott különböző mennyiségű szelénit só átalakulását az évek alatt, valamint a lehetséges kimosódás veszélyét. Vizsgálataink során arra jutottunk, hogy a szelénit jó része szelenitá alakul az évek teltevel, és ilyen formában mozog a talajban a mélyebb rétegek felé.

Kulcsszavak: szelén, speciáció, IC-ICP-MS, talajvizsgálat

SUMMARY

In these days, selenium is one of the most investigated microelements. It has an important proven role in many vital processes. Selenium deficiency can play a role in the contraction of many diseases (e.g. cancer, heart diseases, etc.) and in the aggravation of their clinical aspect directly or indirectly. In this paper, we study the soil samples of an outdoor experiment for the conversion of the inorganic selenium salt that was spread out in different doses. The danger of the wash-out effect was also investigated. Our experiments showed, that most of the inorganic selenite transforms to selenate form during the years, and in this selenate form it moves to the deeper layers of soil.

Keywords: selenium, speciation, IC-ICP-MS, soil experiment

1. BEVEZETÉS

Mára a szelén egyike lett a leginkább tanulmányozott mikroelemeknek, mivel számos élettani folyamatban bizonyította fontos szerepét. Közvetlen vagy közvetett módon, de a szelénhiány számos betegség kialakulásában vagy kórképének súlyosbodásában játszhat szerepet, mint pl. felnőttkori cukorbetegség, szürkehályog, cisztás fibrózis, agyérkatasztrófa vagy vastagbél-fekélyesedés, különféle ráktípusok (prosztatárak, vastagbél- és végbélrák, tüdőrák, stb.), valamint szív- és érrendszeri betegségek (Navarro-Alarcón és López-Martinez, 2000).

A szelénnek azonban nem csak esszenciális tulajdonságai vannak. Ez az elem az élet normális működéséhez szükséges legszűkebb koncentráció

tartománnyal jellemezhető: az ajánlott napi bevitel (kb. 70-100 μg fő^{-1} nap^{-1}) 3-4-szeresét meghaladó fogyasztás esetén először gyengébb, majd később rendkívül erőteljes mérgezési tünetek jelennek meg. Akut mérgezés esetén a szervezetbe került szelén mennyiségétől függően, 5-10 mg testtömeg kg^{-1} -tól kezdődően, néhány órán belül beáll a halál (Olson, 1986). A szelén a kénnel analóg módon viselkedik, minden kéntartalmú molekulának létezik szelént hordozó, analóg vegyülete. Így a kén és a szelén egymással versengve szerepelhet egyes biokémiai reakciókban. A különböző szelén specieszek meghatározásának fontosságát az indokolja, hogy a szelén eltérő oxidációs állapotokban (formáiban), szervesetlen vagy szerves vegyületeiben különbözőképpen hat az élő szervezetekre. Illetve a különböző specieszeket, formákat eltérő mértékben képes felvenni és akkumulálni a növényi és állati szervezet.

A szelén minden módosulata hasznos lehet, pl. szelénhiányos táplálkozás esetén, hiszen létfontosságú enzimek alkotórésze. A kielégítő szelén szintet elérő mennyiségtől kezdődően viszont jelentős különbség mutatkozik az egyes szelén módosulatok között. A legfőbb eltéréseket a szelén rákellenes hatásával kapcsolatban mutatták ki. A szervesetlen Se(IV) sót tartalmazó készítmények esetén a szelén módosulat felvételénél reaktív oxigéngyököt tartalmazó molekulák keletkezhetnek, melyek a szelénit a többi módosulathoz képest toxikusabbá teszik (Kobayashi et al., 2001). A szelén felvétele nem vált ki hasonló negatív hatásokat, azonban biológiai felvehetősége csupán 25%-os a Se(IV)-hez képest és egy része változatlan formában azonnal kiürül a szervezetből (Gómez et al., 1998; Kobayashi et al., 2001). Mindezek után látható, mennyire fontos, hogy ne csupán az összes szelén-tartalom meghatározása legyen a cél a vizsgálatainknál talaj-, növény-, vagy táplálékminőség elemzése esetén, hanem minőségi javulást végrehajtva az analitikában, a szelén egyes specieszeit is vizsgálnunk kell, és így tárhatjuk fel a különböző szelénformákat a talajban és az élő szervezetekben.

Mindezek mellett még tudni kell, hogy a szelén táplálkozástudományi vonatkozásaival azért nagyon fontos foglalkoznunk, mert Európa talajainak egy része (Anglia, Új-Zéland, Finnország és a Kárpát-medence) szelénben hiányos, vagyis az ezeken a területeken élő lakosság (így hazánk lakói is)

szelénben hiányos táplálkozást folytatnak, ami komoly egészségügyi kockázatot jelent (Reilly, 1998). Ezen helyzet javítása érdekében már több helyen bevezették a Se-tartalmú műtrágyázást, és világszerte megkezdtek különféle szeléntartalmú táplálék-kiegészítők forgalmazását, de valójában még mindig nem tudjuk, hogy pl. a műtrágyázás hatásaként a különféle növények hogyan képesek hasznosítani és továbbadni a számunkra nélkülözhetetlen szelént. Ugyanakkor a táplálék-kiegészítők többnyire csak szerves szelén sókat tartalmaznak, amelyek felvehetősége szintén kisebb, ugyanakkor a szervezetben kifejtett hatásuk is más és más lehet. Fontos vizsgálunk, hogy a szelén pótlása az állatok ill. az ember számára milyen formában történhet a talajra kijuttatott szelén-tartalmú szerves vagy szerves szelén vegyületek esetében. Mekkora mennyiségben szükséges adagolásuk, és a talajban, növényekben az adott szelén vegyületek milyen átalakulási folyamatokon mennek keresztül, milyen formákban kerülnek be az élő szervezetbe, s azokra milyen hatással vannak (Dernovics, 2003).

Hazánkban a Dr. Kádár Imre által vezetett szabadföldi kísérletben, különböző dózisban juttattak ki kísérleti parcellákra toxikus nehézfémeket, valamint szelént, szelenit (Se(IV), Na_2SeO_3), szervesen só formájában, és vizsgálták ezen elemeknek a szántóföldi növényekre, valamint a talajra gyakorolt hatását. A szabadföldi kísérlet helye az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézetének Nagyhorcsói Kísérleti telepén van. A talajtípus mészlepedékes csernozjom, talajképző kőzete 15-20 m vastagságú lösz.

A kísérletet 1991 tavaszán állították be. A növényi sorrend az első négy évben: kukorica-sárgarépa-burgonya-borsó volt. A kísérlet során azt tapasztalták, hogy az elemek felvételének sajátosságai, a dúsulásuk mértéke vagy nagyságrendje talajra/termőhelyre specifikus. Hasonló arányok adódtak ugyanis az 1991. évi kukorica, 1992. évi sárgarépa, 1993. évi burgonya és 1994. évi borsó levelében az egyes elemek, így a szelén viselkedését illetően is. A nagydózisú szelénkezelések minden növényre erősen fitotoxikus és depresszív hatással voltak, minden növény esetében lassabb kelést, növekedést és érést tapasztaltak, a lombzat minden esetben teljesen elsárgult és elpusztult a tenyészidőszak végére. A termésnövekedés és a lombpusztulás tehát általános volt. Alkalmazása tehát komoly anyagcserezavarokhoz vezethet a növényekben.

Összességében a 4 év vizsgálatai során megállapították, hogy a Se növekvő terhelése minden évben és minden növényenél pusztító hatásúnak bizonyult, valamint, hogy ezen elem mozgékonyasága és toxicitása a meszes csernozjom talajon nem csökkent az évek teltével, sőt, inkább talán fokozódott (Kádár, 1995). Majd később, 10 év elteltével a növényekre gyakorolt toxikus hatás csökkent. Mindezek alapján azt feltételezzük, hogy a szabadföldi kísérletben a szelenit idővel szelenáttá alakult és a talajban kimosódott, mélyebb rétegekbe

került, ezzel csökkent a toxikus hatása a felszínen a növényekre.

Jelen munka célja volt az adott szelén vegyületek időbeli átalakulásának nyomkövetése a talajmintákban, valamint a mélységi minták alapján a kimosódás lehetőségének vizsgálata.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Felhasznált anyagok, mintaelőkészítés

A talajminták a Dr. Kádár Imre féle szabadföldi kísérletekből származnak; 21 m²-es területű parcellákra juttatták ki a szelént, nátrium-szelenit (Se(IV), Na_2SeO_3) formájában. A kijuttatott dózisok Se estén; 30, 90, 270 és 810 kg/ha voltak. Parcellánként évente vettek mintát a szántott rétegből, 20-20 pontminta egyesítésével. Mélyfúrásokat 3-5 évente, 30 cm-enként, 3 méter mélységig végeztek. 0 kezelési szint, azaz kontroll a szelén esetén nem volt, így kontrollként a molibdénos kontrolltalajokat használtuk, mivel ezek a parcellák ezek legtávolabb a szelénrel kezelt területektől, ezzel kiküszöböltük az átmosódás vagy szélátfújás lehetőségét.

A talajminták előkészítése vizes extrakcióval történt, amihez ioncserélt vizet alkalmaztunk (18,2 MΩcm). Az eluensként használt puffer trisz és ftálsav (Spektrum 3D) oldata (1 liter oldatra 0,171 g trisz és 0,249 g ftálsav ioncserélt vízben oldva, szűrve). A standardok: 100 µg/l koncentrációjú szelenit, szelenát és szelenometionin keveréke. Szelenociszteint is alkalmaztunk, de a kromatogramokon ugyanolyan retenció időnél detektáltuk a szelenciszteint, mint a szelenometionint, így a továbbiakban csak szelenometionint alkalmaztunk standardként.

A vizsgálatokhoz a talajmintákból 0,5 g-nyi mennyiségek lettek bemérve műanyag kémcsövekbe, majd 5 ml ioncserélt vizet adtunk a mintákhoz (1:10 talaj-víz tömegarány), amelyeket aztán 10 percen át ultrahangos fürdőben tartottunk, majd 4 órán át állni hagytuk, időnkénti összerázással. A 4 óra elteltével újabb 5 percig ráztattuk ultrahangos fürdőben a mintákat, majd leszűrtük. A legnagyobb (810 kg/ha) dózisú kezelésnél szükséges volt egy tízszeres hígítás, mivel ebben az esetben a szelenit csúcs olyan nagynak adódott, hogy csak hígított mintákból volt mérhető.

2.2. Felhasznált készülékek, módszer

A méréseket egy IC-ICP-MS (Ionkromatográf-Induktív Csatlósú Plazma Tömegspektrométer) csatlósíron keresztül végeztük, IC-AN1 típusú anioncserélő oszlopon keresztül. Az alkalmazott ICP-MS egy Thermo Elemental X7 típusú, ütközési cellával rendelkező tömegspektrométer. A készülék vezérlőszoftvere: Plasmalab típusú, 2.3.0. 161 verziószámú szoftver. A mérési paramétereket az *l. táblázatban* tüntettük fel.

Az alkalmazott HPLC pumpa egy Merck Hitachi gyártmányú, L-6200A intelligens pumpa típusú készülék (alkalmazott áramlási sebesség: 1 ml/perc, nyomás: 30 bar).

1. táblázat

ICP-MS mérési paraméterek

Rf kicsatolt teljesítmény (W)(1)	1400
Plazmagáz áramlási sebesség (l min ⁻¹)(2)	14
Porlasztógáz áramlási sebesség (l min ⁻¹)(3)	0,8
Segédgáz áramlási sebesség (l min ⁻¹)(4)	0,95
Minta áramlási sebesség (ml min ⁻¹)(5)	1
Pole Bias(6)	- 10
Hexapole Bias(7)	- 5,9
Extraction(8)	- 171
Fókusz(9)	3
Ismétlésszám(10)	350
Analóg detektor(11)	2500
PC detektor(12)	3850

Table 1: Parameters of ICP-MS instrument

Rf power(1), Plasma gas flow rate(2), Nebuliser gas flow rate(3), Auxiliary gas flow rate(4), Sample flow rate(5), Pole Bias(6), Hexapole Bias(7), Extraction(8), Focus(9), Main runs(10), Analogue Detector(11), PC Detector(12)

A csatolást műanyag cső segítségével végeztük, ahol az oszlopról lejövő oldatot egy teflon csövön keresztül vezettük be az ICP-MS porlasztójába.

Az eredmények feldolgozása Windows NT Office Excel programjában történt. A kapott beütésszámokat grafikonon ábrázoltuk. A mérések során ismétlésszám-beütés adatsorokat kaptunk, amelyekben az ismétlésszámot elosztva az ismétlések idejével (3s) és megszorozva 60-al, az x tengely értékeit percben kaptuk (idő-beütésszám kromatogramok).

3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

A méréseket megelőzően standard anyagok kromatogramjait vettük fel, hogy a későbbiek során a mérési eredményekben kapott csúcsokat be tudjuk azonosítani.

A szerves szelén formák vizsgálata esetén vizsgáltuk a szeleno-metionin és a szeleno-cisztein kromatogramját is.

1. ábra: Szelén standardok mérése IC-ICP-MS készülékkel, 100 µg/l Se-Met+ 100 µg/l selenit + 100 µg/l selenát standard (Kimutatási határ: 0,01 – 0,05 – 0,1 ppb)

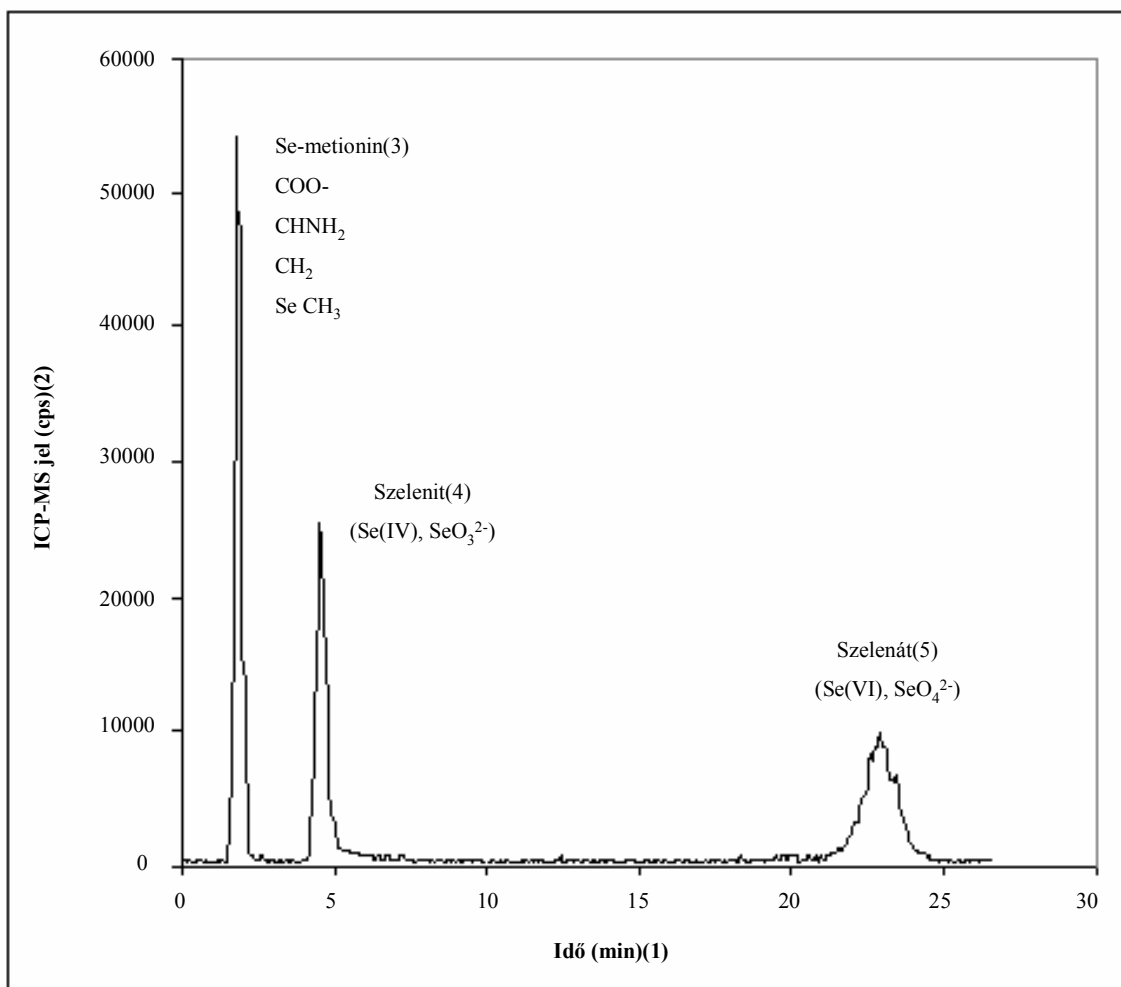


Figure 1: Analysis of selenium standards with IC-ICP-MS instrument; 100 µg/l Se-Met+ 100 µg/l + selenite 100 µg/l selenate standards Time (min)(1), ICP-MS signal (cps)(2), Seleno-metionin(3), Selenite(4), Selenate(5)

A tapasztalatok szerint ez utóbbi két vegyület teljesen megegyező retenciós idővel detektáltak, így a továbbiakban csak szelenometionint használtunk az azonosításhoz. A 3 perces retenciós idővel érkező csúcsok tehát a szerves szelénformákat jelölik. A későbbiekben a vizsgálatok finomításával tervezzük a szerves formák szétválasztását is.

Az 1. ábrán a méréseket megelőző standard anyagok (szelenometionin, szelenit, szelenát) esetén kapott kromatogram látható. Jól látható, hogy a szerves szelén csúcs 3 perc körül érkezik meg, a szelenit csúcsát 5 percnél kapjuk, a szelenát csúcsa pedig 20 és 25 perc között jelenik meg a

kromatogramon. Az ábrán feltüntettük az egyes szelénvegyületek ionformáinak kémiai képletét is.

A vizsgálatok során először az 1991-ből származó talajmintákat vizsgáltuk. A kijuttatott dózisok növekvő mennyisége jól nyomon követhető volt a mérési eredményekben is. A 2. ábra az 1991-ben vett talajminták vizsgálatánál kapott kromatogramokat szemlélteti. Jól látható az egyes dózisok növekedésével az egyes (szerves szelén, szelenit és szelenát) csúcsok növekedése is, valamint megfigyelhető, hogy már az első évben megjelennek a talajban a szelenit forma mellett a szelén szerves és szelenát formái is.

2. ábra: Az 1991-ben vett talajminták elemzésénél kapott szelénformák mennyiségeinek összehasonlítása (I: 1. ismétlés, 1,2,3,4: dózisok: 30, 90, 270 és 810 kg/ha)

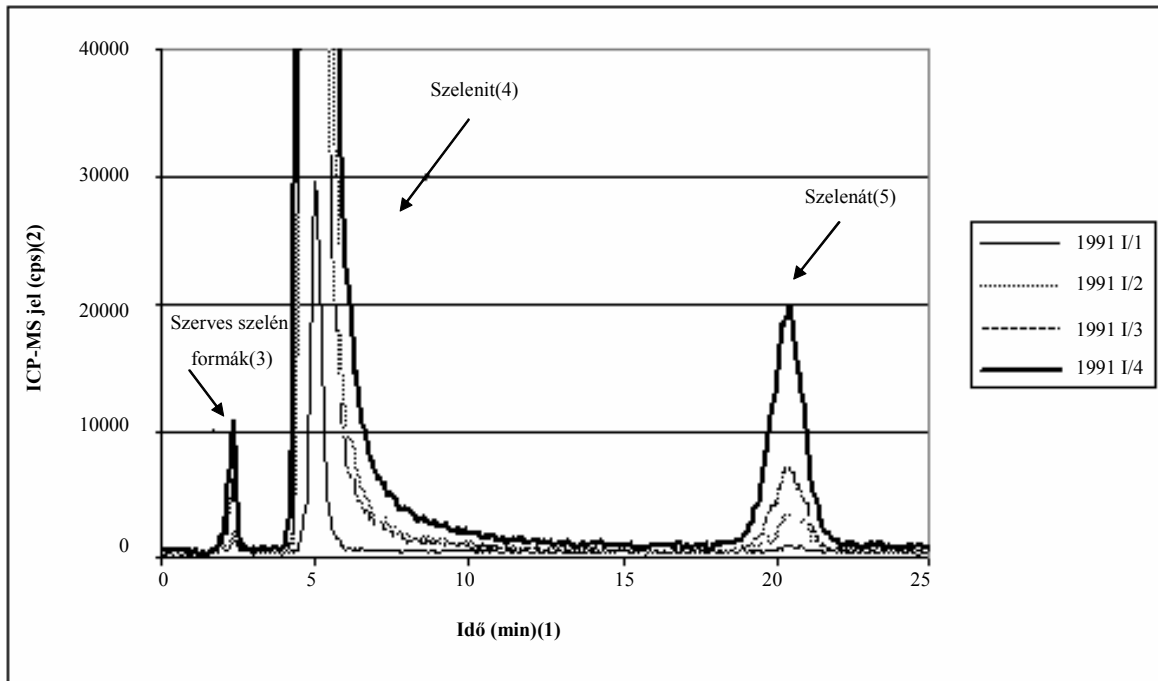


Figure 2: Comparison of contents of selenium forms in the samples in 1991 (I: 1. repetition, 1,2,3,4: doses: 30, 90, 270 and 810 kg/ha) Time (min)(1), ICP-MS signal (cps)(2), Organic selenium forms(3), Selenite(4), Selenate(5)

Ezt követően megvizsgáltuk a különböző évekből származó talajminták elemzésével kapott szelén formáit is, hogy időben hogyan alakult a szelénformák mennyisége, hogyan alakult át a szelenit más formákká, és hogyan alakult az egyes formák mennyisége az évek során.

A 3. ábra a kapott vizsgálati eredményeket szemlélteti. Az ábrán jól látható, hogy az időben a szelenit mennyisége évről évre csökken a felalajban, míg a szelenát mennyisége nő, a szerves szelén mennyisége pedig jelentősebb mértékben nem változik.

A szabadföldi kísérletben mélységi mintákat 3-5 évente vettek, 30 cm-enként, 3 méter mélyséig. Rendelkezésünkre álltak a 2000 évben vett mélységi minták. Ezen minták szelén formáit, valamint a

kimosódás lehetőségét vizsgáltuk, hogy az egyes szelénformák hogyan mozognak a talajban. A következő; 4. ábra a mélységi minták elemzésénél kapott eredményeket szemlélteti.

Az ábrán látható, hogy a szelenit viszonylag jelentősebb mennyiségben van jelen a felalajban, 0-60 cm mélyséig. Ezt követően viszont a mennyisége szinte teljes egészében lecsökken. A szerves szelénformákkal hasonló a helyzet, míg a szelenát igen nagy mennyiségben van jelen még közel 3 méter mélységben is.

Ezek az eredmények igazolni látszanak korábbi feltételezésünket, miszerint a szelenit a talajban idővel szelenáttá alakul, és ebben a formában mozog a talajban lefelé. Fennáll tehát a kimosódás lehetősége/veszélye is.

3. ábra: A különböző években vett feltalaj minták szelén formái
(I: 1. ismétlés, 1: dózis: 30 kg/ha)

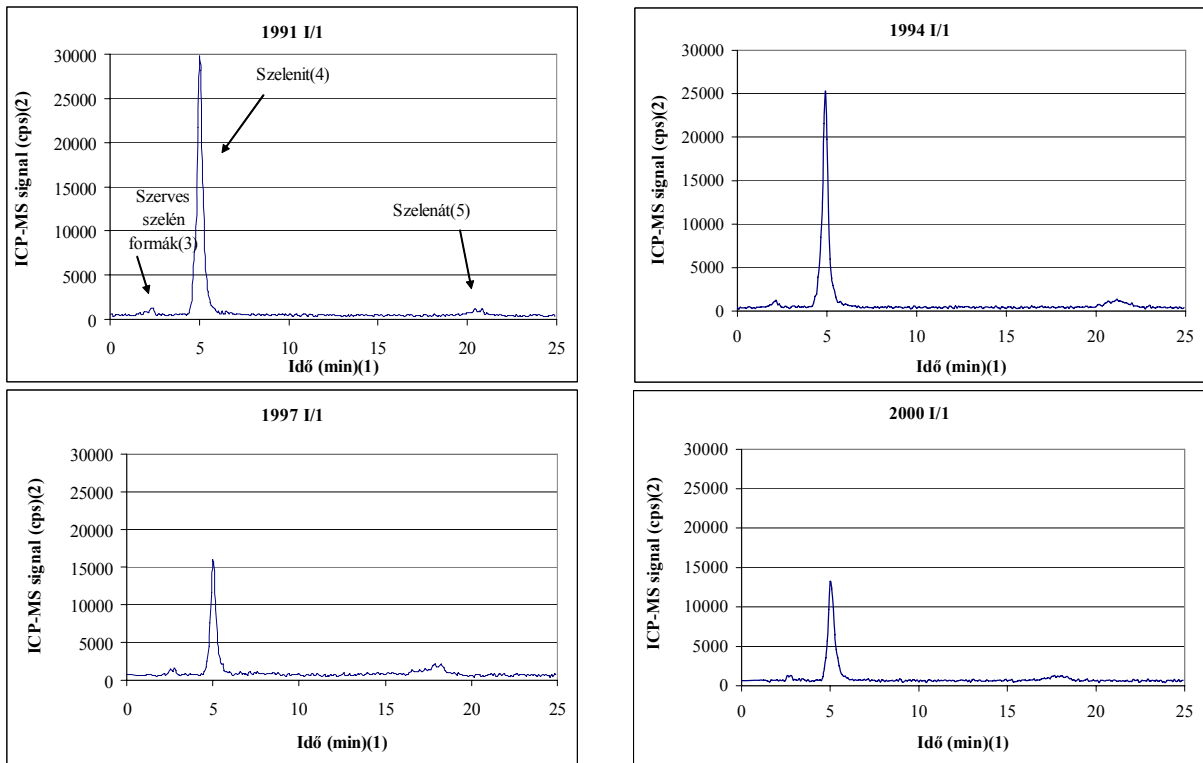


Figure 3: Selenium forms of soil samples in different years
Time (min)(1), ICP-MS signal (cps)(2), Organic selenium forms(3), Selenite(4), Selenate(5)

4. ábra: A 2000-ben vett mélységi minták vizsgálatánál kapott szelénformák mennyiségeinek összehasonlítása

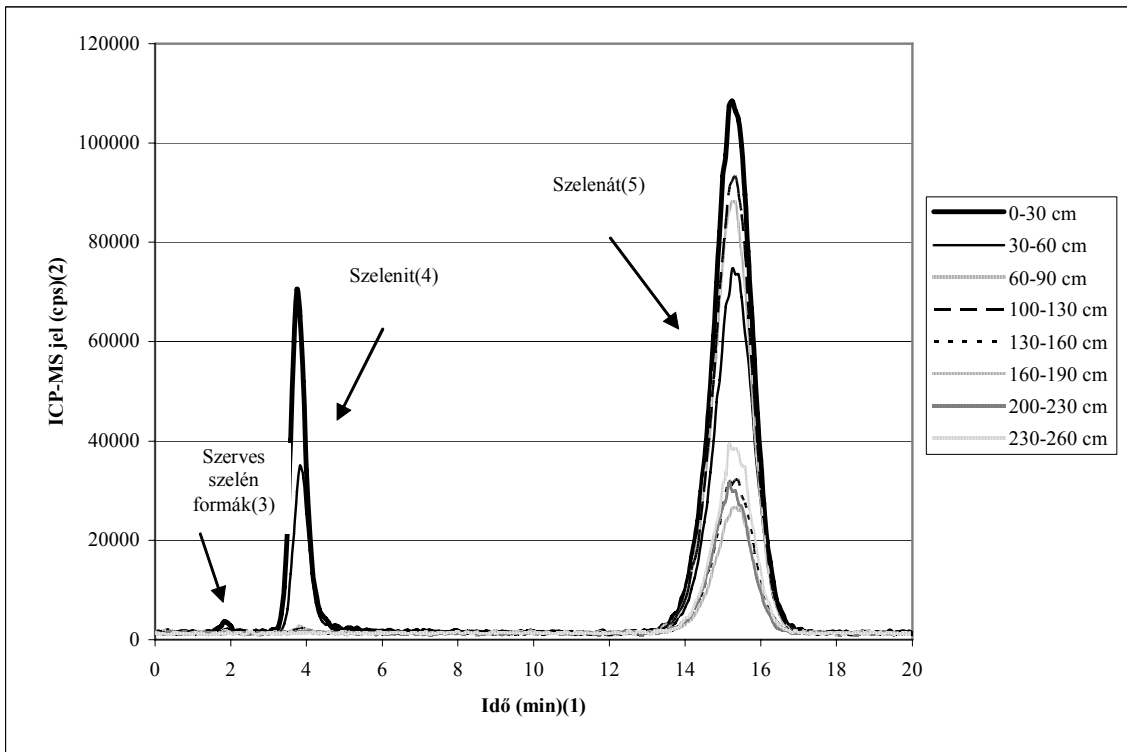


Figure 4: Comparison of contents of selenium forms from different soil layer in 2000
Time (min)(1), ICP-MS signal (cps)(2), Organic selenium forms(3), Selenite(4), Selenate(5)

4. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk során a Prof. Kádár Imre szabadföldi, nehézfémterheléses kísérletéből származó talajminták szelénformáit vizsgáltuk. A kísérletben a szelén különböző dózisokban, szervesen, szelenit só formájában volt kijuttatva az egyes talajparcellákra 1991-ben. Vizsgálataink célja az volt, hogy az 1991 óta eltelt évekből származó mintákban vizsgáljuk és kimutassuk, hogy a szelenit hogyan alakul át más formákká, és ezek a formák hogyan vándorolnak, mozognak a talajban.

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

A szerzők köszönetüket fejezik ki az OTKA T038450, OTKA T042534 pályázatokról, illetve a Bolyai János ösztöndíjalapnak az anyagi

Az általunk alkalmazott IC-ICP-MS módszer érzékenysége megfelelőnek, a módszer maga alkalmasnak bizonyult a szelénvegyületek különböző ionformáinak kimutatására talajminták vizes kivonataiból. Méréseink során a kapott eredményekből megállapíthattuk, hogy a kísérleti parcellákra kijuttatott szelenit só, idővel kis mértékben szerves szelénformákká, valamint leginkább szervesen szelenitá alakul. A szelén ez utóbbi ionformájában mozog a talajban lefelé. Így fennáll a kimosódás veszélye is.

támogatásért, valamint Prof. Kádár Imrének (TAKI) a mintákért és a hasznos szakmai tanácsokért.

IRODALOM

- Dernovics M. (2003): Mintaelőkészítési módszerek kidolgozása és referenciaanyagok előállítása módosulatanalitikai célokra, Doktori disszertáció, Szent István Egyetem, Alkalmazott Kémiai Tanszék, Budapest.
- Gómez, M.M.-Gasparic, T.-Palacios, M.A.-Cámara, C. (1998): Determination of five selenium compounds in urine by liquid chromatography with focused microwave assisted digestion and hydride-generation atomic absorption spectrometric detection. *Analytica Chimica Acta*, 374, 241-251.
- Kádár I. (1995): Környezet- és természetvédelmi kutatások. A talaj-növény-állat-ember tápláléklánc szennyeződése kémiai elemekkel Magyarországon, Környezetvédelmi és Területfejlesztési Minisztérium MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest.
- Kobayashi, Y.-Ogra, Y.-Suzuki, K.T. (2001): Speciation and metabolism of selenium injected with (82)Se-enriched selenite and selenate in rats. *Journal of Chromatography B*, 760, 73-81.
- Navarro-Alarcón, M.-López-Martínez, M.C. (2000): Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. *The Science of the Total Environment*, 249, 347-371.
- Olson, O.E. (1986): Selenium toxicity in animals with emphasis on man. *Journal of the American College of Toxicology*, 5(1), 45-70.
- Reilly, C. (1998): Selenium: A new entrant into the functional food arena. *Trends in Food Science & Technology*, 9, 114-118.