

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОРМ СЕЛЕНА В КОРМАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРИРОДНЫХ СОРБЕНТОВ

В.И. ДЕРЯБИНА, кандидат химических наук, инженер

Г.Б. СЛЕПЧЕНКО, доктор химических наук, зав. лабораторией

ФАМ КАМ НЬУНГ, аспирант

Национальный исследовательский Томский политехнический университет

Т.В. ЛЫЧЕВА, кандидат сельскохозяйственных наук, зав. лабораторией

Л.А. МАЛИНОВСКАЯ, научный сотрудник

Сибирский НИИ сельского хозяйства и торфа Россельхозакадемии

E-mail: dvitomsk@rambler.ru

Резюме. Цель наших исследований заключалась в разработке нового способа разделения форм селена на природных сорбентах и методики количественного химического анализа органических и неорганических форм селена в кормах и кормовых добавках методом вольтамперометрии. Исследования по выбору природного сорбента для разделения органических и неорганических форм селена в модельных растворах показали, что по емкости поглощения их можно расположить в следующей последовательности: «Энтеросорбент ЭСТ-1» > «Полифепан» > активированный уголь. Для разделения органических и неорганических форм селена на «Энтеросорбенте ЭСТ-1» выбраны рабочие условия: время экспозиции 60 с, $pH = 7$, масса сорбента 0,3 г и предложен способ пробоподготовки для определения общего содержания селена, его органических и неорганических форм методом вольтамперометрии (ВА). Для определения общего содержания селена использовали кислотную минерализацию. При введении в анализируемый раствор навески сорбента органические формы селена количественно сорбировались на «Энтеросорбенте ЭСТ-1», а неорганические оставались в растворе. После фильтрования смеси в фильтрате методом ВА определяли концентрацию неорганических форм селена, а осадок подвергали ультразвуковой обработке в 1 моль/дм³ растворе серной кислоты и после центрифугирования в надосадочной жидкости определяли концентрацию органических форм селена. Разработанный способ сокращает время пробоподготовки до 1,5 часов. На его основании предложена методика вольтамперометрического измерения массовых концентраций селена и его органических и неорганических форм. Проверка ее правильности проведена методом «введено-найдену» в сравнении с методом, предложенным в МУ 08-47/247. Погрешность методики для селена и его неорганической формы в диапазоне измерений от 0,05 до 80 мг/кг не превышает 25 %, для органической формы в диапазоне от 0,05 до 25 мг/кг – 22 %.

Ключевые слова: вольтамперометрия, методика, пробоподготовка, сорбция, органические и неорганические формы селена, корм, кормовые добавки.

Развитие производства пищевых продуктов, кормов и биологически активных добавок, обогащенных незаменимыми элементами, – одно из направлений решения продовольственной проблемы. Среди компонентов, применяемых для такого обогащения, особое внимание уделяется соединениям селена. Чаще всего используют селенат или селенит натрия [1], хотя известно, что его органические формы более биологически доступны [2, 3].

В связи с этим на сегодняшний день одна из актуальных задач, стоящих перед аналитическими лабораториями, – создание методического обеспечения, в частности, определения форм элементов, в том числе и соединений селена в объектах сельского хозяйства.

В последние годы для определения селена и его форм все чаще используют один из самых чувствительных электрохимических методов анализа – вольтамперометрию (ВА). Причем основная часть публикаций посвящена определению либо общего содержания селена, либо его неорганических форм [4...7].

Цель наших исследований заключалась в разработке нового способа разделения форм селена на природных сорбентах и методики количественного химического анализа кормов и кормовых добавок на общее содержание селена, его органических и неорганических форм методом вольтамперометрии.

Условия, материалы и методы. Измерения проводили на вольтамперометрическом анализаторе «СТА» («ИТМ», г. Томск) в 3-х электродной системе измерений. В качестве индикаторного использовали серебряный электрод, который представляет собой фторопластовый стержень с запрессованной серебряной проволокой диаметром 2,0 мм и длиной 9...10 мм, электрод сравнения и вспомогательный – хлорсеребряные электроды (ХСЭ) в растворе хлористого калия молярной концентрации 1,0 моль/дм³.

Минерализацию проб проводили в программируемом комплексе для пробоподготовки «Темос-Экспресс» ТЭ-1 с диапазоном рабочих температур 25...650 °С с погрешностью ± 10 °С. На стадии пробоподготовки также использовали следующее оборудование: УЗ-ванна типа УЗВ-1/100-ТН (мощность $W = 110 \pm 22$ Вт; частота $F = 20,35...23,65$ кГц), магнитная мешалка типа ММ, центрифуга ОПН-8, шаровая лабораторная мельница МЛ-1. Определение pH раствора проводили с помощью переносного pH-метра – милливольтметра pH-673. Погрешность при определении pH раствора не превышала $\pm 0,1$ pH.

При выборе сорбента для разделения органических и неорганических форм селена в модельных растворах в качестве источника неорганических форм этого минерального элемента использовали межгосударственный стандартный образец состава растворов ионов селена (4+) с концентрацией элемента 1,0 г/дм³; органического – таблетки (массой 0,25 г) биологически активной добавки «Сел-Плекс» с общим содержанием селена 1000 мг/кг (50 % селенометионина и 25 % селеноцистеина). Все растворы готовили разбавлением в дистиллированной воде.

Разделение органических и неорганических форм селена проводили на природных сорбентах «Полифепан», «Энтеросорбент ЭСТ-1» и активированном угле.

В ходе исследований определяли емкость поглощения (α) и массу сорбента (m_c) по формулам, представленным в работе [8]. При расчете емкости поглощения с учетом линейного диапазона ВА-измерений массовых концентраций селена от 0,003 до 2,0 мг/дм³ за исходную концентрацию, как органических, так и неорганических форм брали 1,0 мг/дм³. Первоначальную массу сорбента 0,3 г подбирали на основании данных литературных источников.

Для выбора массы сорбента при разделении органических и неорганических форм селена изучали зависимость емкости поглощения «Энтеросорбента ЭСТ-1» от массы его навески.

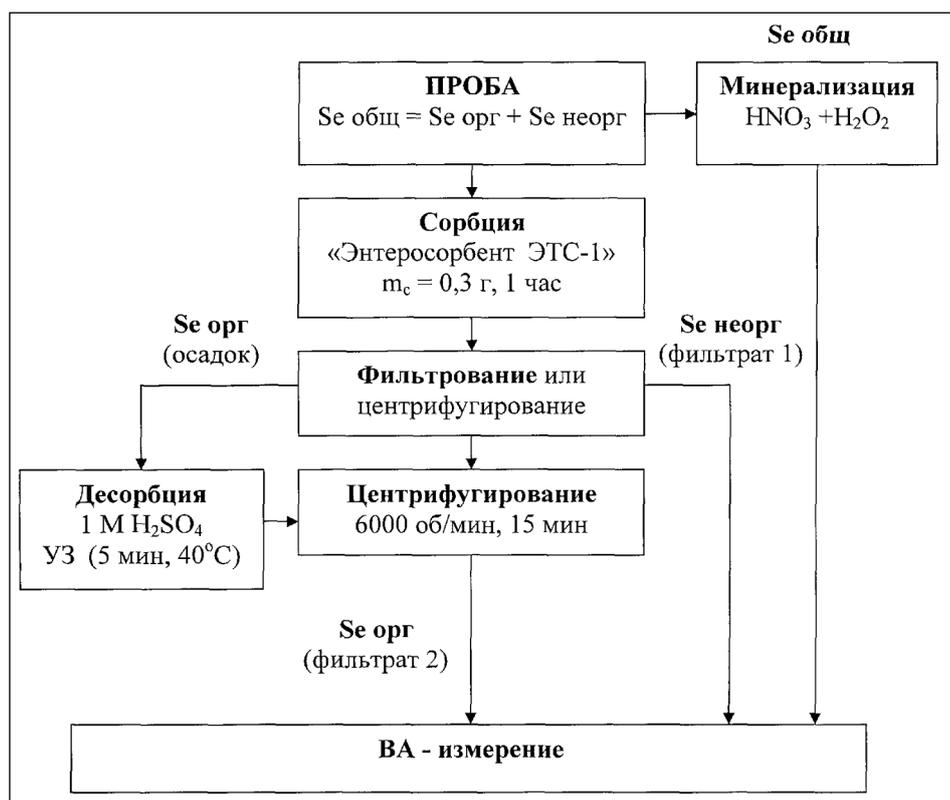


Рисунок. Общая схема пробоподготовки для определения общего содержания селена, его органических и неорганических форм методом вольтамперометрии.

тодики ВА-определения общего содержания селена, его органических и неорганических форм в кормах и кормовых добавках мы проанализировали образцы сенажа разнотравного, сена злакового, зерносмеси, полнораціонных кормов и сои в чистом виде и с добавлением известного количества неорганических и органических форм селена.

Оценку метрологических характеристик результатов измерений, назначение приписанных характеристик погрешности методики анализа и аттестацию разработанной методики измерений проводили в аккредитованной метрологической службе Томского политехнического университета (ТПУ), аккредитованной на право аттестации методик измерений и проведения метрологической экспертизы (аттестат аккредитации № РОСС RU 01.00143 от

На основании выбранных условий предложен алгоритм пробоподготовки для определения общего содержания селена, его органических и неорганических форм методом вольтамперометрии (см. рисунок).

Он предусматривает использование для определения общего содержания селена кислотной минерализации. Для разделения органических и неорганических форм этого минерального элемента в анализируемый раствор вводится навеска сорбента, на котором количественно сорбируются органические формы, а неорганические остаются в растворе. После фильтрации смеси в фильтрате методом вольтамперометрии определяется концентрация неорганических форм селена, а осадок подвергается дальнейшей обработке с целью выделения органических форм. Для этого проводится его ультразвуковая обработка в растворе серной кислоты, и после центрифугирования в надосадочной жидкости определяется концентрация органических форм селена.

Проверку правильности разработанной методики проводили методом «введено – найдено», в сравнении с методом, предложенным в МУ 08-47/247. Для этого в опытах 1 и 2 в модельные растворы вводили соответственно 0,020 и 0,040 мг/дм³ органического селена (Se орг.), в опытах 3 и 4 – такое же количество неорганического селена (Se неорг.), в опытах 5 и 6 – аналогичные количества Se орг. вводили на фоне 0,020 мг/дм³ Se неорг., в опытах 7 и 8 – на фоне 0,040 мг/дм³ Se неорг.

Для проверки возможности использования ме-

03.04.2008). Оценку характеристик погрешности осуществляли по ГОСТ Р ИСО 5725 – 1÷6 – 2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений», РМГ 61-2003 «Показатели точности, правильности и прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки».

Результаты и обсуждение. Мы установили, что наибольшей емкостью поглощения обладает «Энтеросорбент ЭТС-1» ($\alpha_1 = 0,02$ мг/г). Для активированного угля она составляет $\alpha_2 = 0,012$ мг/г, а самой низкой величиной этого показателя характеризуется сорбент «Полифепан» $\alpha_3 = 0,009$ мг/г. Поэтому дальнейшие исследования по выбору рабочих условий (масса сорбента, время экспозиции, pH) для разделения органических и неорганических форм селена проводили на «Энтеросорбенте ЭТС-1».

Определение необходимой массы сорбента показало, что для объектов с содержанием органических форм селена менее 0,5 мг/дм³ достаточно 0,15 г, а при величине этого показателя более 1 мг/дм³, ее необходимо повышать. Изучение зависимости емкости поглощения органической формы селена от pH раствора и времени сорбции показало, что наибольшая

Таблица 1. Проверка правильности вольтамперометрического определения форм селена в модельных смесях методом «введено-найденно» (P = 0,95, n = 3).

№ п/п	Введено, мг/дм ³		Найдено, мг/дм ³		
	Se неорг.	Se орг.	Se неорг.	Se орг.	Se общ.
1	не введено	0,020	менее 0,003	0,019 ± 0,002	0,021 ± 0,002
2	не введено	0,040	менее 0,003	0,038 ± 0,003	0,042 ± 0,003
3	0,020	не введено	0,021 ± 0,002	менее 0,003	0,022 ± 0,002
4	0,040	не введено	0,041 ± 0,003	менее 0,003	0,042 ± 0,003
5	0,020	0,020	0,019 ± 0,002	0,018 ± 0,002	0,040 ± 0,003
6	0,020	0,040	0,021 ± 0,002	0,038 ± 0,003	0,059 ± 0,004
7	0,040	0,020	0,042 ± 0,003	0,019 ± 0,002	0,063 ± 0,004
8	0,040	0,040	0,039 ± 0,003	0,038 ± 0,003	0,081 ± 0,005

Таблица 2. Содержание селена, его органических и неорганических форм в кормах, кормовых добавках и проверка правильности методики методом «введено-найдено» (P=0,95, n=3)

Объект	Содержание, мг/кг			МУ [6]
	предлагаемый способ	Se орг	Se неорг	
Сенаж разнотравный	менее 0,05	1,96 ± 0,12	1,98 ± 0,1	2,0 ± 0,1
Сенаж разнотравный + 0,50 мг/кг Se неорг				
+ 1,0 мг/кг Se орг	1,05 ± 0,05	2,36 ± 0,12	3,4 ± 0,2	3,56 ± 0,18
Сено злаковых	менее 0,05	0,64 ± 0,05	0,65 ± 0,05	0,68 ± 0,05
Сено злаковых + 1,0 мг/кг Se неорг				
+ 0,50 мг/кг Se орг	0,53 ± 0,04	1,60 ± 0,08	2,13 ± 0,13	2,1 ± 0,1
Зерно смесь	менее 0,05	менее 0,05	менее 0,05	менее 0,05
Зерно смесь + 0,50 мг/кг Se неорг				
+ 1,0 мг/кг Se орг	0,95 ± 0,08	0,51 ± 0,04	1,41 ± 0,08	1,48 ± 0,09
Полнорационные корма	менее 0,05	менее 0,05	менее 0,05	менее 0,05
Полнорационные корма + 1,0 мг/кг Se неорг				
+ 0,50 мг/кг Se орг	0,49 ± 0,04	0,98 ± 0,08	1,49 ± 0,09	1,51 ± 0,09
Соя	менее 0,05	менее 0,05	менее 0,05	менее 0,05
Соя + 0,50 мг/кг Se неорг				
+ 1,0 мг/кг Se орг	0,96 ± 0,08	0,51 ± 0,04	1,43 ± 0,08	1,49 ± 0,09

Стаканчики с осадком охлаждают, добавляют 10 см³ дистиллированной воды, 0,02 г сухой соли серноокислого гидразина и проверяют pH раствора. Значение pH пробы должно варьировать от 2 до 3, при необходимости его доводят до нужного уровня растворами H₂SO₄ или KOH. Вольтамперометрическое измерение содержания селена проводят по [7].

Определение органических и неорганических форм селена. На стадии пробоподготовки в чистый кварцевый стаканчик помещают навеску гомогенизованного образца массой 0,2...0,5 г, добавляют 10 см³ бидистиллированной воды и 0,30...0,40 г сорбента,

емкость поглощения «Энтерсорбента ЭСТ - 1» лежит в диапазоне pH 6...8, а его насыщение наступает через 60...70 мин. экспозиции.

В ходе исследований (табл. 1) мы установили, что органическая форма селена при pH =7 (опыты 1 и 2) практически полностью поглощается «Энтерсорбентом ЭСТ-1». Неорганический селен (опыты 3 и 4), наоборот, переходит в фильтрат. Поэтому в составе смеси можно определять наличие, как органической, так и неорганической форм этого элемента (опыты 5...8).

Правильность методики подтверждает совпадение суммы результатов определения органических и неорганических форм селена после сорбционного разделения с их общим содержанием в модельном растворе после минерализации проб. Показатель повторяемости (S_r, %) результатов измерений не превышает 11 %.

На основании полученных результатов предложена методика ВА-определения общего содержания селена, его органических и неорганических форм в кормах и кормовых добавках, которая включает несколько стадий.

Определение общего содержания селена. В чистый кварцевый стаканчик объемом 20...25 см³ помещают навеску гомогенизованного образца массой 0,2...0,5 г, смачивают бидистиллированной водой, добавляют 2...3 см³ концентрированной перегнанной азотной кислоты и 0,5 см³ раствора магния азотнокислого в концентрации 75,0 г/дм³.

Стаканчик помещают в комплекс пробоподготовки «Темос-Экспресс» и при температуре 90...95 °C выдерживают до полного растворения пробы. Затем добавляют 0,5 см³ перекиси водорода и 1,5 см³ концентрированной азотной кислоты. Раствор упаривают при температуре 120...125 °C до влажных солей — эту процедуру повторяют 4-5 раз, последний раз пробу упаривают до сухого остатка.

Затем температуру поднимают до 450 ± 10 °C и выдерживают пробу 30 мин. После прокаливании остаток в стаканчике не должен содержать черных включений, в противном случае операцию обработки концентрированной азотной кислотой и пероксидом водорода повторяют.

закрывают пробкой и оставляют на 1 час, периодически помешивая. Полученную смесь фильтруют через фильтровальную бумагу. В полученный фильтрат добавляют 0,02 г сухой соли серноокислого гидразина и проверяют pH раствора. При необходимости его величину корректируют. Вольтамперометрическое измерение проводят по [7].

Осадок, оставшийся на фильтре, смывают в пробирку дистиллированной водой в количестве 8...9 см³ и добавляют 2 см³ 1M H₂SO₄. После перемешивания пробирку со смесью закрывают пробкой и помещают в ультразвуковую ванну. Ультразвуковую обработку проводят в течение 5 мин. при мощности W = 110 ± 22 Вт, частоте F = 20,35...23,65 кГц и температуре 40°C. Охлажденную до комнатной температуры смесь разделяют на центрифуге в течение 15 мин, 6000 об/мин. Далее в полученный раствор добавляют 0,02 г сухой соли серноокислого гидразина, при необходимости корректируют pH и проводят измерение содержания селена по [7].

Анализ реальных объектов на общее содержание селена, его органических и неорганических форм методом вольтамперометрии с использованием предложенного алгоритма пробоподготовки и сравнение его результатов с данными, полученными по МУ [6], показали, что они совпадают (табл. 2).

Разработанный способ пробоподготовки прост, не требует большого количества реактивов и трудозатрат. Стадия сорбции позволяет разделить неорганические и органические формы селена и сокращает время поободготовки до 1,5 ч.

В результате аттестации методики выполнения измерений установлено, что она соответствует предъявляемым метрологическим требованиям. Погрешность (показатель точности) для селена и его неорганической формы в диапазоне измерений от 0,05 до 80 мг/кг не превышает 25 %, для органической формы селена в диапазоне от 0,05 до 25 мг/кг – 22 %.

Выводы. На основании предложенного способа пробоподготовки разработана методика вольтамперометрического метода измерения массовых концентраций селена, а также его органических и неорганических

форм в кормах и кормовых добавках. Погрешность методики для селена и его неорганической формы в диапазоне измерений от 0,05 до 80 мг/кг не превышает 25 %, для органической формы селена в диапазоне от 0,05 до 25 мг/кг – 22 %.

Авторы благодарят заведующую лабораторией биологически активных веществ Сибирского НИИ сельского хозяйства и торфа Россельхозакадемии кандидата химических наук Л.В. Касимову за предоставленный «Энтеросорбент ЭТС-1».

Литература.

1. СанПиН 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы
2. Ермаков В. В., Ковальский В. В. Биологическое значение селена. – М.: Наука, 1974. – 294 с.
3. Тутельян В.А., Княжев В.А., Хотимченко С.А. и др. Селен в организме человека: метаболизм, антиоксидантные свойства, роль в канцерогенезе. – М.: Издательство РАМН, 2002. – 224 с.
4. Дерябина В. И., Захарова Э. А., Слепченко Г. Б. Вольтамперометрический контроль растительного сырья и БАД на содержание общего селена с использованием отгонки SeBr[4] // Хранение и перераб. сельхозсырья. – 2009. – № 8. – с. 47-49
5. Определение селена (4+) методом катодной инверсионной вольтамперометрии с применением ртутно-пленочного электрода, модифицированного медью / Зайцев Н. К., Осипова Е. А., Федулов Д. М., Еременко Е. А., Дедов А. Г. // Ж. англ. химии. – 2006. – Т. 61; № 1. – с. 85-91.
6. МУ 08-47/247, ФР.1.31.2011.09196. Зерно и продукты его переработки, силос из зеленых растений, корма, комбикорма, комбикормовое сырье и кормовые добавки. Инверсионно-вольтамперометрическая методика определения содержания железа, йода, кобальта, марганца, мышьяка, никеля, ртути и селена. – Томск.: Изд-во ТПУ, 2010. – 69 с.
7. МУ 08-47/305, ФР.1.31.2012.11866. Вода питьевая, природная и минеральная. Вольтамперометрический метод измерения массовых концентраций йода и селена.
8. Шевелева И.В., Холмейдик А.Н., Войт А.В., Земнухова Л.А. Сорбенты на основе рисовой шелухи для удаления ионов Fe (III), Cu (II), Cd (II), Pb (II) из растворов. // Химия растительного сырья. – 2009. – №4. – С. 171-176.

VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF FORM OF SELENIUM IN THE STERN USING NATURAL SORBENTS

V.I. Deryabina, G.B. Slepchenko, Pham Cam Nhung, T.V. Lycheva, L.A. Malinovskaya

Summary. The aim of this research was to develop a new method of separation of selenium forms in natural sorbents and methods of quantitative chemical analysis of the total selenium content and its organic and inorganic forms in feed and feed additives by voltammetry. Researches on the choice of natural sorbent to the separation of organic and inorganic forms of selenium in model solutions carried out. As the absorption capacity sorbents are as follows: «Enterosorbent ECT-1» > «Polyhepan» > activated carbon. On the basis of experimental data for the separation of organic and inorganic selenium forms on the «Enterosorbent ECT-1», operating conditions selected: exposure time 60 sec, pH 7, 0.3 g sorbent mass, and a method for preparing samples for determination of total selenium content and its organic and inorganic forms by voltammetry method. To determine the total selenium content the acid mineralization was used. For the separation of organic and inorganic selenium forms in analyzing solution the batch of the sorbent was injected, and the organic selenium forms quantitatively adsorbed on the «Enterosorbent EST -1», and the inorganic forms remained in the solution. After filtering of the mixture, a concentration of inorganic selenium forms was determined in the filtrate by the VA, and the residue was subjected to ultrasonic treatment in 1 mol/dm³ sulfuric acid solution, and after centrifugation a concentration of organic selenium forms in the supernatant was determined. On the basis of the proposed method of sample preparation, the voltammetric method for measuring mass concentrations of selenium and its inorganic and organic forms was developed. Validation of this method carried out by the «entered-found» method and by a comparison with the method proposed by the other methods. Error of this method for selenium and its inorganic form does not exceed 25 % in the range from 0.05 to 80 mg / kg and for the organic forms of selenium – 22% in the range of 0.05 to 25 mg / kg.

Key words: voltammetry, method, sample preparation, sorption, organic and inorganic selenium forms, feed, feed additives.

УДК 636.012: 575.174.015.3

ХАРАКТЕРИСТИКА АЛЛЕЛОФОНДА ОВЕЦ ЮГА РОССИИ*

Е.А. ГЛАДЫРЬ, кандидат биологических наук, зав. лабораторией

Н.А. ЗИНОВЬЕВА, академик РАСХН, директор

ВИЖ Россельхозакадемии

С.С. БУРЫЛОВА, аспирант

М.И. СЕЛИОНОВА, доктор биологических наук, зав. кафедрой

Ставропольский ГАУ

Л.Г. МОИСЕЙКИНА, доктор биологических наук, профессор

Калмыцкий ГУ

Л.К. ЭРНСТ, академик РАСХН

Г. БРЕМ, доктор ветеринарных наук, иностранный член РАСХН, профессор

Венский ветеринарно-медицинский университет

E-mail: elenagladyr@mail.ru

Резюме. С использованием 11 микросателлитных маркеров (HSC, OarAE119, OarCP49, OarFCB11, MAF214, MCM42, TGLA53, MAF65, McM527, INRA49, OarFCB20) в качестве инструмента анализа аллелофонда дана популяционно-генетическая характеристика трех тонкорунных пород овец юга России (ставропольская, грозненская, советский меринос). Исследуемые породы характеризуются высоким уровнем генетического разнообразия. Среднее число аллелей на локус микросателлитов составляет 10,4...12,3, при этом эффективное число аллелей на

* Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ, шифр 2012-1.4-12-000-1001-010. В проведении исследований использовано оборудование ЦКП «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ВИЖ Россельхозакадемии.