

Aufschluss von Pflanzenproben für die Bestimmung von Selen und Arsen = A digestion procedure for the determination of selenium and arsenic in plant samples

Autor(en): **Stünzi, H.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **79 (1988)**

Heft 1

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982577>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Aufschluss von Pflanzenproben für die Bestimmung von Selen und Arsen

A Digestion Procedure for the Determination of Selenium and Arsenic in Plant Samples

H. Stünzi

Eidgenössische Forschungsanstalt für landwirtschaftlichen Pflanzenbau Reckenholz, Zürich

Einleitung

Selen ist ein typisches Spurenelement: Tierfutter muss mindestens 50 ppb (ng/g) Selen enthalten, damit keine Mangelkrankheiten, wie z. B. die Weissmuskelkrankheit, auftreten, aber andererseits sind Gehalte von über 5 ppm toxisch. Die Essentialität des Selens kann unter anderem auf das Enzym Glutathion Peroxidase zurückgeführt werden, das die Oxidation von ungesättigten Fettsäuren verhindert. Dieses Enzym wirkt in der wässrigen Phase, während Vitamin E eine ähnliche Funktion in der lipiden Phase ausübt. Bei der Weissmuskelkrankheit bewirkt der Mangel an Selen und/oder Vitamin E die Auflösung der Membranen und damit eine Degenerierung des Muskelgewebes, insbesondere auch der Herzmuskulatur. Selenmangelbedingte Herzschwäche wurde auch beim Menschen gefunden («Keshan Disease» im Keshan Distrikt, China) und erfolgreich mit Selenit-Tabletten präventiv behandelt (1). Eine kurze Übersicht zum Selen in der Tierernährung wurde von *Mathis et al.* (2) publiziert, eine ausführliche Beschreibung des Selenproblems findet man z. B. bei *Gissel-Nielsen et al.* (3).

Chemisch gleicht Selen in vielen Aspekten dem Schwefel: Selenhydrid ist gasförmig wie Schwefelwasserstoff; Selendioxid [Selen(IV)] ist zwar fest, sublimiert aber bei 340 °; auch selenige Säure ist flüchtig in Gegenwart von Salzsäure. In Tier und Pflanze finden wir Selen vor allem anstelle von Schwefelatomen, z. B. in Selenomethionin. Als Metabolit kommt zusätzlich das gasförmige Dimethylselen vor und im Urin das Trimethylselenonium-Ion. Die vollständig oxidierte Form ist Selen(VI) in Selensäure und Selenaten, die nicht mehr flüchtig sind. Deshalb ist beim Aufschluss auf vollständige Oxidation zu achten; es dürfen nie reduzierende Bedingungen herrschen.

Der früher verwendete Nassaufschluss mit Salpetersäure und Perchlorsäure gab zwar – wie allgemein anerkannt – gute Resultate (4, 5), aber es ist heutzutage genügend bekannt (6), dass Aufschlüsse mit Perchlorsäure ein Potential zu gewal-

tigen Explosionen in sich bergen. Der Aufschluss mit Phosphorsäure, Salpetersäure und Wasserstoffperoxid (7–9) befriedigte auch nicht ganz, so dass hier ein Aufschluss mit Salpetersäure, Wasserstoffperoxid und Magnesiumnitrat beschrieben wird.

Experimenteller Teil

Der Aufschluss

Apparatur

- Technikon Blockdigester BD-40, Maximaltemperatur 400°, mit 40, knapp ausgesparten, 7 cm tiefen Löchern für Aufschlussrohre. Letztere stehen in einem wegnehmbaren Aufsatz.
- Aufschlussrohre aus Quarz, 2,6 × 25 cm, markiert bei 25,0 ml.
- Vortex-Mischer.

Reagentien

HNO₃ (65%), HCl (37%), 6 M HCl (= HCl 37% 1 + 1 mit Wasser verdünnt), H₂O₂ (35%), Mg(NO₃)₂(H₂O)₆, alle p. a.

Einwaage

Zu 3,2 ± 0,2 g Magnesiumnitrat und 1,25 g Pflanzenmaterial werden 7,5 ml HNO₃ (65%) gegeben. Dann wird 4mal im Abstand von 30 min gemischt und über Nacht stehen gelassen.

Veraschen

Nach Zugabe von 2 ml HNO₃ (Rohrwand spülen) und Mischen werden die Rohre (im Aufsatz) in den heißen Block (120°) gestellt. Nach ¾ h werden sie einzeln entnommen und gemischt. Bei 130° wird nochmals ¾ h erhitzt, dann nimmt man den Aufsatz vom Block, lässt 15 min abkühlen, füllt mit HNO₃ auf ca. 2,5 cm auf und mischt.

Nach Zugabe von 4 ml H₂O₂ wird der Aufsatz wieder in den Block (130°C) gestellt. (Bei Böden 2mal 2 ml zugeben, sonst ist die Reaktion zu heftig.) Nach 45 min wird gemischt und 1 h auf 150° erhitzt. Dann wird der Aufsatz vom Block genommen, 5 min abgekühlt und bei schon eingetrockneten Proben 1 ml HNO₃ zugegeben. Im Abstand von 5 min wird zweimal je 1 ml H₂O₂ zugegeben und der Aufsatz wieder in den Block gestellt. Nach 1 h bei 170° wird gemischt, und wo es Schaum über der Marke hat, 2 Tropfen HNO₃ zugegeben. Noch 1 h bei 170° lassen, dann auf 200° stellen und nach 8, 12 und 24 min mischen. Nach total 45 min bei 200° wird wie folgt weiter erhitzt: 30 min 250°, mischen, 45 min 280° und (über Nacht) 6 h auf 400°.

Aufarbeiten

Nach Zugabe von 3 ml Wasser und 3,5 ml HCl (37%) wird gemischt und nach 5 min 1 ml H₂O₂ zur Entfernung von restlichem Nitrat zugegeben. Nach 15 min 120° lässt man 10 min abkühlen, gibt nochmals 1 ml H₂O₂ zu und erhitzt für 1 h auf 120°. Nach dem Abkühlen gibt man 4 Tropfen K₂Cr₂O₇ (5%) zu, füllt mit 6 M HCl zur Marke auf und leert in Polyethylenflaschen um.

Messung mit dem Hydridsystem

Apparatur

Perkin-Elmer 370 Atomabsorptions-Spektrometer und Hydridsystem MHS-10. Elektrodenlose Entladungslampe für Selen (Se-EDL).

Lösungsmittel

6 M HCl mit 1 ml 5% K₂Cr₂O₇ pro Liter.

Selenlösungen

1000 ppm Se: 2,190 g Na₂SeO₃/l in 0,1 M HCl.

10 ppm Se: 1000 ppm Lösung 1:100 mit obiger 6 M HCl verdünnen.

0,1 ppm Se: 10 ppm Lösung 1:100 mit obiger 6 M HCl verdünnen.

Diese Standardlösung für die Messungen jeden Tag neu herstellen.

NaBH₄; 2,5%

25 g Natriumborhydrid in 250 ml 1 M NaOH lösen, durch Papierfilter und dann durch Millipore-Filter filtrieren (10). Mit Wasser auf 1 Liter auffüllen.

Spülgas

N₂ mit 0,5% O₂, 2,2 Bar, 7,4 ml/s.

Messbedingung

196 nm, 2 nm Spalt, mit D₂ Kompensation, keine Skalenspreizung, Küvette leicht glühend.

Recorder

2 mV = 5mal gespreizt, Nulllinie auf 0,2 (gibt 0 ng bei 0,05 und 50 ng bei 0,9), Papiervorschub 20 mm/min.

Eichung

0, 2, 10, 20, 50 ng. Zuerst doppelt, dann einen Standard und 0 ng (für die Festsetzung der Null-Peakhöhe) alle ca. 25 cm Papiervorschub wiederholen. Auswertung: Peakhöhe.

Messmethode

5 ml Probelösung und 20 ml 6 M HCl.

Wenn > 50 ng Se: Probevolumen verkleinern, Messvolumen bleibt 25 ml. Doppelbestimmungen.

Scintillationszählung an aufgeschlossenen Proben

Apparatur

Packard 4530 Scintillationszähler.

Quenchkurve

Se-75 und 0–2,5 ml inaktive Aufschluslösung, Azeton oder Chloroform werden mit Instagel (Packard) auf 20 ml gebracht und intensiv geschüttelt.

Messung

1–2 ml Aufschluslösung mit Instagel auf 20 ml aufgefüllt.

Efficiency

Mit 2 ml Aufschluslösung: 66%.

Scintillationszählung an festen Proben

Ein Glas Minivial mit 50–100 mg Probe wird in ein normales Vial mit Low-Cost-Cocktail gesteckt. Die Messung erfolgt wie oben mit dem Scintillationszähler. Zur Bestimmung der Efficiency wurde inaktive Probe mit einem Zusatz von Se-75 gemessen (Zählausbeute: 10%).

Zum Vergleich wurden auch Proben zur Gammamessung ans EIR geschickt.

Diskussion der Aufschluss- und Messmethode

Der Aufschluss ist eine Kombination eines Nassaufschlusses mit einer trockenen Veraschung in offenen Aufschlussrohren: Zur Vorveraschung wird das Pflanzenmaterial und Magnesiumnitrat in Salpetersäure bei Raumtemperatur stehen

gelassen und anschliessend auf 130° erhitzt. Dann werden die schwerer mineralisierbaren Anteile mit Wasserstoffperoxid oxidiert, womit übermässiges Schäumen während des weiteren Erhitzens verhindert wird. Für die vollständige Oxidation wird die Temperatur langsam auf 400° erhöht. Wird zu schnell erhitzt, schäumen die Proben und Material wird hoch in die Rohre verfrachtet. (Beginnendes Schäumen wird jeweils durch Mischen mit dem Vortex-Mischer beendet.) Langsames Erhitzen verhindert auch, dass beim Verdampfen der Salpetersäure (bei ca. 300°) Teile der Schmelze aus dem Rohr geschleudert werden. Bei 400° ist die Salpetersäure verdampft: die letzte Phase des Aufschlusses ist eine trockene Veraschung mit Magnesiumnitrat als Veraschungshilfe.

Dieser Aufschluss mag etwas umständlich erscheinen, doch berücksichtigt er sowohl die Besonderheiten des Pflanzenmaterials als auch die Flüchtigkeit des Selen:

- Ähnliche Aufschlüsse mit einem schnelleren Programm (11) eignen sich wegen des Schäumens nicht für Pflanzenmaterial.
- Ein Nassaufschluss für die Selenbestimmung ist nur vollständig, wenn am Schluss mindestens 15 Minuten in rauchender Perchlorsäure (250°) erhitzt wird (7). Dies darf wegen der Explosionsgefahr nur in besonders ausgerüsteten Perchlorsäurekapellen geschehen und ist auch dann nicht unbedingt gefahrlos. Ohne Perchlorsäure (und besonders in Schwefelsäure) verkohlt das Probenmaterial nach dem Verdampfen der Salpetersäure. Bei den dabei auftretenden reduzierenden Bedingungen verflüchtigt sich das Selen (9, 12).
- Auch bei der trockenen Veraschung ohne Veraschungshilfe verflüchtigt sich Selen, insbesondere wegen der Flüchtigkeit von Selendioxid.
- Die Veraschung mit Magnesiumnitrat als Veraschungshilfe (13–15) führte bei uns zu Verpuffungen.

Der Erfolg dieses Aufschlusses dürfte darin liegen, dass die Mischung oxidierend bleibt und erst nach sehr weitgehender Mineralisierung alles Nitrat verliert: Zuerst hat man eine Aufschlammung in Salpetersäure, dann eine Magnesiumnitrat-Salpetersäure-Schmelze und erst ab 300° verliert auch diese Stickstoffdioxid. Die Salpetersäure bleibt also bis 300° in der Aufschlussmischung, wo sie sehr stark oxidierend wirkt. (Selbst in Druckaufschlüssen gelangt man kaum über 200°, wo die oxidierende Wirkung der Salpetersäure noch nicht so gross ist.) Bei 400° liegen die Selenverbindungen als Magnesiumsalze in einer alkalischen Magnesiumoxidmatrix vor und sind nicht mehr flüchtig.

Zur Aufarbeitung werden die Proben in 6 M Salzsäure erhitzt und ohne Filtration in Polyethylengefässe umgeschüttet. Das Verfahren ist somit wenig anfällig auf Kontamination, da der Aufschluss in einem einfachen Aufschlussrohr durchgeführt wird und auf komplexe Rückflusskühler usw. (16, 17) verzichtet werden kann.

Eine Komplikation war, dass bei der Aufbewahrung der Aufschlusslösungen gelegentlich Selenverluste beobachtet wurden, besonders wenn kein Pflanzenmaterial anwesend war (z. B. Selenstandard, der dem Aufschlussprozedere unterworfen wurde). Dies wurde auf reduzierende Verunreinigungen in der Salzsäure zurückgeführt und konnte behoben werden mit einem Zusatz von Kaliumdichromat zur Salzsäure und 0,2 mg Eisen(III) zu den Leerwerten und Spikes ohne Pflanzenmaterial.

Bei der atomabsorptionsspektrometrischen Selenbestimmung mit dem Hydridsystem wird nur Selenit [Se(IV)] erfasst, deshalb muss das Selenat [Se(VI)] durch Erhitzen in Salzsäure reduziert werden (18).



Zur Messung werden Aliquots der Lösung mit Natriumborhydrid versetzt, welches Selenit zu Selenwasserstoff (Selenhydrid) reduziert, das aus der Lösung entweicht und im Stickstofffluss in eine geheizte T-Rohr-Quarzküvette des Atomabsorptionsspektrometers transportiert wird.



Dort wird Selen atomisiert, wofür eine geringe Menge Sauerstoff anwesend sein muss (19). Aus diesem Grunde verwenden wir Stickstoff mit 0,5% Sauerstoff, was bewirkt, dass die Signalhöhe unabhängig von der Spüldauer wird. Allerdings ist somit die Nulllinie vor der Zugabe des Borhydrids etwa auf der Höhe des 10 ng Peaks; die kleineren Peaks gehen zuerst nach unten und erreichen dann die Höhe der Nulllinie nicht mehr. Alle Messungen werden mindestens 2mal aus der gleichen Aufschlusslösung wiederholt, ausserdem werden Doppelbestimmungen immer in 2 getrennten Aufschlussserien gemacht.

Die Eichung ist linear bis 50 ng, wobei 2 ng einen deutlichen Peak ergeben. Die Peaks der Aufschlussblindwerte waren im allgemeinen nicht unterscheidbar von denen der reinen Salzsäure (< 1 ng). Mit dem grössten von uns eingesetzten Aliquot (5 ml) entsprechen 2 ng einem Pflanzenselengehalt von 8 ppb (ng/g), was also noch sicher erfasst werden kann.

Jede Messserie wurde mit eigenen Standardlösungen aus aufgeschlossenem Pflanzenmaterial überprüft. Für 2 solcher Lösungen fand man $26,5 \pm 0,7$ ng und $38,5 \pm 1,1$ ng in 22 und 38 Messserien (Aliquots à 0,1 ml), was einer Reproduzierbarkeit von $\pm 3\%$ entspricht. Als weitere Kontrolle wurde zu vielen Probelösungen 20 ng Selen gegeben, die als 21 ± 1 ng (64 Messungen) wiedergefunden wurden. Da diese Addition mit verschiedenartigen Proben gute Resultate lieferte, wurde auf eine generelle Anwendung der aufwendigen Standardadditionsmethode verzichtet.

Die Selenbestimmung mit der Hydridmethode ist schnell und zuverlässig. Mit der beschriebenen Arbeitsmethode kann eine Person jeden 2. Tag einen Aufschluss beginnen und auch die Selenbestimmungen durchführen. Das sind nach Abzug der Qualitätskontrollen 82 Einfachbestimmungen pro Woche.

Die Vielzahl anderer Analysenmethoden wurden z. B. von *Robberecht* und *Van Grieken* (20) und auch *Raptis et al.* (6) zusammengestellt.

Die Überprüfung des Aufschlusses

Aufschluss- und Messmethode wurden gründlich überprüft: Unter anderem wurden regelmässig mindestens 7 Proben in einer Serie von 40 Proben der Quali-

tätskontrolle gewidmet (2 Blindwerte, 200 ng Selen, eine Probe mit wenig Selen, dieselbe Probe mit 200 ng zusätzlichem Selen, NBS-Referenzmaterial Rice Flour [Nr. 1568] und eine eigene Standardprobe).

Die Messungen mit dem Hydridsystem zeigen, ob das Probematerial vollständig mineralisiert ist, da bei unvollständigen Aufschlüssen Übersäumen das Messen verunmöglicht (21). Dies war besonders evident bei Versuchen, Pflanzmaterial nur durch Erhitzen in Salpetersäure zu mineralisieren: Selbst kleine Probevolumina (1 ml) schäumten zu stark (9). Der hier beschriebene Aufschluss ist vollständig, da Probevolumina bis 10 ml problemlos gemessen werden können. (Allerdings beschränkten wir uns auf 5 ml, damit eventuelle unregelmässige Doppelmessungen wiederholt werden können.)

Wenn sich mit einer Aufschlussmethode ein Teil des Selen verflüchtigt, so ist dieser Anteil kaum konstant: die Resultate werden unregelmässig. Dies ist auch der Fall, wenn verschiedene Personen eine Methode verwenden, die unerkannte kritische Schritte enthält. Der hier beschriebene Aufschluss gibt konstante Resultate: So wurde für den NBS-Standard «Rice Flour» von 3 Ausführenden folgende Werte gefunden: 367 ± 16 ppb (10 Messungen); 367 ± 19 (6 Messungen); 361 ± 10 ppb (37 Messungen). Die Tabelle 1 enthält weitere Beispiele zu Mehrfachbestimmungen, die dokumentieren, dass der Aufschluss für viele in der Landwirtschaft wichtigen Stoffklassen (Tabelle 2) gut reproduzierbare Resultate liefert. Die durchschnittliche Standardabweichung für die Selenbestimmungen im Jahre 1986 war ± 2 ppb für 293 Proben mit < 80 ppb Selen; die relative Standardabweichung für 216 Proben mit > 80 ppb Selen betrug $\pm 4\%$. Letztere ist nicht signifikant höher als die Messgenauigkeit ($\pm 3\%$) der Hydridmethode, was zeigt, dass der Aufschluss zuverlässig ist.

Tabelle 1. Beispiele von Selenbestimmungen an verschiedenartigen Proben

| Probenmaterial | \bar{x} ppb | s ppb | $100 \cdot s/\bar{x}$ % | n |
|-----------------|------------------|----------|----------------------------|----|
| Knäulgras | 8 | 1 | | 4 |
| Rüben | 13 | 2 | | 3 |
| Löwenzahn | 23 | 2 | | 11 |
| Maissilage | 51 | 0 | | 3 |
| Kraftfutter | 71 | 3 | | 3 |
| Wiesenschwingel | 273 | 13 | 5 | 20 |
| Bodenprobe | 295 | 17 | 6 | 5 |
| Fett | 387 | 13 | 3 | 3 |
| Ital. Raigras | 583 | 12 | 2 | 14 |
| Spitzwegerich | 603 | 16 | 3 | 15 |
| Goldhafer | 6 111 | | 3 | 4 |
| Mineralsalz | 19 000 | | 2 | 3 |

Die Wiederfindung von zugesetztem Selen wurde bei allen Aufschlussserien routinemässig überprüft (Tabelle 3). Die Werte sind, wie schon bei der Messung beobachtet (Standardaddition), im Durchschnitt um 6% zu hoch, was auf einen

kleinen Matrixeffekt bei der Hydridmethode hindeuten könnte. Allerdings ist eine Abweichung in dieser Größenordnung für die Spurenanalytik nicht von Bedeutung. Die Wiederfindung wurde auch mit radioaktivem Selen überprüft: Zusätze von 58,1 nCi Se-75 wurden in 2 Serien à 10 Proben korrekt wiedergefunden: $58,1 \pm 0,6$ und $59,2 \pm 0,8$ nCi. Bei Bodenproben lag die Wiederfindungsrate für 8 Proben in 2 Aufschlussserien bei 93%.

Tabelle 2. Analysiertes Material

| | | |
|---------------------|---------------|--------------------|
| <i>Futtermittel</i> | Gras | Heu |
| | Maissilage | Grassilage |
| | Krafftfutter | Schweinemastfutter |
| | Rübenblätter | Rüben |
| | Ferkelfutter | Getreide |
| <i>Gräser</i> | Goldhafer | Wiesenschwingel |
| | Engl. Raigras | Ital. Raigras |
| | Knaulgras | |
| <i>Klee</i> | Rotklee | Weissklee |
| <i>Kräuter</i> | Blacke | Bärenklau |
| | Frauenmantel | Löwenzahn |
| | Sauerampfer | Schafgarbe |
| | Spitzwegerich | Storchschnabel |
| | Wiesenkerbel | Wiesenknöterich |
| <i>andere</i> | Mineralsalz | Fett |
| | Reismehl | Kartoffeln |
| | Böden | |

Im weiteren wurde die Methode i) mit einer Referenz-Probe, ii) einer anderen Aufschlussmethode und iii) radioaktiver Markierung überprüft:

- i Als Referenz-Probe verwendeten wir die Reismehlprobe vom National Bureau of Standards, für die unser Resultat (363 ppb) im zertifizierten Bereich liegt und auch vergleichbar ist mit neueren Resultaten anderer Autoren (Tabelle 4).
- ii Im Vergleich mit dem Phosphorsäureaufschluss (9) gab die hier beschriebene Methode für 15 Proben mit weniger als 40 ppb Selen keinen Unterschied (0 ± 4 ppb), und für 19 Proben mit mehr als 2000 ppb Selen fand man $102 \pm 6\%$. Zusätzlich wurden 4 Futtermittelproben auch an der Eidg. Forschungsanstalt für viehwirtschaftliche Produktion, Grangeneuve, analysiert, wo in guter Übereinstimmung $96 \pm 7\%$ unserer Resultate erhalten wurde.

Tabelle 3. Wiederfindung eines Zusatzes von 160 ppb* Selen zu verschiedenen Proben

| Material | \bar{x} ppb | s ppb | n |
|--------------------|------------------|----------|----|
| Leerprobe | 171 | 8 | 37 |
| Löwenzahn | 161 | 15 | 4 |
| Spitzwegerich | 170 | 7 | 12 |
| Löwenzahn | 171 | 6 | 11 |
| Knaulgras | 169 | 2 | 2 |
| alle Proben 1985 | 169 | 11 | 9 |
| alle Proben 1986 | 170 | 8 | 40 |
| verschiedene Böden | 162 | 11 | 9 |

* 200 ng Selen als Natriumselenit zu 1,25 g Probe.

Tabelle 4. Resultate verschiedener Autoren für Reismehl (NBS-Standard-Referen-
ce-Material 1568)

| Methode | Autor | $\bar{x} \pm s$ ppb | n |
|--|----------------------|------------------------|----|
| verschiedene | NBS | 400 \pm 100 | |
| trocken, Mg(NO ₃) ₂ | Tam & Lacroix (15) | 338 \pm 3 | 3 |
| nass, HClO ₄ | Irsch & Schäfer (24) | 383 \pm 24 | 6 |
| O ₂ -Verbrennung | | 376 \pm 34 | 4 |
| nass, HClO ₄ | Piwonka et al. (21) | 300 \pm 28 | 5 |
| O ₂ -Verbrennung | | 350 \pm 26 | 5 |
| nass, H ₃ PO ₄ | Stünzi (9) | 352 \pm 25 | 9 |
| HNO ₃ , Mg(NO ₃) ₂ | diese Arbeit | 363 \pm 11 | 53 |

iii Die Wiederfindung von endogenem Selen wurde mit radioaktivem Selen (Se-75) überprüft. Eine kleine Fläche Rasen (im Labor) wurde mit Selen-75 «gedüngt»: die applizierten 2,9 nCi Se-75 pro μ g inaktives Selen wurden korrekt wiedergefunden ($2,8 \pm 0,1$ in 2 Aufschlüssen à 3 Proben). Nach dem Aufschluss bestimmte man das Selen mit der Hydridmethode, das radioaktive Selen mit der Flüssig-Scintillationszählung. (Die weiche Gammastrahlung des Selen-75 erzeugt Auger-Elektroden, die mit hoher Ausbeute im Scintillationszähler gemessen werden können.) Eine ganz unabhängige Kontrolle ist das Messen ohne Aufschluss, wobei für die obige Probe $10,9 \pm 0,3$ nCi/g gefunden wurde, in guter Übereinstimmung mit dem Resultat nach dem Aufschluss: $11,1 \pm 0,3$ nCi/g.

Arsen

Der hier beschriebene Aufschluss wurde auch für die Bestimmung von Arsen geprüft. Hier wird nach der Aufarbeitung – vor dem Auffüllen auf 25 ml – 2 ml Kaliumjodidlösung (10%) zugegeben, aber kein Kaliumdichromat. Das Jodid reduziert Arsen(V) zu Arsen(III), das mit höherer Empfindlichkeit gemessen werden kann. Diese Reduktion benötigt bei Raumtemperatur eine Stunde (18).

Analog zum Selen wurde für die Arsenbestimmung das Hydridsystem eingesetzt, wo mit Borhydrid gasförmiges Arsin (AsH_3) entwickelt wird. Für die Eichung erhielt man eine gute Regression von 0 bis 50 ng mit der doppelt logarithmischen Auswertung: $\log(\text{Abs}) = A + B \cdot \log(\text{ng})$.

Die Resultate zweier Versuche sind erfolgversprechend: Zusätze von 160 und 800 ppb Arsen wurden wiedergefunden (164 ± 8 und 811 ± 27 ppb). Für den NBS-Standard 1568 (Reismehl) wurden 398 ± 6 ppb gemessen, übereinstimmend mit dem zertifizierten Bereich von 410 ± 50 ppb.

Einige Resultate mit dem Selenaufschluss

Anstoss zu unserem Selenprojekt gaben hohe Kälberverluste in Milchviehbeständen des Münstertals, im südöstlichsten Teil der Schweiz, wo Selenmangel als Ursache vermutet wurde. Dies bestätigte sich in der Folge und es wurde bewusst, dass Selenmangel auch in der Schweiz keine Seltenheit ist [siehe auch (22)].

Anlässlich einer kürzlich erfolgten Studie von Fruchtbarkeitsproblemen beim Vieh (23) wurden die Futtermittel von 23 Betrieben analysiert (Tabelle 5). Bei diesen Resultaten ist der stark streuende Mittelwert von kleinerer Bedeutung als der Median, das heisst der Wert, der in der Rangfolge den mittleren Platz einnimmt. Für jede Art Futtermittel ist in der letzten Kolonne von Tabelle 5 angegeben, wieviele Prozente der Proben genügend mit Selen versorgt sind. Es zeigt

Tabelle 5. Selengehalte von Futtermitteln aus 23 Betrieben

| Material | Bereich ppb | $\bar{x} \pm s$ ppb | Median ppb | n | %-Anteil >50 ppb |
|-------------|----------------|------------------------|---------------|----|---------------------|
| Gras | 8–195 | 43 ± 45 | 25 | 23 | 22 |
| Heu | 8– 86 | 24 ± 19 | 18 | 23 | 9 |
| Grassilage | 13–129 | 47 ± 42 | 31 | 10 | 30 |
| Graswürfel | 33– 99 | 50 ± 18 | 57 | 12 | 67 |
| Maissilage | 4– 52 | 19 ± 17 | 11 | 11 | 18 |
| Rüben | 7– 87 | 23 ± 24 | 15 | 9 | 11 |
| Kraftfutter | 70–662 | 226 ± 145 | 250 | 21 | 100 |

sich, dass nur ein kleiner Prozentsatz des Grundfutters die erforderlichen 50 ppb Selen enthält. Dieser Mangel wird aber oft durch das Kraftfutter ausgeglichen. Der hohe Selengehalt der Trockengraswürfel ist überraschend, da Gras, Heu und Grassilage wenig Selen enthalten. Eine mögliche Erklärung ist, dass das Gras bei der Trocknung mit selenhaltigem Russ kontaminiert wird.

Abgesehen von 3 Ausnahmen mit höherem Selengehalt im Gras unterscheiden sich Gras, Heu und Grassilage nicht signifikant, während Maissilage (mit einer Ausnahme) nur ein Drittel ($36 \pm 18\%$) des Selengehalts von Grassilage aufweist. Auch *Mathis* et al. (22) fanden für 10 Grassilagen 64 ± 18 ppb Selen, und die Maissilagen derselben Betriebe enthielten weniger als die Hälfte davon (27 ± 15 ppb). Beim heute zunehmenden Einsatz von Maissilage darf also das Selenproblem nicht übersehen werden!

Zur Behebung des Selenmangels stehen mehrere Wege offen. Wir bearbeiten aber vor allem die Wirkung einer Selen-«Düngung», über die in Kürze berichtet werden wird. Als vorläufiges Resultat scheint die Applikation im Frühjahr von Selenat (20 g Selen pro Hektare) genügende Futterselengehalte zu geben, ohne Gefahr von Vergiftungen.

Zusammenfassung

Für die Bestimmung des Spurenelements Selen in Pflanzenmaterial (und in anderen landwirtschaftlichen Proben) wurde ein Aufschluss ohne Verwendung der explosionsgefährlichen Perchlorsäure entwickelt: ein Nassaufschluss in Salpetersäure mit einem Zusatz von Wasserstoffperoxid wurde mit einer trockenen Veraschung mit Magnesiumnitrat als Veraschungshilfe kombiniert. Für die Messung wurde die atomspektrometrische Hydridmethode verwendet.

Die gründliche Überprüfung des Aufschlusses zeigte gute Wiederfindung von zugesetztem Selen ($106 \pm 7\%$) und Wiederholbarkeit ($\pm 4\%$ für Proben mit > 80 ppb Se). Die Analyse des NBS-Standards Rice Flour (363 ± 11 ppb) und Experimente mit radioaktivem Selen bestätigten die Zuverlässigkeit der Methode. Der Aufschluss wurde auch für die Arsenbestimmung verwendet, wo gleichfalls die Flüchtigkeit der Verbindungen ein Problem ist.

Bei einer Untersuchung der Futtermittel von 23 Betrieben zeigte es sich, dass der Großteil des Grundfutters zu wenig Selen enthält (< 50 ppb), um Selenmangelkrankheiten zu verhindern.

Résumé

Une méthode pour le dosage du sélénium dans diverses plantes (et d'autres échantillons de fourrages) a été développée sans l'utilisation de l'acide perchlorique qui présente un danger d'explosion. Une minéralisation à l'aide d'acide nitrique avec adjonction de peroxyde d'hydrogène a été combinée avec une minéralisation par voie sèche en présence de nitrate de magnésium. Le sélénium a été mesuré par spectrométrie d'absorption atomique avec formation d'hydrure.

Le contrôle de la minéralisation a démontré que le sélénium ajouté préalablement est retrouvé ($106 \pm 7\%$). En outre, la méthode présente une bonne répétabilité ($\pm 4\%$ pour

échantillons contenant > 80 ppb Se) et s'applique efficacement à l'analyse du standard NBS «Rice Flour» (363 ± 11 ppb). Les essais avec du sélénium radioactif confirment également que la méthode présentée est fiable. Cette minéralisation a aussi été utilisée pour le dosage de l'arsenic qui pose les mêmes problèmes, étant donné la volatilité de ses composés.

Une étude des différents types de fourrage provenant de 23 fermes a démontré que la plupart des fourrages de base contenaient trop peu de sélénium (< 50 ppb) pour empêcher les maladies de carence.

Summary

A method for the determination of the trace element selenium in plants (and other samples of agricultural origin) has been developed. The aim was to avoid the use of perchloric acid which has a potential for violent explosions. Thus, a wet digestion in nitric acid and hydrogen peroxide was combined with dry ashing using magnesium nitrate as ashing aid. Selenium was measured by the hydride generation atomic absorption technique.

Extensive tests of the procedure showed good recovery of selenium added prior to the mineralisation ($106 \pm 7\%$). Furthermore, good repeatability ($\pm 4\%$), correct analysis of the NBS standard reference material «Rice Flour» (363 ± 11 ppb) and work with radioactive selenium confirmed the accuracy and trustworthiness of this procedure. The same method was used for the analysis of arsenic where the analyte is also volatile.

Different types of feedstuffs from 23 farms were analysed. The majority of the forage samples did not contain enough selenium (< 50 ppb) to prevent deficiency diseases.

Literatur

1. *Robinson, M. F. and Thomson, C. D.*: The role selenium in the diet. *Nutr. Abstr. Rev.* **53A**, 4–26 (1983).
2. *Mathis, A., Horber, H. und Jucker, H.*: Selenstoffwechsel beim Wiederkäuer, eine Literaturübersicht. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* **124**, 591–601 (1982).
3. *Gissel-Nielsen, G., Gupta, U. C., Camand, M. and Westermarck, T.*: Selenium in soils and plants and its importance in livestock and human nutrition. *Adv. Agronomy* **37**, 397–460 (1984).
4. *Verlinden, M.*: On the acid decomposition of human blood and plasma for the determination of selenium. *Talanta* **29**, 875–882 (1982).
5. *Robberecht, H. J., Van Grieken, R. E., Van Den Bosch, P. A., Deelstra, H. and Vanden Berghe, D.*: Losses of metabolically incorporated selenium in common digestion procedures for biological material. *Talanta* **29**, 1025–1028 (1982).
6. *Raptis, S. E., Kaiser, G. and Tölg, G.*: A survey of selenium in the environment and a critical review of its determination at trace levels. *Fresenius Z. anal. Chem.* **316**, 105–123 (1983).
7. *Nève, J., Hanocq, M., Molle, L. and Lefebvre, G.*: Study of systematic errors during the determination of total selenium and some of its ionic species in biological materials. *Analyst* **107**, 934–941 (1982).
8. *Reamer, D. C. and Veillon, C.*: Elimination of perchloric acid in digestion of biological fluids for fluorometric determination of selenium. *Anal. Chem.* **55**, 1605–1606 (1983).

9. *Stünzi, H.*: Selenium determination in forages. In: *Welz, B.*, Fortschritte in der atom-spektrometrischen Spurenanalytik, Seiten 487–492. VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim 1986.
10. *Knechtel, J. R.* and *Fraser, J. L.*: Preparation of a stable borohydride solution for use in atomic absorption studies. *Analyst* **103**, 104–105 (1978).
11. *Siu, K. W. M.* and *Berman, S. S.*: Comparison of two digestion methods used in the determination of selenium in marine biological tissues by gas chromatography with electron-capture detection. *Talanta* **31**, 1010–1012 (1984).
12. *Gorsuch, T. T.*: Radiochemical investigations on the recovery for analysis of trace elements in organic and biological materials. *Analyst* **84**, 135–173 (1959).
13. *Holak, W.*: Determination of arsenic and selenium in foods by electroanalytical techniques. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **59**, 650–654 (1976).
14. *May, T. W.*: Recovery of endogenous selenium from fish tissues by open system dry ashing. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **65**, 1140–1145 (1982).
15. *Tam, G. K. H.* and *Lacroix, G.*: Dry ashing, hydride generation atomic absorption spectrometric determination of arsenic and selenium in foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **65**, 647–650 (1982).
16. *Bajo, S.*, *Suter, U.* and *Aeschlimann, B.*: Apparatus for wet ashing of organic material with nitric and sulfuric acid. *Anal. Chim. Acta* **149**, 321–335 (1983).
17. *Seiler, H.*: Neues Probenvorbereitungssystem für die Spurenelementanalytik. *Labor Praxis*, Vogel-Verlag Würzburg, Heft 6, Seiten 23–25, Juni 1979.
18. *Sinemus, H. W.*, *Melcher, M.* and *Welz, B.*: Influence of valence state on the determination of antimony, arsenic, selenium and tellurium in lake waters using the hydride AA technique. *Atomic Spectr.* **2**, 81–86 (1981).
19. *Welz, B.* und *Melcher, M.*: Atomisierungs- und Interferenzmechanismen in der Hydrid-AAS-Technik. *Angewandte Atomspektroskopie*, Perkin-Elmer Heft 23 (1983).
20. *Robberecht, H. J.* and *Van Grieken, R. E.*: Selenium in environmental waters: Determination, speciation and concentration levels. *Talanta* **29**, 823–844 (1982).
21. *Piwonka, J.*, *Kaiser, G.* and *Tölg, G.*: Determination of selenium at ng/g and pg/g levels by hydride generation – atomic absorption spectrometry in biotic materials. *Fresenius Z. anal. Chem.* **321**, 225–234 (1985).
22. *Mathis, A.*, *Horber, H.* und *Jucker, H.*: Zur Selenversorgung des Rindviehs in der Schweiz: Untersuchungen in Ammen- und Mutterkuhbetrieben. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* **125**, 317–328 (1983).
23. *Fleischer, D.*: Selen- und Vitamin-E-Gehalt im Blutserum von Kühen mit unterschiedlicher Fruchtbarkeit. *Diss. Vet. Med. Universität Zürich*, 1987.
24. *Irsch, B.* und *Schäfer, K.*: Nassveraschung von Proben pflanzlicher und tierischer Herkunft für die vergleichende Bestimmung von Selen mit dem Hydrid-AAS-Verfahren. *Fresenius Z. anal. Chem.* **320**, 37–40 (1985).

Dr. H. Stünzi

Eidg. Forschungsanstalt für landw. Pflanzenbau
Reckenholz

CH-8046 Zürich