

РЭСПУБЛІКА БЕЛАРУСЬ



ПАТЕНТ

НА ВЫНАХОДСТВА

№ 19461

Способ определения содержания селена в биологических объектах
или пищевых продуктах

выдадзены

Нацыянальным цэнтрам інтэлектуальнай уласнасці
ў адпаведнасці з Законам Рэспублікі Беларусь
«Аб патэнтах на вынаходствы, карысныя мадэлі, прамысловыя ўзоры»

Патэнтаўладальнік (патэнтаўладальнікі):

Государственное учреждение "Республиканский научно-
практический центр гигиены" (ВУ)

Аўтар (аўтары):

Ивашкевич Людмила Станиславовна; Зайцев Виктор
Александрович (ВУ)

Заяўка № а 20111611

Дата падачы: 28.11.2011

Зарэгістравана ў Дзяржаўным рэестры
вынаходстваў:

28.05.2015

Дата пачатку дзеяння:

28.11.2011

Генеральны дырэктар

П.М. Броўкін

**ОПИСАНИЕ
ИЗОБРЕТЕНИЯ
К ПАТЕНТУ**

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ (19) BY (11) 19461



(13) C1

(46) 2015.08.30

(51) МПК

G 01N 21/71 (2006.01)

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

**(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ СЕЛЕНА
В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ ИЛИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ**

(21) Номер заявки: а 20111611

(22) 2011.11.28

(43) 2013.06.30

(71) Заявитель: Государственное учреждение "Республиканский научно-практический центр гигиены" (BY)

(72) Авторы: Ивашкевич Людмила Станиславовна; Зайцев Виктор Александрович (BY)

(73) Патентообладатель: Государственное учреждение "Республиканский научно-практический центр гигиены" (BY)

(56) BY 12675 C1, 2009.

BY 8202 C1, 2006.

VIÑAS P. et al. Analytica Chimica Acta. - 2000. - V. 412. - No. 1-2. - P. 121-130.

MATUSIEWICZ H. et al. Analytical Sciences. - 2006. - V. 22. - No. 2. - P. 249-252.

BERMEJO P. et al. J. Anal. At. Spectrom. - 2001. - V. 16. - Is. 2. - P. 188-193.

BY 14110 C1, 2011.

BARALKIEWICZ D. et al. Central European Journal of Chemistry. - 2004. - V. 2. - No. 2. - P. 334-346.

(57)

Способ определения содержания селена в биологических объектах или пищевых продуктах, при котором осуществляют мокре сжигание органической части образца смесью азотной кислоты и перекиси водорода в объемном соотношении 8:2 под давлением 1,1-1,5 МПа в микроволновом минерализаторе в течение 15-25 мин, затем полученный минерализат упаривают до мокрых солей с добавлением концентрированной перекиси водорода и 1 мл раствора нитрата никеля с концентрацией 10 мг/л, далее анализируют с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии с графитовой атомизацией и определяют содержание селена в исследуемом образце.

Изобретение относится к медицинской химии, биохимии, в частности к способам контроля содержания селена в биологических объектах, пищевых продуктах, и предназначено для лабораторных служб госэпиднадзора и других медицинских учреждений, осуществляющих контроль качества и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов, а также исследующих обеспеченность организма человека важнейшим незаменимым микроэлементом селеном.

Известен способ определения селена в биологических объектах и пищевых продуктах, включающий мокре сжигание органической части исследуемого образца смесью азотной кислоты и перекиси водорода, восстановление шестивалентного селена до четырехвалентного, получение комплекса селенистой кислоты и 2,3-диаминофталина -

4,5-пиазоселенола и измерение интенсивности флуоресценции полученного комплекса с последующим определением селена в исследуемом образце, при этом берут образец массой 0,5-1,0 г, мокре сжигание органической части исследуемого образца осуществляют в микроволновом минерализаторе при объемном соотношении азотной кислоты и перекиси водорода, равном 8:2, под давлением 1,1-1,5 МПа в течение 15-25 мин, восстановление шестивалентного селена до четырехвалентного ведут одновременно с удалением азотной кислоты путем добавления к минерализованному раствору 0,5 мл 35 %-ной перекиси водорода и упаривания досуха [1].

Указанный способ является прототипом по отношению к заявляемому. Общими признаками для заявляемого способа и прототипа является мокре сжигание органической части образца, упаривание образца с целью удаления азотной кислоты.

Однако указанный способ-прототип обладает следующими недостатками. Присутствие остатков азотной кислоты влияет на флуоресценцию комплекса 4,5-пиазоселенолов и приводит к искажению результатов анализа. Флуориметрический метод анализа является длительным, используемые для анализа реактивы дорогостоящими и требующими тщательной очистки. Результаты метода часто зависят от квалификации химика-аналитика, метод имеет высокую погрешность анализа.

Задачей заявляемого способа является сокращение времени проведения анализа, повышение точности результатов. Поставленная задача решается следующим образом.

Предложен способ определения содержания селена в биологических объектах или пищевых продуктах, при котором осуществляют мокре сжигание органической части образца смесью азотной кислоты и перекиси водорода в объемном соотношении 8:2 под давлением 1,1-1,5 МПа в микроволновом минерализаторе в течение 15-25 мин, затем полученный минерализат упаривают до мокрых солей с добавлением концентрированной перекиси водорода и 1 мл раствора нитрата никеля с концентрацией 10 мг/л, далее анализируют с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии с графитовой атомизацией и определяют содержание селена в исследуемом образце.

Использование сильнокислых растворов, которыми являются растворы после минерализации, снижает срок службы графитовых кювет, может привести к разбрзгиванию образца во время анализа. В связи с этим для удаления азотной кислоты минерализованные растворы необходимо упаривать. Однако упаривание до мокрых солей может привести к потерям легколетучего элемента селена. В связи с этим при упаривании минерализованного раствора в него добавляют концентрированную перекись водорода в количестве 0,5 мл и раствор нитрата никеля с концентрацией 10 мг/л в количестве 1 мл.

Результаты определения селена заявлением способом и согласно прототипу приведены в табл. 1-3.

Пример 1.

Определение селена в волосах головы.

Взвешивают и переносят во фторопластовые реакционные камеры для сжигания по 0,5 г исследуемого образца, добавляют по 8 см² концентрированной азотной кислоты и 2,0 см³ перекиси водорода (35-50 %), оставляют при температуре 18-23 °C на 15 мин. Затем реакционные камеры помещают в микроволновой минерализатор и проводят минерализацию в течение 20 мин, для чего используют контрольные цифры давления 1,1 МПа и температуры 210 °C. Анализируемые образцы после минерализации охлаждают и количественно переносят в фарфоровые тигли. Для удаления следов азотной кислоты в пробы добавляют по 1 мл концентрированной (35-50 %) перекиси водорода и 1 мл раствора нитрата никеля с концентрацией 10 мг/л и упаривают до мокрых солей на песчаной бане. Полученный образец количественно переносят в мерную колбу на 25 мл, для чего используют 0,5 %-ный раствор азотной кислоты, и этим же раствором доводят до метки.

Проводят измерения содержания селена в полученном растворе на атомно-абсорбционном спектрометре с графитовой атомизацией. С помощью программного обес-

ВУ 19461 С1 2015.08.30

печения прибора устанавливают следующие параметры проведения анализа. Используемый для анализа объем образца, вносимого в кювету, составляет 20 мкл. Для повышения воспроизводимости результатов повышают температуру инжекции образца в кювету до 30-40 °С. В качестве модификатора матрицы используют 2,0 мкл нитрата никеля. Программа графитовой печи приведена в табл. 1.

Таблица 1

Стадия	Температура, °C	Время, с	Скорость подъема температуры, °C/с	Газовый поток, мл/мин
Сушка	90	35	10	0,2
Сушка	120	1	10	0,2
Озоление	800	20	150	0,2
Атомизация	1200	3	0	0
Очистка	2500	3	0	0,2

В связи со сложностью анализируемой матрицы в качестве метода градуировки используют метод стандартных добавок [2]. Для этого измеряют абсорбцию исходного минерализата и абсорбцию минерализата с добавками селена. Берут 3 одинаковые порции анализируемого минерализованного раствора (20 мкл), в каждую порцию вводят раствор селена для получения следующих конечных концентраций: $C_{x1} = 10 \text{ мкг/л}$, $C_{x2} = 15 \text{ мкг/л}$, $C_{x3} = 20 \text{ мкг/л}$. Меряют абсорбцию исходного раствора и растворов с добавками. Ставят градуировочный график: ось ординат-абсорбция, ось абсцисс-концентрация селена в минерализате. Содержание селена в анализируемом растворе принимают за ноль ($C_x = 0$). Через полученные точки (C_0 , C_{x1} , C_{x2} , C_{x3}) проводят прямую до пересечения с осью абсцисс. Эта точка будет началом координат, а отрезок $0-C_x$ будет соответствовать концентрации селена в растворе пробы.

Полученные данные по определению селена в волосах головы (референсный образец NCS ZC 81002b) приведены в табл. 2.

Таблица 2

Способ исследования	Содержание селена, мг/кг	Относительное стандартное отклонение, %	Время проведения анализа, ч
Заявляемый способ	0,60	4,3	2-3
Прототип	0,64	6,9	4-5
Аттестованное значение, мг/кг	$0,59 \pm 0,04$		

Пример 2.

Определение селена в перепелиных яйцах.

Определение селена в перепелиных яйцах проводят аналогично определению селена в волосах головы. Берут навеску массой 0,5 г, добавляют по 8 см² концентрированной азотной кислоты и 2,0 см³ перекиси водорода (36-50 %), оставляют при температуре 18-23 °С на 15 мин. После чего проводят минерализацию в течение 25 мин, при этом используют контрольные цифры давления 1,3 МПа и температуры 210 °С. Анализируемые образцы после минерализации охлаждают и количественно переносят в фарфоровые тигли. Для удаления следов азотной кислоты в пробы добавляют по 1 мл концентрированной перекиси водорода и 1 мл раствора нитрата никеля с концентрацией 10 мг/л и упаривают до мокрых солей на песчаной бане. Полученный образец количественно переносят в мерную колбу на 25 мл, для чего используют 0,5 %-ный раствор азотной кислоты, и этим же раствором доводят до метки.

Проводят измерения содержания селена в полученном растворе на атомно-абсорбционном спектрометре с графитовой атомизацией. Используемый для анализа объем образца, вносимого в кювету, составляет 20 мкл. Температура инжекции образца - 30-

ВУ 19461 С1 2015.08.30

40 °С. В качестве модификатора матрицы используют 2,0 мкл нитрата никеля. Программа графитовой печи аналогична программе, приведенной в примере 1 (табл. 1).

В качестве метода градуировки используют метод стандартных добавок [2]. Для этого измеряют абсорбцию исходного минерализата и абсорбцию минерализата с добавками селена. Берут 3 одинаковые порции анализируемого минерализованного раствора (20 мкл), в каждую порцию вводят раствор селена для получения следующих конечных концентраций: $C_{x1} = 4 \text{ мкг/л}$, $C_{x2} = 5 \text{ мкг/л}$, $C_{x3} = 10 \text{ мкг/л}$. Меряют абсорбцию исходного раствора и растворов с добавками. Струят градуировочный график: ось ординат - абсорбция, ось абсцисс - концентрация селена в минерализате. Содержание селена в анализируемом растворе принимают за ноль ($C_x = 0$). Через полученные точки проводят прямую до пересечения с осью абсцисс. Эта точка будет началом координат, а отрезок 0- C_x будет соответствовать концентрации селена в растворе пробы.

Полученные результаты приведены в табл. 3.

Таблица 3

Метод исследований	Содержание селена, мкг/кг	Относительное стандартное отклонение, %	Время проведения анализа, ч
Заявляемый способ	296,3	4,6	2-3
Прототип	275,8	7,02	6

Пример 3.

Определение селена в биологически активной добавке (БАД) "Ника селен".

Взвешивают навеску массой 0,5 г, вносят во фторопластовый реакционный сосуд, добавляют по 8 см² концентрированной азотной кислоты и 2,0 см³ перекиси водорода (36-50 %), оставляют при температуре 18-23 °С на 15 мин. После чего проводят минерализацию в течение 25 мин, при этом используют контрольные цифры давления 1,5 МПа и температуры 210 °С. Анализируемые образцы после минерализации охлаждают и количественно переносят в фарфоровые тигли. Для удаления следов азотной кислоты в пробы добавляют по 1 мл концентрированной перекиси водорода и 1 мл раствора нитрата никеля с концентрацией 10 мг/л и упаривают до мокрых солей на песчаной бане. Полученный образец количественно переносят в мерную колбу на 25 мл, для чего используют 0,5 %-ный раствор азотной кислоты, и этим же раствором доводят до метки. Для проведения измерений полученный раствор разводят в 100 раз, используя 0,5 %-ный раствор азотной кислоты. Проводят измерения содержания селена на атомно-абсорбционном спектрометре с графитовой атомизацией. Используемый для анализа объем образца, вносимого в кювету, составляет 20 мкл. Температура инжекции образца - 30-40 °С. В качестве модификатора матрицы используют 2,0 мкл нитрата никеля. Программа графитовой печи аналогична программе, приведенной в примере 1 (табл. 1). Для градуировки используют метод градуировочного графика. Концентрация градуировочных растворов составляет 10, 20 и 50 мкг/л. Полученный результат умножают на 100.

Полученные результаты приведены в табл. 4.

Таблица 4

Метод исследований	Содержание селена, мг/кг	Относительное стандартное отклонение, %	Время проведения анализа, ч
Заявляемый способ	140,32	4,2	2-3
Прототип	139,14	6,3	6
Регламентируемое значение, мг/кг	142,86		

BY 19461 C1 2015.08.30

Таким образом, по сравнению с прототипом заявляемый способ обладает следующими преимуществами: позволяет упростить анализ определения содержания селена в образцах пищевых продуктов и биосубстратах и повысить его точность, уменьшить время проведения анализа на 2-3 ч, а также снизить его себестоимость примерно на 20 %.

Использование данного способа увеличивает выбор вариаций в аппаратурном оформлении, расширяет возможности применения способа для определения содержания микроэлемента селена в пищевых продуктах, биологических средах, организме человека, что необходимо для исследования обеспеченности организма микроэлементом селеном, а также для диагностики и лечения целого ряда заболеваний, связанных с нарушениями антиоксидантной защитной системы организма.

Источники информации:

1. Патент РБ 12675, 2008.
2. Ермаченко Л.А. Атомно-абсорбционный анализ в санитарно-гигиенических исследованиях: Методическое пособие / Под ред. Л.Г. Подуновой. - М., 1997. - 207 с.