

ВИЗНАЧЕННЯ СЕЛЕНУ В ІНДИКАТОРНИХ РОСЛИНАХ ТА КОРМАХ МЕТОДОМ АТОМНО-АБСОРБЦІЙНОЇ СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ З ЕЛЕКТРО-ТЕРМІЧНОЮ АТОМІЗАЦІЄЮ

Д. В. Янович, д-р с.-г. наук,
Є. Г. Заріцька, мол. наук. співробітник,
А. В. Галабурда, ст. лаборант

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

У статті наведено дані про вміст селену в грубих кормах, ґрунті та рослинах, які вважаються індикаторами вмісту селену в ґрунтах. Дані було одержано в процесі розробки методики визначення вмісту селену в кормах із застосуванням методу атомно-абсорбційної спектрофотометрії (ААС) з електротермічною атомізацією (ЕА). Розкладання зразків сіна, соломи, силосу, сінажу, ґрунту та рослин проводили сумішшю кислот в системі закритих автоклавів із застосуванням методу мікрохвильової мінералізації (ММ). Ефективність розробленої методики за критерієм додано-одержано, перевірили додаванням до зразків відомого вмісту аналіту. Поріг чутливості методики дозволяє визначати селен в кормах різного походження на рівні 2 мкг/кг. Одержані дані свідчать про можливість застосування методики не тільки для аналізу кормів, штучно збагачених селеном, шляхом додавання його сполук в складі кормових добавок і преміксів, а і для аналізу грубих кормів, які характеризуються низьким природним вмістом в них даного елемента.

Ключові слова: СЕЛЕН, КОРМИ, ҐРУНТ, АТОМНО-АБСОРБЦІЙНА СПЕКТРОФОТОМЕТРІЯ, ЕЛЕКТРОТЕРМІЧНА АТОМІЗАЦІЯ, МІКРОХВИЛЬОВА МІНЕРАЛІЗАЦІЯ.

Селен належить до мінеральних елементів розсіяних в геосфері, тому його вміст в ґрунтах надзвичайно низький. Природний Кларк селену $5 \cdot 10^{-6}$ мас.%, тим не менше, цей елемент відіграє надзвичайно важливу роль в організмі тварин, що було доведено рядом наукових праць, опублікованих впродовж останніх десятиліть [1, 2]. Це стало підґрунтям для розробки рекомендацій щодо оптимальних рівнів забезпечення цим елементом раціонів сільськогосподарських тварин. Незважаючи на наявність такої інформації, актуальним залишається питання забезпечення раціонів сільськогосподарських тварин, зокрема жуйних, цим елементом, в залежності від природного вмісту селену в ґрунтах різних геохімічних регіонів та його наявності в грубих кормах. Окрім загального вмісту сполук селену в ґрунтах, на це також впливає кислотність ґрунтів та ботанічний склад рослинності пасовищ [3, 4]. Вивчення рівнів природного надходження селену в організм тварин важливе, в першу чергу, для оптимального забезпечення цим елементом жуйних в пасовищний період. Низький рівень селену в ґрунтах у поєднанні з їх високою кислотністю, при переважанні на пасовищах злакових трав, може викликати ознаки дефіциту селену у жуйних. За відсутності корекції раціону, за вмістом цього елемента, можуть призвести до зниження продуктивності тварин та порушення обміну речовин, зокрема, білом'язової хвороби.

З метою запобігання дефіциту селену у сільськогосподарських тварин, необхідно проводити дослідження його вмісту у ґрунтах пасовищ, а також міграції мікроелементу в рослини, які складають основу раціону жуйних.

З огляду на низький вміст селену в ґрунтах і, відповідно, в рослинах, визначення його наявності в кормах має певні технічні складності. Серед рослин, здатних до природної акумуляції селену з ґрунту, необхідно виділити: бобові (*Leguminosae*), хрестоцвіті (*Cruciferae*), вміст в яких селену може сягати 0,018 – 0,040 мг/кг. В родині бобових, рослини що належать до роду астрагали (*Astragalus*), відзначаються чи не найбільшим вмістом селену. В той же час вміст селену в злакових, одержаних на тих же ґрунтах, може бути у 3-4 рази нижчим [3, 5]. Враховуючи такі низькі рівні природного вмісту селену в рослинах, необхідно визначити вимоги щодо методів контролю, які б забезпечували достовірні результати досліджень в низькому діапазоні концентрацій. Найбільш розповсюдженим методом, який застосовується в геохімії, агрохімії та зоотехнії для вивчення мінерального складу об'єктів є метод атомно-абсорбційної спектрофотометрії (ААС). На жаль, найбільш розповсюджена модифікація цього методу, що базується на полум'яній атомізації зразка, недостатньо чутлива для визначення низьких концентрацій селену в зразках з високим вмістом інших мінеральних компонентів матриці таких, як калій, магній, натрій та кальцій. Додаткову проблему складає довжини резонансних хвиль селену 193,7 нм та 196,0 нм, які знаходяться в близькому ультрафіолетовому діапазоні спектру. Ще однією причиною, яка стоїть на заваді визначення низьких концентрацій селену в кормах, є складність підготовки зразків. Визначення низьких концентрацій селену в матрицях, в яких він накопичується природним шляхом, потребує з одного боку найбільш повного розкладання хімічних компонентів матриці, а з другого – має забезпечити стабільність новоутворених хімічних сполук для запобігання втратам легких сполук селену при високих температурах мінералізації зразків. Забезпечити належні умови для визначення низьких концентрацій селену в кормах здатний метод атомно-абсорбційної спектрофотометрії з електротермічною атомізацією (ААС/ЕА), з використанням корекції непитомої абсорбції по методу Зеємана, а для підготовки зразків для аналізу – мікрохвильова мінералізація зразка (ММ) в закритому об'ємі.

Метою нашої роботи була перевірка придатності вищезгаданої методики для аналізу зразків, з різним природним вмістом селену.

Матеріали і методи. Селен в зразках грубих кормів росинах та ґрунтах визначали методом атомно-абсорбційної спектрометрії, за повної мінералізації досліджуваних зразків за переведення їх в розчинну форму та визначенні концентрації селену в розчинах в режимі (ААС/ЕА) з коригуванням непитомої абсорбції фону матриці по методу Зеємана.

Реактиви. В роботі використовували азотну кислоту кваліфікації "ос.ч." згідно з ГОСТ 11125; кислоту хлористоводневу кваліфікації "х.ч."; воду високоочищену згідно з ДФУ 1.2; паладієвий модифікатор для атомно-абсорбційної спектрометрії з концентрацією паладію 10г/дм³ виробництва фірми Merck; державний стандартний зразок України (ДСЗУ) – розчин стандартного зразка (СЗ) іонів селену (IV), з атестованим значенням масової концентрації іонів селену 1,0 мг/см³. Робочі стандартні розчини (РСЗ) готували шляхом стадійного розведення основних стандартних розчинів 1% розчином кислоти азотної: ДСЗУ (1 мг/см³) до концентрації 10 мкг/см³ (розчин А); розчин А, 1% розчином кислоти азотної - до концентрації 0,1 мкг/см³. Для побудови калібрувального графіка готували розчини з різною концентрацією селену (IV) (в межах робочого діапазону визначення для спектрофотометра), використовуючи розчин РСЗ- 0,1 мкг/см³, як вихідний.

Підготовка зразків. Процедура підготовки зразків кормів та ґрунтів основана на повній мінералізації проб сумішшю азотної кислоти та перекису водню в реакційній камері тефлонового автоклаву з мікрохвильовим нагріванням за умов підвищеного тиску. Наважки зразку вносили безпосередньо в реакційну камеру автоклаву, додавали 3 мл. високоочищеної води, з наступним додаванням 6 мл 65% азотної кислоти. Закриті автоклави нагрівали в ММ системі «Milestone Start D» за температурною програмою рекомендованою для харчових продуктів. Програму зміни температури автоклавів протягом часу мінералізації представлено у таблиці 1.

Параметри програми зміни температури автоклавів протягом часу мінералізації

Крок (стадія)	Час (хв. сек.)	Температура (°C)	Потужність випромінювання (Вт)
1	5.00	80	≤350
2	3.30	160	≤800
3	4.30	190	≤1000
4	12.00	190	≤800

Отриманий після мінералізації розчин, кількісно переносили із реакційної камери автоклаву в мірну колбу, місткістю 25 см³ і доводили до мітки високоочищеною водою. Розчин зразка аналізували на атомно-абсорбційному спектрометрі AA 240Z (Zeeman Atomic Absorption Spectrometer) VARIAN, споряджений електротермічним атомізатором з графітовою кюветою (GTA 120 Graphitetube Atomizer) та автосамплером (PSD120 Programable Sample Dispenser).

Параметри атомно-абсорбційного спектрометра AA 240Z. Для визначення селену (IV) використовували довжину хвилі $\lambda = 196$ нм при ширині щілини монохроматора 1,0 нм, за швидкості потоку аргону – 0,3 дм³/хв. За програмою нагрівання графічної кювети представленою у таблиці 2. Струм, лампи з порожнистим катодом 10 мА.

Таблиця 2

Програма температурного режиму графітної печі при вимірюванні селену

№ кроку	Стадія	Температура, °C	Час, сек.	Потік аргону
1	Висушування	85	5	відкрито
2	Висушування	95	40	відкрито
3	Висушування	120	10	відкрито
4	Озолення	1100	5	відкрито
5	Озолення	1100	1	відкрито
6	Озолення	1100	2	відкрито
7	Атомізація	2600	0,8	закрито
8	Атомізація	2600	2	закрито
9	Очищення	2600	2	відкрито

Результати й обговорення. З метою перевірки придатності методу визначення вмісту селену в зразках різного хімічного складу, нами було вибрано три групи зразків цікавих з огляду на вміст в них різних концентрацій селену, а також на відмінність хімічного складу та співвідношення органічних та неорганічних речовин. Першу групу склали зразки ґрунтів, відібрані в окремих районах Львівської області. Другу групу склали зразки грубих кормів, переважно сіно злакових трав та солома. Зразки грубих кормів відбирали у господарствах, на яких попередньо було відібрано зразки ґрунтів. Третю групу склали зразки бобових рослин (*Leguminosae*) з роду астрагалів (*Astragalus*), відібрані у різних регіонах України та річкова прісноводна рослина – Ряска мала (*Lemna Minor*). Усі зразки доводили до постійної маси за температури 105 °C, подрібнювали та розкладали у відповідності до процедури представленої вище.

У таблиці 3 представлено дані вмісту селену в зразках ґрунтів, відібраних на території господарств Буського району Львівської області. З представлених даних видно, що вміст селену в зразках здебільшого відповідає середнім значенням його вмісту для ґрунтів даного типу, неорганічна складова яких характеризуються високим вмістом лужних осадових порід, силікатів та середніми або високими значеннями рН [3, 5, 6].

Вміст селену в зразках ґрунтів

Зразки	Вміст селену, мг/кг
1	1,8
2	0,48
3	1,13
4	1,13
Зразок ґрунту № 2 (штучно збагачений додаванням 500 нг селену)	0,91 0,96 1,07
Середнє значення	0,95±0,03

Таблиця 4

Вміст селену в зразках грубих кормів

Зразки	Вміст селену, мг/кг
1(сіно)	0,2
2(сіно)	0,06
3(сіно)	0,1
1(солома)	0,08
2(солома)	0,18
3(солома)	0,17
1(сінаж)	0,3
2(сінаж)	0,23
3(сінаж)	0,18
1(силос)	0,20
2(силос)	0,23
3(силос)	0,21

Аналіз даних, представлених в табл. 4, в яких наведено концентрації селену в грубих кормах з територій з невисоким вмістом селену в ґрунтах, показав також значення, які у цілому відповідають літературним даним [5, 7, 8].

Таблиця 5

Вміст селену у зразках Ряски малої (*Lemna Minor*)

№ зразків	Вміст селену, мг/кг
№ 1	0,73
№ 2	0,99
№ 3	0,7
№ 4	0,79
№ 5	0,89
Середнє значення	0,82 ±0,1196

У той же час, дані вмісту селену у Рясці малій (*Lemna Minor*), представлені у таблиці 5, не відповідають наявним в літературі даним, які характеризують цю рослину як таку, що здатна акумулювати високі концентрації селену з водного середовища [9]. Варто врахувати, що експериментальні дані про здатність *Lemna Minor* акумулювати селен, було одержано в досліді, за умов забезпечення високою концентрацією селену (2,5 мг/л) у водному середовищі. У нашому випадку, вміст селену у водоймах, з яких було одержано зразки *Lemna Minor*, був нижчим за межу визначення селену, що потребує значного концентрування зразків, що не було передбачено нашими дослідженнями.

Вміст селену у зразках різних представників роду астрагалів, який представлено в таблиці 6, також не відповідав даним про здатність рослин цього роду акумулювати селен в

кількостях, вищих за вміст селену в ґрунтах.

Таблиця 6

Вміст селену в зразках Астрагалів (*Astragalus*)

Назва зразка	Вміст селену, мг/кг
<i>Astragalus onobrychis</i>	0,26
<i>Astragalus ponticus</i>	0,35
<i>Astragalus dasyanthus</i>	0,21
<i>Astragalus falcatus</i>	0,08
<i>Astragalus cicer</i>	0,37
<i>Astragalus dasyanthus</i> (штучно збагачений селеном)	0,92 0,98 0,95
Середнє значення	0,95±0,03

Вивчення причин невисокого, порівняно до літературних даних, вмісту селену у зразках окремих представників роду потребувало перевірки придатності методу за критерієм додано-одержано. Для цього окремі зразки астрагалів штучно збагачували розчином, що містив 500 нг селену в перерахунку на грам зразка. Теоретичний вміст селену, після збагачення зразка, мав становити 1031 нг/г (мг/кг). В результаті проведених досліджень отримано середнє значення вмісту селену в збагаченому зразку – 950 мг/кг, що складає 92,1 % від теоретичного вмісту. Отже, методика, яка застосовувалась для визначення вмісту селену в зразках астрагалів забезпечує високий відсоток витягу аналіту, та його повернення при збагачуванні зразка. У зв'язку з цим, можна припустити, що відносно низькі значення вмісту селену в зразках астрагалів пов'язані з часом відбору зразків та віком відібраних рослин. У окремих літературних даних [10] зазначено, що найбільший вміст селену було виявлено в старих багаторічних рослинах.

Дані наведені в таблицях 3-6 підтверджують літературні дані про вміст селену в ґрунтах та рослинах, які відрізняються за рівнем накопичення сполук селену.

Відповідно до поставленої мети, у результаті нашої роботи було оптимізовано умови аналізу та процеси підготовки зразків. Змодельовано умови проведення аналізу за вибору об'єктів досліджень з різним хімічним складом матриці та вмістом селену у зразках. Одержані результати дозволяють зробити висновок про придатність вибраної методики для визначення вмісту селену у широкому діапазоні концентрацій, що дозволяє контролювати рівні природного надходження селену в організм жуйних тварин в пасовищний період, що має важливе значення для оптимального забезпечення їх цим елементом.

ВИСНОВКИ

1. Підтверджено придатність методики для визначення селену в зразках грубих кормів, рослинах та ґрунтах. Поріг чутливості методики дозволяє визначати селен в кормах різного походження на рівні 2 мкг/кг. За критерієм додано-одержано, з використанням різних за хімічним складом матриць (корми, рослин, ґрунти) дана методика забезпечує високий витяг аналіту >90% та високу збіжність результатів.

2. Описана методика дозволяє контролювати рівні природного надходження селену в організм жуйних тварин в пасовищний період, що має важливе значення для оптимального забезпечення їх цим елементом.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується проводити контроль рівня селену у кормах та навколишньому середовищі.

DETERMINATION OF SELENIUM IN PLANTS-INDICATORS AND FORAGES BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY WITH ELECTRO-THERMAL ATOMIZATION

D. Yanovych, E. Zaritska, A. Halaburda

State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives,
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

S U M M A R Y

In article are present date about content of selenium in soil, forage and indicators -plants that are considered of selenium content in the soils. Data have been obtained in the process development of methods for determining the content of selenium in feed using the method of atomic - absorption spectrophotometry (AAS) with electro-thermal atomization (EA). Digestion of samples of hay, straw, silage, soil and plants was carried out with a mixture of acids in the closed system of autoclaves using microwave mineralization method (MM). The effectiveness of the developed method for the criterion of added-received, verified addition to samples known content of analyte. The lower threshold determination methodology allows determine selenium in feed different origins at 2 µg / kg. The data suggest the possibility of using methods not only for feed analysis, artificially enriched with selenium, by adding its compounds in the composition of feed additives and premixes, and for the analysis of roughage, characterized by low natural content of the element in them.

Keywords: SELENIUM, FORAGE, SOIL, ATOMIC-ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY, ELECTRO-THERMAL ATOMIZATION, MICROWAVE MINERALIZATION.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЕЛЕНА В ИНДИКАТОРНЫХ РАСТЕНИЯХ И КОРМАХ МЕТОДОМ АТОМНО-АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ С ЭЛЕКТРО-ТЕРМИЧЕСКОЙ АТОМИЗАЦИЕЙ

Д. Янович, Е. Зарицкая, А. Галабурда

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных
препаратов и кормовых добавок
ул. Донецкая, 11, г. Львов, 79019, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье приведены данные о содержании селена в грубых кормах почве и растениях, которые считаются индикаторами содержания селена в почвах. Данные были получены в процессе разработки методики определения содержания селена в кормах с применением метода атомно-абсорбционной спектрофотометрии (ААС) с электротермической атомизацией (ЕА). Разложение образцов сена, соломы, силоса, сенажа почвы и растений проводилось смесью кислот в системе закрытых автоклавов с применением метода микроволновой минерализации (ММ). Эффективность разработанной методики по критерию добавлено-получено, проверено добавлением к образцам известного содержания аналита. Нижний порог определения методики позволяет определять селен в кормах разного происхождения на уровне 2 мкг/кг. Полученные данные свидетельствуют о возможности применения методики не только для анализа кормов, искусственно обогащенных селеном, путем добавления его соединений в составе кормовых добавок и премиксов, но и для анализа грубых кормов, характеризующихся низким природным содержанием в них данного элемента.

Ключевые слова: СЕЛЕН, КОРМА, ПОЧВА, АТОМНО-АБСОРБЦИОННАЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ, ЭЛЕКТРО-ТЕРМИЧЕСКАЯ АТОМИЗАЦИЯ, МИКРОВОЛНОВАЯ МИНЕРАЛИЗАЦИЯ.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Smart E., Gudmundson J., Christensen D. A.* Trace Mineral Deficiencies in Cattle: A Review M. // The Canadian Veterinary Journal 1981 Dec; 22(12): P. 372–376.
2. *Anderson P. H., Berrett S., Patterson D. S.* The biological selenium status of livestock in Britain as indicated by sheep erythrocyte glutathione peroxidase activity. Vet Rec. 1979 Mar 17;104(11): P. 235–238.
3. *Хенниг А.* Минеральные вещества, витамины, биостимуляторы в кормлении сельскохозяйственных животных. Пер. С нем. М., «Колос», 1976. — 560 с.
4. *Backall K. A., Scholz R. W.* Reference values for a field test to estimate inadequate glutathione peroxidase activity and selenium status in the blood of cattle // Am J Vet Res. — 1979 May;40(5): P. 733–738.
5. *Lyons M. P., Papazyan T. T., Surai P. F.* Selenium in Food Chain and Animal Nutrition: Lessons from Nature – Review. Asian-Aust. // J. Anim. Sci. Vol. 20, No. 7 : 1135–1155, July 2007.
6. *Broadley M. R., White P. J., Bryson R. J.* 2006. Biofortification of UK food crops with selenium // Proc. Nutr. Soc. 65: P. 169-181.
7. *Combs, G. F., Combs S. B.* 1984. The nutritional biochemistry of selenium // Ann. Rev. Nutr. 4: P. 257-280.
8. *Hall J. A., Bobe G., Vorachek W. R.* Effects of feeding selenium-enriched alfalfa hay on immunity and health of weaned beef calves // Biological Trace Element Research 2013;156: P. 96–110.
9. *Ornes W. H., Sajwan K. S.* Bioaccumulation of Selenium by floating aquatic Plants. Water, Air, and Soil pollution 57-58, 1991.
10. Description of Indicator Plants and Methods of Botanical Prospecting for Uranium Deposits on the Colorado Plateau, Helen I. Cannon a contribution to the geology of uranium geological survey bulletin 1 03 0 - m

Рецензент — Г. П. Ривак, к. с.-г. н., ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.