

Afd. Anorganische Contaminanten 1985-11-20

RAPPORT 85.108

Pr.nr. 505.0500

Onderwerp: De bepaling van seleen in voeder-  
en voedingsmiddelen m.b.v. het  
Perkin Elmer MHS-20 systeem.

Verzendlijst: Directeur, Sektorhoofden, Direktie VKA, afdeling Anorga-  
nische Contaminanten (8x), Projektbeheer, Projektleider  
(Van Delft), Bibliotheek (2x), circulatie, AGRALIN.




Bij bovengenoemde instelling van de verschillende parameters worden de door de fabrikant opgegeven kwalifikaties ruimschoots gehaald, met uitzondering van het opgegeven lineair meetbereik.

Bij aanwezigheid van tin, koper en arseen in de meetoplossing kan een reductie van het seleensignaal optreden. De analyse wordt daarom met behulp van de standaardadditiemethode uitgevoerd. Bij relatief hoge tinconcentraties treedt een hardnekkige vervuiling van de kuvet op, waardoor de vereiste gevoeligheid en reproduceerbaarheid niet langer worden bereikt.


Bij 10-voudige analyse van een referentiemonster met een gecertificeerd gehalte van  $0,71 \pm 0,07$  mg Se/kg werd een gemiddeld gehalte van  $0,73$  mg Se/kg (V.C. = 10%) gevonden.

De detektiegrens, bepaald als 3 $\sigma$  van de blanco-bepaling, bedraagt voor voeder- en voedingsmiddelen  $0,005$  mg Se/kg op basis van droog produkt. Ontsluiting van seleen, na voorverassen met salpeterzuur en magnesiumnitraat heeft de voorkeur boven de tot op heden toegepaste verassing met magnesiumnitraat en magnesiumoxide. De ontsluiting na voorverassen met salpeterzuur en magnesiumnitraat neemt aanzienlijk minder tijd in beslag. Bovendien is het nu mogelijk in hetzelfde destruaat naast seleen ook arseen te bepalen m.b.v. de hydridegeneratie techniek.

---

Verantwoordelijk: dr G. Vos 

Medewerkers/samenstellers: H.J. Horstman, W. van Delft, dr G. Vos

Projectleider: W. van Delft 

Projekt: Ontwikkeling methoden voor het aantonen en bepalen van diverse zware metalen en spoorelementen.

Onderwerp: De bepaling van seleen in voeder- en voedingsmiddelen m.b.v. het Perkin Elmer MHS-20 systeem.

Bijlagen: 1.

---

Doel:

Vaststellen van de optimale meetcondities voor de bepaling van seleen met behulp van het Perkin Elmer MHS-20 systeem.

Vergelijken van diverse ontsluitingsmethoden voor seleen in voeder- en voedingsmiddelen.

Samenvatting:

De verschillende parameters, welke van invloed kunnen zijn op de meting van seleen met behulp van het MHS-20 systeem, werden onderzocht en geoptimaliseerd. De invloed van mogelijke interfererende elementen werd onderzocht. De herhaalbaarheid en detectiegrens van de analysemethode werden bepaald. Onderzoek is verricht naar de invloed van de verschillende destructiemethoden op de bepaling van het seleengehalte in voeder- en voedingsmiddelen.

Conclusie:

De optimale meetcondities voor de bepaling van seleen met behulp van het MHS-20 systeem zijn:

- temperatuur meetcel : 900°C
- matrix meetoplossing : 2 M HCl
- concentratie NaBH<sub>4</sub> oplossing : 3%, in 1% NaOH
- voorflush stikstof ("PURGE I") : 35 sec.
- reaktietijd ("REACTION"): 10 sec.
- naflush stikstof ("PURGE II") : 25 sec.

## Inhoud

1. Inleiding
2. Experimentele gegevens
3. Resultaten en discussie
  - 3.1 Standaardcondities
  - 3.2 Optimalisering van de meting
  - 3.3 Storingen
  - 3.4 Lineair meetbereik en gevoeligheid
  - 3.5 Betrouwbaarheid, herhaalbaarheid en detectiegrens van de methode
  - 3.6 De ontsluiting van seleen in voeder- en voedingsmiddelen
4. Conclusies

Bijlage 1: RIKILT-analysevoorschrift ACON 4

## 1. Inleiding

Voor de bepaling van het seleengehalte in voeder- en voedingsmiddelen wordt gebruik gemaakt van atomaire absorptie spectrometrie, waarbij de hydridegeneratie techniek wordt toegepast.

Deze methode is gebaseerd op de vorming van het vluchtige seleenhydride na toevoeging van natriumboorhydride aan het sterk zure destruaat.

Door middel van een stikstofgasstroom wordt het seleenhydride met het eveneens gevormde waterstofgas naar een verhitte kwarts kuvet geleid, alwaar ontleding van het hydride in atomaire damp en waterstof plaatsvindt. De atomaire absorptie wordt gemeten bij 196,0 nm.

De bepaling wordt uitgevoerd met de nieuwe apparatuur, de AAS 2380 en het MHS-20 van Perkin Elmer, waarover het RIKILT sinds begin 1985 beschikt.

Een belangrijk voordeel van het MHS-20 systeem is de flexibiliteit bij de instelling van de diverse parameters. De temperatuur van de kuvet wordt gevolgd door een sensor in de verwarmingsmantel en op de geselecteerde waarde gehouden door een terugkoppelingssysteem. Tevens beschikt het MHS-20 systeem over een verbeterde constructie van het reaktievat, hetgeen leidt tot een effectievere en meer reproduceerbare hydridegeneratie.

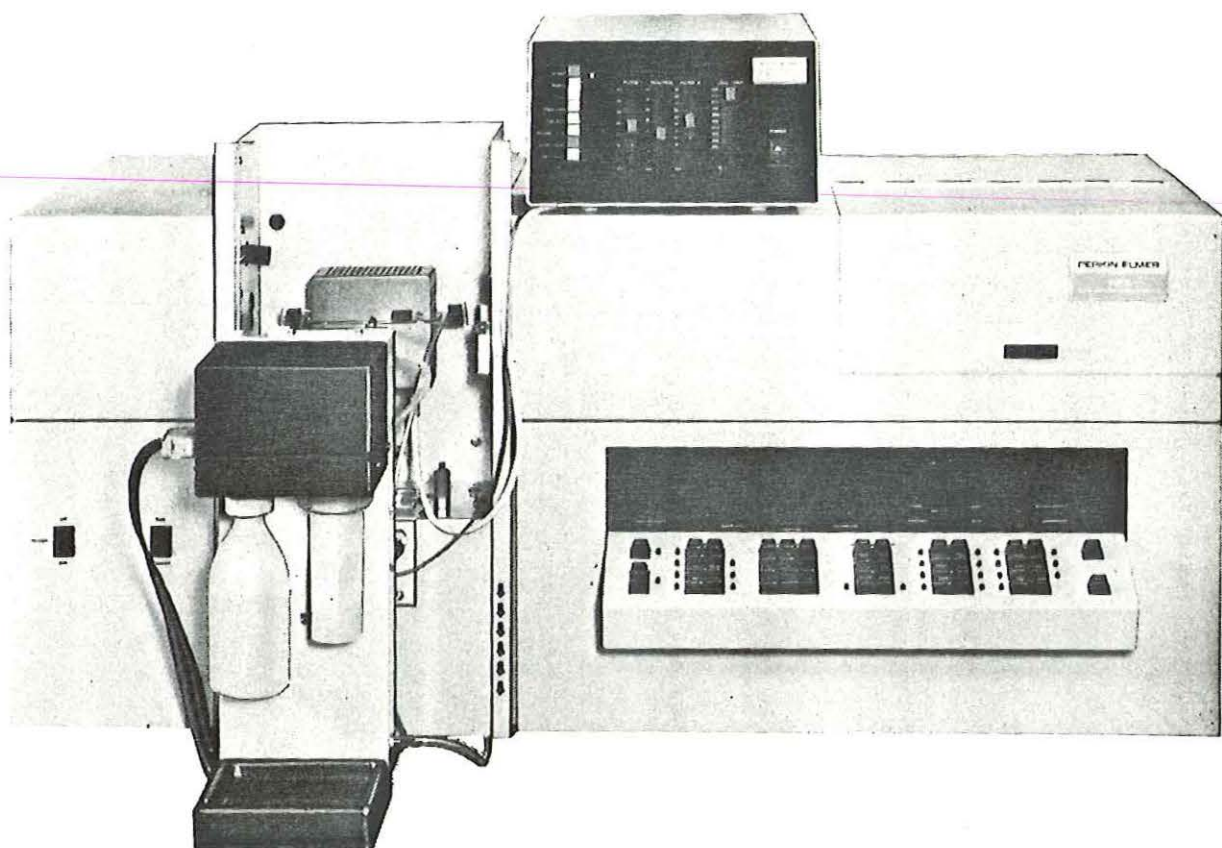
De optimale meetcondities voor het MHS-20 systeem kunnen in verband met bovengenoemde verbeteringen in belangrijke mate afwijken van de oude apparatuur.

Rekening houdend met de reeds toegepaste destruktiemethode en met de door de fabrikant opgegeven standaardcondities als basis, is de meting van seleen m.b.v. het MHS-20 systeem geoptimaliseerd.

De hydridegeneratie techniek is gevoelig voor interferenties door de aanwezigheid van bepaalde metalen of andere hydridevormende elementen in de meetoplossing. Eventuele storingen als gevolg van de aanwezigheid van koper, nikkel, ijzer, arseen of tin zijn onderzocht d.m.v. addities van deze elementen aan seleenstandaarden.

Tenslotte is in het kader van dit onderzoek de tot op heden toegepaste verassingsmethode met magnesiumnitraat en magnesiumoxide vergeleken met twee variaties op deze methode en met een ontsluiting na voorverassen met salpeterzuur en magnesiumnitraat, die ook voor arseen wordt toegepast. De asrest wordt in alle gevallen opgenomen in warm 5 N zoutzuur, waarbij het zeswaardig seleen wordt gereduceerd naar vierwaardig seleen, dat met boorhydride het vluchtige seleenhydride vormt.





Figuur 1: Opstelling van het MHS-20 systeem met een spectrofotometer.

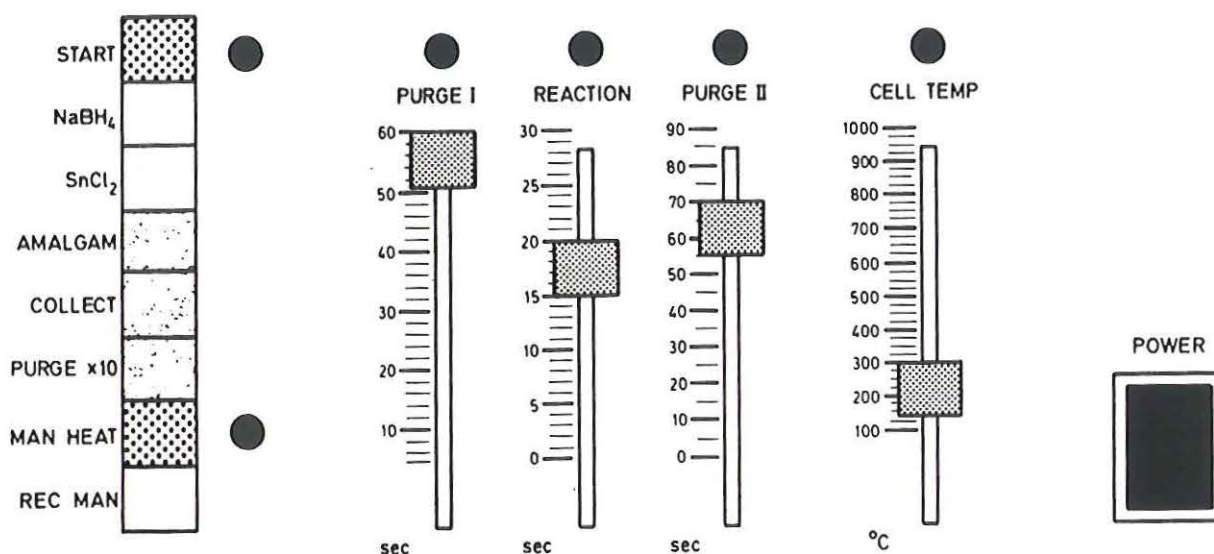
## 2. Experimentele gegevens

De generatie van seleenhydride wordt uitgevoerd m.b.v. het Perkin Elmer MHS-20 systeem (figuur 1). Dit systeem bestaat uit een controle-eenheid, een verwarmingsmantel, waarin een kwarts kuvet is geplaatst en een analyse-opstelling.

De verwarmingsmantel wordt in het monstercompartiment van de spectrofotometer geïnstalleerd en zodanig uitgelijnd dat de kuvet zich optimaal in de lichtweg bevindt. De analyse-opstelling wordt voor het monstercompartiment van de spectrofotometer geplaatst, waardoor de slangverbinding naar de kuvet zo kort mogelijk wordt gehouden.

De opstelling bevat een reaktievat, een reservoir voor de boorhydride-oplossing en alle componenten voor de sturing van het draaggas en het transport van het boorhydride naar het reaktievat.

De controle-eenheid bevat de voeding voor de verwarmingsmantel en alle besturingslogica voor het automatisch afwerken van het geselecteerde analyseprogramma. Alle instrumentele parameters worden ingesteld op het frontpaneel van de controle-eenheid (figuur 2).



Figuur 2: Frontpaneel van de controle-eenheid van het MHS-20 systeem.

Wanneer het reaktievat aan het systeem bevestigd is kan gestart worden met de meetprocedure. Het systeem wordt met stikstof zuurstofvrij gemaakt met de stap "PURGE I". Dit dient te gebeuren omdat tijdens het toevoegen van natriumboorhydride waterstof wordt gevormd. Bovendien absorbeert zuurstof licht bij 196,0 nm.

Tijdens de stap "REACTION" wordt gedurende de ingestelde tijd natriumboorhydride aan de meetoplossing toegevoerd. Door middel van een stikstofgasstroom wordt het seleenhydride met het eveneens gevormde waterstofgas naar de verhitte kwartskuvet geleid, alwaar ontleding van het hydride in atomaire damp en waterstof plaatsvindt. Vervolgens wordt in de laatste stap, "PURGE II", het systeem met stikstof nagespoeld.



De atomaire absorptie wordt gemeten bij 196,0 nm met behulp van de Perkin Elmer AAS-2380 atomaire absorptie spectrofotometer.

Het absorptiesignaal wordt geregistreerd met behulp van een Kipp BD 40 recorder. Van de absorptie signalen wordt de piekhoogte opgemeten. Er wordt zonder achtergrondcorrectie gemeten.

Ter optimalisering van de seleenmeting zijn de volgende parameters onderzocht: temperatuur van de meetcel, concentratie en volume van de toegevoegde natriumtetrahydroboraat-oplossing, zoutzuurconcentratie, volume van de meetoplossing en tijdsduur van de voor- en na flush met stikstof.

Storingen welke op kunnen treden bij de meting in aanwezigheid van koper, nikkel, ijzer, arseen of tin zijn onderzocht door middel van additie van bovengenoemde elementen aan seleenstandaarden.

Het lineaire verband tussen piekhoogte en hoeveelheid seleen in de meetoplossing is onderzocht door een aantal standaardoplossingen te meten met toenemende seleenconcentratie.

Hetzelfde is gedaan door aan een monsteroplossing toenemende hoeveelheden seleen toe te voegen.

Bij de tot op heden gevolgde ontsluitingsprocedure wordt in een beker-glas 1 gram monster met 4 gram magnesiumnitraat, 0,5 gram magnesiumoxide en 10 ml water gemengd en vervolgens gedurende 16 uur in een droogstof bij 100°C gedroogd. Hierna wordt het monster in een moffeloven na geleidelijk opwarmen (ca. 50°C per uur) gedurende ca. 8 uur bij 450°C verast. Gebleken is, dat hierbij regelmatig monstermateriaal door de moffeloven dwarrelt, hetgeen kan leiden tot verlies van seleen, danwel tot contaminatie tijdens de ontsluiting.

Bij ca. 330°C dissocieert magnesiumnitraat. Wordt deze temperatuur relatief snel gepasseerd dan kan dit aanleiding geven tot het spatten van de monsters.

Teneinde dit effect tegen te gaan is de opwarmprocedure van de moffeloven gewijzigd. Nadat het monster in de moffeloven is geplaatst wordt deze snel opgewarmd naar 300°C. Na ca. 3 uur wordt verder verast bij 450°C.

Gezien de duur van de ontsluiting is getracht de eerste stap te elimineren door in een beker-glas 1 gram monster met 4 gram magnesiumnitraat en 0,5 gram magnesiumoxide te mengen, gedurende 1 uur te drogen bij 100°C en hierna volgens gewijzigde opwarmprocedure te verassen.

Tenslotte is nog een ontsluiting na voorverassing met salpeterzuur en magnesiumnitraat toegepast. In een bekeerglas wordt 1 gram monster en 4 gram magnesiumnitraat met 5 ml geconcentreerd salpeterzuur gemengd, waarna wordt drooggedampt op een verwarmingsplaat. Vervolgens wordt het monster in een moffeloven geplaatst en na geleidelijk opwarmen (ca. 50°C per uur) gedurende 8 uur bij 450°C verast.

Deze methode wordt reeds met succes voor de ontsluiting van arseen in voeder- en voedingsmiddelen toegepast.

De hierboven beschreven ontsluitingsmethoden zijn getest met vier verschillende typen monsters waarvan het seleengehalte reeds bekend is. Na de destructie wordt de asrest opgenomen in 20 ml 5 N zoutzuur. Ten einde het zeswaardig seleen te reduceren naar vierwaardig seleen wordt gedurende 1 uur op een kokend waterbad verwarmd. Na afkoelen wordt de oplossing met water overgespoeld naar een maatkolf van 50 ml, aangevuld en gehomogeniseerd.

### 3. Resultaten en discussie

#### 3.1 Standaardcondities volgens Perkin Elmer

Instelling PE-AAS 2380 (atomaire absorptie spectrofotometer)

Golflengte : 196,0 nm  
Spectrale bandbreedte: 2,0 nm, ALT  
Stralingsbron : EDL-seleen lamp 8 Watt  
Ruisonderdrukking : RECORDER TC 2  
Expansiefaktie : 3 of 4  
"Signal" : CONCENTRATION  
Achtergrondcorrectie : nee

Instelling PE-MHS 20 (hydridegeneratie systeem)

Mode : NaBH<sub>4</sub>  
Purge I : 35 sec.  
Reaction : 8 sec.  
Purge II : 40 sec.  
Temperature : 900°C.

Instelling Kipp-BD 40 (recorder)

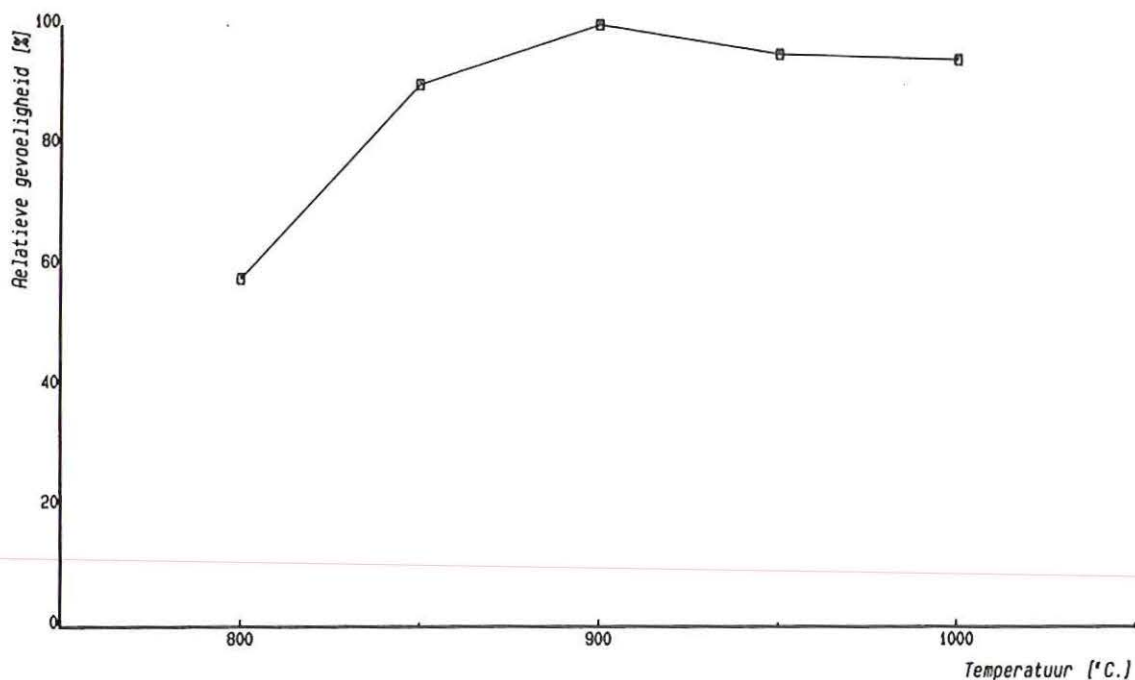
Gevoeligheid : 10 mV  
Papiersnelheid : 0,2 mm/sec  
Knop-OFF : ingedrukt

Meetvolume : 10 ml  
Matrix : 1,5% HCl  
Reduktiemiddel : 3% NaBH<sub>4</sub> in 1% NaOH

### 3.2 Optimalisering van de meting

#### 3.2.1 Temperatuur meetcel

Volgens de in 3.1 vermelde standaardcondities van Perkin Elmer wordt bij een temperatuur van de meetcel van 900°C een optimale gevoeligheid verkregen.



Figuur 3: De invloed van de temperatuur van de meetcel op het seleensignaal; standaardcondities, behalve 'REACTION': 10 seconden.

Figuur 3 toont de invloed van de temperatuur van de meetcel op het seleensignaal. Inderdaad wordt bij 900°C de maximale gevoeligheid bereikt.



### 3.2.2 Concentratie en volume van de toegevoegde natriumtetrahydroboraatoplossing (NaBH<sub>4</sub>)

De concentratie van de NaBH<sub>4</sub>-oplossing en de lengte van de "REACTION"-stap bepalen de hoeveelheid natriumtetrahydroboraat die aan de meetoplossing wordt toegevoegd. Tijdens de "REACTION"-stap wordt ca. 40 ml reductiemiddel per minuut aan de meetoplossing toegevoegd. De invloed van de hoeveelheid reductiemiddel op het meetsignaal is bestudeerd door zowel de "REACTION"-tijd (tussen 4 en 12 sec) als de natriumtetrahydroboraatconcentratie (2, 3, 4, 5 en 6%) te variëren.

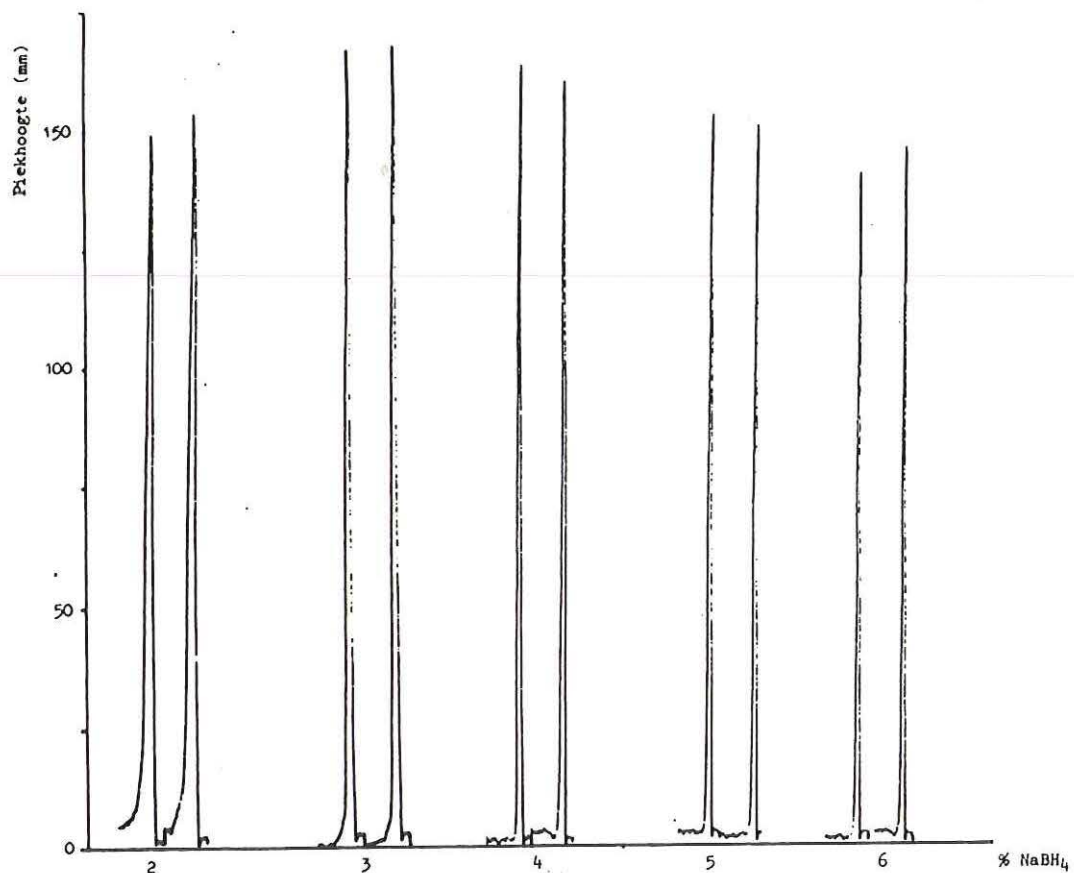
Uit de resultaten blijkt dat met 3, 4, 5 en 6% NaBH<sub>4</sub> de maximale gevoeligheid wordt bereikt tussen 6 en 10 sec. Met 4, 5 en 6% NaBH<sub>4</sub> neemt de gevoeligheid met toenemende "REACTION"-tijd weer af, terwijl met 3%-ig NaBH<sub>4</sub> de hoogte van het absorptiesignaal bij de verschillende tijden konstant blijft.

Met toenemende NaBH<sub>4</sub>-concentratie wordt het absorptiesignaal steeds scherper en daardoor misschien minder reproduceerbaar. Figuur 4 toont de invloed van de concentratie van de NaBH<sub>4</sub>-oplossing op het meetsignaal van 40 ng seleen.

De in de standaardcondities opgegeven 3% NaBH<sub>4</sub>-oplossing voldoet goed, echter om van een volledige omzetting tot seleenhydride verzekerd te zijn is de "REACTION"-tijd ingesteld op 10 sec.

Om de houdbaarheid van de natriumtetrahydroboraatoplossing te verlengen is de oplossing 1%-ig aan natronloog. Volgens Perkin Elmer is deze oplossing enkele dagen houdbaar. Na één dag blijken er zich hardnekkige waterstofbelletjes te vormen. De metingen zijn hierdoor minder reproduceerbaar, terwijl de gevoeligheid iets terugloopt.





Figuur 4 : Invloed van de natriumtetrahydroboraat-concentratie op het meetsignaal; standaardcondities, behalve REACTION : 10 seconden.

### 3.2.3 Zoutzuurconcentratie van de meetoplossing

Zeswaardig seleen wordt moeilijk tot seleenhydride omgezet. Door de asresten van voeder- en voedingsmiddelen in 5 M zoutzuur te verwarmen wordt aanwezig zeswaardig seleen omgezet naar de vierwaardige vorm. De meetoplossing is uiteindelijk 2 molair aan zoutzuur (ca. 6,5%).

Een voordeel van deze hoge zoutzuurconcentratie is dat er minder interferenties optreden (zie 3.3).

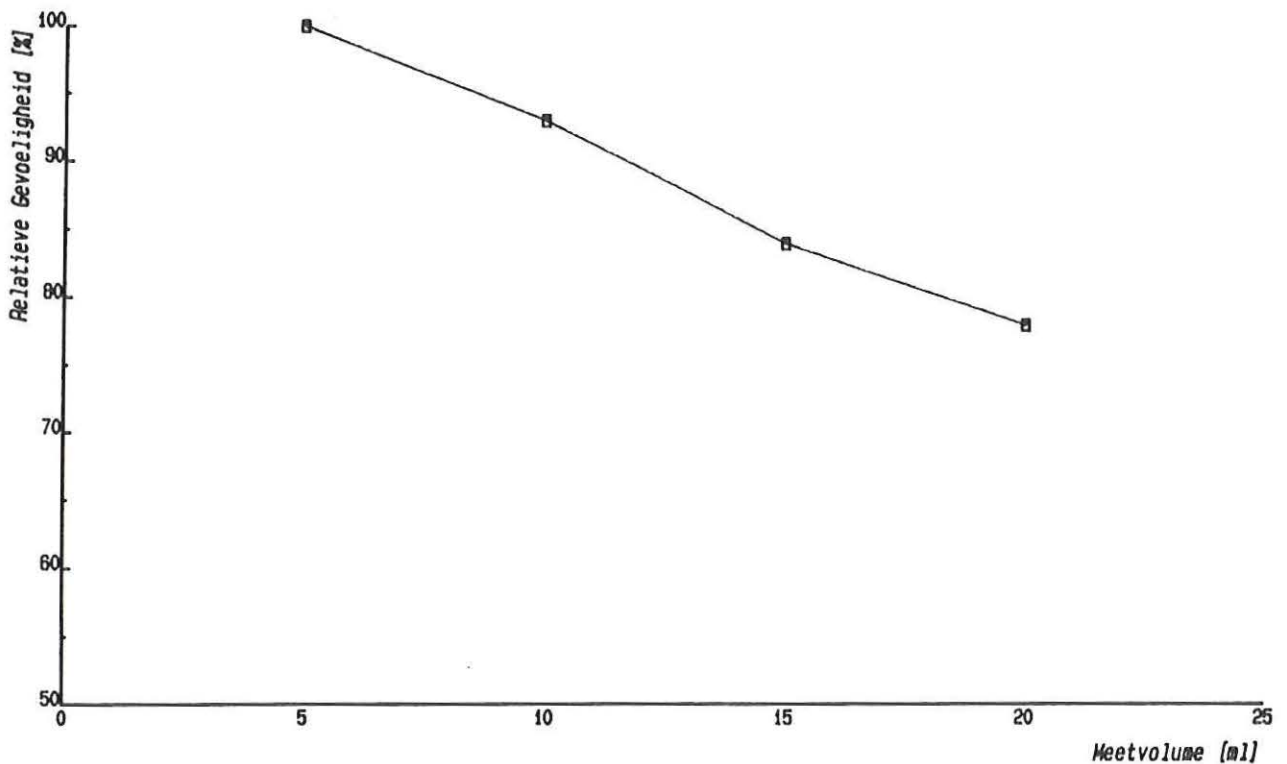
Volgens de standaardcondities wordt in 1,5% zoutzuur gemeten. Een standaardoplossing die 40 ng seleen bevatte werd in 1,5; 3; 4,5; 6 en 7,5%-ig zoutzuur gemeten.

Uit de meetresultaten blijkt dat de zoutzuurconcentratie totaal geen invloed heeft op de gevoeligheid van de meting.

De volgende experimenten zijn dan ook in 2 molair zoutzuur uitgevoerd.

#### 3.2.4 Volume van de meetoplossing

Bij toepassing van de hydridegeneratie techniek is het meetvolume een kritische faktor. Een standaardoplossing die 40 ng seleen bevatte is in 5, 10, 15 en 20 ml meetoplossing gemeten.



Figuur 5: De invloed van het meetvolume op het meetsignaal van 40 ng seleen.

Uit figuur 5 blijkt dat de gevoeligheid afneemt met toenemend volume van de meetoplossing.

Perkin Elmer stelt, dat voor een betrouwbare meting het volume van de meetoplossing minimaal 10 ml moet zijn.

Geringere volumina zouden mogelijk tot een slechtere reproduceerbaarheid kunnen leiden. Hoewel dit in eerste instantie niet uit onze experimenten bleek is, mede gezien het beperkte verschil in gevoeligheid tussen 5 en 10 ml, voor het verdere onderzoek het meetvolume op 10 ml gehouden.

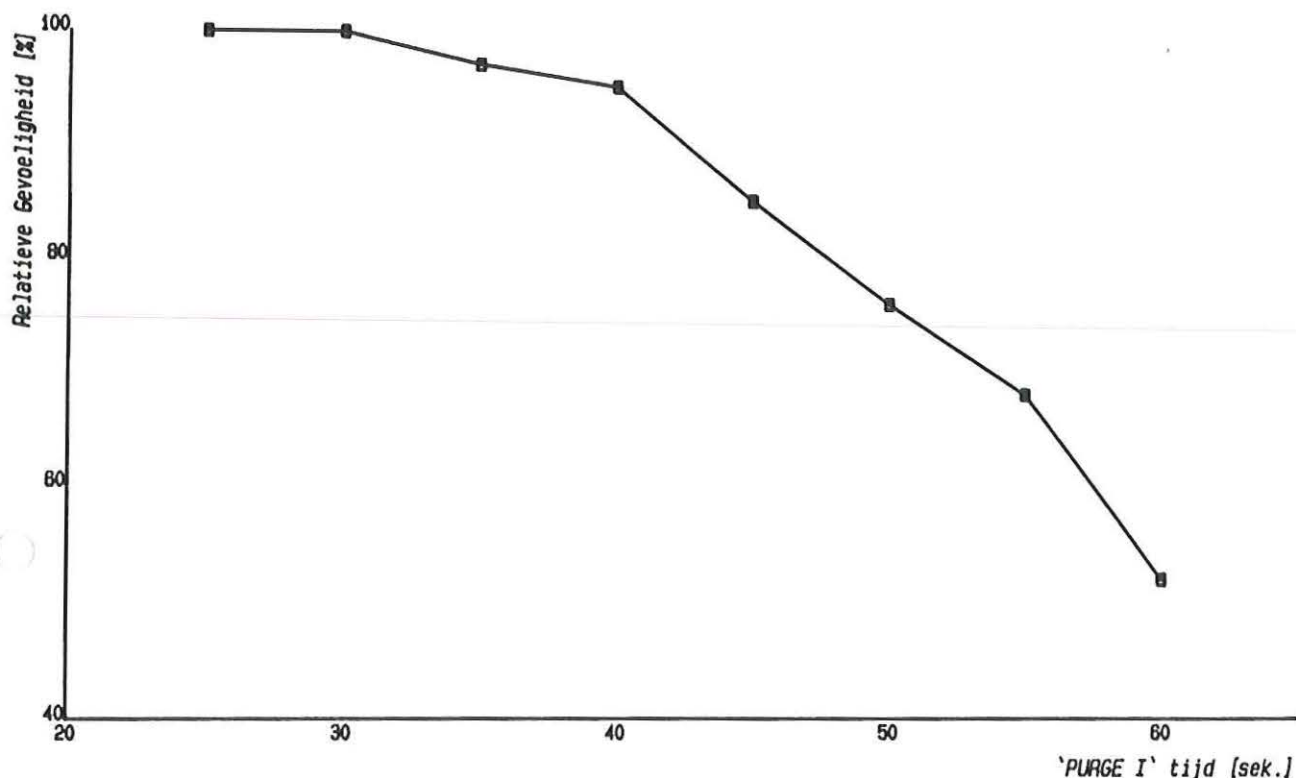
### 3.2.5 Invloed stikstofflush

Het doorleiden van een inert gas (stikstof of argon) heeft bij MHS-systemen 2 functies: a. het verwijderen van lucht uit het systeem vóór de meting (Purge I) en b. het verwijderen van het element uit het systeem na de meting (Purge II).

De Purge II stap heeft geen invloed op de gevoeligheid van de meting. De tijdsduur van de Purge II-stap wordt zodanig ingesteld, dat het absorptiesignaal na de reaktiestap volledig terugkeert naar de basislijn. Het verwijderen van de lucht uit het systeem door middel van Purge I is noodzakelijk om de vorming van een potentieel explosief lucht/waterstof mengsel te voorkomen. Hiervoor is een purgetijd van minimaal 25 seconden benodigd. Verlenging van deze stap resulteert in een reductie van de gevoeligheid.

Figuur 6 toont de relatieve gevoeligheid van de meting ten opzichte van die bij een flush van 25 sec voor "PURGE I"-tijden variërend tussen 25 en 60 sec.

Bij een voorpurge van 60 sec wordt nog maar de helft van de oorspronkelijke gevoeligheid teruggevonden. Deze drastische afname in de gevoeligheid wordt mogelijk veroorzaakt door een vermindering van de hoeveelheid zuurstof in de meetcel bij het verlengen van de genoemde purgegasstroom. Welz en Melcher (Analyst 108 (1983) 213) suggereerden, dat zuurstof als een soort "katalysator" optreedt voor de atomisatie van hydride vormende elementen. De aanwezigheid van zuurstof in de kwartscuvet resulteert, mogelijk via een directe reactie met waterstof, in een hoge concentratie aan waterstofradicalen in de cel, hetgeen van belang is voor een efficiënte dissociatie van  $\text{SeH}_2$ . Welz en Melcher vonden bij een purgetijd van 60 seconden nog een relatieve gevoeligheid van ca. 80%.



Figuur 6: De invloed van de tijdsduur van de 'PURGE I' stap op het seleensignaal.

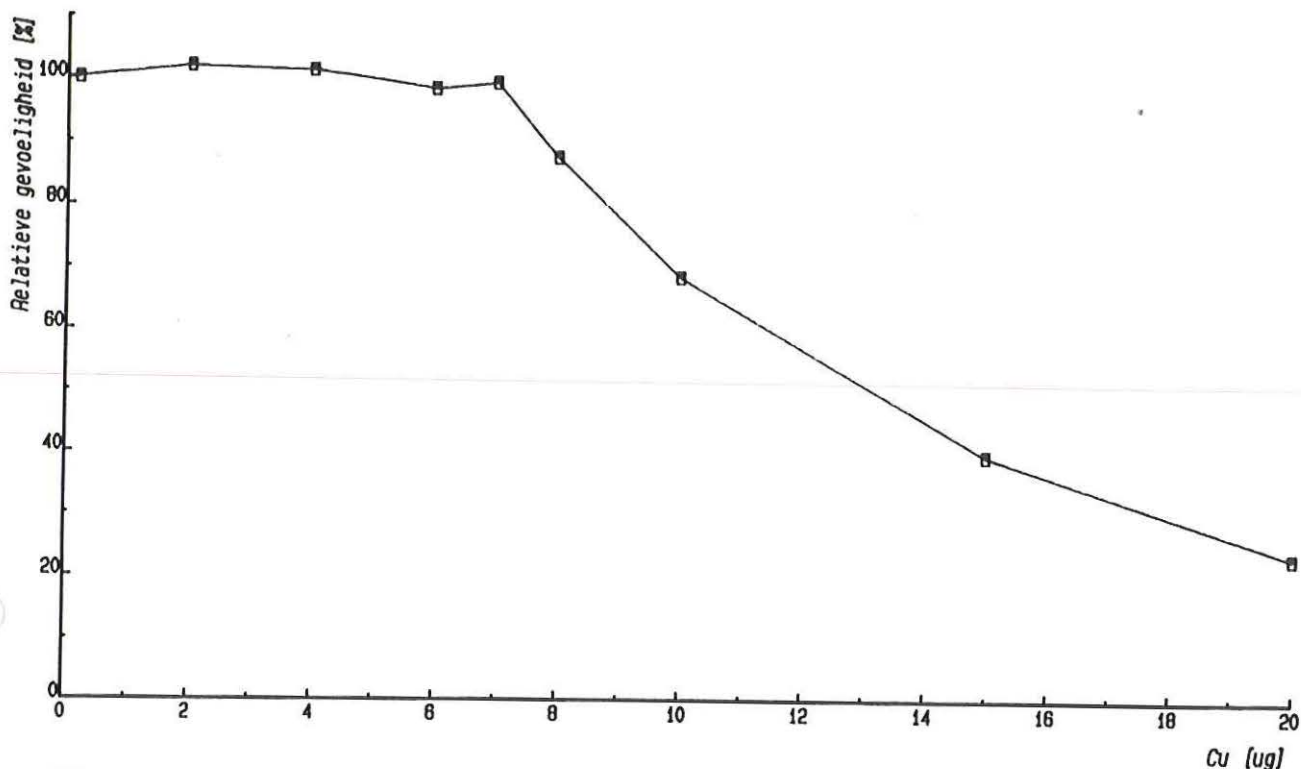
### 3.3 Storingen

In de literatuur wordt melding gemaakt van diverse elementen die de bepaling van seleen kunnen storen. Op grond van de te verwachten gehalten in voeder- en voedingsmiddelen is gekeken naar de effecten op het meetsignaal van seleen die veroorzaakt worden door de overgangselementen nikkel, ijzer en koper en de hydridevormende elementen arseen en tin.

Aan een standaardoplossing die 30 ng seleen bevatte zijn diverse hoeveelheden van een mogelijk interfererend element toegevoegd tot ruim boven het niveau wat normaal in de monsters te verwachten is.

De metingen zijn verricht met de parameters die in 3.2 bepaald zijn. Uit de resultaten blijkt dat ijzer en nikkel tot een niveau van respectievelijk 0,5 mg en 10 µg niet storen. Figuur 7 geeft de relatieve gevoeligheid van seleen weer, bij diverse koperconcentraties. Koper stoort niet tot een niveau van 7 µg.



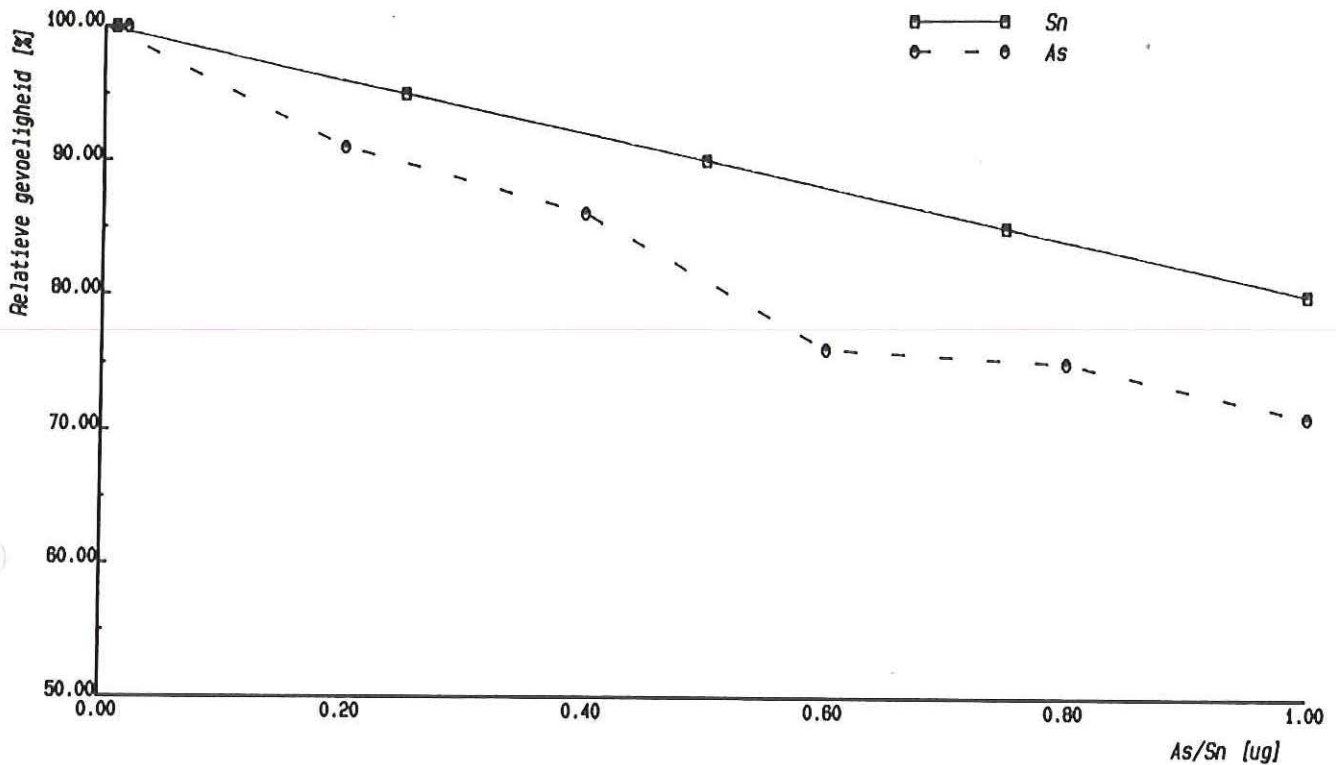


Figuur 7: De invloed van koper op het seleensignaal.

Bij hogere koperconcentraties neemt de gevoeligheid van de seleenmeting snel af. Welz en Melcher (Analyst 109 (1984) 569) veronderstellen dat onderdrukking van het meetsignaal veroorzaakt wordt door reductie van de overgangselementen tot het metaal. De gevormde metalen zouden op hun beurt de gevormde hydriden ontleden of inkapselen. IJzer zou pas storen als eerst alle driewaardige ionen gereduceerd zijn naar de tweewaardige vorm.

Bij een hoge zoutzuurconcentratie vormen de overgangsmetalen stabiele chloridecomplexen, waardoor deze interferentie pas bij een hogere metaalconcentratie plaatsvindt.

De hydridevormende elementen tin en arseen interfereren eveneens met de seleenbepaling (zie figuur 8). In aanwezigheid van 0,2  $\mu\text{g}$  arseen in de meetoplossing vindt een signaalonderdrukking plaats van ca. 10%. In aanwezigheid van 1  $\mu\text{g}$  arseen wordt nog maar 75% van het oorspronkelijke meetsignaal teruggevonden. Tin geeft minder onderdrukking te zien, maar in tegenstelling tot arseen veroorzaakt tin vanaf 0,5  $\mu\text{g}$  hardnekkige "memory effecten".



Figuur 8: De invloed van arseen en tin op het seleensignaal.

Het signaal zakt geleidelijk om na zo'n vier metingen te stabiliseren. Worden er dan nog meer metingen met tin in de meetoplossing verricht, dan wordt de oorspronkelijke gevoeligheid van het seleensignaal pas na enkele dagen meten weer bereikt.

Spoelen van de meetcel met verdund salpeterzuur of met 40%-ige waterstoffluoride heffen de memory-effekten niet op. Uitstoken van de cel gedurende 24 uur bij 1000°C heeft ook geen effect.

Wordt de cel echter gedurende 20 min in 40% HF geplaatst, dan wordt de oorspronkelijke gevoeligheid na 1 dag meten weer bereikt.

De meetresultaten m.b.t. de storing van tin zijn merendeels verkregen door het systeem regelmatig te "spoelen" met een meetoplossing, die geen tin bevatte.

Waarom de hydridevormende elementen elkaar storen is niet eenduidig te verklaren.

Er wordt een overmaat reductiemiddel toegevoerd, dus moet de interferentie plaatsvinden in de meetcel. De kwartswand van de meetcel werkt als een katalysator bij de vorming van waterstofradicalen, welke een rol zouden spelen bij de dissociatie van de hydriden. Mogelijk is er sprake van een voorkeur voor een bepaald hydride om met de radicalen te reageren. De waterstofradicalen worden vermoedelijk in overmaat gevormd, echter de hydriden worden middels de stikstofgasstroom met een konstante snelheid afgevoerd.

Volgens Evans (Analyst 104 (1979) 16) moet op de kwartswand van de meetcel een dunne film van het te bepalen element aanwezig zijn. Evans gebruikte voor de bepaling van tin, arseen en antimoon aparte meetcellen.

Ook op dit laboratorium wordt voor elk element een aparte meetcel gebruikt. Uit de praktijk blijkt dat het seleen meetsignaal in het begin van een meetcyclus vaak aan de lage kant is. Pas na een aantal metingen met de 50 ng Se standaardoplossing, wordt de maximale gevoeligheid bereikt. Onder normale meetomstandigheden komt het regelmatig voor dat de gevoeligheid tijdens de metingen nog iets toeneemt.

Dit praktijkgegeven bevestigt Evans theorie, dat de kwartswand in de vorm van een seleendrager als katalysator dient.

Dat tin de gevoeligheid van de seleenmeting blijvend reduceert valt dan mogelijk te verklaren door de aanname dat tin zich zodanig aan de kwartswand hecht, dat het slechts moeilijk door seleen kan worden verdrongen.

Uit een experiment met 4 conservenmonsters (twee met een hoog en twee met een laag tingehalte) blijkt dat de destructie die voor de bepaling van seleen wordt toegepast (helaas) geen tinverliezen oplevert.

Voor bovengenoemde storingen kan gecompenseerd worden door toepassing van de standaardadditiemethode (zie 3.4).

#### 3.4 Lineair meetbereik en gevoeligheid

Volgens Perkin Elmer is het verband tussen de concentratie van de seleen standaardoplossing en de piekhoogte lineair tot 10 ng/ml. Dit blijkt niet het geval. Uit onze experimenten blijkt dat, afhankelijk van de conditie van de kuvet, het lineair meetbereik kan variëren van 4 tot ca. 6 ng Se/ml.

In de figuren 9, 10 en 11 zijn een aantal ijklijnen weergegeven met en zonder toevoegingen van de metalen koper resp. arseen en tin.

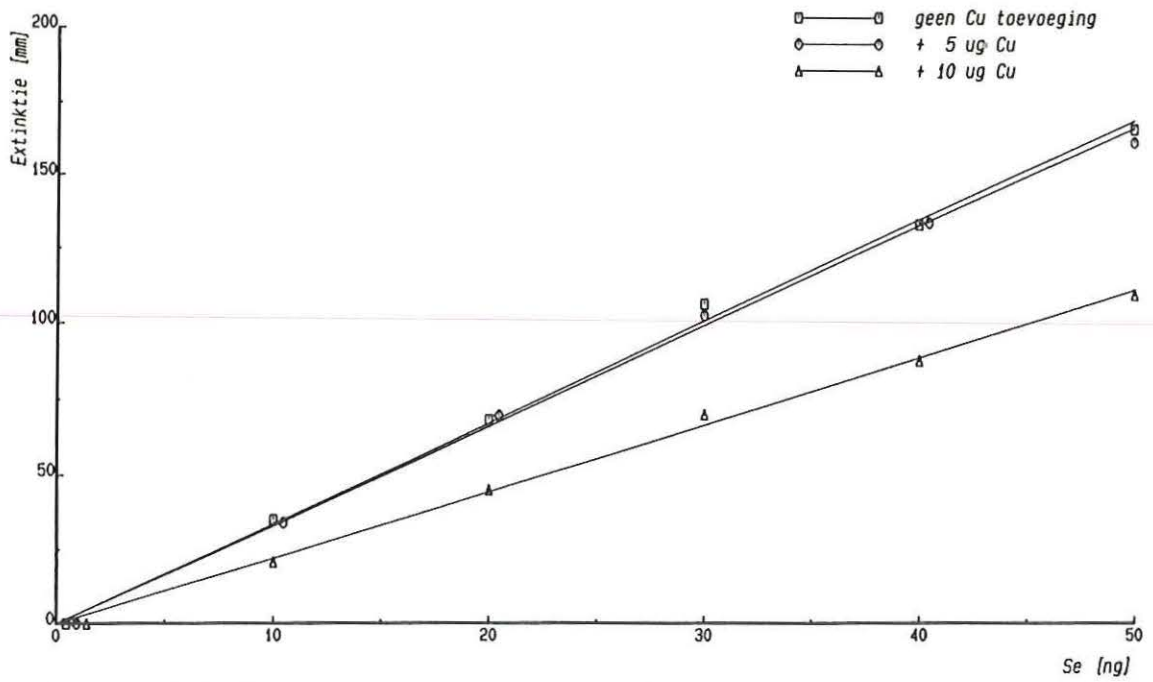
Bovendien zijn dezelfde toevoegingen van de interfererende elementen gedaan aan een monster waarvan bekend is dat deze van zichzelf verwaarloosbare gehalten bevat aan bovengenoemde elementen (figuren 12, 13 en 14).

Uit de resultaten blijkt dat de lineariteit tussen piekhoogte en concentratie gehandhaafd blijft in het onderzochte meetgebied voor zowel ijklijnen (t/m 50 ng) als seleenaddities aan de monsters (0, 10, 20 en 40 ng).

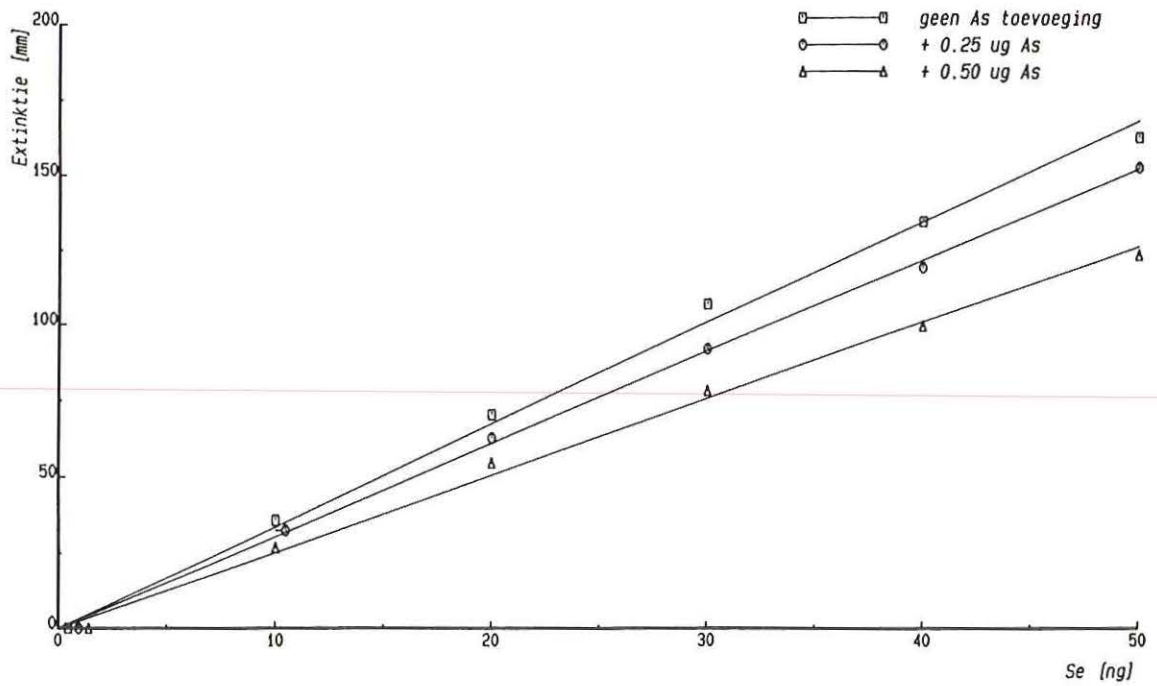
Opvallend is dat de additielijn van het monster zonder toevoegingen van een interfererend element steeds een lagere richtingscoëfficiënt heeft als de ijklijn. Zijn de interfererende elementen aanwezig in een concentratie dat zij de gevoeligheid van de meting negatief beïnvloeden, dan worden de m.b.v. de ijklijnmethode gevonden seleengehalten te laag. Wordt echter het seleengehalte m.b.v. de standaardadditiemethode bepaald, dan wordt voor deze verlaging grotendeels gecorrigeerd.

De opgegeven gevoeligheid wordt ruimschoots gehaald. De fabrikant geeft een gevoeligheid op van 2 A.E.E./ $\mu\text{g}$ . In de praktijk wordt een gevoeligheid gevonden van ca. 5 A.E.E./ $\mu\text{g}$ .

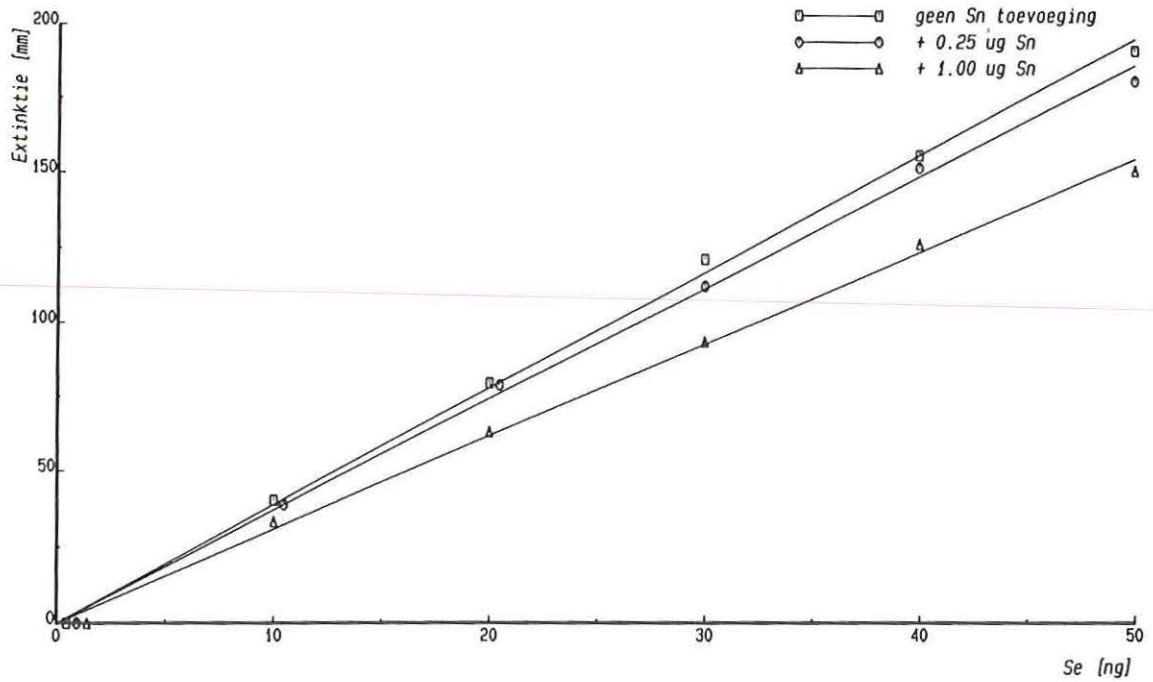




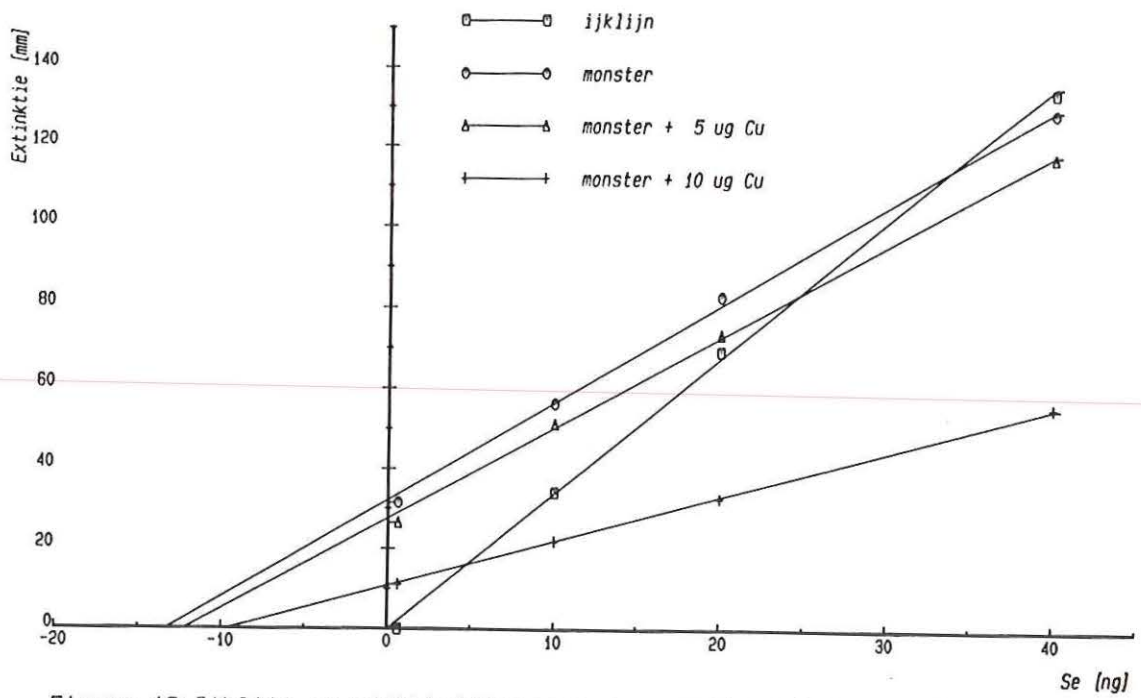
Figuur 9: Yklynen Seleen met Kopertoevoegingen.



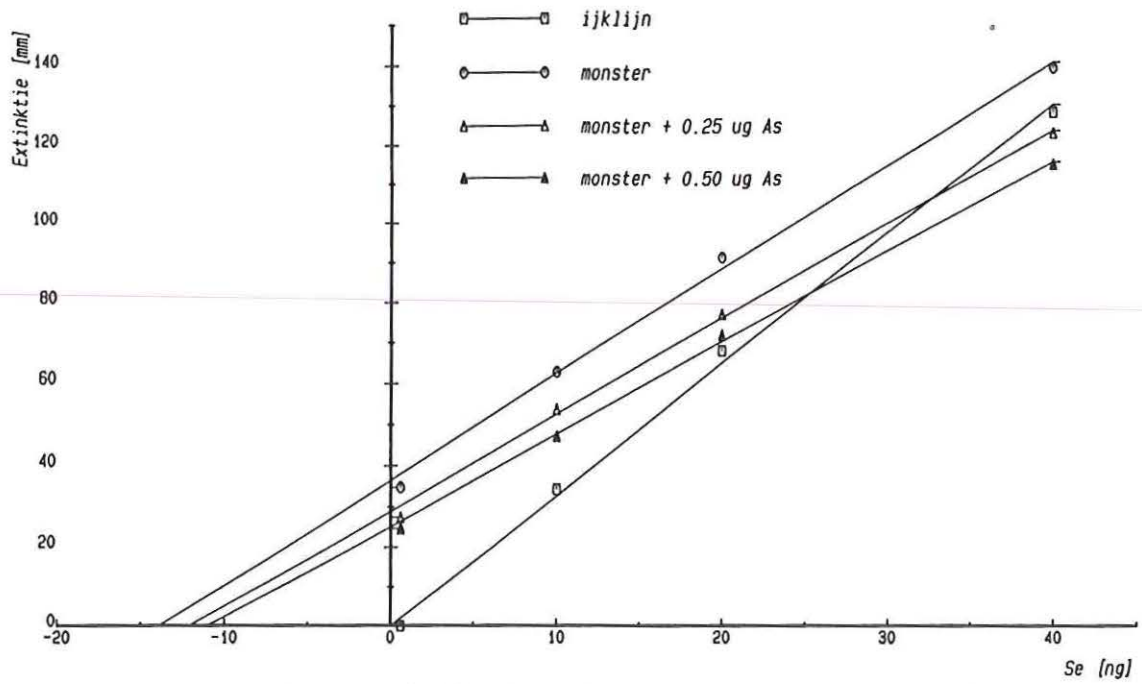
Figuur 10: IJklijnen Seleen met Arseentoevoegingen.



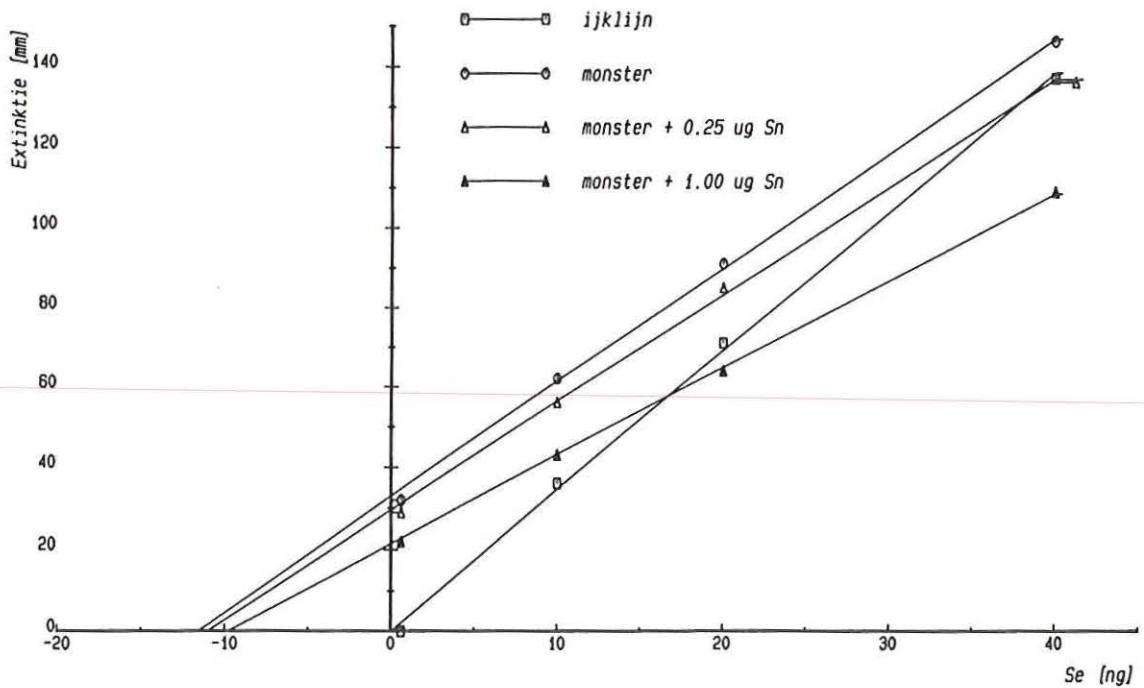
Figuur 11: IJKlijnen Seleen met Tintoevoegingen.



Figuur 12: Ijklijn en additielijnen aan een monsteroplossing met en zonder kopertoevoegingen.



Figuur 13: Ijkljn en additielijnen aan een monsteroplossing met en zonder arseentoevoegingen.



Figuur 14: Ijkljn en additielijnen aan een monsteroplossing met en zonder tintoevoegingen.

### 3.5 Betrouwbaarheid, herhaalbaarheid en detektielgrens van de methode

Bij tienvoudige analyse van een referentiemonster (bovine lever, NBS 1577a) met een gecertificeerd seleengehalte van  $0,71 \pm 0,07$  mg Se/kg werd een gemiddeld gehalte gevonden van 0,73 mg Se/kg (V.C. = 10%).

Bij recovery experimenten (n=8) werd gemiddeld 98% van het aan het monster toegevoegde seleen teruggevonden (V.C. = 10%).

De detektielgrens van de in dit rapport beschreven methode, bepaald als 30 van een aantal blanco bepalingen, bedraagt 0,005 mg Se/kg gebaseerd op droog produkt.

### 3.6 De ontsluiting van seleen in voeder- en voedingsmiddelen

Vier ontsluitingsmethoden zijn toegepast op twee referentiemonsters van dierlijk materiaal, op een praktijkmonster rattenvoerpellets en op een plantaardig monster uit een ringonderzoek, georganiseerd door het IAG.

Bij resultaten zijn samengevat in tabel 1. De monsters zijn per ontsluitingsmethode in drievoud geanalyseerd (zie tabel 1).

Bij toepassing van methode 1 dwarrelt een gedeelte van het monstermateriaal door de moffeloven. Magnesiumnitraat dissocieert bij 330°C hetgeen aanleiding kan geven tot het spatten van de monsters. Methode 2, waarbij bij 300°C en 450°C verast wordt heeft vrijwel geen last van deeltjes die uit het bekersglas spatten. Magnesiumnitraat lost goed op in water, het monster nauwelijks. Wanneer het water indampst zal het magnesiumnitraat niet meer homogeen met het monster gemengd zijn. Dat is de eerste reden waarom methode 3 toegepast is, er vindt mogelijk een betere destruktie plaats. De tweede reden voor deze methode is de kortere destruktielijktijd. Een vereiste van de methode is wel, dat het monster zeer goed gemengd wordt met het magnesiumnitraat en magnesiumoxide.

Methode 4 is een bestaande destruktiemethode, die reeds met succes wordt toegepast bij de arseenbepaling.

Uit de resultaten blijkt dat de vier destruktiemethoden vergelijkbaar zijn, zowel qua gehalte als spreiding. Dat er verliezen optreden tijdens de destruktie volgens methode 1, zoals tot op heden de monsters werden ontsloten, blijkt niet uit de resultaten.



Methode 4 lijkt vooral voor dierlijk materiaal iets hogere resultaten te geven. Opvallend zijn de gevonden gehalten in het monster MA-A2, fish flesh t.o.v. de gecertificeerde waarde. Gezien de opgegeven hoge standaarddeviatie is de betrouwbaarheid van deze waarden twijfelachtig. Mede uit oogpunt van snelheid (24 uur) en uniformiteit met de arseen-destructie geniet methode 4 de voorkeur.

Zeswaardig seleen vormt niet of nauwelijks hydrides. Eventueel aanwezig Se VI wordt door verwarmen met zoutzuur omgezet naar Se IV. Het reducerend vermogen van zoutzuur op seleen is getest door een monster gedurende 0, 1, 2 resp. 4 uur te verwarmen op een kokend waterbad. Uit de resultaten van dit onderzoekje bleek dat reeds na 1 uur verwarmen met 5 N zoutzuur alle seleen is omgezet in de vierwaardige vorm. Wanneer de oplossing niet verwarmd wordt, wordt het seleen niet of onvoldoende gereduceerd naar de vierwaardige vorm.

#### 4. Conclusies

De in dit rapport beschreven methode voor de meting van seleen in voeder- en voedingsmiddelen blijkt goed te voldoen.

Uit oogpunt van snelheid en uniformiteit verdient de destructie voorafgegaan door een voorverassing met magnesiumnitraat en salpeterzuur de voorkeur. Door de asrest op te lossen in 20 ml zoutzuur 5 N en deze oplossing gedurende 1 uur te verwarmen bij 100°C wordt alle seleen omgezet naar de vierwaardige vorm. De resultaten zijn vergelijkbaar met de tot nu toe toegepaste methode.

Voor storingen is goed te corrigeren door middel van het toepassen van de standaardadditieprocedure. Monsters die tin bevatten, verhouding Sn/Se > 20, kunnen problemen geven.

Het MHS-20 hydridegeneratie systeem, in combinatie met de AAS-2380 blijkt in hoge mate aan de gestelde verwachtingen te voldoen. De gevoeligheid is toereikend en de reproduceerbaarheid van de metingen is goed.

Afhankelijk van de conditie van de kuvet kan het lineair meetbereik variëren. Het is daarom zinvol om bij elke serie metingen vooraf een ijklijn op te nemen.

Tabel 1. Resultaten van de bepaling van seleen in vier typen monsters na toepassen van diverse destructiemethoden, uitgedrukt in mg Se/kg d.s. en standaarddeviatie (16).

Monster	Opgegeven gehalten	Methode				Gemiddelde
		1	2	3	4	
SPP-Tox, rattenvoerpellets	-	0,210 ± 0,003	0,234 ± 0,009	0,174 ± 0,002	0,186 ± 0,010	0,201 ± 0,023
Lucerne IAG-'85	0,23 ± 0,03	0,249 ± 0,020	0,212 ± 0,021	0,235 ± 0,015	0,230 ± 0,019	0,232 ± 0,013
IAEA-MA-A2, fish flesh	1,7 ± 0,3	0,80 ± 0,03	0,93 ± 0,08	1,01 ± 0,06	1,03 ± 0,03	0,94 ± 0,09
NBS 1577a, bovine liver	0,71 ± 0,02	0,66 ± 0,03	0,67*	0,66 ± 0,03	0,70 ± 0,03	0,67 ± 0,02
Gemiddelde per methode		0,45	0,51	0,52	0,54	

\* Resultaat van 2 metingen

Methode 1: 1 g monster + 4 g  $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  + 0,5 g MgO + 10 ml  $H_2O$  gedurende 16 uur drogen bij 100°C.  
Gedurende 8 uur verassen bij 450°C.

Methode 2: 1 g monster + 4 g  $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  + 0,5 g MgO + 10 ml  $H_2O$  gedurende 16 uur drogen bij 100°C.  
Gedurende 3 uur verwarmen bij 300°C, hierna 8 uur verassen bij 450°C.

Methode 3: 1 g monster + 4 g  $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  + 0,5 g MgO 1 uur drogen bij 100°C.  
Gedurende 3 uur verwarmen bij 300°C, hierna 8 uur verassen bij 450°C.

Methode 4: 1 g monster + 4 g  $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  + 5 ml gec.  $HNO_3$  droogdampen.  
Gedurende 8 uur verassen bij 450°C.

AFDELING ANORGANISCHE CONTAMINANTEN ACON 4

INTERN ANALYSEVOORSCHRIFT NR. A. 5

2e oplage (1985-11-20)

VOEDER- EN VOEDINGSMIDDELEN - BEPALING VAN HET TOTAAL SELEENGEHALTE -  
HYDRIDE ATOMAIRE ABSORPTIE SPECTROMETRIE

Verzendlijst: bibliotheek (5x), sektorhoofd, afdeling Anorganische  
Contaminanten (8x).





Voeder- en voedingsmiddelen - Bepaling van het totaal seleengehalte -  
Hydride atomaire absorptie spectrometrie

---

### 1. Onderwerp en toepassingsgebied

Dit voorschrift beschrijft een methode voor de bepaling van het totaal gehalte aan seleen in voeder- en voedingsmiddelen.

De onderste bepaalbaarheidsgrens, gedefinieerd als het drievoud van de standaarddeviatie van de blanco bepaling, is 0,005 mg seleen/kg analysemonster, op basis van droge stof.

### 2. Definitie

Onder het seleengehalte wordt verstaan de hoeveelheid seleen aanwezig in het monster, ongeacht de bindingsvorm, bepaald volgens de beschreven methode en uitgedrukt als mg Se/kg analysemonster.

### 3. Beginsel

Het monster wordt voorverast met salpeterzuur en magnesiumnitraat en daarna verast in een moffeloven bij een temperatuur oplopend tot 450°C. De as wordt opgelost in zoutzuur. Door verwarmen wordt zeswaardig seleen gereduceerd tot de vierwaardige vorm. Met behulp van NaBH<sub>4</sub> wordt seleenhydride gevormd, dat met behulp van een stikstofstroom naar een meetcel, welke verhit is tot 900°C, wordt geleid. Het seleenhydride dissocieert en de absorptie door seleenatomen van licht van 196,0 nm, afkomstig van een seleenlamp (EDL), wordt gemeten.

De mate van absorptie is een maat voor het seleengehalte in het monster. Een standaardadditiemethode wordt toegepast.

### 4. Reagentia en hulpstoffen

Tenzij anders vermeld moeten alle reagentia van analysekwaliteit zijn (b.v. suprapur). Met water wordt bedoeld in een kwartstoestel gedestilleerd demi-water of water van gelijke kwaliteit (b.v. Millipore-water).

4.1 Salpeterzuur 65% (m/m) ( $\rho_{20} = 1,40$  g/ml).

4.2 Zoutzuur 32% (m/m) ( $\rho_{20} = 1,16$  g/ml).

4.3 Zoutzuur 2 M, verkregen door zoutzuur (4.2) 5 maal met water te verdunnen.

4.4 Natriumtetrahydroboraat-oplossing (3% m/m).

Los 10 g natriumhydroxide (NaOH) op in ca. 500 ml water en voeg hieraan 30 g natriumtetrahydroboraat (NaBH<sub>4</sub>) toe. Roer 10 minuten, vul aan met water tot 1000 ml en filtreer af over een hard filter (b.v. Whatman 42). Bereid deze oplossing dagelijks vers.

Pas de hoeveelheid te bereiden NaBH<sub>4</sub>-oplossing aan aan het aantal te meten monsters. Voor de analyse van 15 monsters is ca. 800 ml natriumtetrahydroboraat-oplossing benodigd.

4.5 Magnesiumnitraat-oplossing 80% (m/m).

Los 800 g magnesiumnitraat (Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O) op in water, vul aan met water tot 1000 ml en homogeniseer.

4.6 Seleennitraat standaardoplossing voor AAS, 1 mg/ml b.v. BDH art. no. 14162.

4.7 Verdunde standaardoplossing van seleen 10 µg/ml.

Pipetteer van de seleenstandaardoplossing (4.7) 1 ml in een maatkolf van 100 ml. Voeg 1 ml gec. zoutzuur (4.2) toe, vul aan met water tot 100 ml en homogeniseer.

4.8 Werkoplossing seleen, 0,1 µg/ml.

Pipetteer van de verdunde standaardoplossing (4.8) 1 ml in een maatkolf van 100 ml. Voeg 1 ml gec. zoutzuur (4.2) toe, vul aan met water tot 100 ml en homogeniseer.

Bereid de oplossingen 4.7 en 4.8 dagelijks vers.

## 5. Toestellen, glaswerk en hulpmiddelen

5.1 Atomaire absorptiespectrofotometer met hydridesysteem, b.v. PE-AAS 2380 met MHS-20-systeem, seleenlamp (EDL) voedingsapparaat, recorder, cilinder met stikstof.

5.2 Moffeloven met voorziening voor geprogrammeerde temperatuurstijging.

5.3 Verwarmingsplaat.

5.4 Laboratoriumglaswerk zoals bekers van 150 ml hoog model en maatkolven van 50 ml.

5.5 Doseerpipetten.

### Opmerking:

Voor het reinigen van glaswerk enz. wordt verwezen naar Intern Analysevoorschrift ACON-1.

## 6. Monsters en monstervoorbewerking

De verse monsters dienen gedroogd, dan wel gevriesdroogd, eventueel gemalen en gehomogeniseerd te worden (zie ACON-1), met uitzondering van vloeibare monsters zoals b.v. melk.

## 7. Werkwijze

### 7.1 Inweeg en destructie

Weeg op 0,1 mg nauwkeurig 1 g monster af in een bekersglas van 150 ml (5.4). Voeg toe 5 ml magnesiumnitraatoplossing (4.5) en damp in tot (bijna) droog. Voeg 5 ml salpeterzuur (4.1) toe.

Rook het monster af op een verwarmingsplaat (5.3) tot een vaste, droge lichtgele massa. Plaats de monsters in een moffeloven (5.2) en laat de temperatuur met ca. 50 graden per uur stijgen tot 450°C. Veras de monsters gedurende één nacht bij 450°C.

Voeg als de verkregen as niet wit is (restanten koolstof) enkele ml water toe, damp op een kookplaat in tot droog en veras het monster gedurende een half uur in de moffeloven bij 450°C na. Indien nodig deze bewerking herhalen.

Voeg als de as wit is 10 ml water en 10 ml zoutzuur (4.2) toe en verwarm gedurende 1 uur op een kokend waterbad (horlogeglas op bekeerglas). Koel de oplossing af en breng kwantitatief over in een maatkolf van 50 ml, vul aan en homogeniseer.

### 7.2 Controlemonsters

Neem bij elke serie monsters een blanco bepaling, een referentiemonster en een recovery mee, die de in 7.1 beschreven behandelingen doorlopen. De aard en samenstelling van de referentiemonsters moeten zo veel mogelijk vergelijkbaar zijn met die van de monsters.

### 7.3 Instelling apparatuur

Warm minimaal een 1/2 uur voor de meting het oventje met kwartsceel op tot 900°C met behulp van de temperatuurregelaar van het MHS-systeem. Ontsteek de seleenlamp (EDL) tenminste een half uur voor het begin van de metingen. Zet de AAS (5.1) aan en kies de instrumentele parameters zoals in onderstaande tabel is aangegeven.

#### Parameters

##### AAS 2380

EDL Power Supply	: 6 watt.
Golflengte	: 196,0 nm.
Spektrale spleetbreedte	: 2,0 nm ALT.
Achtergrondcorrectie	: nee.
Signal	: concentration.
Recorder	: TC 2.
Expansiefactor	: 3.

##### Recorder

Voltage	: 10 mV.
Papiersnelheid	: 0,2 mm/sec.
Knop OFF	: ingedrukt.



MHS-20

Mode	: NaBH <sub>4</sub> .
Stikstofdruk	: 3,0 bar.
Purge I	: 35 sec.
Reaction	: 10 sec.
Purge II	: 25 sec.
Temperatuur meetcel	: 900°C.

Opmerkingen:

1. Stel de apparatuur in op maximale gevoeligheid (o.a. uitlijnen kwartscuvet, instelling golflengte). Zie daartoe handleiding AAS.
2. Tijdens de meting ontstaat waterstofgas. Een goede afzuiging hiervan is noodzakelijk.
3. Het restant van de NaBH<sub>4</sub>-oplossing kan niet direkt door de gootsteen gespoeld worden. Eerst in een plastic vat, waarin zich verdund zoutzuur bevindt, in een zuurkast uit laten reageren. Vervolgens sterk met water verdunnen en wegspoelen door de afvoer.
4. Spuit de buis, waardoor het NaBH<sub>4</sub> wordt toegevoegd na iedere meting af met verdund HCl. Spoel de meetvatjes voor gebruik om met verdund HCl en daarna met demi-water.

7.4 Meting seleen

7.4.1 Stabilisatie en controle van apparatuur

Breng in een reaktievaatje van het hydridesysteem 10 ml zoutzuur 2 M. Voeg 0,5 ml werkoplossing seleen (4,8) toe en meet de oplossing.

Herhaal dit tot een goed reproduceerbaar signaal wordt verkregen.

Meet dan een oplossing die alleen 10 ml zoutzuur 2 M bevat.

Herhaal bovenstaande procedure tot de piekhoogten van blanco reagentia en standaardoplossing vergelijkbaar zijn met de piekhoogten van de voorgaande metingen.

Neem vervolgens ter controle een ijklijn op. Pipetteer in elk vaatje 10 ml zoutzuur 2 M en achtereenvolgens in duplo 0, 100, 200, 300, 400 en 500 µl van de seleen werkoplossing (4.8). De reaktievatjes bevatten dan 0; 0,010; 0,020; 0,030; 0,040 en 0,050 µg seleen. Ga na of de ijklijn lineair is door de hoogte van de gemeten signalen grafisch uit te zetten tegen de absolute hoeveelheid seleen die in het meetvatje aanwezig was.

Opmerkingen:

1. Indien de reproduceerbaarheid na een aantal metingen onbevredigend blijft of de lineariteit slecht is, plaats dan de meetcel (zonder lenzen) gedurende 20 minuten in geconcentreerd waterstoffluoride (40% HF). Dit is een zeer agressief zuur waarmee zeer voorzichtig dient te worden omgegaan (2 paar handschoenen, zuurkast en werken met plastic).
2. Het reaktievat mag niet verwijderd worden voor het beëindigen van de meetcyclus in verband met het ontstaan van knalgas.
3. Het verschil tussen de duplo-meetsignalen mag maximaal 2 mm bedragen.

7.4.2 Meting van de monsters

Breng 5 ml van de onder 7.1 verkregen monsteroplossing in een reaktievaatje van het hydridesysteem dat reeds 5 ml 2 M zoutzuur bevat. Voer de meting uit en meet de piekhoogte.

Voer dezelfde handeling uit waarbij aan de meetoplossing zoveel werkoplossing is toegevoegd dat minimaal het dubbele van de oorspronkelijke piekhoogte verkregen wordt.

Let hierbij op dat de concentratie van het monster en het monster met de toegevoegde werkoplossing in het gebied ligt, waar een lineair verband bestaat tussen concentratie en piekhoogte. Voer deze metingen in duplo uit.

Opmerkingen:

1. De gemeten signaalhoogte van het monster en het monster met toevoeging moet liggen binnen het bereik van de gemeten ijklijn. Indien dit niet het geval is neem dan minder dan 5 ml van het onder 7.1 verkregen extract voor de meting en vul deze hoeveelheid aan met zoutzuur 2 M (4.3) tot 10 ml. In dit geval dient ook een vergelijkbare handeling uitgevoerd te worden voor het blanco monster.
2. Spoel, na het beëindigen van de metingen, het systeem enkele malen door met bidest.

8. Berekening

Bereken het gehalte aan seleen in het analysemonster met de volgende formule:

$$g = \frac{\left[ \frac{h_m V_{ms}}{h_{ms} - h_m} - \frac{h_b V_{bs}}{h_{bs} - h_b} \right] CV_d}{m V_a}$$

waarin:

$g$  = het gehalte aan seleen in mg/kg in het analysemonster

$h_m$  = de piekhoogte in mm gemeten voor de monsteroplossing .

$h_{ms}$  = de piekhoogte in mm gemeten voor de monsteroplossing + werkoplossing

$h_b$  = de piekhoogte in mm gemeten voor de blanco monsteroplossing

$h_{bs}$  = de piekhoogte in mm gemeten voor de blanco monsteroplossing + werkoplossing

$C$  = de concentratie van de werkoplossing (4.8) in  $\mu\text{g/ml}$

$V_{ms}$  = het volume van de toegevoegde werkoplossing aan de monsteroplossing in ml

$V_{bs}$  = het volume van de toegevoegde werkoplossing aan de blanco in ml

$V_d$  = het volume van de maatkolf waarin het destruaat is opgelost

$V_a$  = het analysevolume, d.i. de gepipetteerde hoeveelheid monsteroplossing in het reaktievat in ml.

$m$  = inweeg in grammen.

Opmerking:

Indien het gehalte uitgedrukt moet worden op basis van het oorspronkelijke produkt, dan dient  $g$  vermenigvuldigd te worden met 0,01 D, waarin  $D = \% \text{ droge stof}$ .

9. Herhaalbaarheid

Tienvoudige analyse van een gecertificeerd referentiemonster NBS 1577a, bovine lever, gaf een gemiddeld seleengehalte van 0,73 mg Se/kg (gecertificeerde waarde  $0,71 \pm 0,07$  mg Se/kg).

De variatiecoëfficiënt bedroeg 10%.

Verantwoordelijk: dr G. Vos

Samenstellers : H.J. Horstman, W. van Delft en dr G. Vos