

ČESKOSLOVENSKÁ  
SOCIALISTICKÁ  
REPUBLIKA  
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD  
PRO VYNÁLEZY

*číslo*

# POPIS VYNÁLEZU

## K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

269 160

(21) FV 2378-88.X  
(22) Přihlášeno 07 04 88

(40) Zveřejněno 12 09 89  
(45) Vydáno 15 03 91

(11)

(13) B1

(51) Int. Cl.<sup>4</sup>  
G 01 N 33/48

(75)

Autor vynálezu

DRÁBEK KAREL prom. geol.,  
KALOUSKOVÁ JANA MUDr. CSc.,  
PAVLÍK LADISLAV ing., PRAHA

(54)

Způsob stanovení stopových koncentrací selenu v biologickém materiálu pomocí destruktivní neutronové aktivační analýzy

(57) Řešení se týká analytické metody stanovení stopových množství selenu v biologickém materiálu destruktivní neutronovou aktivační analýzou. Podstata řešení spočívá v tom, že po ozáření v reaktoru je selen <sup>75</sup>Se z mineralizovaného vzorku izolován radiochemickou separací s pomocí aromatických orthodiaminů a extrakce do organických rozpouštědel a měření automatickým detektorem záření gama. Metodu lze využít především ve veterinární praxi při kontrole prevence a terapie chorob hospodářských zvířat vznikajících z nedostatku selenu, v živočišné výrobě, dále v základním výzkumu, ve zdravotnictví a v geologii k prospekci ložisek.

Vynález se týká způsobu stanovení stopových koncentrací selenu v biologickém materiálu pomocí neutronové aktivační analýzy.

Selen je nezbytný stopový prvek, jehož nedostatečný přívod způsobuje onemocnění u řady živočišných druhů. V těch oblastech světa, kde je obsah selenu v půdě a rostlinách nízký, se vyskytují choroby hospodářských zvířat z jeho nedostatku a selen je nutno preventivně nebo terapeuticky těmto zvířatům podávat.

V posledních letech je stále větší pozornost řady laboratoří věnována i možnému působení selenu na řadu onemocnění u člověka. Jeho nízký přívod je spojován s vyšším výskytem především chorob nádorových a kardiovaskulárních. Z těchto důvodů je nutné rozvíjet citlivé metody pro stanovení tohoto stopového prvku v biologickém materiálu.

Nejčastěji užívanou metodou pro stanovení stopových hladin selenu v biologickém materiálu je fluorimetrie, v posledním desetiletí se ve stále větší míře užívá i atomová absorpční spektrofotometrie. K nejcitlivějším metodám náleží neutronová aktivační analýza, jak nedestruktivní, tak metoda s radiochemickou separací. Ke stanovení selenu aktivační analýzou se ve většině případů využívá radionuklidu  $^{75}\text{Se}$ , vznikajícího ze stabilního izotopu  $^{74}\text{Se}$  aktivací v reaktoru  $^{74}\text{Se}/n, ^{75}\text{Se}/$ . Radionuklid  $^{75}\text{Se}$  je gama zářič s vhodným energetickým zastoupením /energetické linky 121, 136, 264, 279 a 400 keV/ a dostatečně dlouhým poločasem rozpadu /121 dní/. V některých případech bylo využito i měření jiných radionuklidů selenu, především  $^{77m}\text{Se}$  a  $^{81}\text{Se}$  - jejich poločas rozpadu je však velmi krátký /17,5 sec a 18 min/ a proto je třeba měření provádět bezprostředně po aktivaci.

Nedestruktivní neutronová aktivační analýza vyžaduje speciální přístrojové vybavení; doba měření jednoho vzorku pro stanovení koncentrace selenu se pohybuje v rozmezí 2 až 6 hodin. Ke zvýšení citlivosti této metody, k zjednodušení měření radioaktivity i k odstranění interferencí matrice biologického materiálu byla proto vypracována řada způsobů radiochemické separace selenu, například destilace s kyselinou bromovodíkovou sledovaná dalším purifikačním krokem /Rosenberg R.J., J. Radioanal. Chem. 30:109, 1979/, precipitace selenu v elementární formě kyselinou askorbovou /Orvini E. a Gallorini M., J. Radioanal. Chem. 71:75, 1982/, hydroxylamin hydrochloridem /Damsgaard E. et al., Modern Trends in Activation Analysis, 6th Modern Trends Conference, University of Toronto, Canada 1981, str. 76/ nebo extrakce selenu /Hoede D. et al., Radiochem. Radioanal. Lett. 23:379, 1975/. Detekční limit těchto způsobů se pohybuje od 2 do 2 000 ng selenu, chemický výtěžek od 70 % do 90 %. Metody separace, založené na principu destilace selenu mají uspokojivou citlivost, nejsou však použitelné pro větší série vzorků. Při precipitačních postupech může docházet ke kontaminaci jinými radionuklidy. Naproti tomu radiochemické separace většinou nevyžadují speciální detekční vybavení ke stanovení radionuklidů selenu a umožňují měření radioaktivity na běžně dostupných gama automatech, kterými je vybavena řada laboratoří.

Nevýhodou uvedených radiochemických separací odstraňuje způsob stanovení stopových koncentrací selenu podle vynálezu, jehož podstatou je, že po ozáření v reaktoru se radionuklid selenu  $^{75}\text{Se}$  z mineralizovaného vzorku extrahuje kyselinou solnou na selen  $^{75}\text{Se}^{4+}$  a nechá se reagovat s orthofenylendiaminem, potom se extrahuje do toluenu a změní se radioaktivita. Způsob podle vynálezu využívá známé metody stanovení selenu fluorimetrickou metodou, tj. reakce neradioaktivního selenu  $\text{Se}^{4+}$  s aromatickými orthodiaminy za vzniku selenodiazolů, extrahovatelných do organických rozpouštědel; tato reakce je vysoce specifická pro selen /Brown M.W. a Watkinson J.H., Anal. Chem. Acta 89:29, Koh T.S. a Benson T.H., J. Assoc. Off. Anal. Chem. 66:918, 1983/.

Pro překládanou radiochemickou separaci selenu byl zvolen orthofenylendiamin, který je u nás komerčně dostupný na rozdíl od řady dalších orthodiaminů. Radiochemickou separaci selenu je samozřejmě možno provádět s jakýmkoliv jiným orthodiaminem.

## Popis metody

## 1/ Příprava standardů a vzorků pro ozáření v reaktoru /aktivaci/

## a/ Příprava anorganických standardů selenu

Standardy lze připravit z chemicky čistého kysličníku seleničitého, seleničitanu sodného nebo z kovového selenu. Roztok o známé koncentraci selenu se nanese na filtrační papír, usuší se, vloží mezi dvě krycí sklička, zataví do polyethylenové fólie a zabalí do alobalu.

## b/ Příprava srovnávacích standardů

Pro ověření správnosti každé série stanovení hladin selenu v biologickém materiálu je nutné použít standardní biologické materiály s certifikovanou hodnotou koncentrace selenu /například standardní referenční materiály National Bureau of Standards /SRM NBS/ nebo Standardy Mezinárodní atomové agentury - International Atomic Energy Agency /IAEA/. Výběr standardu je třeba volit podle typu zkoumaného biologického materiálu. Z práškového standardu se na hydraulickém lisu zhotoví tableta o hmotnosti cca 100 až 300 mg, zataví se do polyethylenové fólie a zabalí do alobalu.

## c/ Příprava vzorků biologického materiálu

Vlhký vzorek se zváží, lyofilizuje /při lyofilizaci nedochází, na rozdíl od sušení, ke ztrátám selenu z biologického materiálu/, stanoví se suchá váha, zhotoví se tableta o hmotnosti cca 100 až 500 mg, která se zataví do polyethylenové fólie a zabalí do alobalu.

## 2/ Ozařování

Vzorky spolu s elementárními standardy a referenčními standardy jsou v ozařovacím pouzdru ozářeny v aktivní zóně reaktoru po dobu 15 až 20 hodin.

## 3/ Radiochemická separace

## a/ Mineralizace

Po vyzáření krátkodobých radionuklidů, tj. cca po třech týdnech, jsou vzorky rozbaleny, zváženy a mineralizovány na mokré cestě s odpařením do sucha pomocí  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HClO}_4$  a  $\text{MgCl}_2$ . /Je možno použít i jiného způsobu mineralizace, například s  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HClO}_4$  a  $\text{H}_2\text{SO}_4$  - v tomto případě je však nutno před dalším postupem u každého vzorku upravit pH./

b/ Převedení na  $^{75}\text{Se}^{4+}$ 

Po skončení mineralizace je radioaktivní selen převeden na čtyřmocnou formu pomocí  $\text{HCl}$  s opětovným odpařením do sucha.

c/ Tvorba selenodiazolu, tj. reakce  $^{75}\text{Se}^{4+}$  s orthodiaminem

Reakce je provedena při kyselém pH ve směsi, obsahující mineralizát, kyselinu ethylendiamintetraoctovou /EDTA/,  $\text{HCl}$ , orthodiamin a hydroxylamin hydrochlorid. Doba a teplota nutné k reakci závisí na užitém orthodiaminu.

d/ Extrakce  $^{75}\text{Se}$ -selenodiazolu

Po přidání extrakčního činidla a protřepání je vzorek ponechán v klidu až do úplného rozdělení vodné a organické fáze. Potom se odebere aliquotní část extrakčního činidla, obsahujícího  $^{75}\text{Se}$ -selenodiazol, na stanovení radioaktivity.

## 4/ Měření radioaktivity

Radioaktivitu selenu  $^{75}\text{Se}$  je možno měřit na kterémkoliv přístroji pro detekci záření gama.

Reakce selenu s orthodiaminy je vysoce specifická, chemický výtěžek je 95 až 98%. Na rozdíl od ostatních metod pro stanovení stopových koncentrací selenu nemá předkládaná radiochemická separace žádné interference; navíc není nutné používat vysoce čistých chemikálií /například u fluorimetrické metody pro stanovení selenu je nutno používat diaminonaftalen, vyráběný pouze firmou Aldrich s velmi nízkým obsahem selenu a dovozní extrakční činidla vysoké čistoty, která nezvyšují pozadí fluorescence; u ato-

mové absorpční spektrofotometrie je nezbytné užití chemikálií s co nejnižším obsahem selenu, aby se snížil obsah selenu ve slepých mineralizátech/. Všechny chemikálie používané při popsaném způsobu radiochemické separace /s výjimkou standardních referenčních materiálů/ jsou v tuzemsku dostupné /dodává Lachema/. Ve srovnání s jinými způsoby radiochemické separace je u předkládané metody počet nezbytných kroků omezen na minimum a umožňuje současné stanovení několika desítek vzorků. Ztráty selenu jsou zanedbatelné - celý proces od počátku mineralizace až po odběr extrahované frakce na měření radioaktivity probíhá v jedné nádobce. Mineralizace s odpařením do sucha nevyžaduje úpravu pH při dalším postupu, čímž se celý proces zjednodušuje.

Na rozdíl od fluorimetrie, kde je nutno extrahovanou frakci uchovávat ve tmě, aby nedocházelo ke změnám fluorescence, se radioaktivita extrahované frakce nemění a její měření není nutno provádět bezprostředně po přípravě vzorků. Měření radioaktivity vyžaduje 1 až 5 minut na vzorek a lze je provádět na automatickém gama detektoru. Detekční limit metody je srovnatelný se špičkovými metodami pro stanovení selenu a výrazně lepší než u většiny popsaných radiochemických separací - 0,5 ng selenu.

#### Příklad

Stanovení selenu v biologickém materiálu radiochemickou separací.

Vzorky čerstvé lidské krve /cca 1 g/ byly zváženy, lyofilizovány, stanovena suchá váha, tabletovány /100 až 200 mg/ a zabaleny do polyethylenové fólie a do alobalu. Stejným způsobem byly tabletovány a baleny NBS standardy. Elementární standardy selenu byly připraveny z  $\text{H}_2\text{SeO}_3$  /Lachema/. Roztok seleničitanu sodného byl pipetován v množství obsahujícím 17,863  $\mu\text{g}$  Se na 10 mm disk filtračního papíru, sušen, vložen mezi dvě krycí sklička a zabalen do polyethylenové fólie a do alobalu.

Vzorky byly spolu se standardy aktivovány 20 hodin v aktivní zóně reaktoru /VVR-S/ při neutronovém toku  $2 \cdot 10^{13} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Po třech týdnech byly vzorky rozbaleny, zváženy, přidáno 5 ml koncentrované kyseliny dusičné a ponechány 48 hodin. Potom byl přidán nosič neradioaktivního selenu v dávce 100  $\mu\text{g}$  Se/ml/ a provedena mineralizace pomocí směsi  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HClO}_4$  a  $\text{MgCl}_2$  s úplným odpařením mineralizátu do sucha. Po skončení mineralizace byly přidány 2 ml 12% HCl a vzorek byl opět odpařen do sucha při teplotě 90 až 100 °C. Potom byl přidán 1 ml 12% HCl, 1 ml 5% EDTA /roztok dvojsodné soli v deionizované vodě/, 1 ml 1% roztoku hydroxylamin hydrochloridu /roztok v 0,1 HCl/, 2 ml deionizované vody a 1 ml 2% roztoku orthofenylendiaminu /v 0,1 N HCl/. Roztok orthofenylendiaminu byl připraven těsně před použitím. Vzorky byly ponechány reagovat ve tmě po dobu 2 hodin při pokojové teplotě, potom byly přidány 3 ml toluenu a třepáno 2 minuty. Po třiceti minutách, kdy jsou již obě složky dobře odděleny, byly odebrány 2 ml toluenové frakce pro stanovení radioaktivity. Radioaktivita byla měřena scintilačním studnovým NaI/Tl/ detektorem /na přístroji Automatic Gamma Counting System firmy Searle, USA/.

Pro kontrolu metody byly stejným postupem zpracovány i NBS standardy 1577 /Bovine Liver - hovězí játra/ a 1569 /Rice Flour - rýžová mouka/. Hladiny selenu byly vypočítány z hodnot elementárního standardu. Standard, obsahující 17,863  $\mu\text{g}$  Se byl rozpuštěn ve 2 ml  $\text{HNO}_3$  a potom byl naředěn pomocí 0,1 N HCl na koncentrace 357, 179, 71, 36 a 18 ng Se/ml. 1 ml každého z takto naředěných standardů byl zpracován stejným postupem jako vzorky.

Tab. č. 1 o názvu "Koncentrace selenu ve standardních referenčních materiálech stanovená radiochemickou separací a srovnání s certifikovanými hodnotami koncentrací selenu" uvádí výsledky stanovení hladin selenu ve standardních referenčních materiálech /NBS 1577 Bovine Liver a NBS 1569 Rice Flour/ ve srovnání s certifikovanými hodnotami hladin selenu.

Tab. 1 Koncentrace selenu ve standardních referenčních materiálech stanovená radiochemickou separací a srovnání s certifikovanými hodnotami koncentrací selenu

Selen - ng/g suché váhy		
	Stanovení radiochemickou separací	Certifikovaná hodnota
NBS 1 577 Bovine Liver /hovězí játra/ n = 5	1 064 ± 27	1 100 ± 100
NBS 1 569 Rice Flour /ryžová mouka/ n = 4	500 ± 9	400 ± 100

Výsledky stanovení koncentrace selenu ve vzorcích lidské krve, vyjádřené v ng Se/ml krve, jsou uvedeny v tab. č. 2

Tab. 2 Koncentrace selenu v lidské krvi /ng Se/ml/

Vzorek č.	Koncentrace Se - ng/ml
1	61
2	53
3	33
4	74
5	37
6	28
7	54
8	46
9	66
10	65
11	59
12	89
13	82
14	58
15	67
16	57
17	63
18	145 <sup>+</sup>

<sup>+</sup> osoba trvale žijící mimo území ČSFR

## PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob stanovení stopových koncentrací selenu v biologickém materiálu pomocí destruktivní neutronové aktivační analýzy, vyznačující se tím, že po ozáření v reaktorumu se radionuklid selenu  $^{75}\text{Se}$  z mineralizovaného vzorku extrahuje kyselinou solnou na  $^{75}\text{Se}^{4+}$  a nechá se reagovat s orthofenylendiaminem, potom se extrahuje toluenem a změří se radioaktivita.

ČESKOSLOVENSKÁ  
SOCIALISTICKÁ  
REPUBLIKA  
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD  
PRO VYNÁLEZY

# POPIS VYNÁLEZU 269 161

## K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ (11)

(21) PV 2389-88.C  
(22) Přihlášeno 08 04 88

(13) B1  
(51) Int. Cl. 4  
B 28 C 5/16

(40) Zveřejněno 12 09 89  
(45) Vydáno 15 03 91

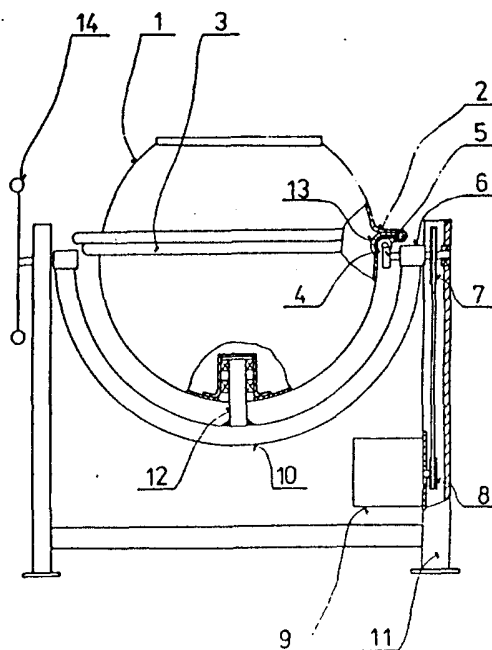
(75)  
Autor vynálezu

BORUTA IVAN, ing.  
MARTINÍK PŘEMYSL, OSTRAVA  
ŠINDEL VLADIMÍR ing., STARA BĚLÁ  
PUCHALSKÝ JIŘÍ ing., OSTRAVA

(54)

Zařízení pro pohon míchacího bubnu

(57) Zařízení pro pohon míchacího bubnu, zvláště maloobjemových strojů na maltu a beton, se týká konstrukce koncového převodu pro pohon míchacího bubnu. Koncový převod je tvořen nekonečnou pružinou, nasunutou na míchacím bubnu, do níž zapadá poháněcí pastorek.



obr. 1